

ひらめき☆ときめきサイエンス



分子の世界で ナノ工作体験!

タンパク質のような働きをするDNAを作ろう

予習テキスト



甲南大学 ポートアイランドキャンパス

主催 甲南大学先端生命工学研究所 (FIBER) 後援 神戸市教育委員会

—遺伝子の仕組みを覗いてみよう—

DNA とは？

子は親に似ます。カエルの子はカエルです。このことは遺伝といい、世代を超えて特徴が伝わっていきます。よく、親子で血がつながっていると言いますよね。実は、この言葉は正確に言うと少し違うのです。それでは、親と子の間でつながっているものの正体とは何でしょう？それは、遺伝子と呼ばれる細胞の中にある DNA です。DNA は、アデニン(A)、チミン(T)、グアニン(G)、シトシン(C)という4つの分子(塩基)が鎖のようにつながった形をしています(図 1)。まるで、アルファベットが A、T、G、C・・・と暗号のように並んでいます。実は、この暗号(遺伝暗号とも呼ばれます)で私たちの体がどのようにできあがるかが決まります。つまり DNA は私たちの設計図なのです。そして、私たちの DNA は、親と同じ並びの DNA になっています。だからこそ、子は親に似てきます。

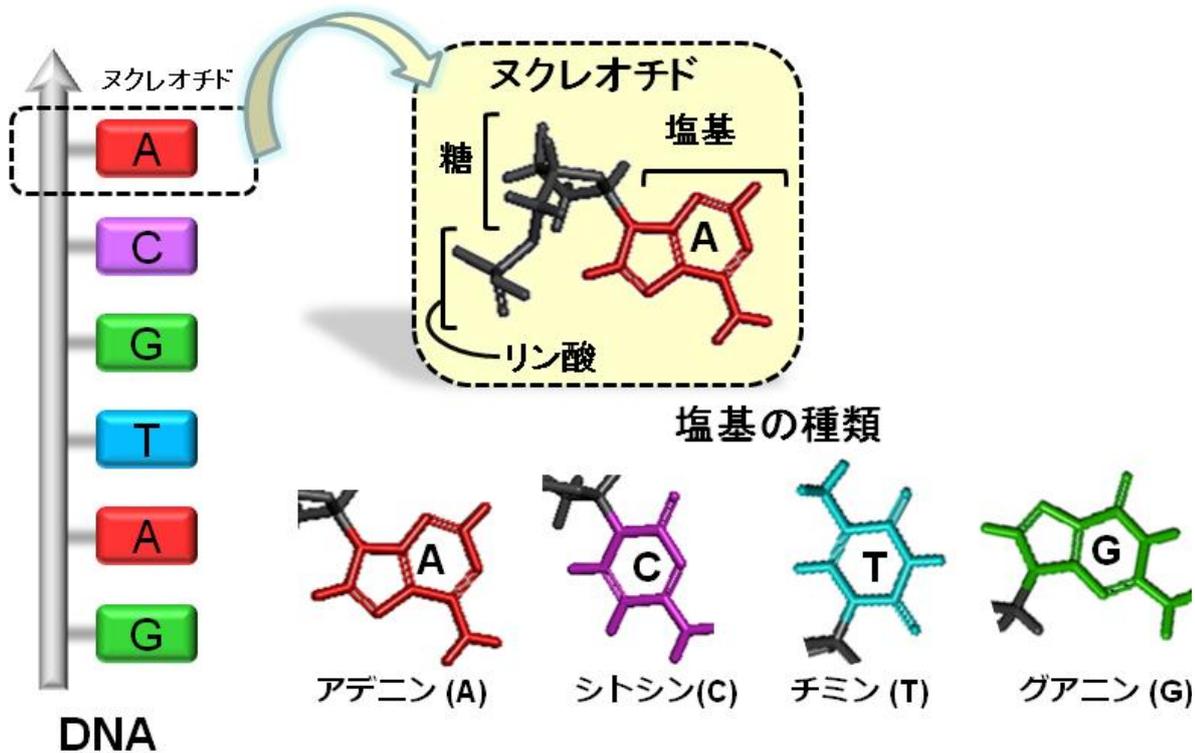


図 1. DNA 配列の構造

遺伝子から何ができる？

では遺伝子からは何ができるのでしょうか？答えはタンパク質という物質です。実は、DNAの配列がタンパク質の設計図になっているのです。DNAはたった4種類の文字、A・T・G・Cという塩基の組み合わせで作られていることは先ほど説明しました(1ページ、6行目)。この4種類の文字が3つ並ぶと、ある一つのアミノ酸を表した暗号となります(これは「コドン」と呼ばれています)。これが設計図の正体です。DNAからタンパク質が作られるには、まずDNAに書かれた暗号が、「RNAポリメラーゼ」によって伝え役であるRNAという分子にコピーされます(転写といいます)。そしてRNAに写し取られた暗号は、「リボソーム」と呼ばれるタンパク質を作る働きを持った分子によって解読され、アミノ酸が次々につなげられてタンパク質ができあがります(翻訳といいます)。

このように、遺伝情報がDNA→RNA→タンパク質へと一方向で伝えられることを「セントラルドグマ」といいます。

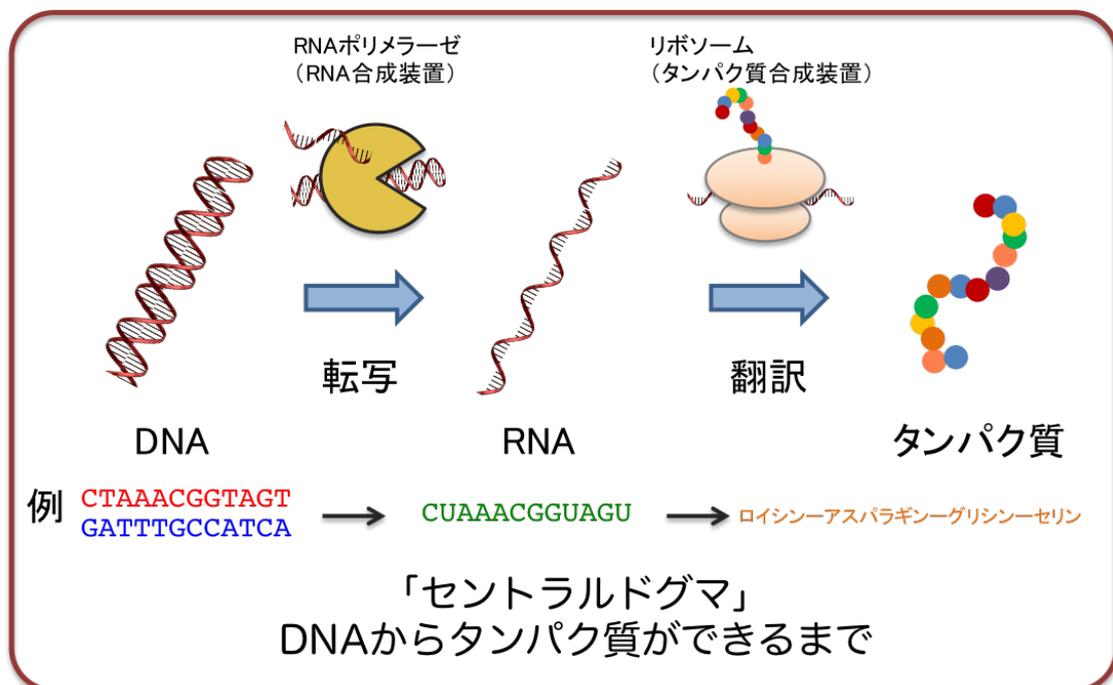


図 2. 「セントラルドグマ」 DNA からタンパク質ができるまで

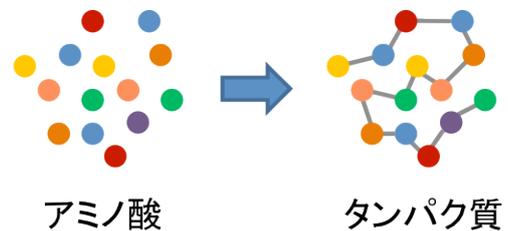
* DNA の T は、RNA では U に変換されます。

* mRNA の m は RNA の中でもタンパク質に翻訳されるメッセンジャーRNA であることを意味しています。

タンパク質とは？

人間の体の約 60%は水ですが、約 20%はタンパク質で構成されています。このタンパク質とはどういうものなのでしょうか。例えば、コラーゲンはタンパク質の一種です。髪の毛もタンパク質です。血液の主成分もタンパク質です。タンパク質は多数のアミノ酸と呼ばれる物質が長くつながってできています。アミノ酸は 20 種類もあり、これらの組み合わせや、つながる順番・長さ、つながった後の曲がり方などにより、様々なカタチをとります(図 3, 4)。その結果、色々な働きや役割をするタンパク質ができあがるのです。

皆さんも知っているように、怪我をすると傷口の血液が固まります。これも実はタンパク質の働きです。血液の中にはフィブリノーゲンという細長いタンパク質と、トロンビンというタンパク質(酵素)があり、これらが働いて傷口の血液を固まらせま



アミノ酸

タンパク質

アミノ酸は20種類
グルタミン酸、リ
ジンなど

アミノ酸が連なって
タンパク質ができる

す(凝固反応)。怪我をすると、トロンビンが働き出してフィブリノーゲンの一部を切りまします。そうすると細長いフィブリノーゲンはお互いに絡み合いはじめ、大きなかたまりを作ります。これがいわゆる“かさぶた”のモトになるのです(一つ目の実験ではこのトロンビンの働きについて実験します)。

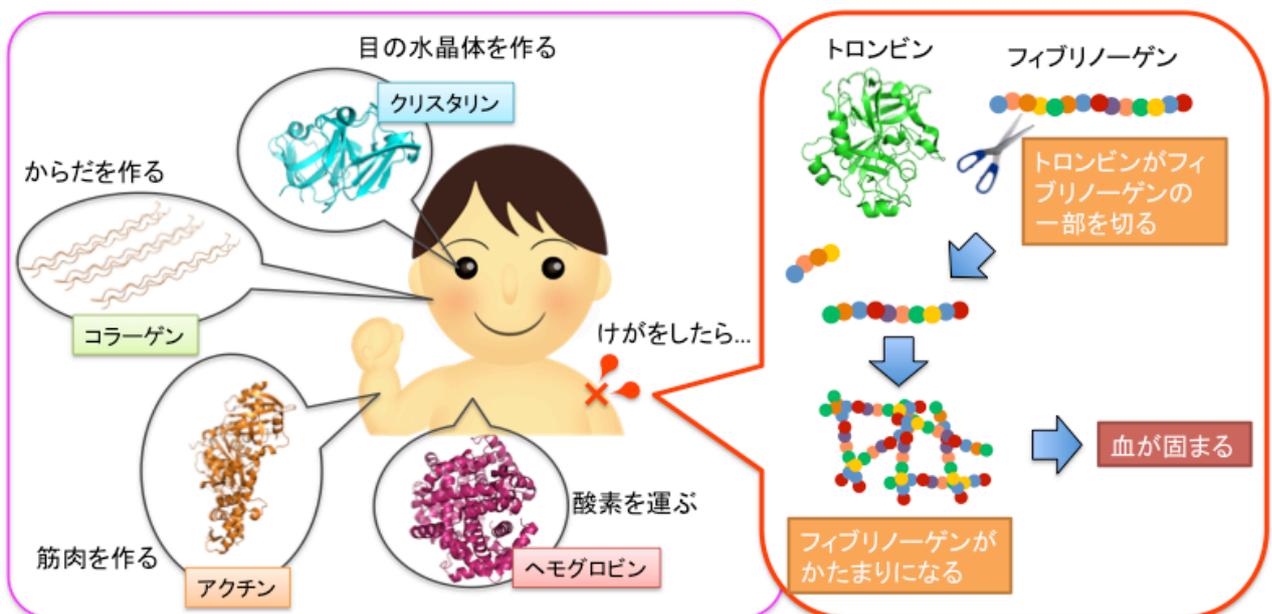


図 4. 体をつくる様々なタンパク質

DNA や RNA のカタチ

タンパク質で大事なのはそのカタチだと説明しましたが、では DNA や RNA はどのような形でしょう？ 体の中で DNA は二本の鎖が互いに逆向きで結合し、二重らせんというカタチを作っています。それぞれの鎖の A は T と、C は G と結合して、塩基対と呼ばれるペアを組みます。したがって、下の図 5 にあるように、GATGCA という DNA は、TGCATC という DNA に結合します（矢印は DNA の方向を示しています）。この法則は 1953 年にジェームズ・ワトソンとフランシス・クリックがを見つけました。そのため、A-T 塩基対と、G-C 塩基対のことを、ワトソン・クリック型塩基対とも呼びます。

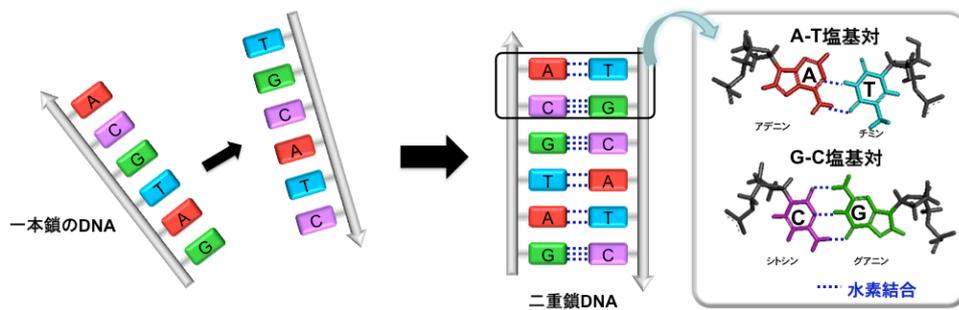


図 5. DNA 二重らせんができる仕組み

では、DNA や RNA が 1 本の鎖で存在している場合はどうでしょうか？ この場合も、A-T と C-G の結合が出来るだけ多く出来上がるように、1 本の鎖が折れ曲がるようにしてカタチを作ります（図 6）。例えば、一方の端に GCTAG、もう一方の端に CTAGC という DNA の並びがあったとします。

これらの並びはお互いに結合できる並びになっているので、DNA が U-ターンするように折れ曲がり、ヘアピン構造と呼ばれるカタチを作ります。他にも四重らせん構造など様々なカタチを作ります。

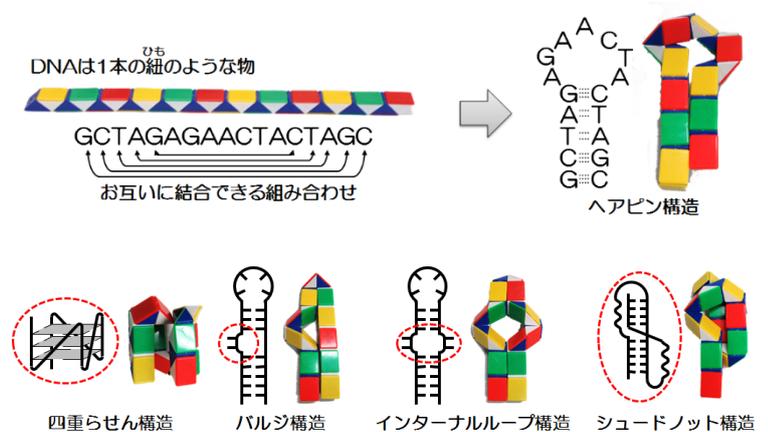


図 6. 一本の鎖から様々なカタチをつくる DNA や RNA の模式図

DNA や RNA のカタチは意味がある？

DNA や RNA がいろいろなカタチを作ることが分かりました。ではこのようなカタチは意味があるのでしょうか？実はカタチによっては DNA や RNA はタンパク質のような働きを示します。今回の実験ではそのような特殊な DNA や RNA の働きを実験で体験してもらいます。一つ目はトロンビンに結合する DNA です。トロンビンは通常アンチトロンビンというタンパク質がトロンビンの活性部位(フィブリノーゲンを切断する機能を持つ部位)に結合し、トロンビンの活性を抑えます(図 7 上)。ところが、ある種の四重らせん構造の DNA はアンチトロンビンと同じようにトロンビンの活性部位に結合することができます(図 7 下)。そうすることで、この四重らせん DNA はタンパク質であるアンチトロンビンと同様、トロンビンの活性を抑えます。

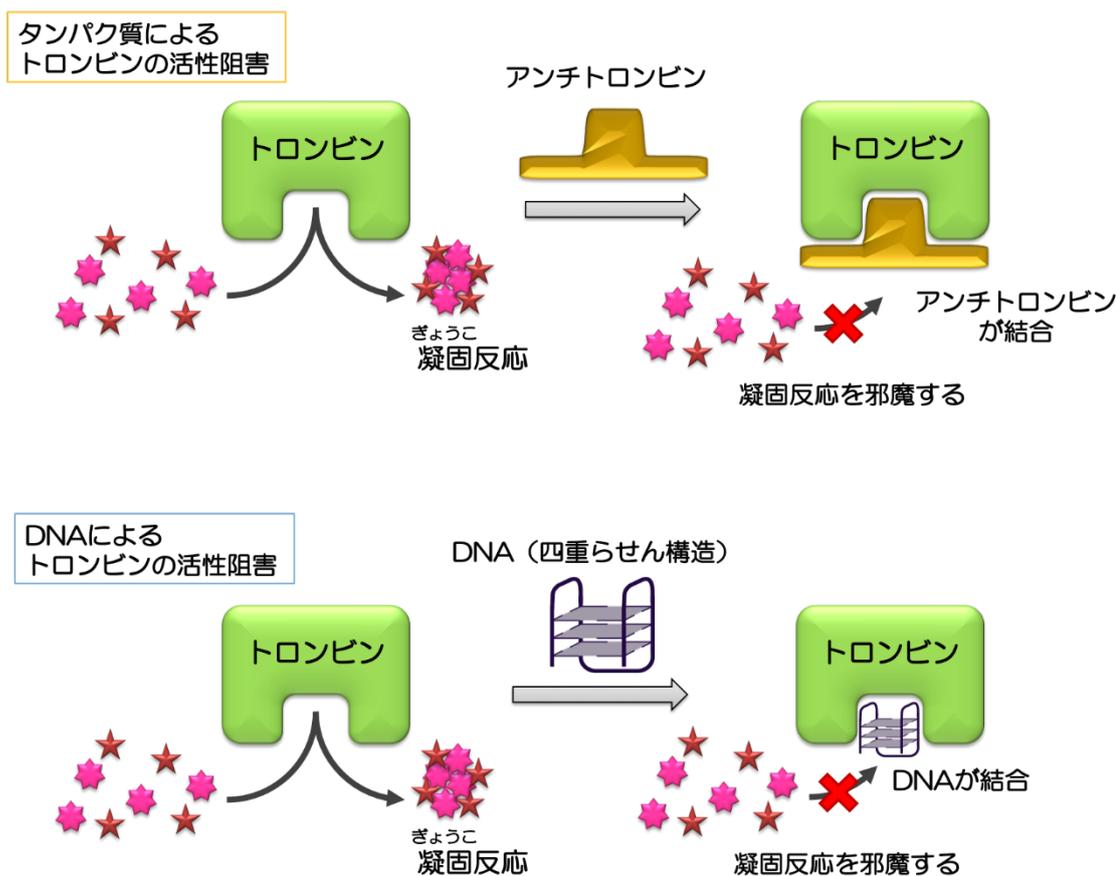


図 7 トロンビンの活性を抑制するタンパク質と DNA

二つ目はリボザイムと呼ばれる RNA です。リボザイムとは酵素(enzyme)の働きをする RNA(ribonucleic acid)のことです。通常 RNA の切断は、ヌクレアーゼと呼ばれ

るタンパク質(酵素)が RNA に結合し、起こります(図 8 上)。リボザイムも同じように RNA を切断する働きを持ちます。今回使うリボザイムは、ヘアピン構造やバルジ構造などからなる、まるでハンマーのような特殊なカタチをした RNA です(図 8 下)。このリボザイムが、切断する標的となる RNA に対して二重らせんを作って結合すると、リボザイムはヌクレアーゼのように RNA を切断することができます。

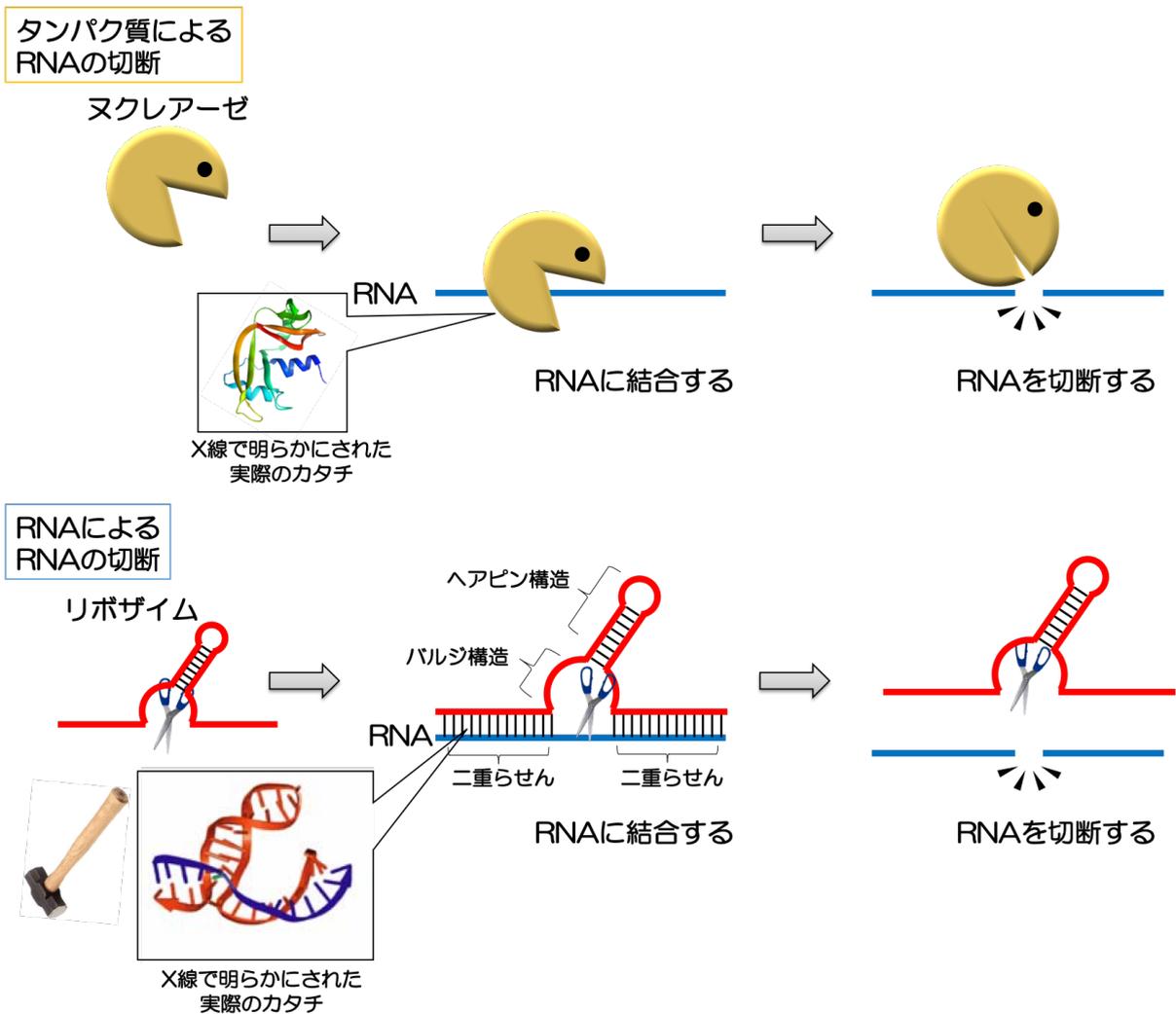


図8 RNA を切断するヌクレアーゼ(タンパク質)とリボザイム(RNA)

これら特殊な DNA や RNA は一本の鎖でできています。全て A, G, C, T (RNA の場合 U) の塩基が並んでできたものですので、ここに 2 本目の鎖を入れると、その配列によっては二重らせん構造になったりすることもできます(前ページ参照)。今回の実験では、様々な DNA や RNA を使って、タンパク質のような働きをする DNA や RNA の働きをコントロールする実験も行います。

DNA カードゲーム

- DNAの塩基対を並べて、安定な DNA 二重らせん構造を作り出そう。

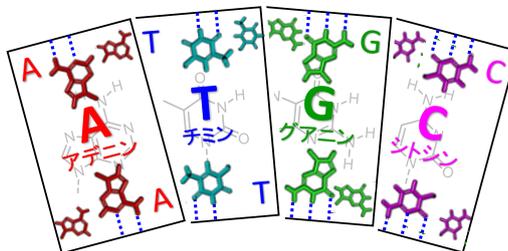
DNAは、二重らせんの中に含まれる塩基の並び(塩基配列)によって、どの程度安定な構造を作るかが決定されます。具体的には、塩基同士の間に行ける水素結合の数(テキスト2ページの図参照)が大切です。加えて、隣り合っている塩基対の組み合わせも二重らせんの安定性に影響を及ぼします。また、特定の溶液環境(特殊なイオンがある場合や溶液が酸性の場合など)では、DNA は二重らせん以外の特殊構造(テキスト2ページ参照)を作ることができます。今回のカードゲームでも、DNA の特殊構造(G-カルテット、もしくはi-モチーフ)を作ることができると、ボーナスポイントがもらえます。

カードゲームルール

FIBER オリジナルDNAカードゲームでは、「A」・「T」・「G」・「C」、4つのDNAカードを使って安定なDNA 二重らせんを作り出します。また、特殊カードを使って、自分や相手の二重らせんを組み替えたり、場の環境を変化させたりします。下に、DNA カードゲームで使用するカードの種類と効果、カードの置き場所について説明します。

- カードの種類

- DNAカード: 基本となる「A」・「T」・「G」・「C」のカードです。



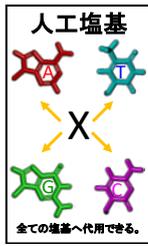
- 特殊カード: 勝利のカギとなるカードです

- ◇ 人工塩基カード: 「A」・「T」・「G」・「C」の DNA カードの全ての代わりができるカードです。

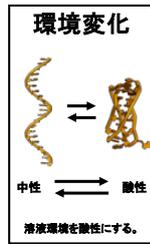
- ◇ 環境変化カード: 山の隣に出すことで全てのプレイヤーの場の環境を酸性に変えます。既に場の環境が酸性であるときに使うと、環境が酸性から中性に戻ります。DNA の特殊構造であるi-モチーフの得点は、このカードがある場合とない場合で異なります(得点表参照)。

- ◇ 遺伝子組み換えカード1: 自分が並べた塩基対を2カ所指定し、塩基対を入れ替えることができます。

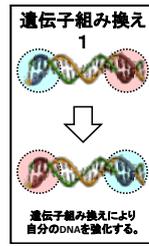
- ◇ 遺伝子組み換えカード 2: 相手が並べた塩基対を1カ所指定し、その塩基対の上下を入れ替えることができます。



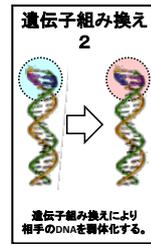
人工塩基カード
A,T,G,C全ての塩基として代用できます。



環境変化カード
場を酸性に変えます。もう一枚出すと中性に戻ります。



遺伝子組み換えカード1
自分が並べた二重鎖の配列を変えることができます。



遺伝子組み換えカード2
相手の並べた二重鎖の配列を変えることができます。

➤ カードを置く場所

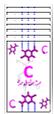
- ① 二重らせん置き場：塩基対を並べて、二重らせんを作っていく場所です。塩基対は、左から右へ順番に並べていきます。
- ② 特殊構造置き場：DNAの特殊構造(G-カルテット、もしくはi-モチーフ)を置く場所です。
- ③ カード捨て場：いらぬカードや、使用済みの特殊カードを捨てる場所です。
- ④ 環境変化カード置き場：環境変化カードを置き、場の環境が酸性であるのか中性であるのかを示す場所です。環境変化カードが2枚になった時は、2枚合わせてカード捨て場に移動させます。

↑ 斜め前のプレイヤー

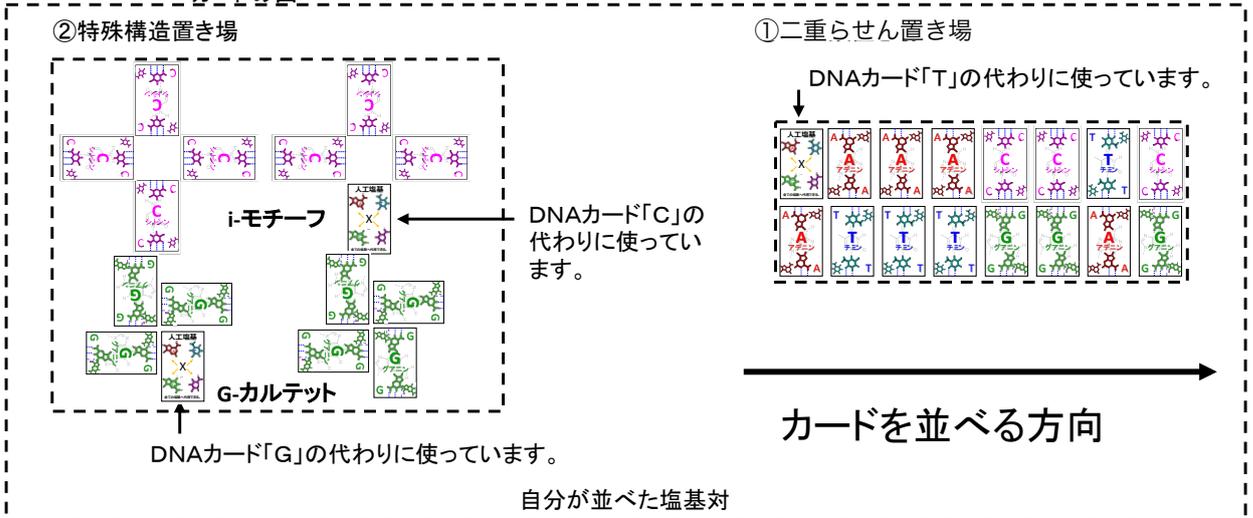
↑ 前のプレイヤー

③カード捨て場

④環境変化カード置き場



カードの山



←隣のプレイヤー

自分

1. ゲームの流れ

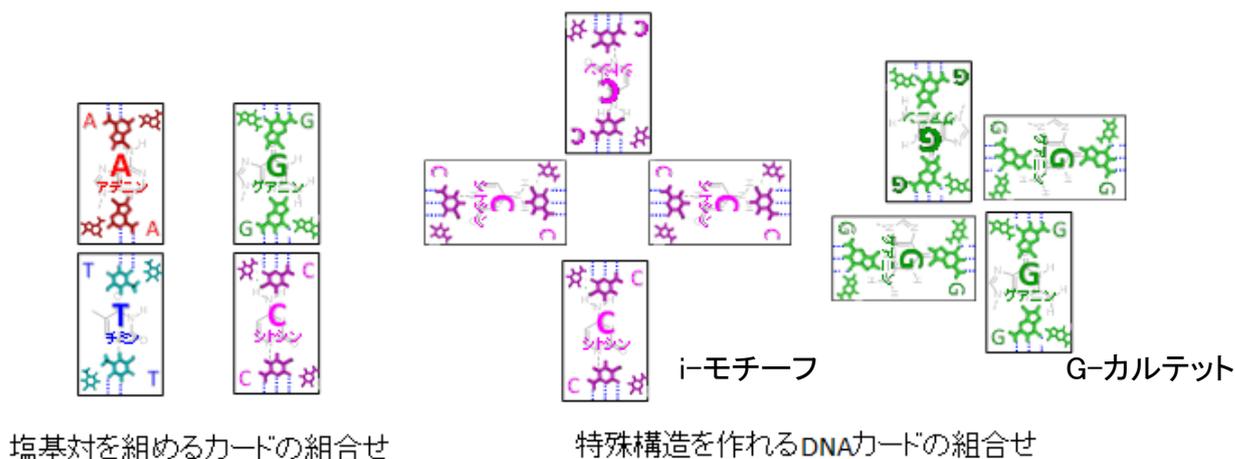
4人(5人)1組で対戦してもらいます。

1. カードを5枚ずつ配ります。残りは山に置いておきます。
2. 順番を決めます(じゃんけんで勝った人から時計回り)。
3. 順番にカードを自分の前に一組ずつ並べながらゲームを進めていきます。
4. 山のカードが無くなったら、手持ちのカードがあってもゲーム終了です。

2. カードの出し方

<5枚の中に塩基対または特殊構造を組めるカードがある場合>

1. 塩基対または特殊構造を組めるカードを選び、カード置き場に出します。
 - 塩基対を組めるカードを持っていた場合は、必ず出して下さい(人工塩基カードは出さずに取っておくことができます)。
 - 塩基対を組めるカードの組み合わせを2つ持っていた場合(A と T が2枚ずつある場合など)は、2つの塩基対を並べて出します。



2. 残ったカードの中に特殊カードがある場合、好きな枚数だけ使用できます。
 - 特殊カードは使用せずにとっておくこともできますが、塩基対を出したときしか使えません。
3. 自分のカードが5枚になるように、山からカードを補充します。
 - 例えば、3枚カードを使用した場合は、3枚を山からカードを取ってください。
4. 次の人にバトンタッチ。

<5枚の中に塩基対を組めるカードがない場合>

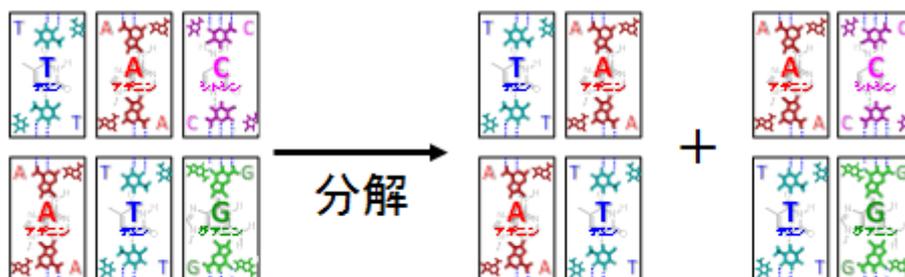
1. カード捨て場にカードを2枚捨て、山から新たに2枚のカードを補充します。
2. 次の人にバトンタッチ。

3. ゲームの得点

自分が作った二重らせんの塩基配列の安定性(得点)を計算します。特殊構造の DNA を作った場合は、その点数も加算します。また、環境変化カードが場に提示されているかいないかで、特殊構造である i-モチーフの得点が変わります。最終的に得点が一番高い人の勝利です。

1. 二重らせんの塩基配列を、隣り合った塩基対のペアに分解します。

➤ 隣り合った塩基対のペアのことを、最近接塩基対と呼びます。



2. 下の得点表を見ながら、全ての最近接塩基対の得点を加算します。

➤ 化学の世界では、DNA の安定性をエネルギー($-\Delta G_{37}^{\circ}$: 単位はキロカロリー/モル)で表します。このゲームでも、得点は最近接塩基対の $-\Delta G_{37}^{\circ}$ の値を採用しています。

3. 特殊構造が場にある場合は、特殊構造の $-\Delta G_{37}^{\circ}$ を加算します。

➤ 特殊構造である i-モチーフの場合は、環境変化カードが場に提示されているかいないかで得点が変わります。

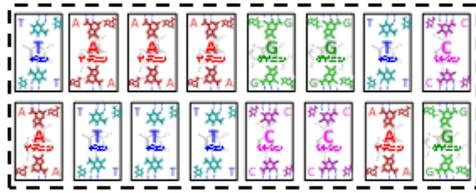
* 特殊塩基対の場合は、安定性は溶液の条件などによって変化するため、表の値と異なる場合もあります。

最近接塩基対	$-\Delta G_{37}^{\circ}$ (kcal mol ⁻¹)	最近接塩基対	$-\Delta G_{37}^{\circ}$ (kcal mol ⁻¹)	特殊塩基対	$-\Delta G_{37}^{\circ}$ (kcal mol ⁻¹)																									
dAA dTT	1.2	dGA dCT	1.5	G—G G—G	G-カルテット 5.0																									
dTT dAA		dTC dAG		dAT dTA		0.9	dGT dCA	1.5	C × C C ⁺ C ⁺	i-モチーフ 環境変化有り 3.0	dTA dAT	dAC dTG	dTA dAT	0.9	dCG dGC	2.8	C × C C ⁺ C ⁺	i-モチーフ 環境変化無し 0	dCA dGT	dTG dAC	dGC dCG	2.3	dCA dGT	1.7	dGC dCG	2.3	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> 環境変化 中性 ⇌ 酸性 ストレスにより環境変化が顕著に表れた。 </div>	dCT dGA	dAG dTC	1.5
dAT dTA	0.9	dGT dCA	1.5	C × C C ⁺ C ⁺	i-モチーフ 環境変化有り 3.0																									
dTA dAT		dAC dTG		dTA dAT		0.9	dCG dGC	2.8	C × C C ⁺ C ⁺	i-モチーフ 環境変化無し 0	dCA dGT	dTG dAC	dGC dCG	2.3	dCA dGT	1.7	dGC dCG	2.3	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> 環境変化 中性 ⇌ 酸性 ストレスにより環境変化が顕著に表れた。 </div>	dCT dGA	dAG dTC	1.5	dGG dCC	dCC dGG	2.1					
dTA dAT	0.9	dCG dGC	2.8	C × C C ⁺ C ⁺	i-モチーフ 環境変化無し 0																									
dCA dGT		dTG dAC		dGC dCG		2.3																								
dCA dGT	1.7	dGC dCG	2.3	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> 環境変化 中性 ⇌ 酸性 ストレスにより環境変化が顕著に表れた。 </div>																										
dCT dGA		dAG dTC			1.5	dGG dCC	dCC dGG	2.1																						

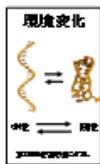
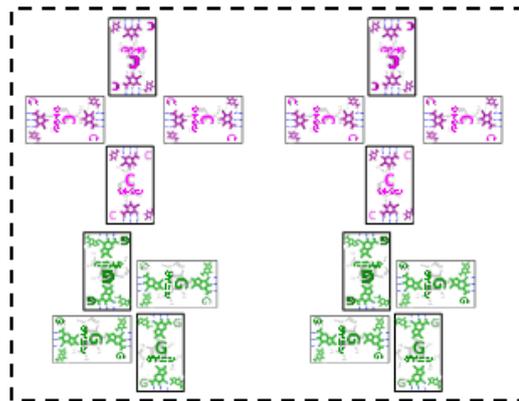
<DNA 二重らせんの安定性の計算例>

例えば、Aさんのカードが下記のような場合

①二重らせん置き場



②特殊構造置き場



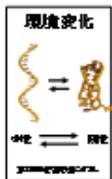
環境変化カードが **場** にない場合

① ・二重らせん部位の計算

$$\begin{aligned}
 & \begin{array}{c} 5'-TAAAGGTC-3' \\ \text{|||||} \\ 3'-ATTTCCAG-5' \end{array} = \begin{array}{c} \text{dTA} \\ \text{||} \\ \text{dAT} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dAA} \\ \text{||} \\ \text{dTT} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dAA} \\ \text{||} \\ \text{dTT} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dAG} \\ \text{||} \\ \text{dTC} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dGG} \\ \text{||} \\ \text{dCC} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dGT} \\ \text{||} \\ \text{dCA} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dTC} \\ \text{||} \\ \text{dAG} \end{array} \\
 & = 0.9 + 1.2 + 1.2 + 1.5 + 2.1 + 1.5 + 1.5 \\
 & = 9.9 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \textcircled{2} \quad & \begin{array}{c} \text{C} \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}^+ \quad \text{C}^+ \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{C} \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}^+ \quad \text{C}^+ \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{G} - \text{G} \\ | \quad | \\ \text{G} - \text{G} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{G} - \text{G} \\ | \quad | \\ \text{G} - \text{G} \end{array} = 0 + 0 + 5.0 + 5.0 \\
 & = 10.0 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}
 \end{aligned}$$

Aさんの得点は、①+②なので、 $9.9 + 10.0 = 19.9 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}$



環境変化カードが **場** にある場合

① ・二重らせん部位の計算

$$\begin{aligned}
 & \begin{array}{c} 5'-TAAAGGTC-3' \\ \text{|||||} \\ 3'-ATTTCCAG-5' \end{array} = \begin{array}{c} \text{dTA} \\ \text{||} \\ \text{dAT} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dAA} \\ \text{||} \\ \text{dTT} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dAA} \\ \text{||} \\ \text{dTT} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dAG} \\ \text{||} \\ \text{dTC} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dGG} \\ \text{||} \\ \text{dCC} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dGT} \\ \text{||} \\ \text{dCA} \end{array} + \begin{array}{c} \text{dTC} \\ \text{||} \\ \text{dAG} \end{array} \\
 & = 0.9 + 1.2 + 1.2 + 1.5 + 2.1 + 1.5 + 1.5 \\
 & = 9.9 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}
 \end{aligned}$$

※酸性環境のため

$$\begin{aligned}
 \textcircled{2} \quad & \begin{array}{c} \text{C} \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}^+ \quad \text{C}^+ \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{C} \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}^+ \quad \text{C}^+ \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{G} - \text{G} \\ | \quad | \\ \text{G} - \text{G} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{G} - \text{G} \\ | \quad | \\ \text{G} - \text{G} \end{array} = 3.0 + 3.0 + 5.0 + 5.0 \\
 & = 16.0 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}
 \end{aligned}$$

Aさんの得点は、①+②なので、 $9.9 + 16.0 = 25.9 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}$