

バイオ計測学特論

02

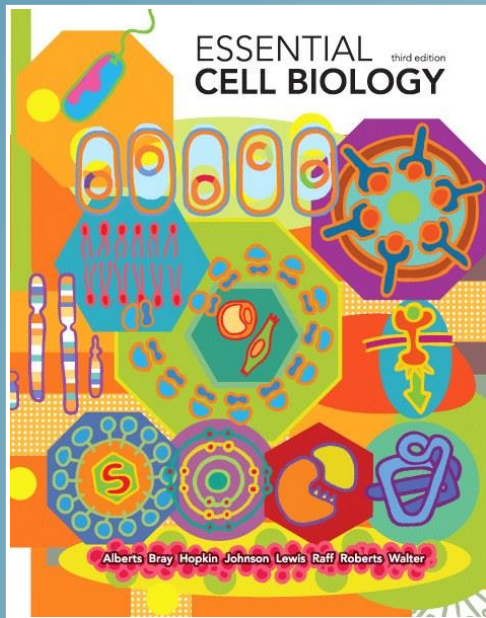
蛋白質、核酸、酵素の構造と特徴

2021年度 第4Q

佐藤しのぶ

蛋白質、核酸、酵素の構造と特徴

そのまえに、細胞とは？



Essential Cell Biology

Third Edition

Chapter 1 Introduction to Cells

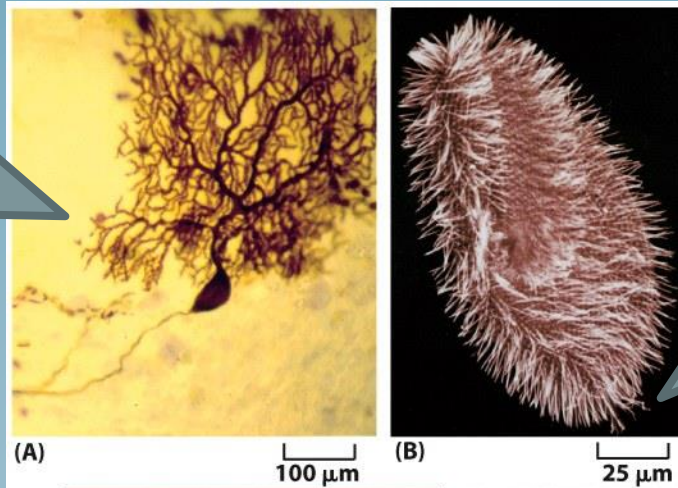
生命あるもの・・・細胞からできている

細胞・・・さまざまな化合物の濃い水溶液を膜で包んだ
小さな構成単位
育ち、二分裂し、自分の複製を作り出す
特別な力を持っている

細胞の統一性と多様性

小脳の神経細胞

電気シグナルを突起を通じて送りだし、他の細胞からの信号を受け取る

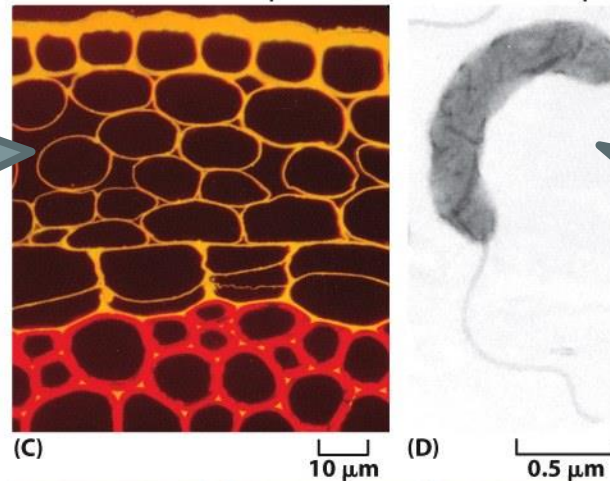


ゾウリムシ

1個の細胞

若い植物の茎の断面

セルロース: 赤
ペクチン: 橙

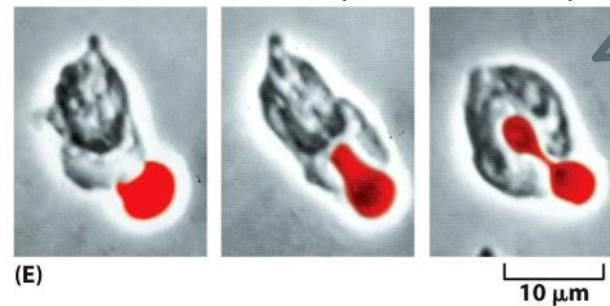


細菌

Bdellovibrio bacteriosus

ヒトの白血球

赤血球に近づき、飲み込もうとしているところ



何がみえる？

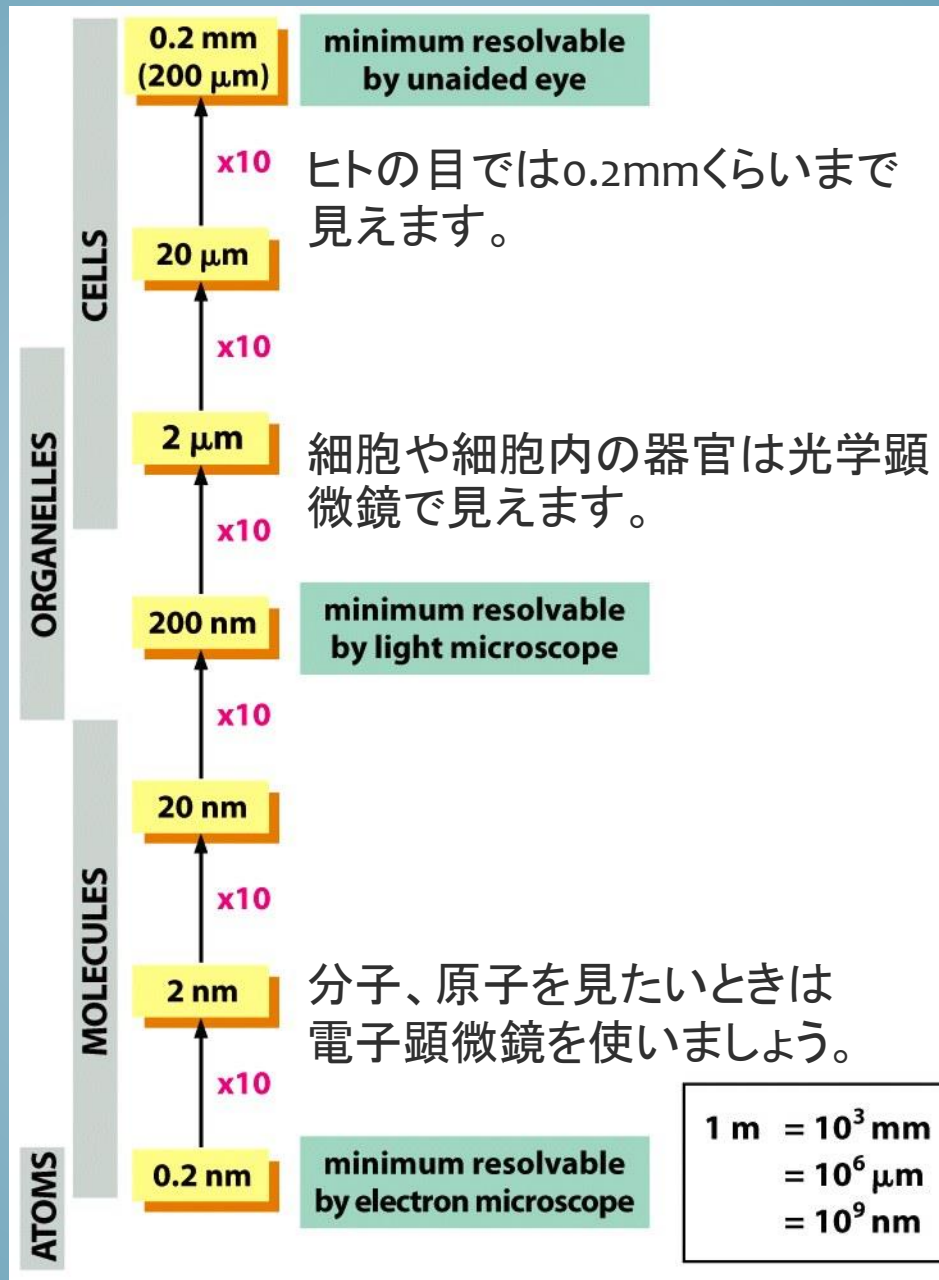
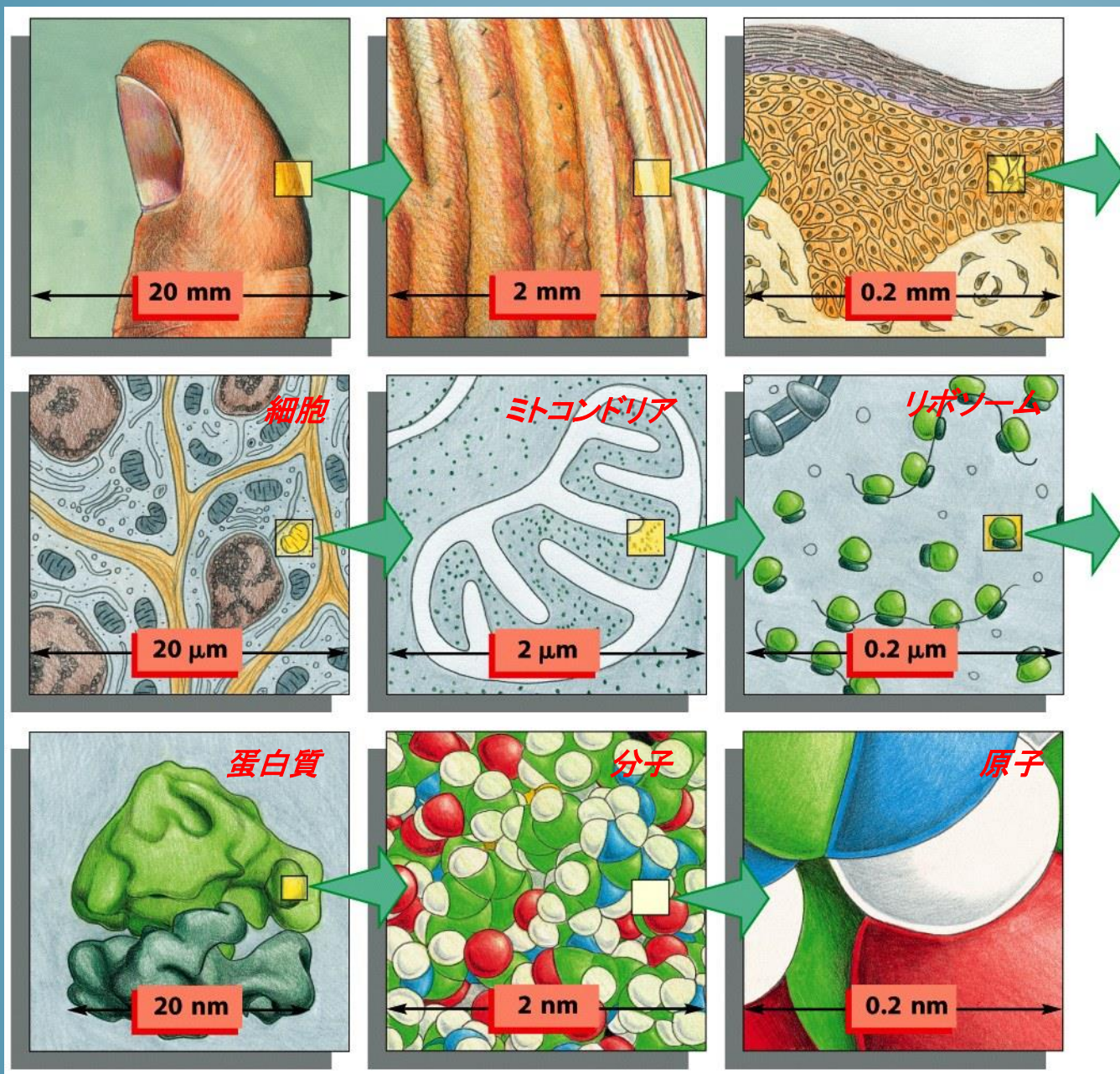


Figure 1-6 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

細胞とその部品はどのくらいの大きさか？



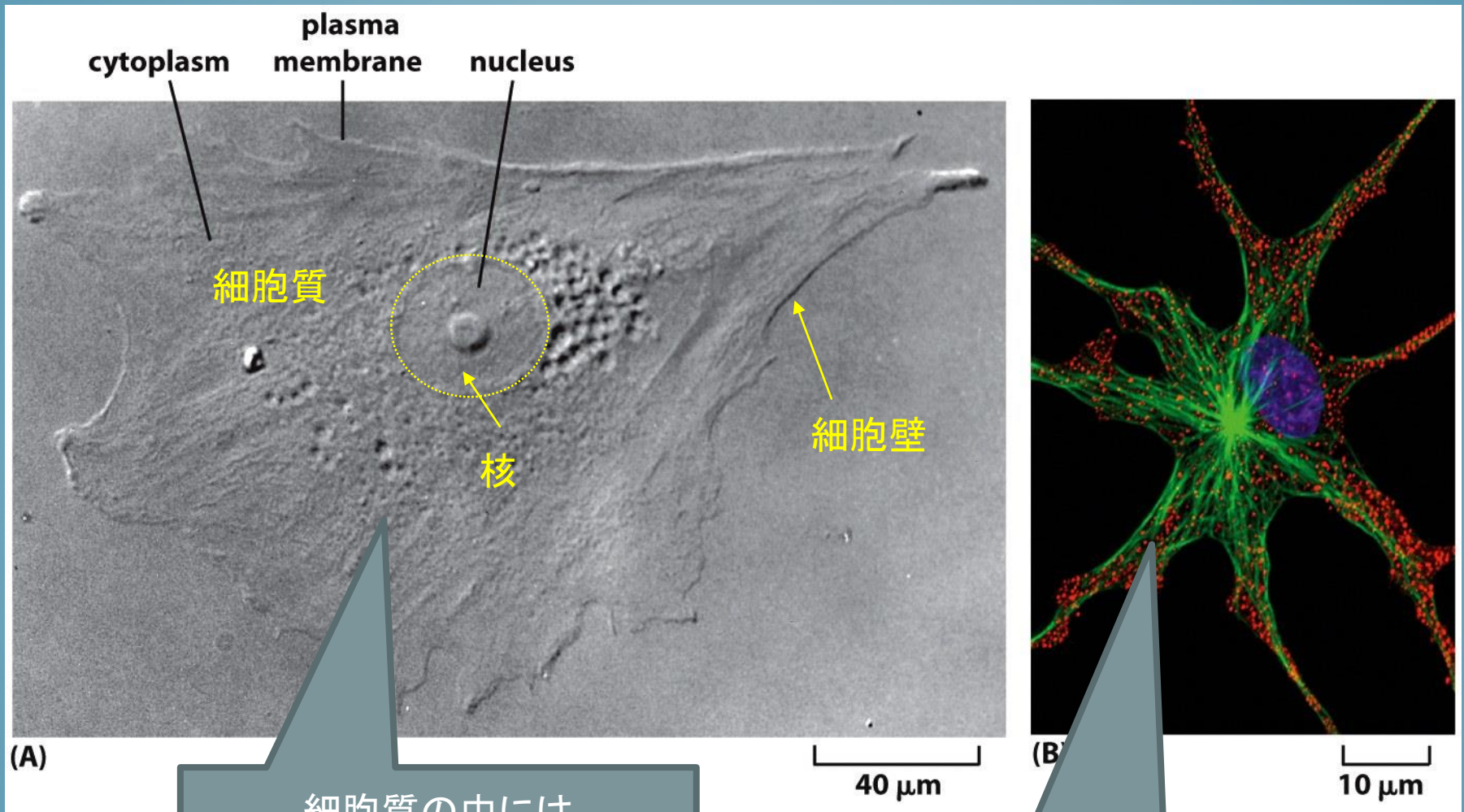
ミトコンドリア

膜で囲まれた細菌くらいの大きさの細胞小器官で、酸化リン酸化を行い、真核細胞におけるATPの大部分を生産する。

リボソーム

メッセンジャーRNAと結合して、タンパク質の合成を触媒する粒子で、リボソームRNAとリボソームタンパク質からなる。

生細胞の内部構造は光学顕微鏡で見える



細胞質の中には
種々雑多な小物体が乱雑に
埋め込まれている

特定の要素を特定の印で観察する
核: 青, 色素顆粒: 赤, 微小管: 緑

細胞のつくり

原核細胞

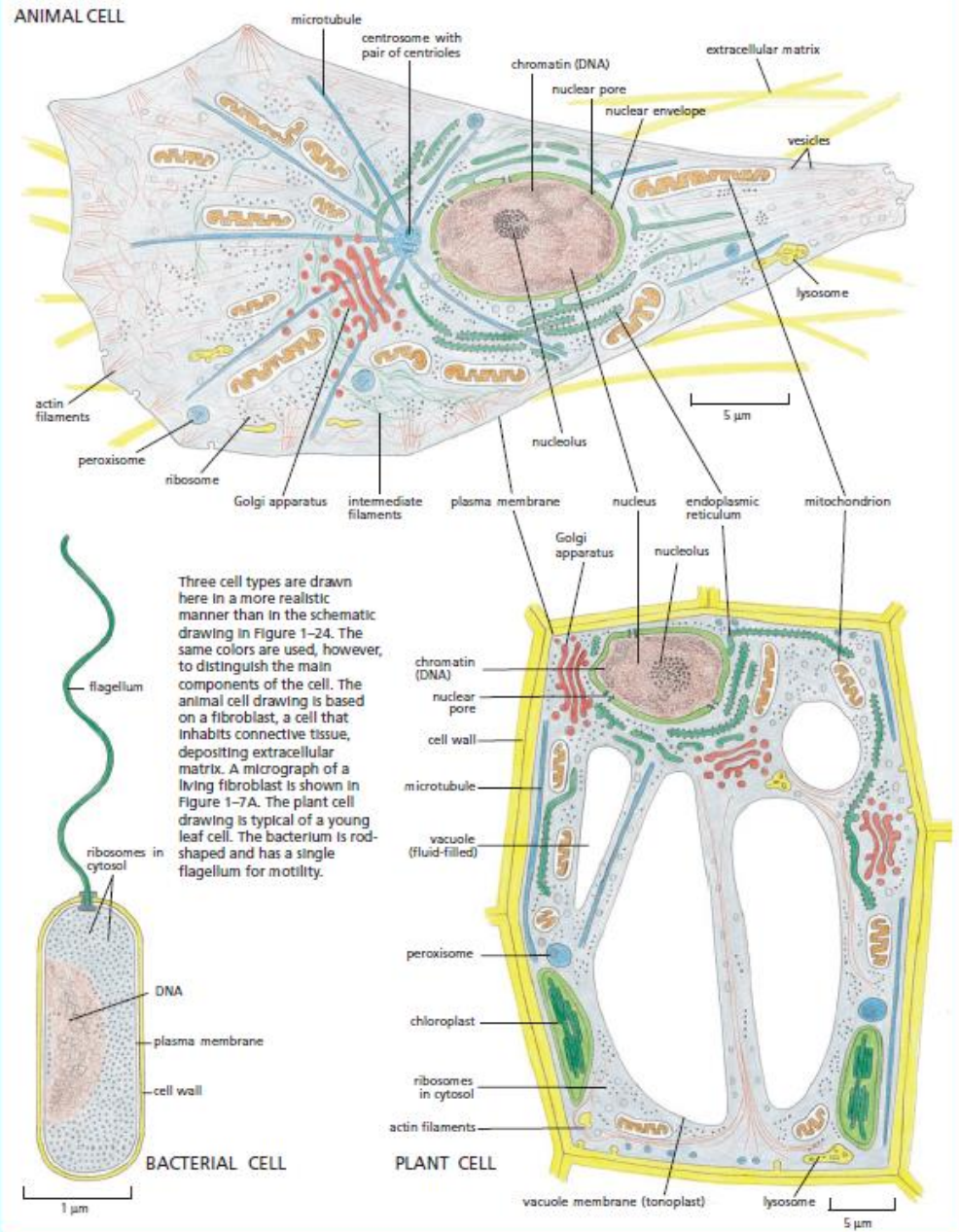
細胞小器官をもたず
核を持たず

真核細胞

細胞小器官、
核を有する

細胞小器官

ミトコンドリア、葉緑体、
小胞体、ゴルジ体、
リソソーム、ペルオキシソーム



細胞の構成成分

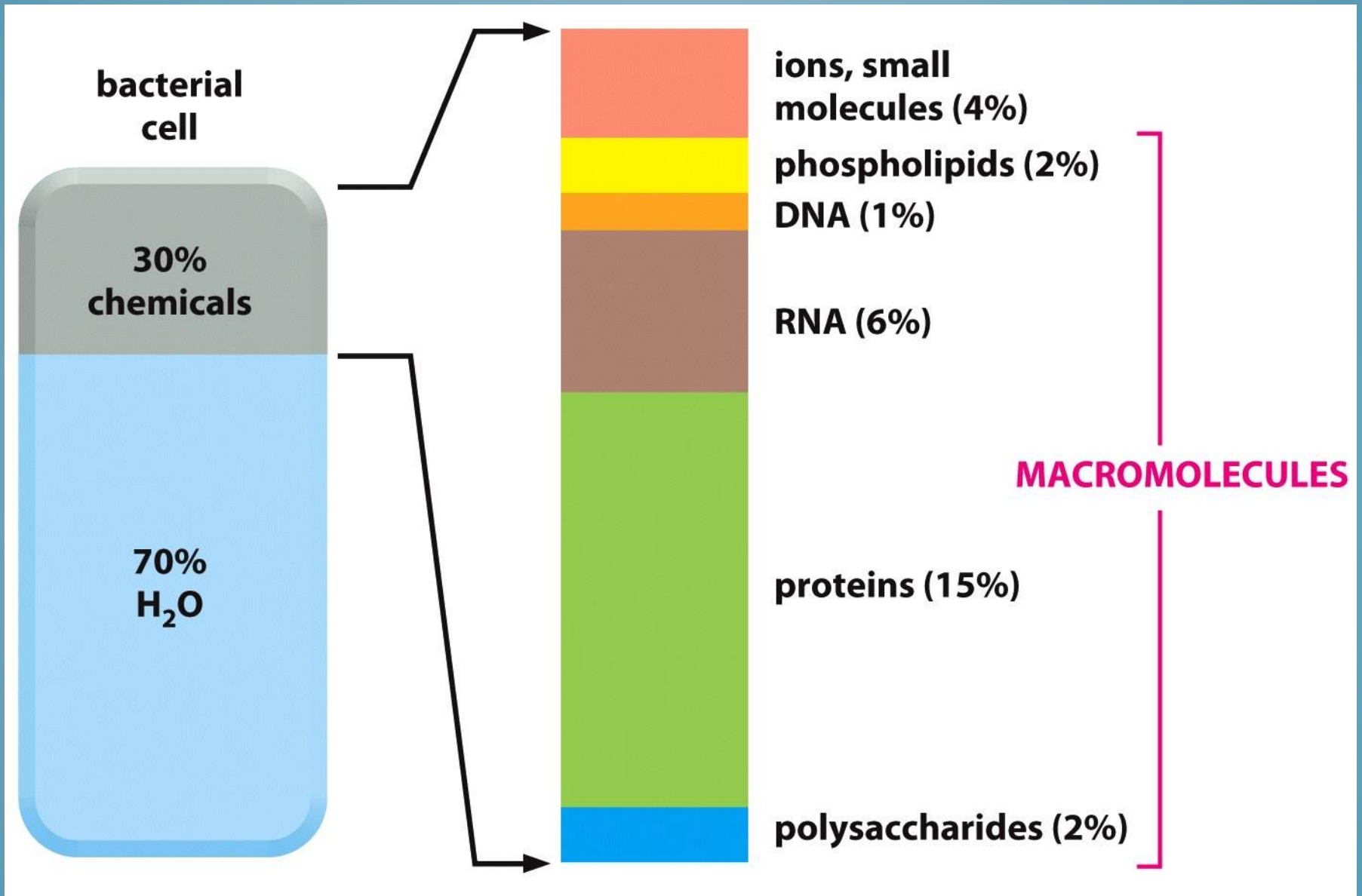


Figure 2-26 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

脂肪酸は細胞膜の成分である

パルミチン酸

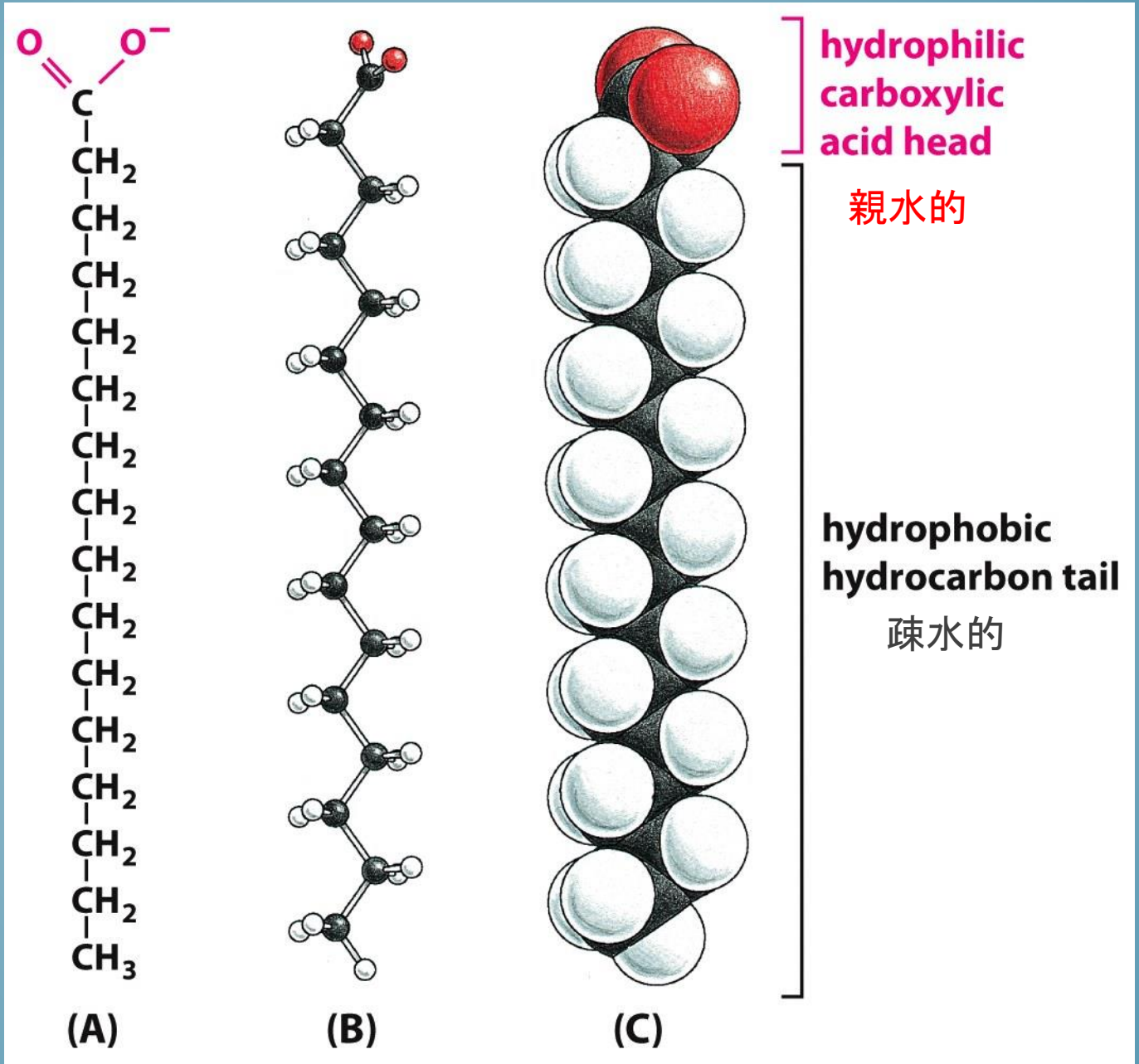
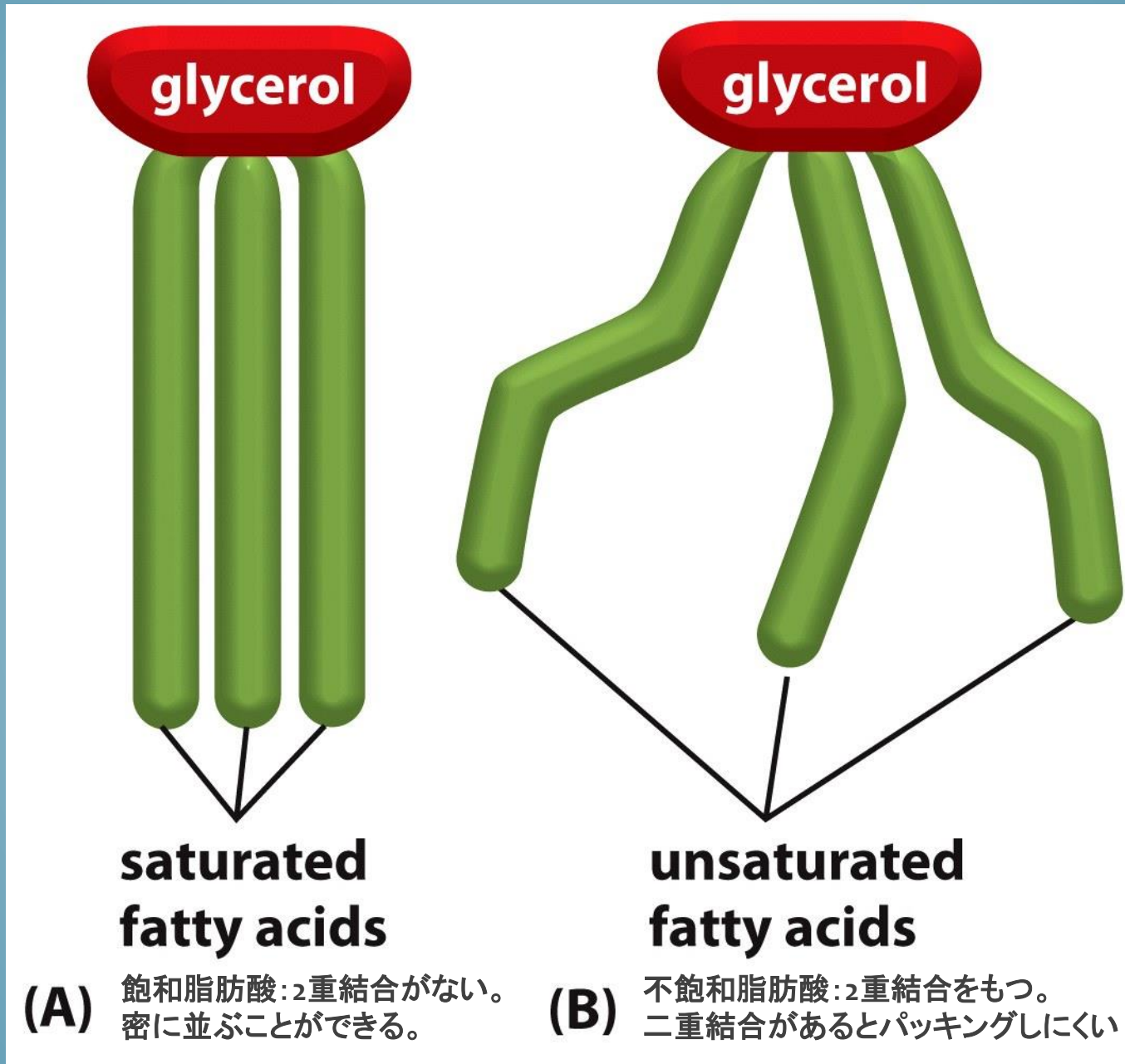
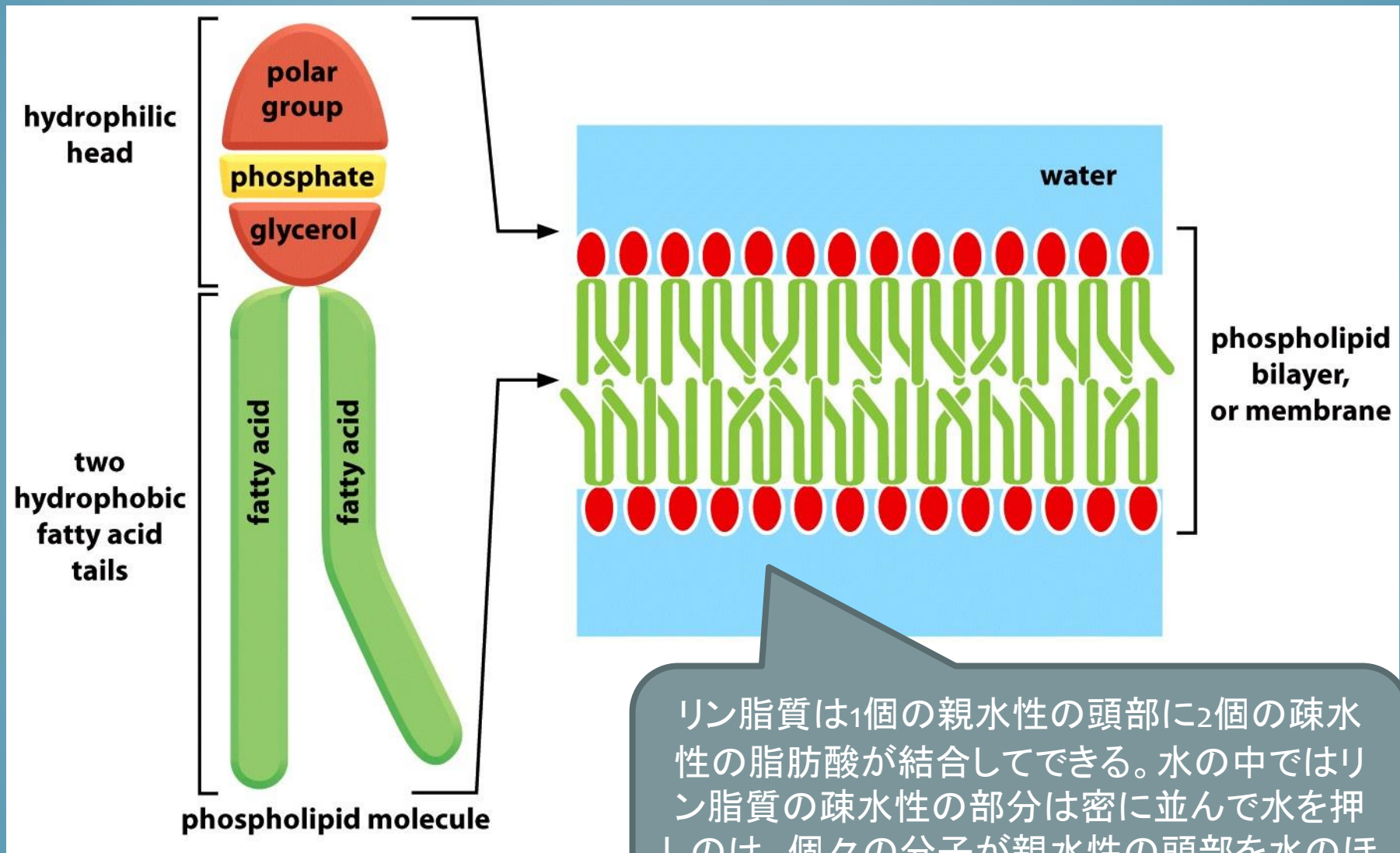


Figure 2-18 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

脂肪の性質は脂肪酸側鎖によって決まる



リン脂質は集合して細胞膜を作る



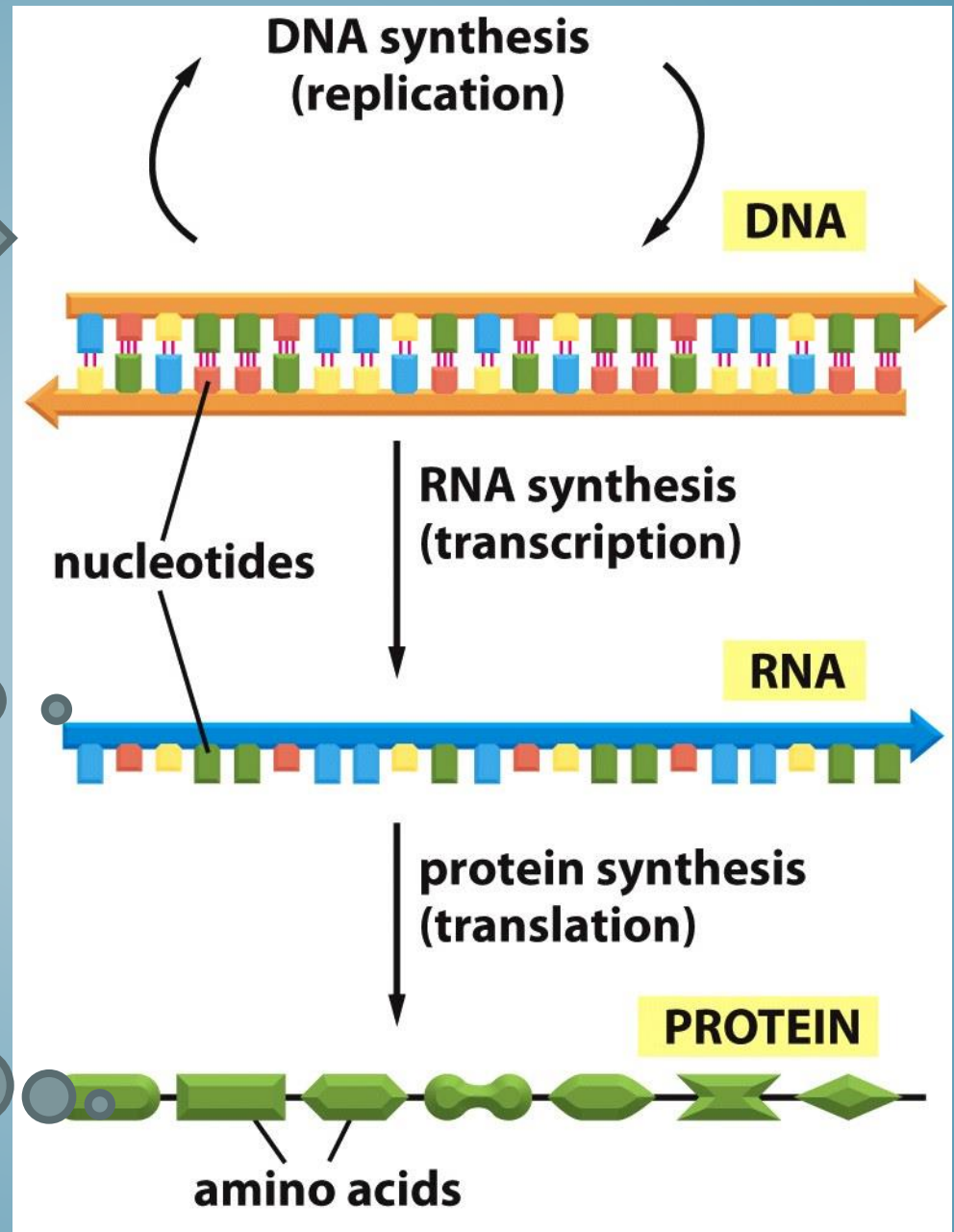
蛋白質、核酸、酵素の構造と特徴

細胞は化学的によく似ている

どのような細胞でも、
遺伝情報つまり遺伝子は、
DNA分子が担い、
共通の暗号表が用いられ、
同じ化学装置で解読され、
同じ方法で増殖される。

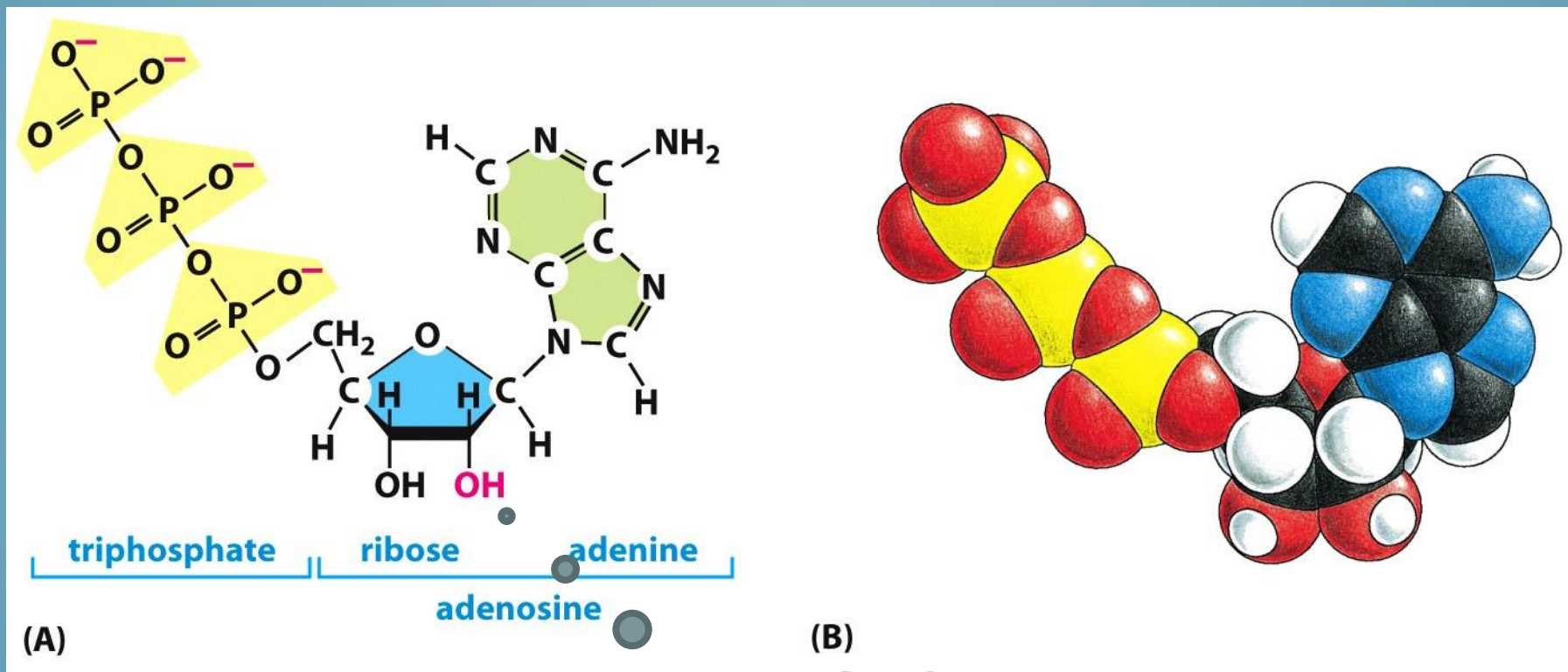
RNAには様々な
機能があるが、
大多数はメッセン
ジャーRNAとして
働く

蛋白質は、様々なア
ミノ酸配列を持ち、コ
ンフォメーションが違
い、多様なものとなっ
ている



ヌクレオチドはDNAとRNAの構成単位である

アデノシン三リン酸(ATP)は先端に活性の高いリン酸基をもつヌクレオチドである



Hの場合DNA,
OHの場合RNA

ATPは細胞内のエネルギー運搬体

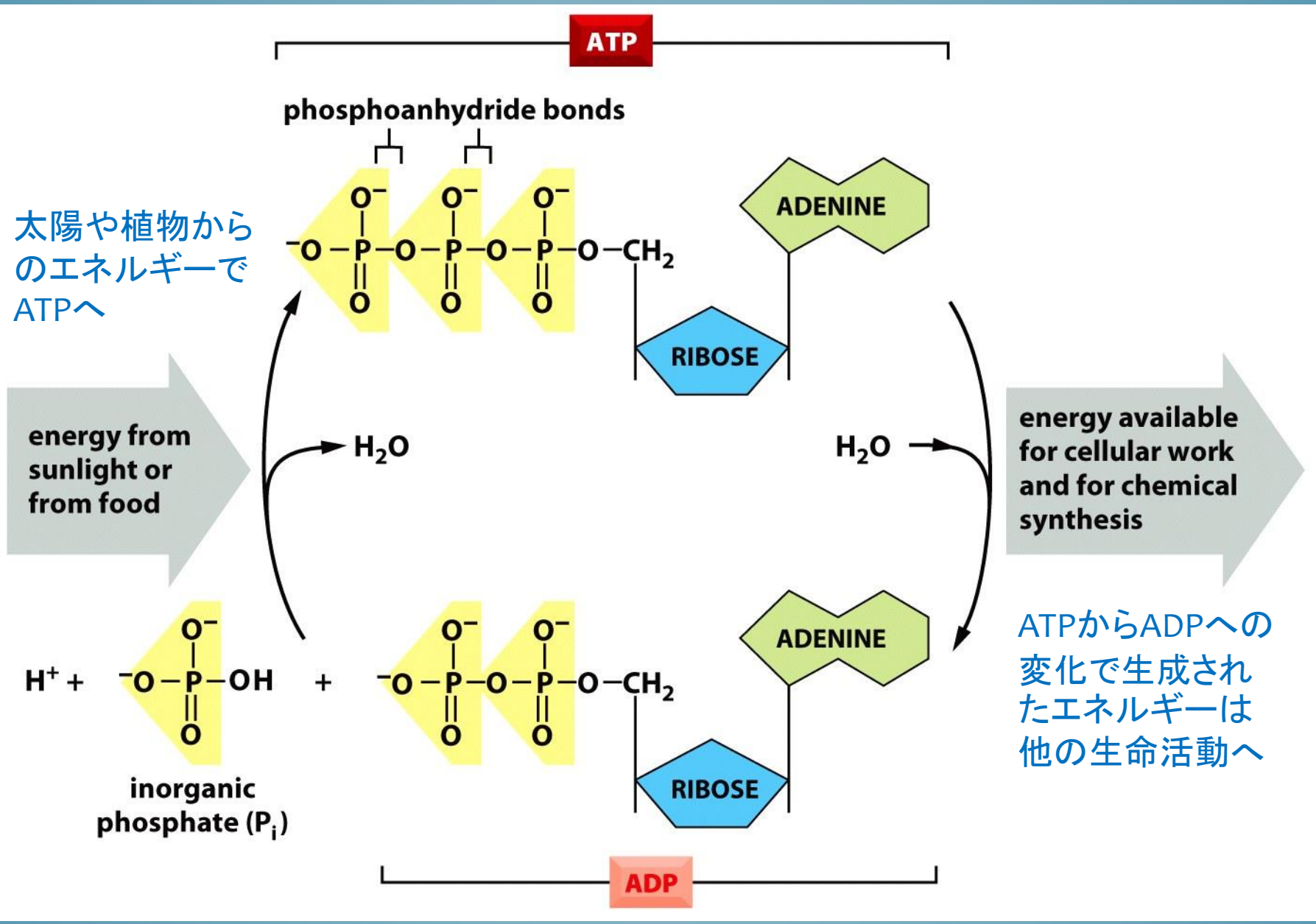


Figure 2-24 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

リン酸はデオキシリボ核酸分子の一方の鎖の一部

リン酸

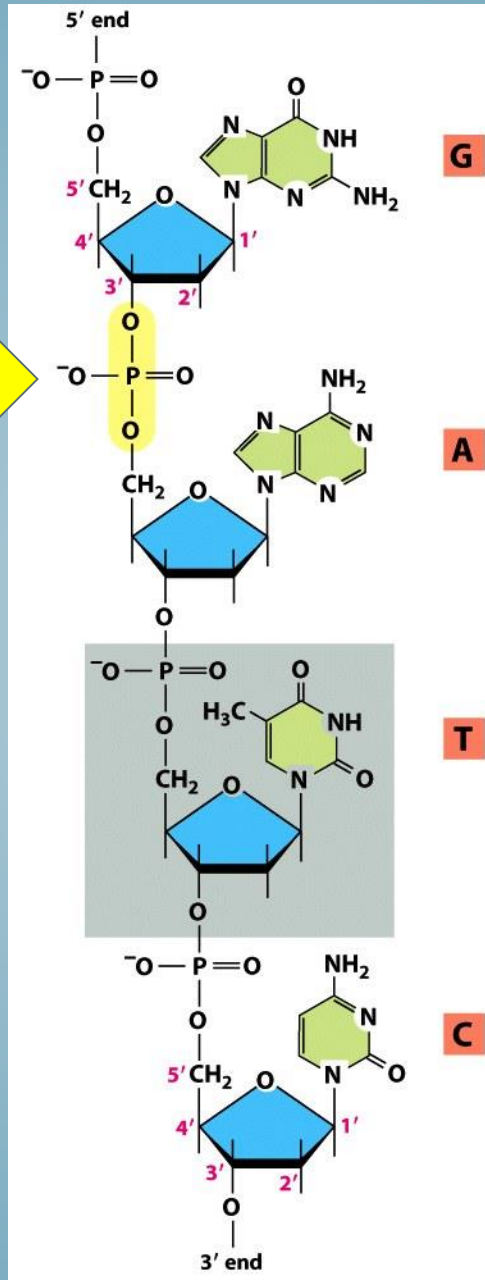
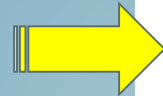
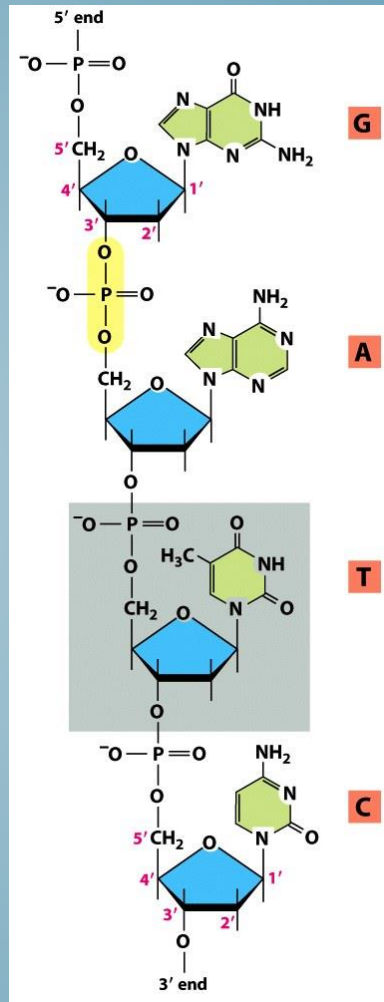
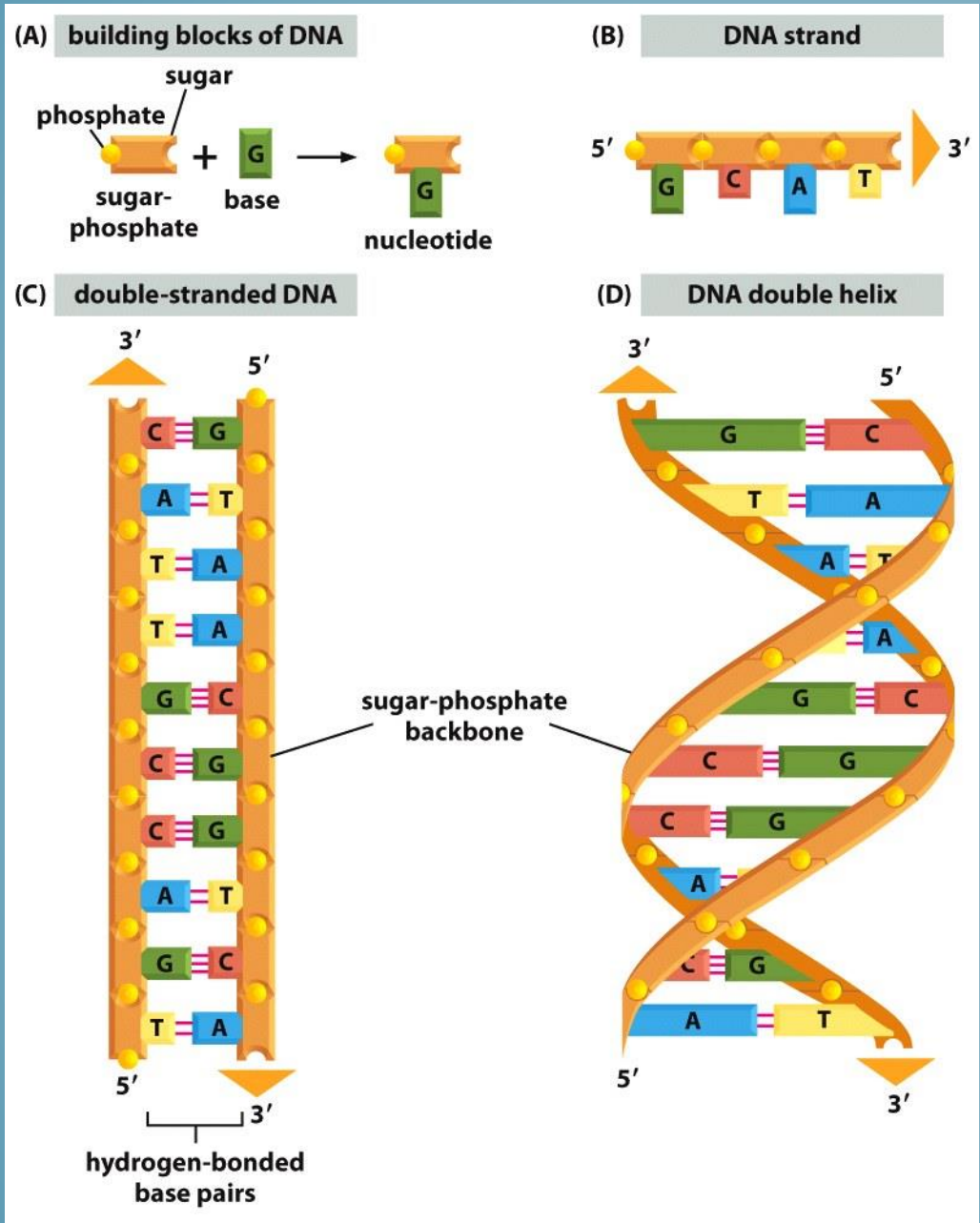


Figure 2-25 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

DNAは4種類のヌクレオチドで構成される



G グアニン

A アデニン

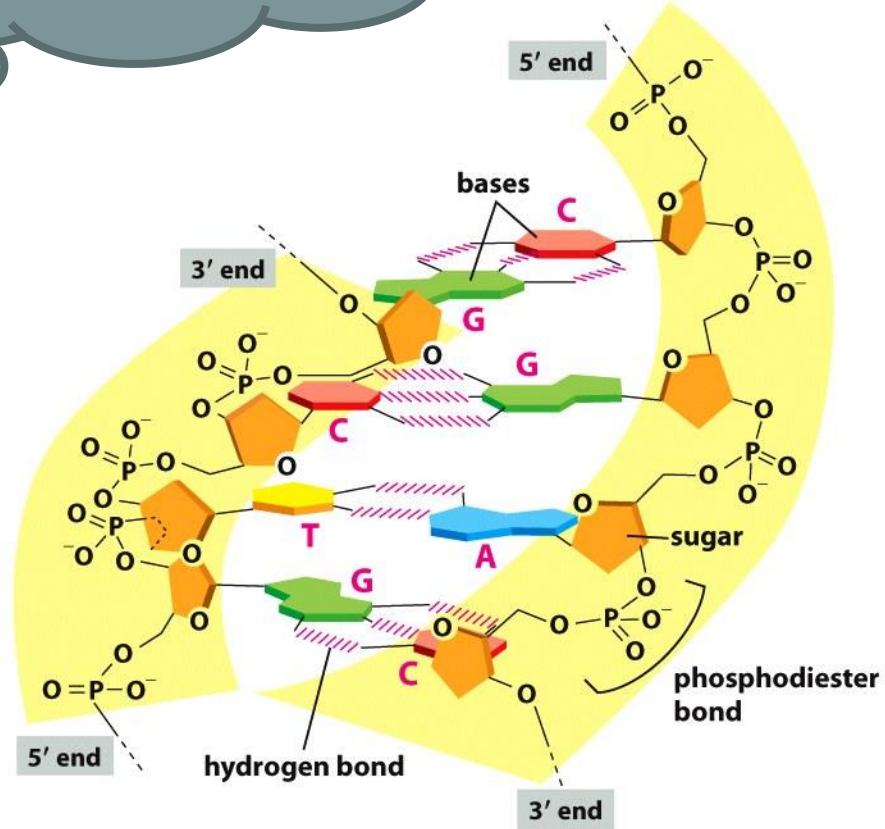
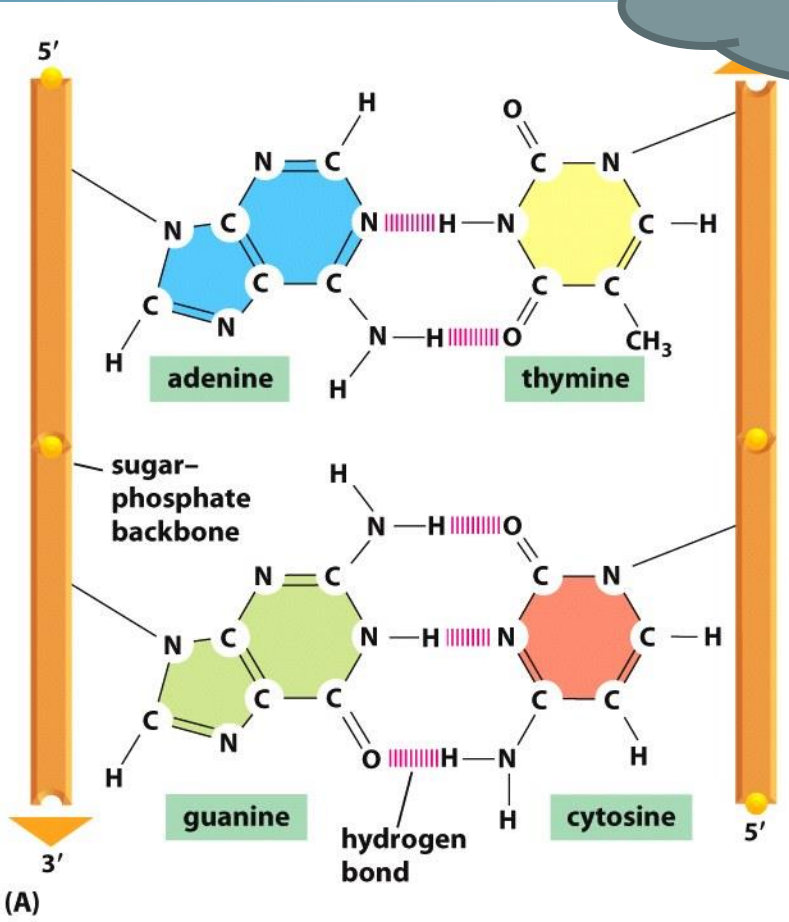
T チミン

C シトシン

Figure 5-2 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

DNA二重らせんの2本の鎖は相補的塩基対の水素結合によって結びついている

DNAにも向きがある。
5'側から3'側へ書くのが
慣例



5'→3'のDNAの相補鎖は、3'→5'と逆向きになっている。

DNAの形は一般的にはB型である。

B型DNA

10塩基対で一回転する。右巻き。
一回転あたりのらせん軸の長さは、 34 \AA 。
塩基対の間隔は 3.4 \AA 。
らせんの直径 20 \AA 。
大きさの違う主溝 (major groove) と副溝 (minor groove) がある。
ほぼ塩基対はほぼ平行に重なる。

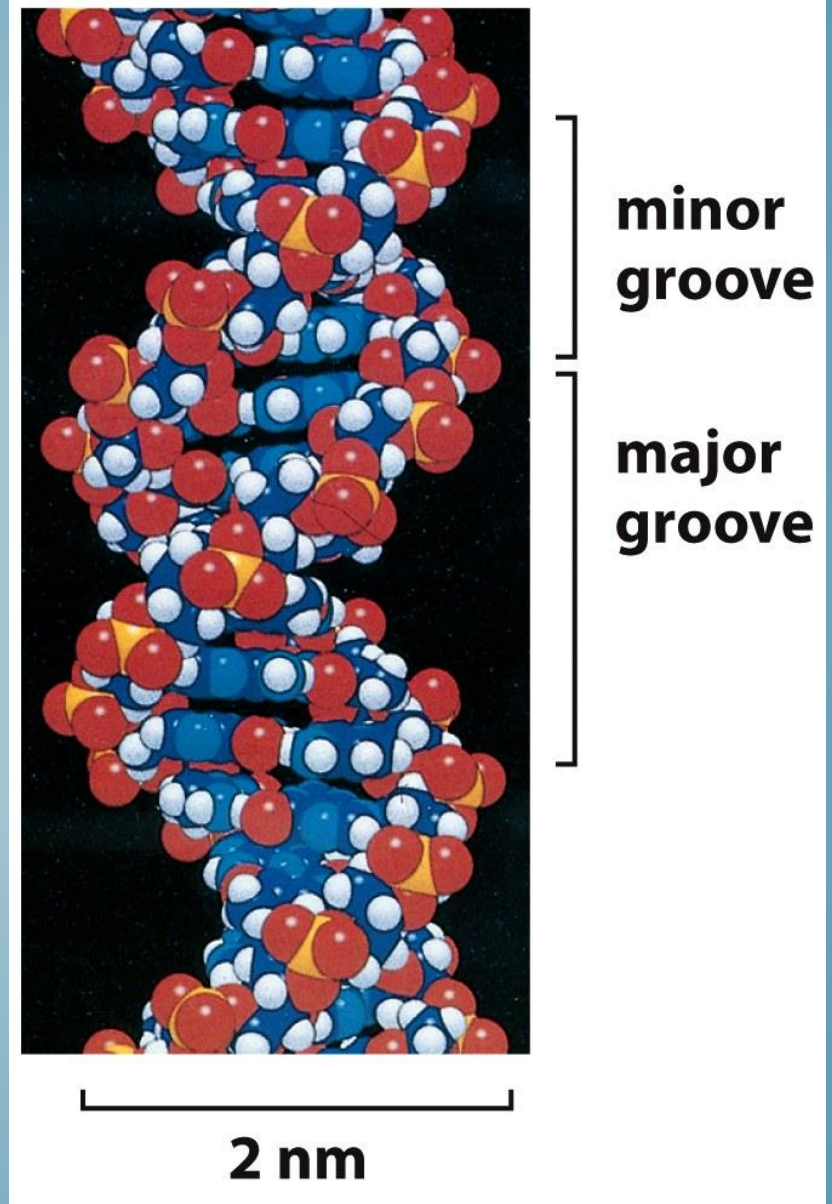
A型DNA

11塩基対で1回転する。右巻き。
一回転あたりのらせん軸の長さは、 26 \AA 。
塩基対の間隔は 32.6 \AA 。
らせんの直径 23 \AA 。
溝の大きさはほぼ同じ。
DNA鎖全体が曲がっている。

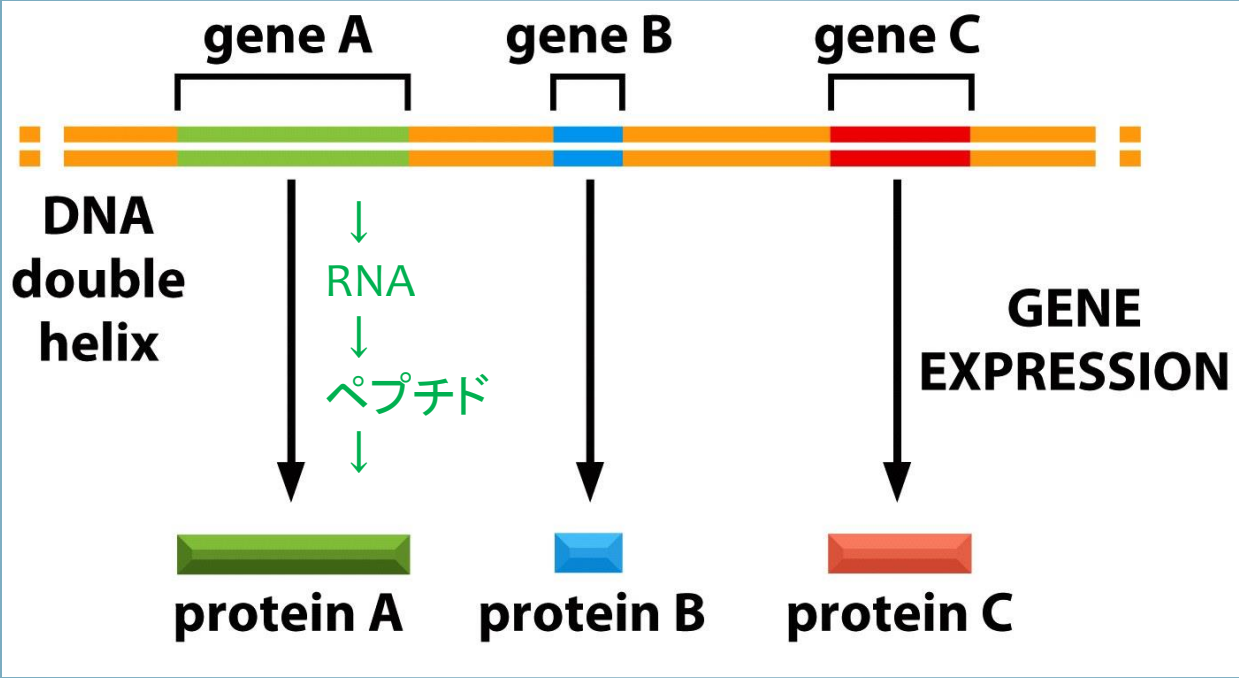
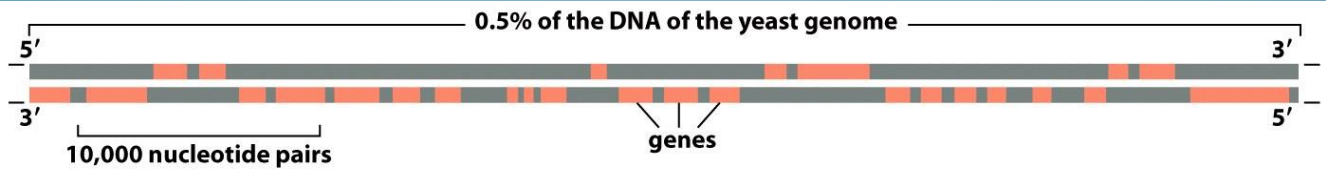
Z型DNA

12塩基対で一回転する。左巻き。
一回転あたりのらせん軸の長さは、 37 \AA 。
グアニンとシトシンの繰り返し構造でとる。

B型DNAモデル



遺伝子には蛋白質をつくるための情報が記されている

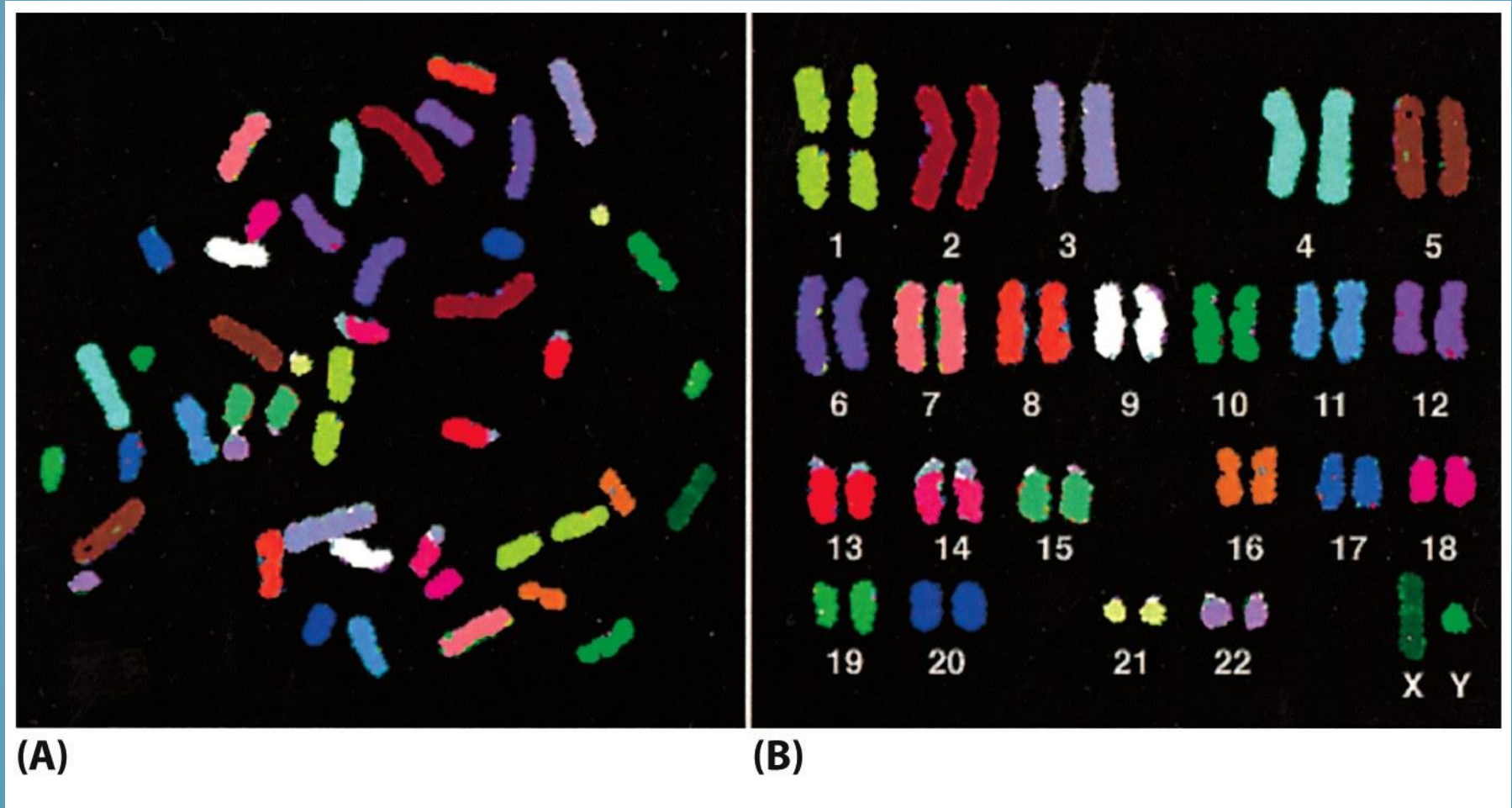


遺伝子は設計図であるため、必要な時に、必要な場所で、必要なたんぱく質を作るようになっている。
必要なものをつくるために、必要なところをRNAとしてコピーして(転写)、タンパク質を作る(翻訳)。

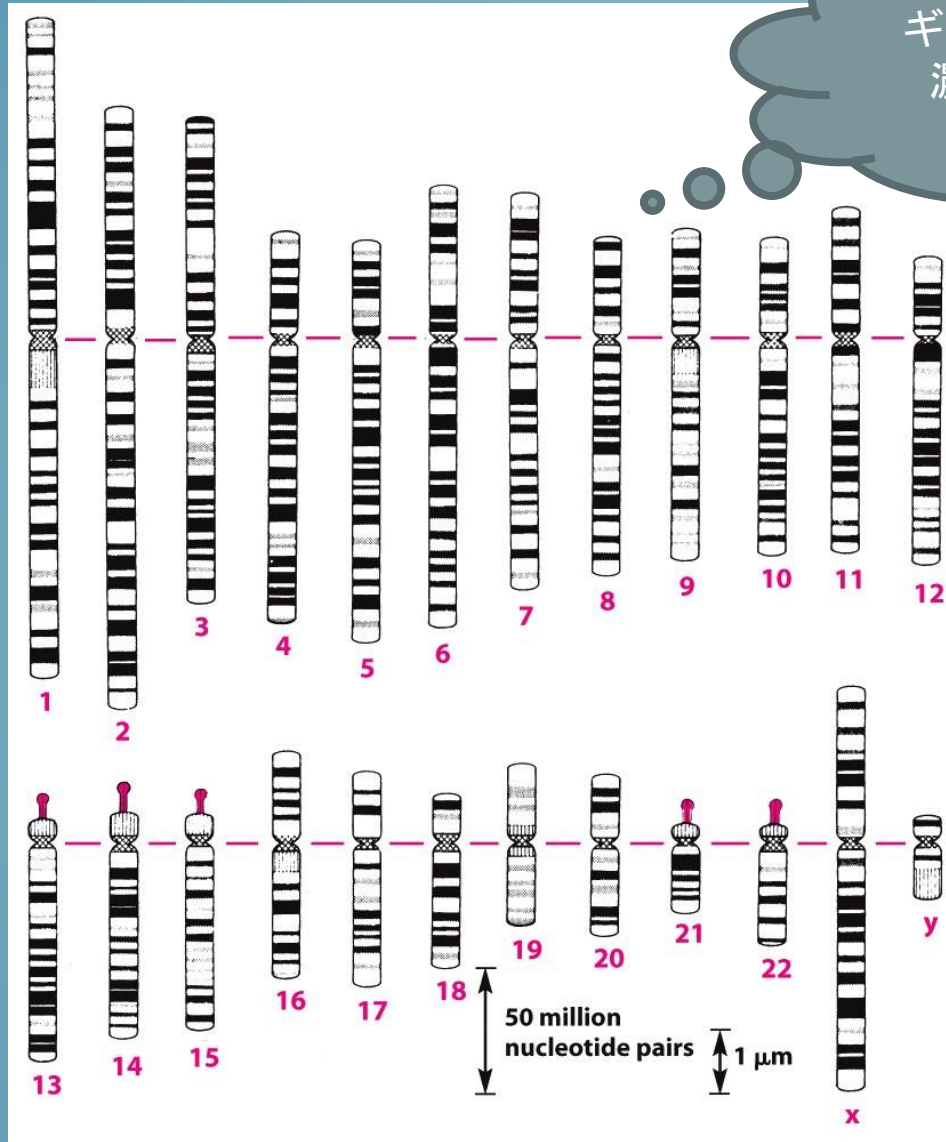
Figure 5-9 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

ヒトの染色体

3.2×10^9 個のヌクレオチドが24本の染色体に分配されている。
各染色体は染色体に特異的な蛍光分子で染色できる。



ヒトの染色体



ギムザ染色してパターン化
濃い色はAT含量が多い

<ギムザ染色>

事前準備として、血液をスライドガラスに塗布し、乾燥させたのち、メタノールによって2~3分間固定する。染色直前に、蒸留水1mlにつきギムザ液(メチレンブルー, エオシン, azure Bの混合液。エオシンについては染色の項を参照)を1~2滴の割合で混ぜ合わせ、直ちに染色を行う。染色時間は15~30分。染色が終了したら、軽く水洗したのち、再び乾燥させて封じる。

染色体異常

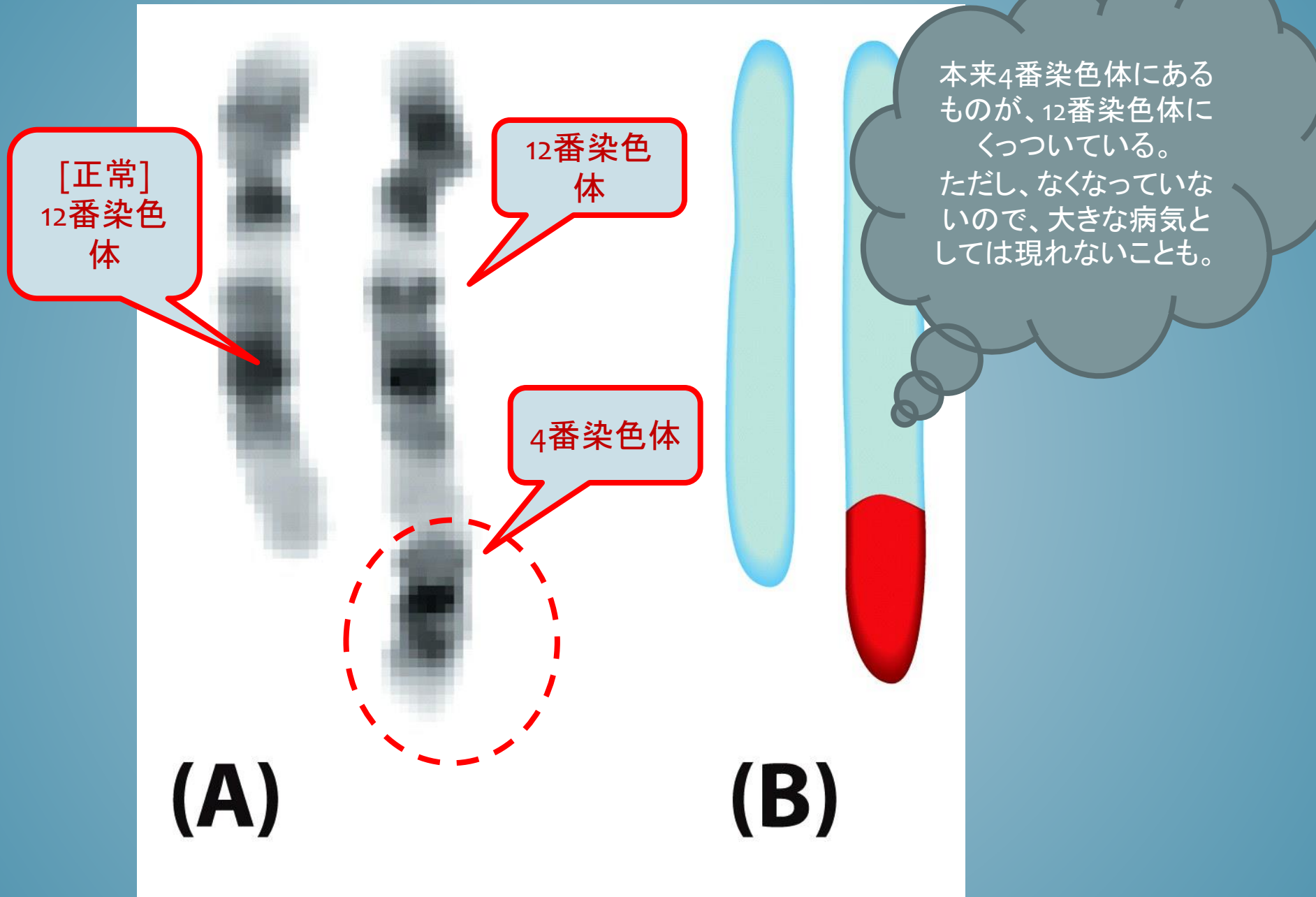


Figure 5-12 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

ヌクレオソームが染色体構造の基本単位である

長い長いDNAを収納するために、ヒストンというたんぱく質に巻き付けて絡みあわないように収納されている。

Linker DNAの部分は、DNA消化酵素がアクセス可能であるため、ヒストン-DNA複合体一部を切り取る場合は、DNA切断酵素 (DNase)によって切断される。

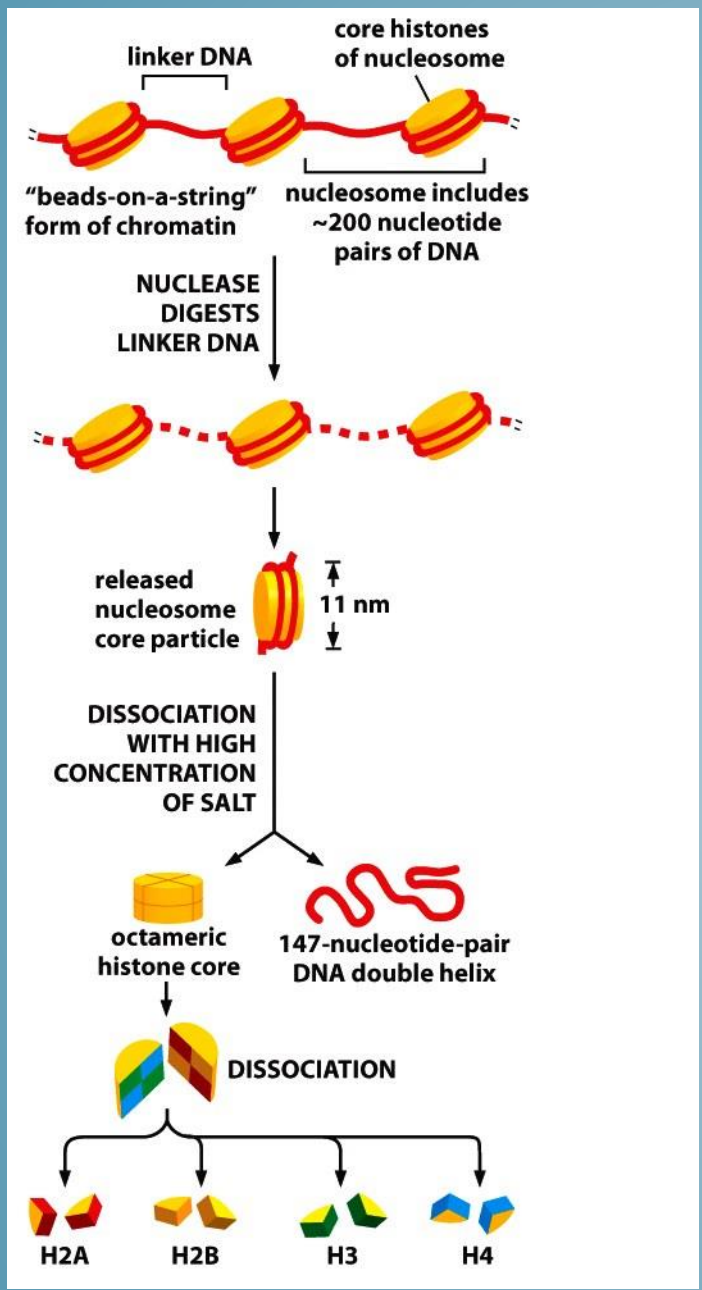


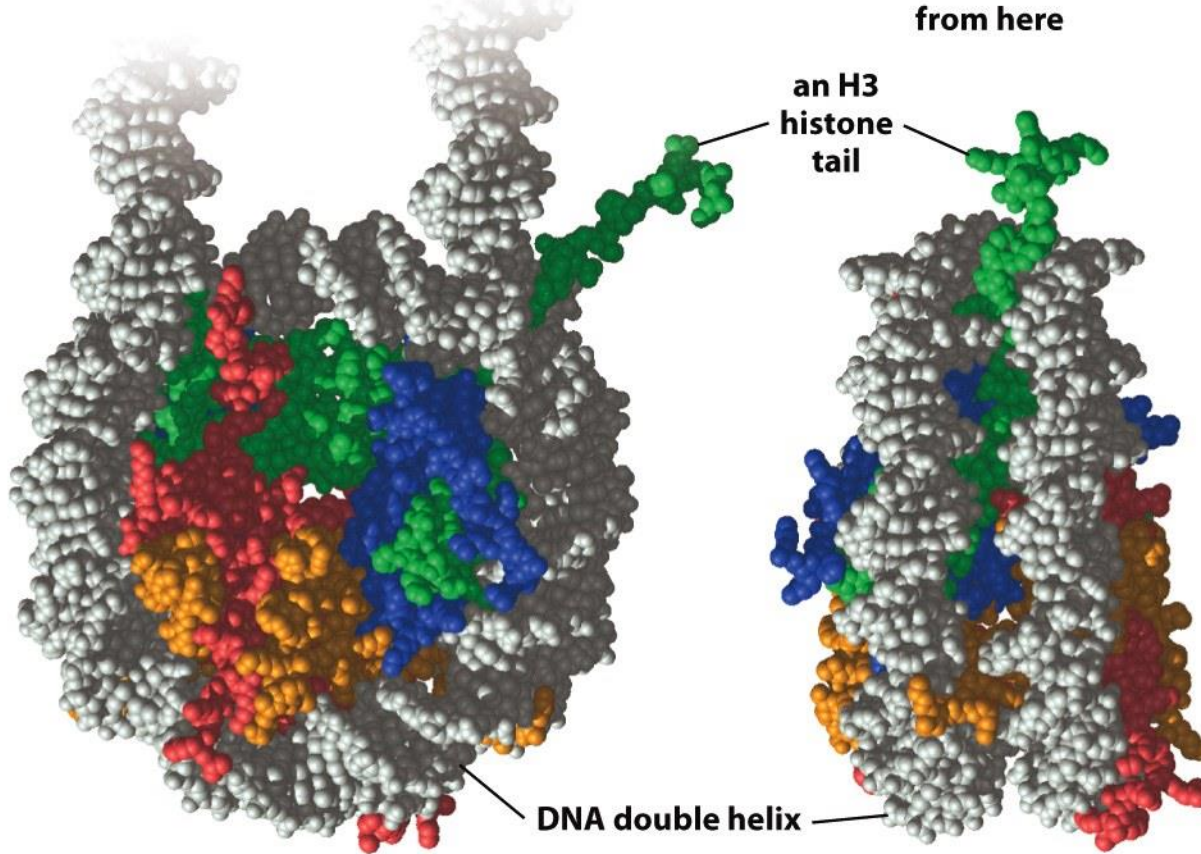
Figure 5-22 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

viewed
from here



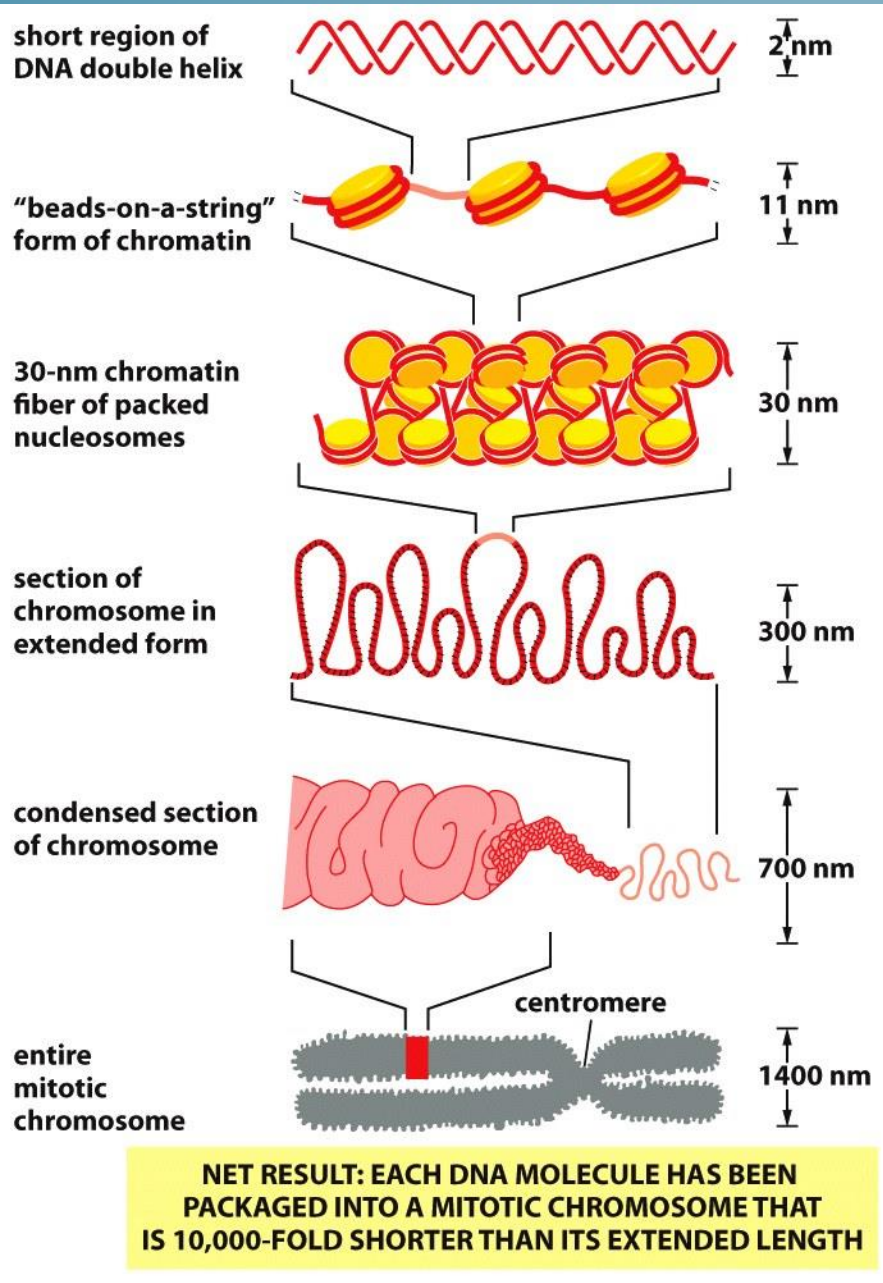
DNAとヒストンの複合体モデル

viewed
from here



● histone H2A ● histone H2B ● histone H3 ● histone H4

染色体のDNAは何段階にも折りたたまれる



DNAがヒストンに巻き付き

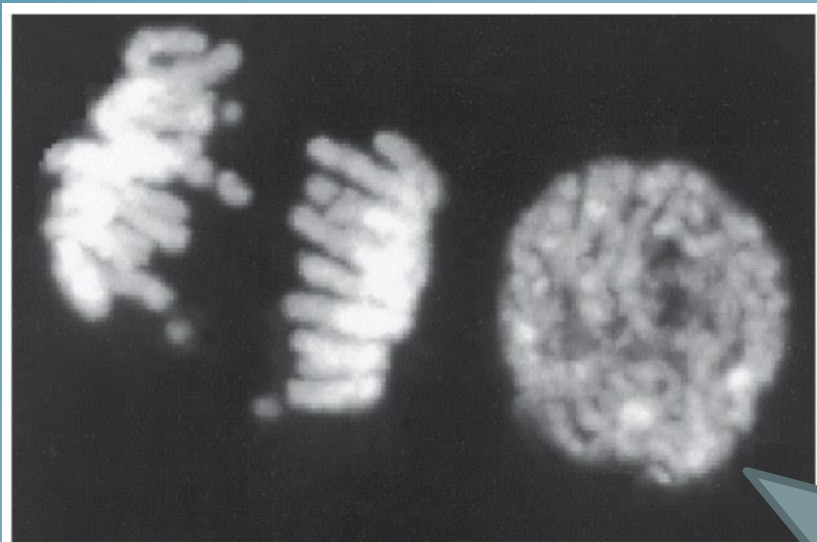
DNAの巻き付いたヒストンが折りたたまれ

折りたたまれたヒストンがさらに折りたたまれ、

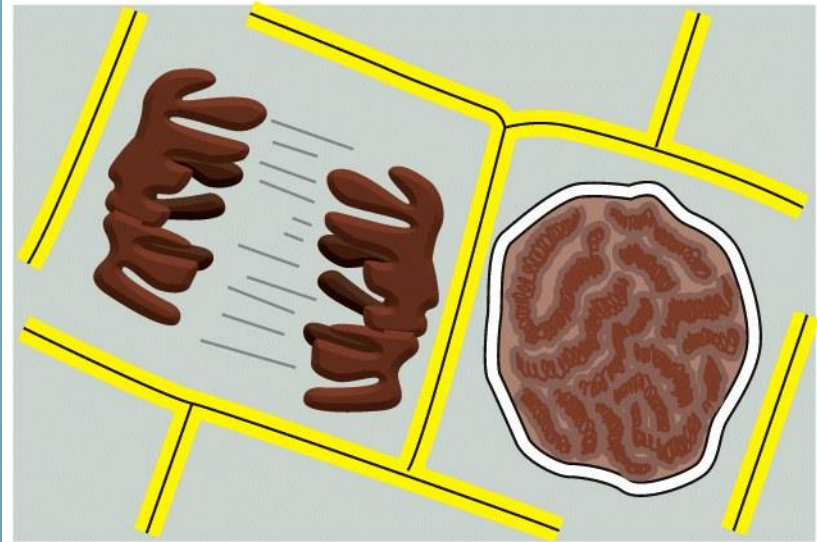
染色体の形へとになっていく

Figure 5-25 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

細胞の分裂に先立って染色体が現れる



(A) **dividing cell** **nondividing cell**



(B) 10 μm

染色体は左図のように、細胞分裂に備えて凝縮した時だけ、光学顕微鏡ではっきりした構造物として見える。

分裂中ではない右側の細胞にも全く同じ染色体が含まれているが、長く伸びている構造をとっており、光学顕微鏡ではそれぞれの染色体を区別できない。

DNAから蛋白質へ

DNAは3塩基で1つのアミノ酸をコードする。
これらがつながり、蛋白質をつくっていく。

ある蛋白質のアミノ酸配列が配置し終わったら、
最後にSTOPを示す3塩基を配置し、
その蛋白質の終了となる。

一塩基変異したら、アミノ酸が本来とは別のものになり、
蛋白質が変異を持つことになる。
一塩基の変異は最初から起こっていたり(遺伝病)、
突然変異(生活習慣ストレスなど)で起こったりする。

アミノ酸はタンパク質の構成単位である

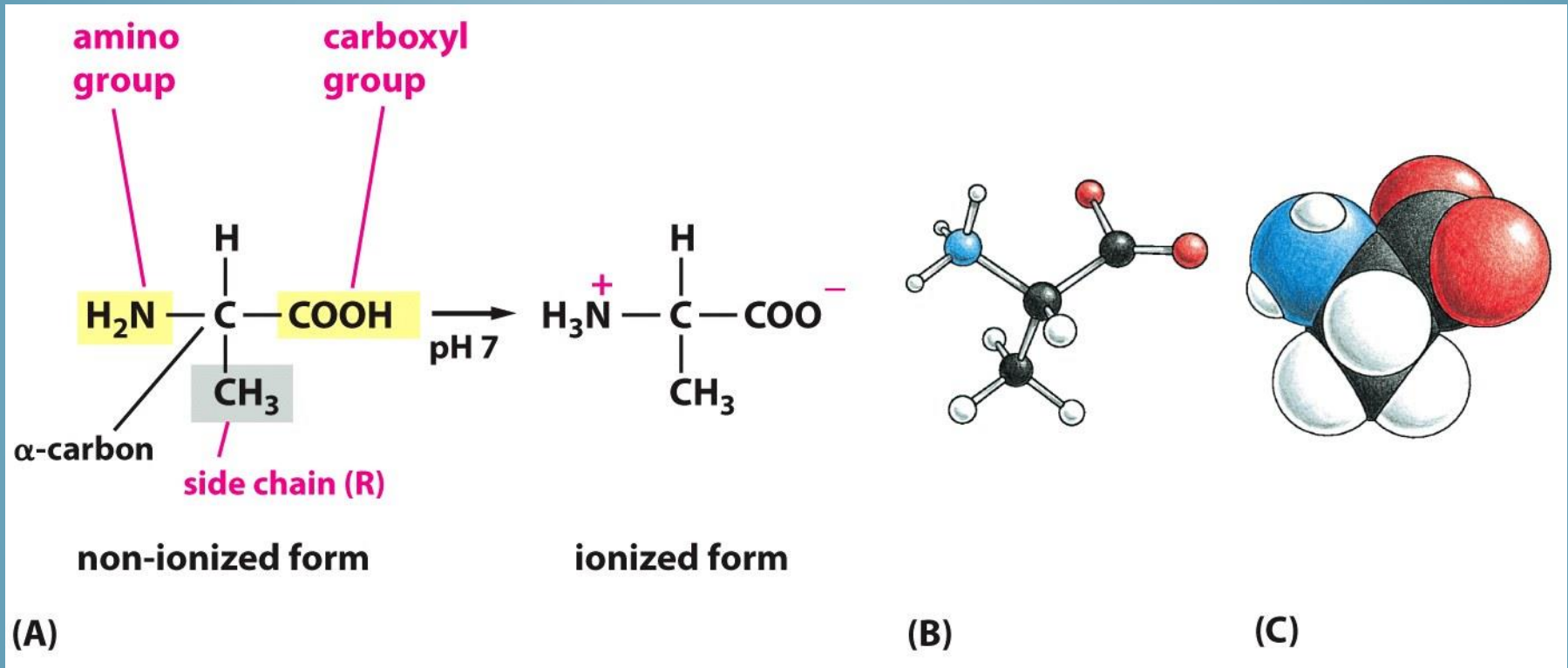


Figure 2-21 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

タンパク質の形はアミノ酸配列によって決まる

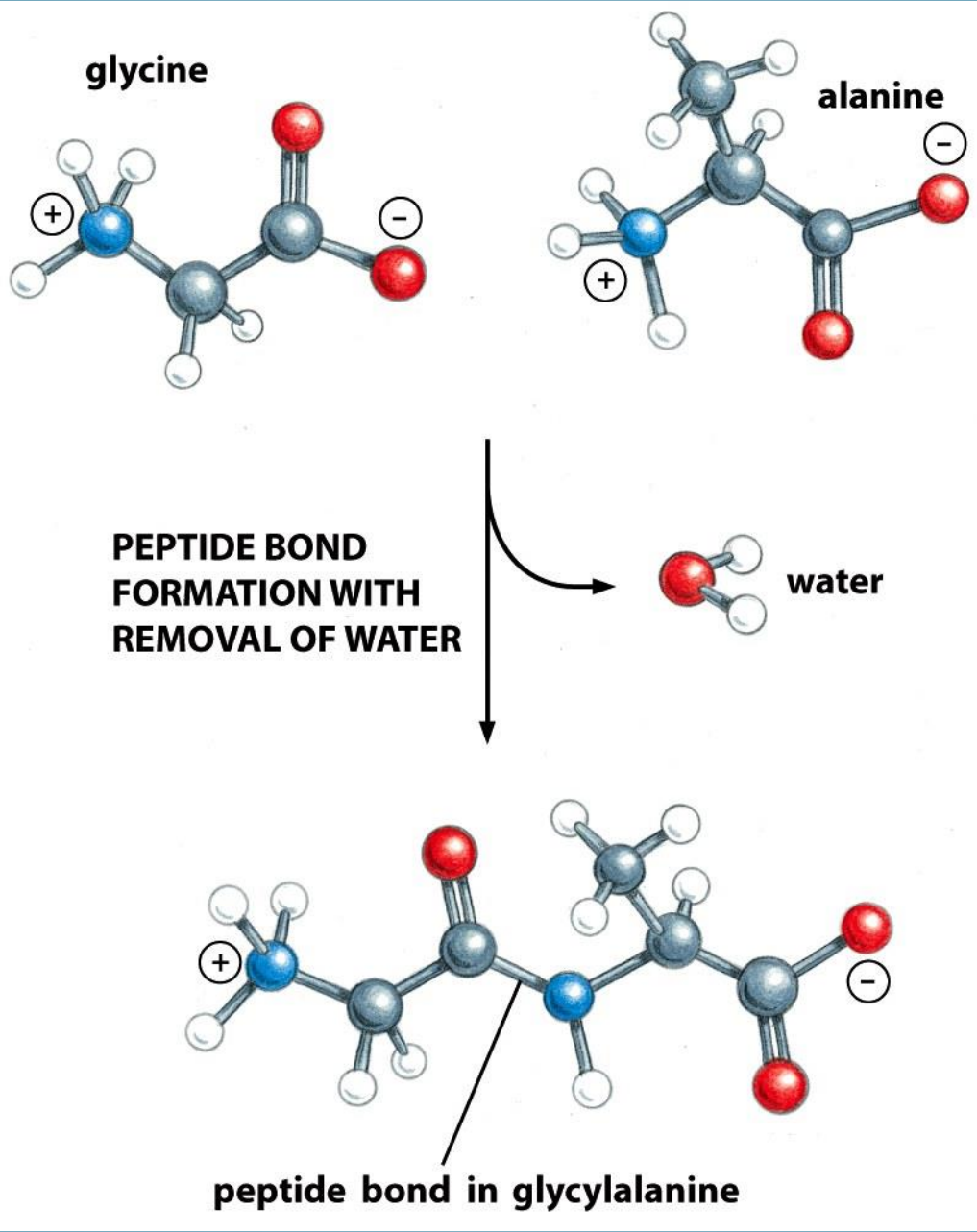


Figure 4-1 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

タンパク質はアミノ酸が結合したポリペプチド鎖からなる

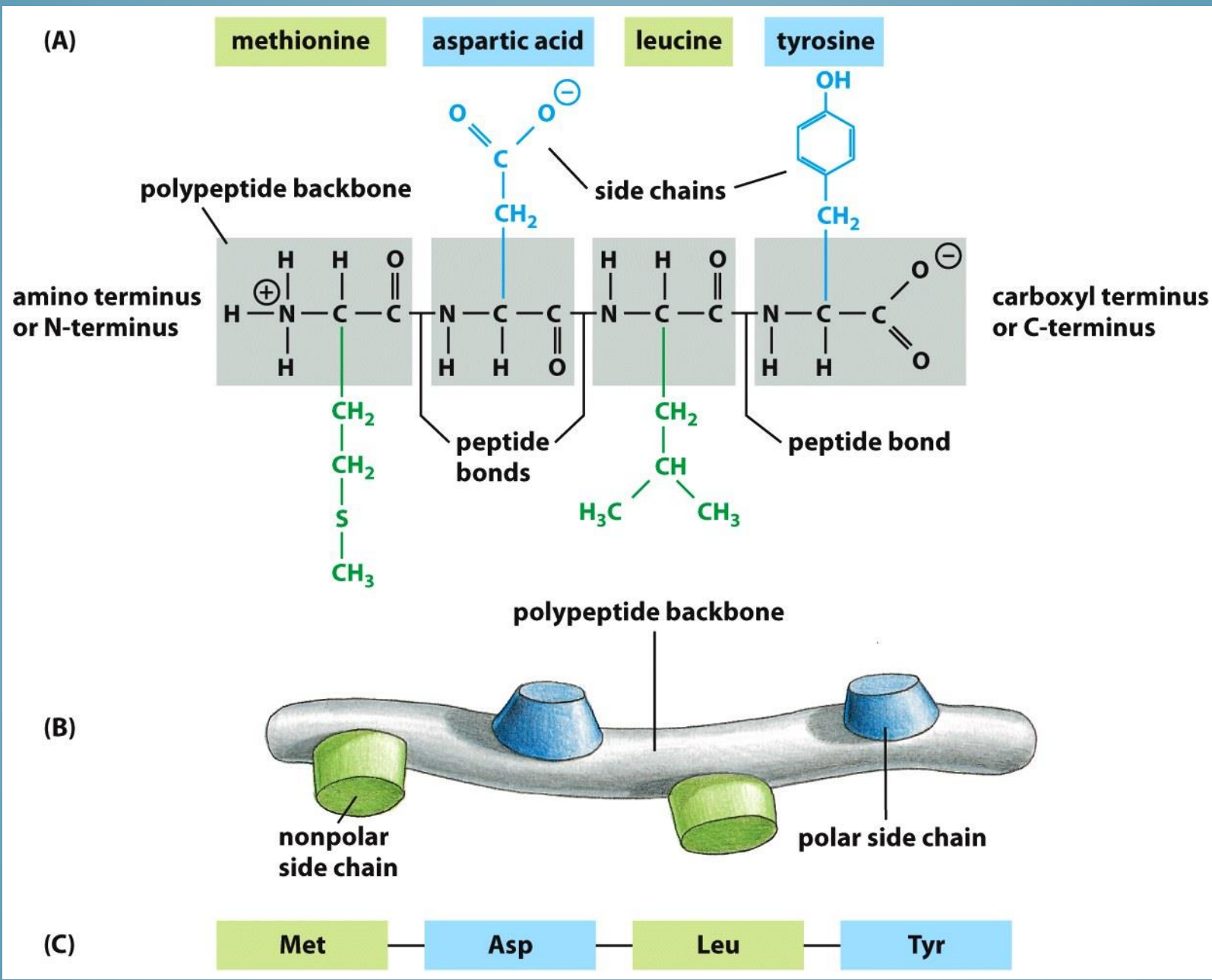


Figure 4-2 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

DNA遺伝暗号表

3塩基で1つのアミノ酸を意味する。「STOP」は、遺伝子終了の意味で最後に配置される。

※実際は、RNAなのでT→Uとなり、本来はRNAコドン表といいます。

1文字目	2文字目								3文字目
	T		C		A		G		
T	TTT	Phe (F)	TCT	Ser (S)	TAT	Tyr (Y)	TGT	Cys (C)	T
	TTC		TCC		TAC		TGC		C
	TTA	Leu (L)	TCA		TAA	STOP	TGA	STOP	A
	TTG		TCG		TAG		TGG	Trp (W)	G
C	CTT	Leu (L)	CCT	Pro (P)	CAT	His (H)	CGT	Arg (R)	T
	CTC		CCC		CAC		CGC		C
	CTA		CCA		CAA	Gln (Q)	CGA		A
	CTG		CCG		CAG		CGG		G
A	ATT	Ile (I)	ACT	Thr (T)	AAT	Asn (N)	AGT	Ser (S)	T
	ATC		ACC		AAC		AGC		C
	ATA		ACA		AAA	Lys (K)	AGA	Arg (R)	A
	ATG*	Met (M)	ACG		AAG		AGG		G
G	GTT	Val (V)	GCT	Ala (A)	GAT	Asp (D)	GGT	Gly (G)	T
	GTC		GCC		GAC		GGC		C
	GTA		GCA		GAA	Glu (E)	GGA		A
	GTG		GCG		GAG		GGG		G

タンパク質に含まれる20種類のアミノ酸

酸性のアミノ酸、塩基性のアミノ酸、中性のアミノ酸
親水的なアミノ酸、疎水的なアミノ酸と様々な特性のアミノ酸が存在する。

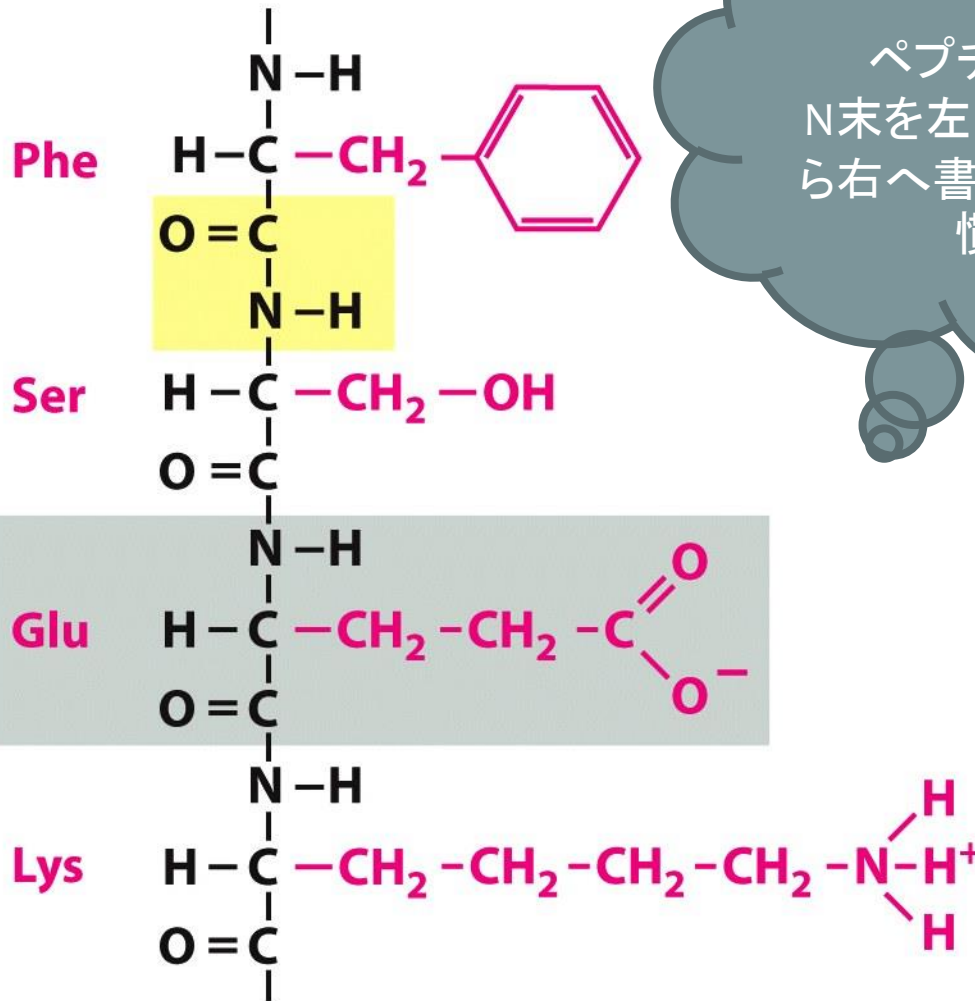
AMINO ACID				AMINO ACID			
		SIDE CHAIN				SIDE CHAIN	
Aspartic acid	Asp	D	negative	Alanine	Ala	A	nonpolar
Glutamic acid	Glu	E	negative	Glycine	Gly	G	nonpolar
Arginine	Arg	R	positive	Valine	Val	V	nonpolar
Lysine	Lys	K	positive	Leucine	Leu	L	nonpolar
Histidine	His	H	positive	Isoleucine	Ile	I	nonpolar
Asparagine	Asn	N	uncharged polar	Proline	Pro	P	nonpolar
Glutamine	Gln	Q	uncharged polar	Phenylalanine	Phe	F	nonpolar
Serine	Ser	S	uncharged polar	Methionine	Met	M	nonpolar
Threonine	Thr	T	uncharged polar	Tryptophan	Trp	W	nonpolar
Tyrosine	Tyr	Y	uncharged polar	Cysteine	Cys	C	nonpolar

POLAR AMINO ACIDS
(hydrophilic)

NONPOLAR AMINO ACIDS
(hydrophobic)

アミノ酸はタンパク質の構成単位である

N-terminus of polypeptide chain N末端



ペプチドには向きがある。
ペプチド表記もN末を左に置き、左から右へ書いていくのが慣例。

C-terminus of polypeptide chain C末端

Figure 2-22 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

3種類の非共有結合が蛋白質を折りたたむのに利用される

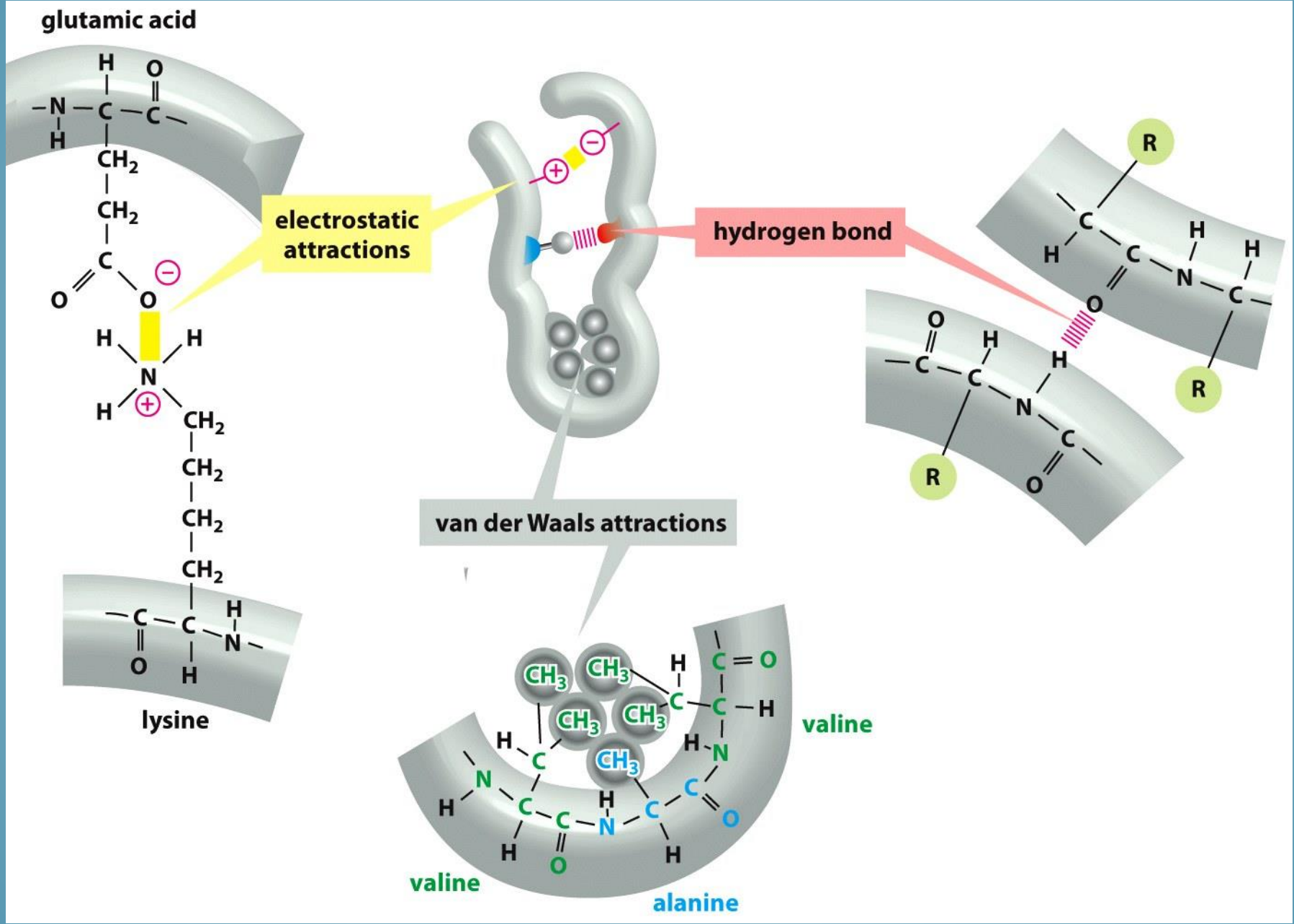
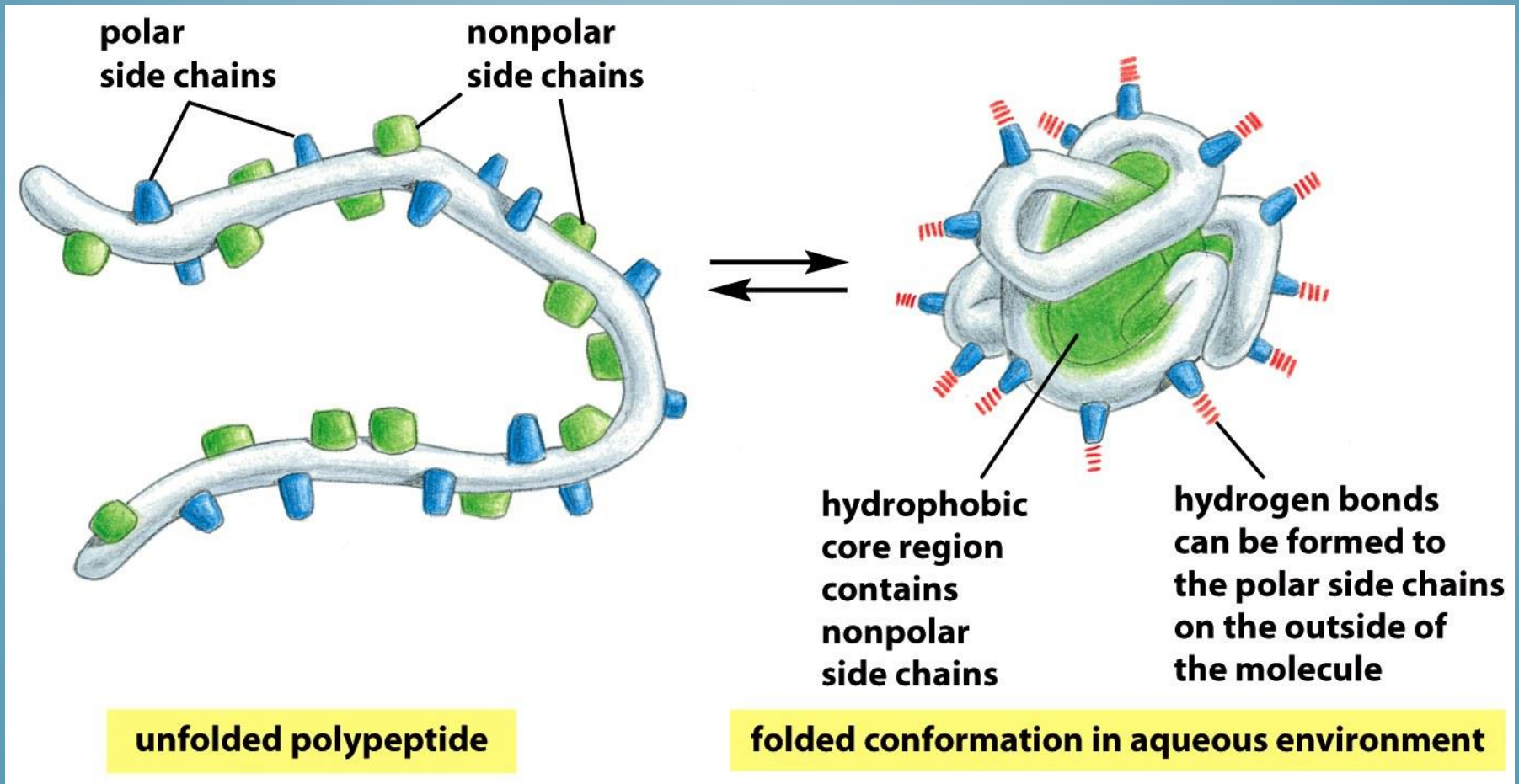


Figure 4-4 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

疎水力がタンパク質を密な立体構造に折りたたむ

ヒトの70%は水分であるため、親水基が外(=水分)と接するように、疎水的な官能基はタンパク質の内側に配置される。



タンパク分子の水素結合は折りたたまれた構造を安定化するのに助ける

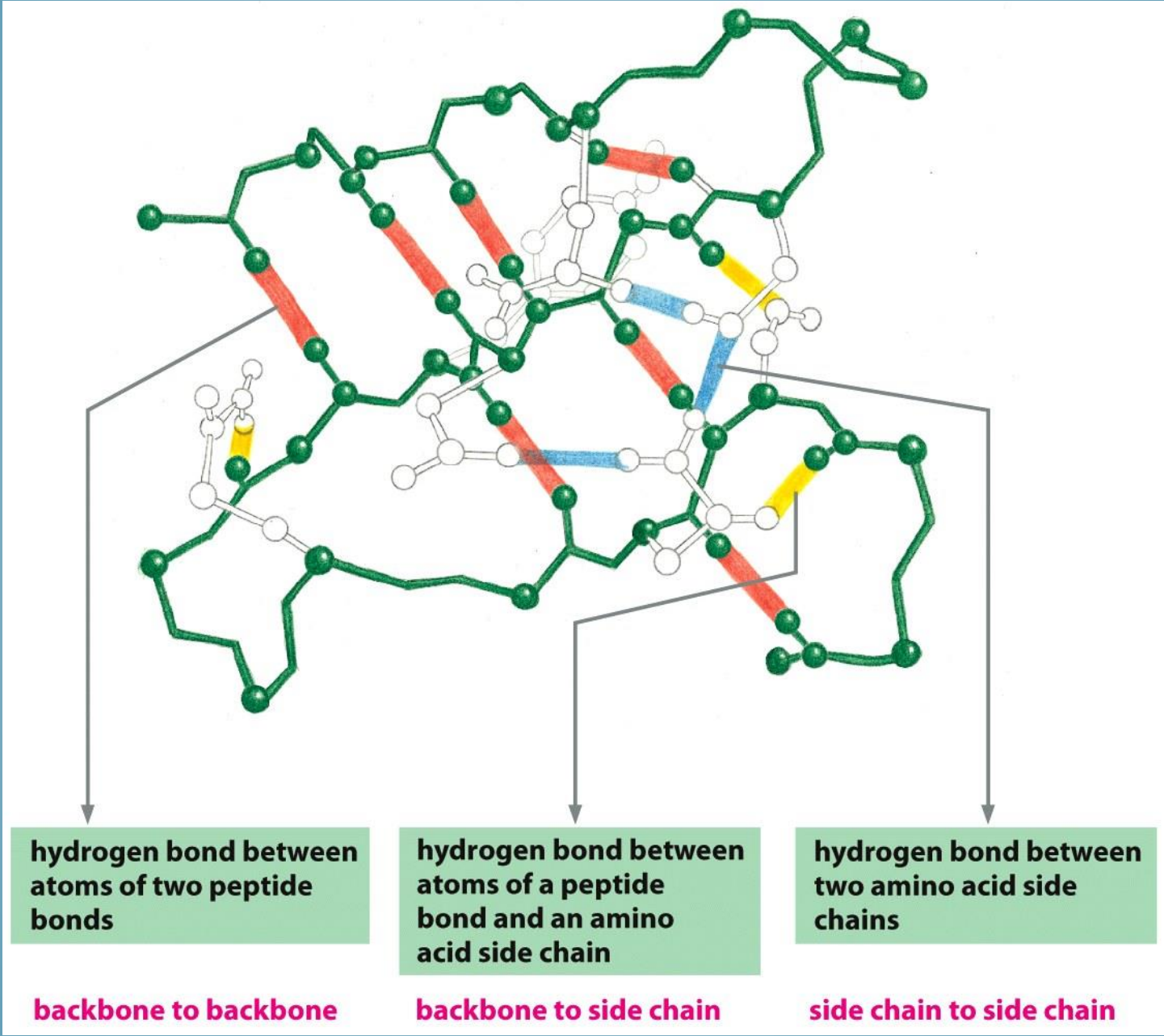
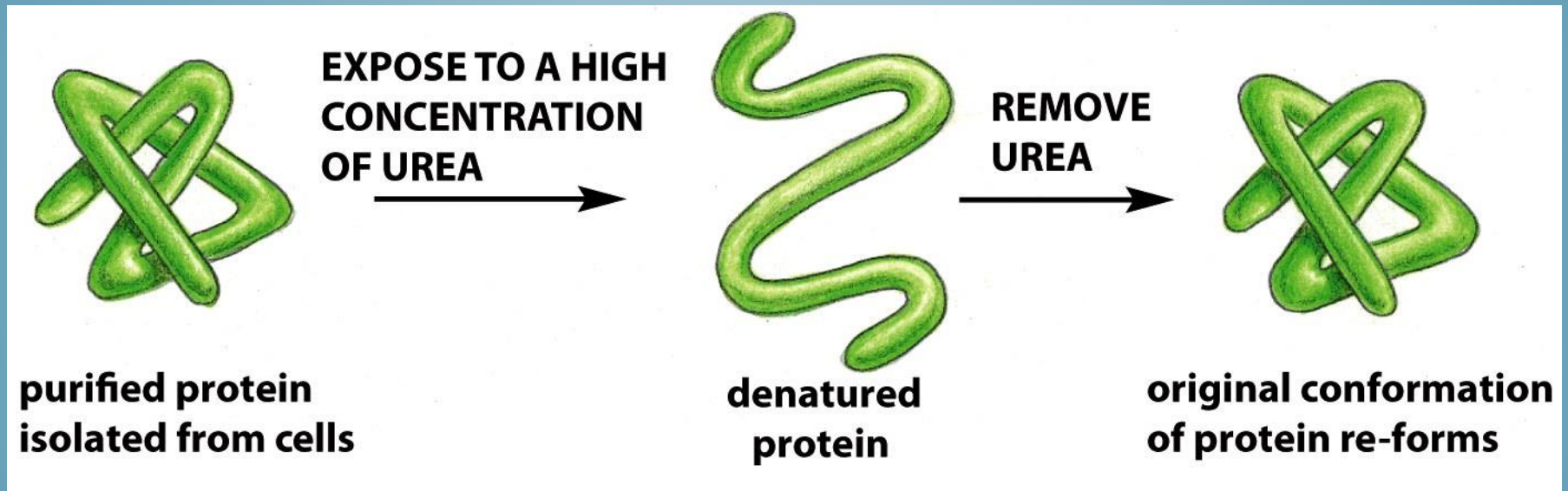


Figure 4-6 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

変性したタンパク質はたたみなおされる

尿素はタンパク質の変性剤であり、折りたたまれた蛋白質をほどくが、尿素を除くと、変性したタンパク質は再び折りたたまれる。



タンパク質にはいろいろな形と大きさがある

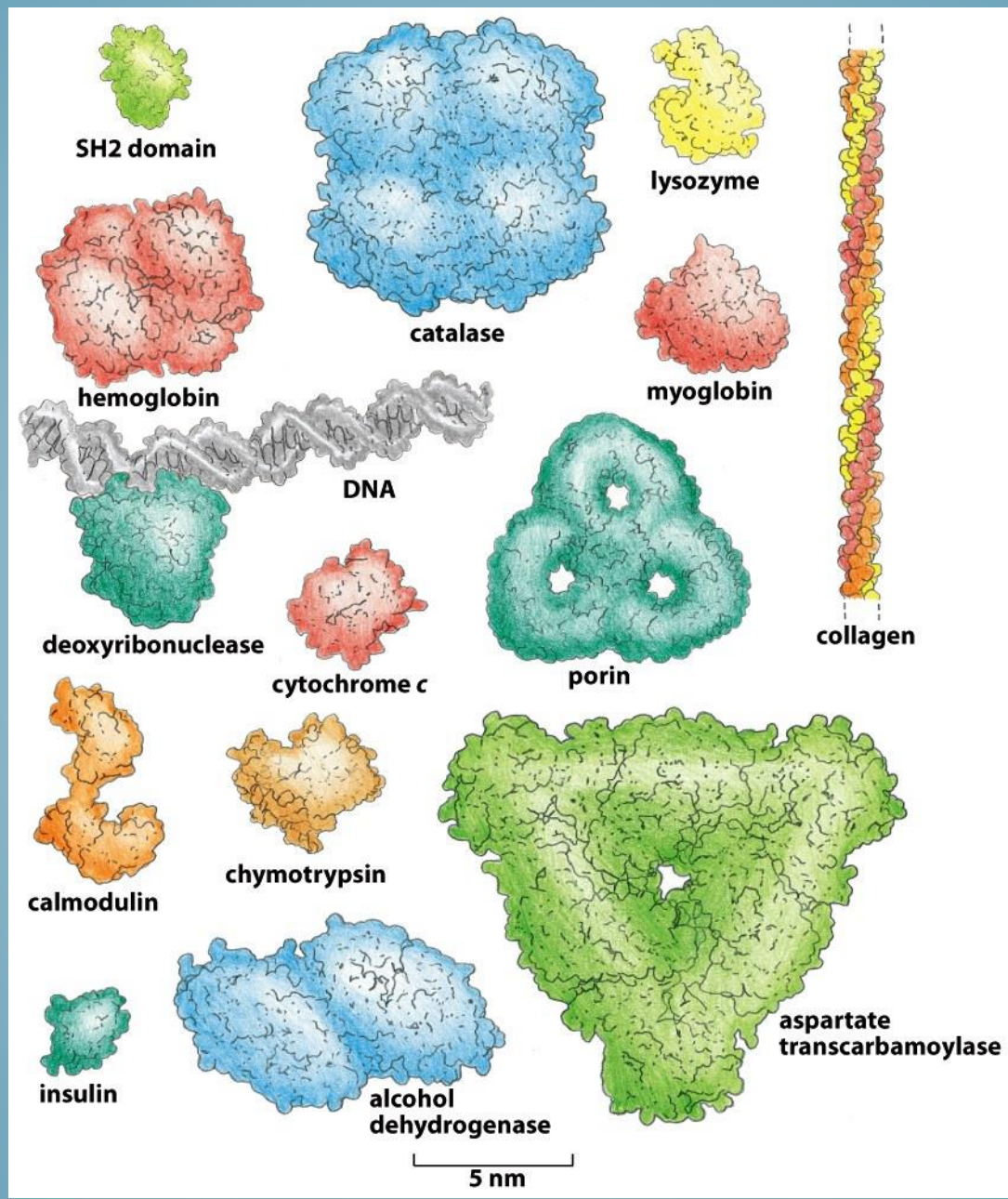
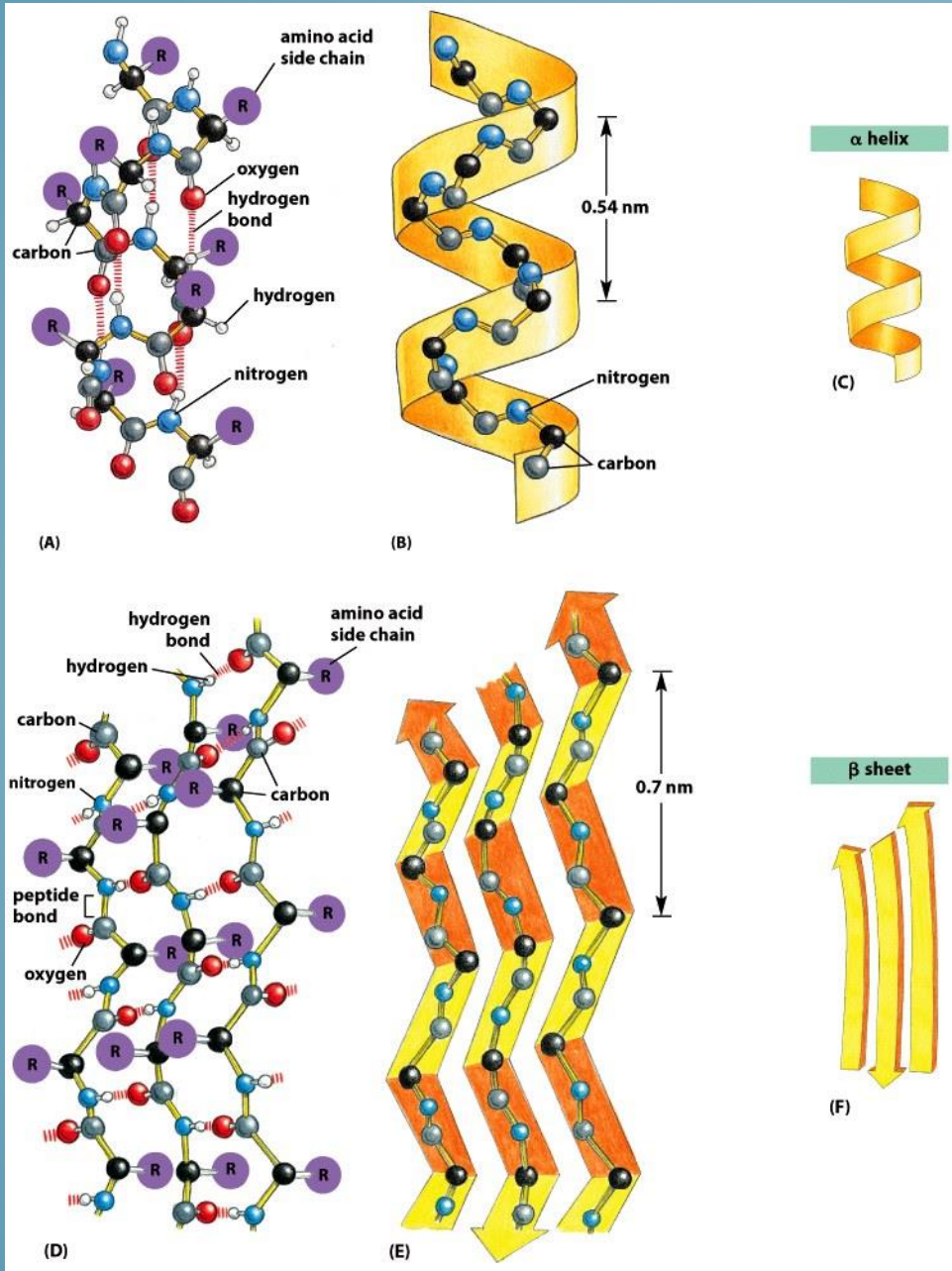


Figure 4-9 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

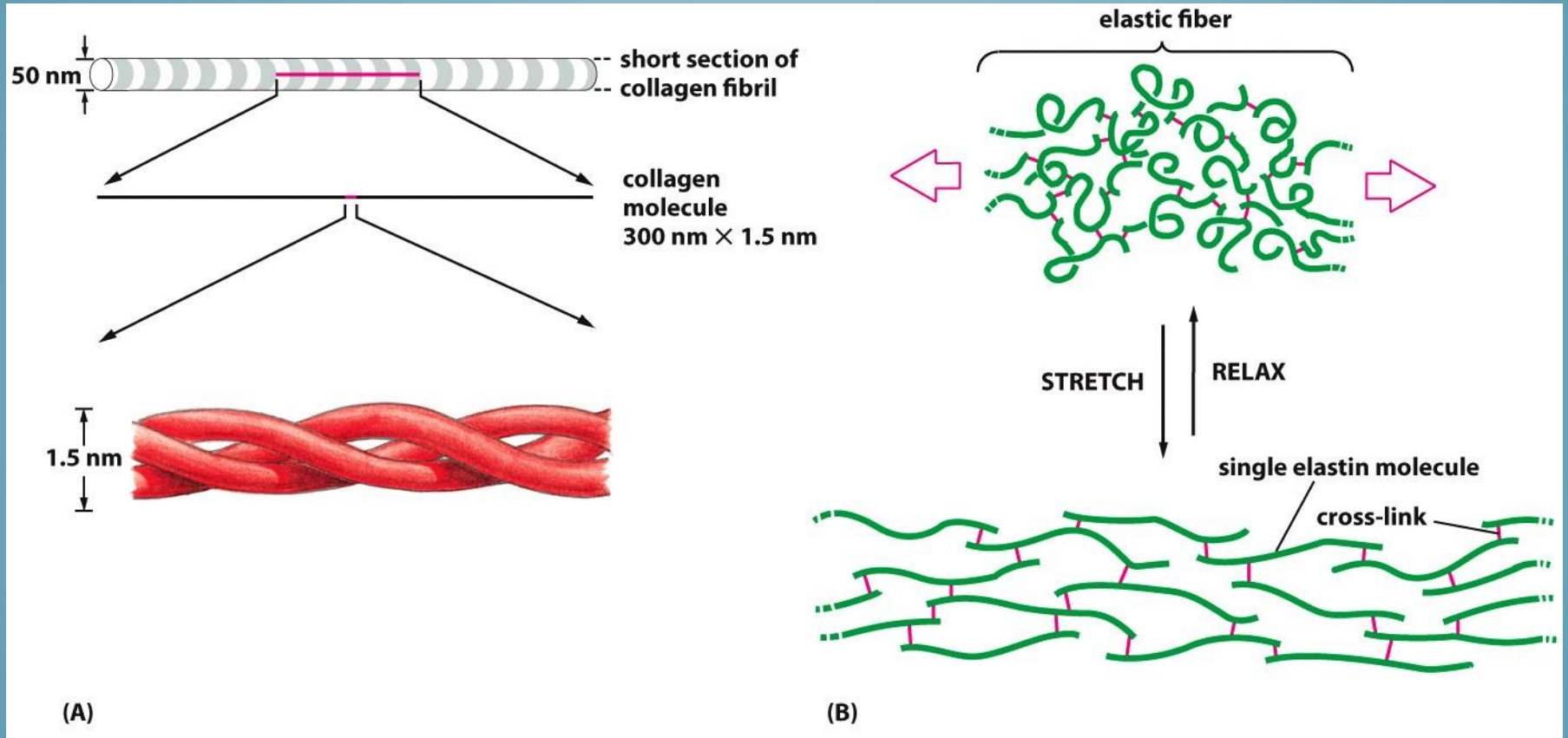
α ヘリックスと β シートはタンパク質にみられる普遍的な折りたたみパターン



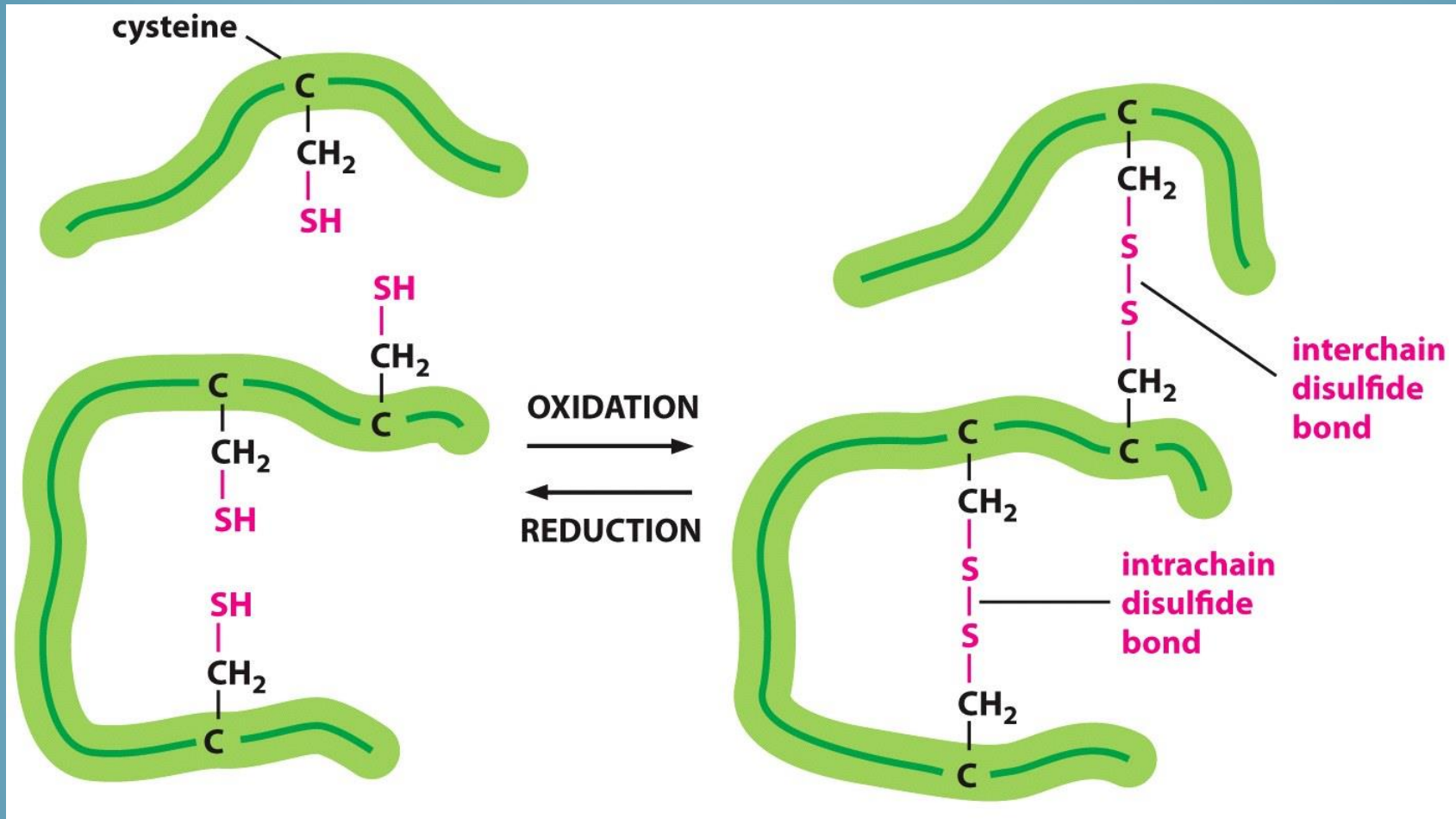
α -ヘリックス、 β -シートは円偏光二色性(CD)スペクトルで、特徴的なピークを示すため、CDスペクトル測定で容易に構造を識別できる。

Figure 4-10 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

コラーゲン: 繊維状蛋白質

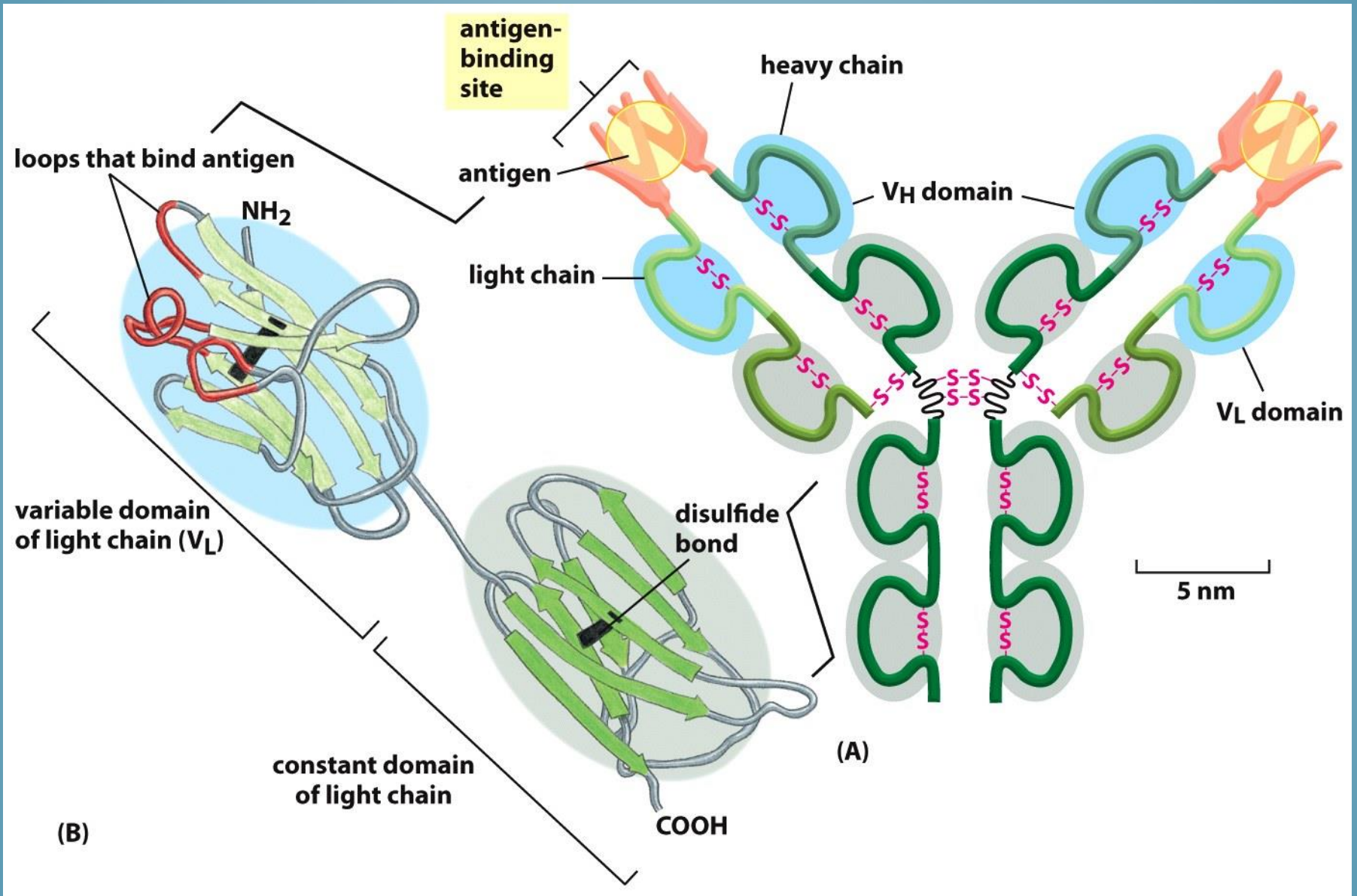


ジスルフィド結合はタンパク質構造を安定化する

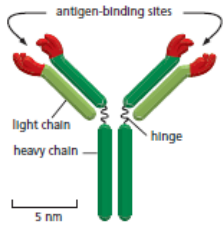


生体内では、ジスルフィド結合を酸化したり、還元したりして、タンパク質同士をくっつけたり、離したりする。タンパク質分子内でもジスルフィド結合を酸化したり、還元したりして、形をコンパクトにしたり、ほどいたりする。

抗体はたくさんのジスルフィド結合でその形が維持されている

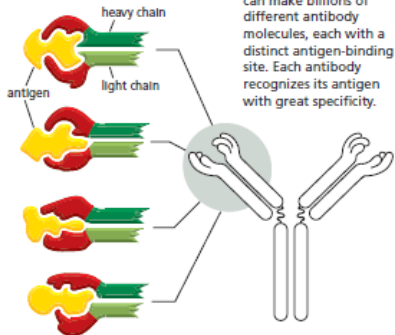


THE ANTIBODY MOLECULE



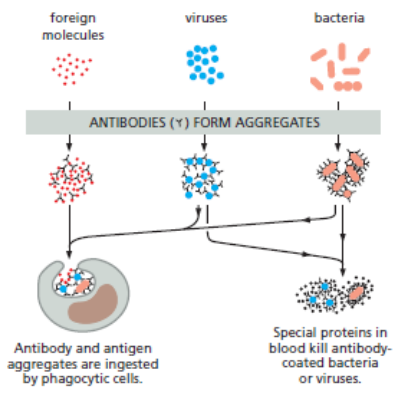
Antibodies are proteins that bind very tightly to their targets (antigens). They are produced in vertebrates as a defense against infection. Each antibody molecule is made of two identical light chains and two identical heavy chains, so the two antigen-binding sites are identical.

ANTIBODY SPECIFICITY



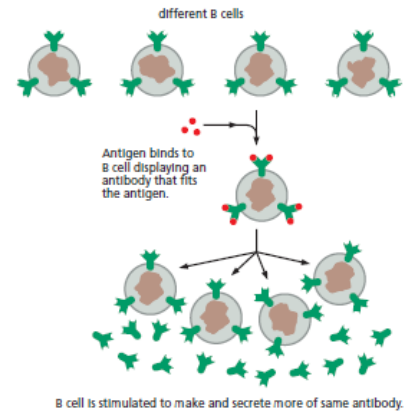
An individual animal can make billions of different antibody molecules, each with a distinct antigen-binding site. Each antibody recognizes its antigen with great specificity.

ANTIBODIES DEFEND US AGAINST INFECTION



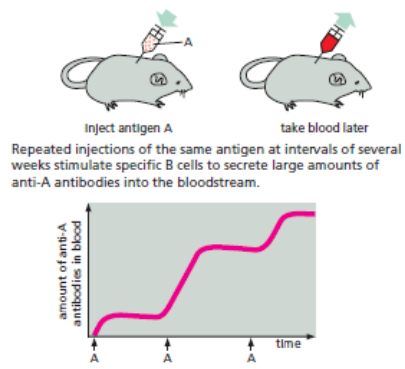
B CELLS PRODUCE ANTIBODIES

Antibodies are made by a class of white blood cells called B lymphocytes, or B cells. Each resting B cell carries a different membrane-bound antibody molecule on its surface that serves as a receptor for recognizing a specific antigen. When antigen binds to this receptor, the B cell is stimulated to divide and to secrete large amounts of the same antibody in a soluble form.



RAISING ANTIBODIES IN ANIMALS

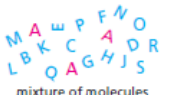
Antibodies can be made in the laboratory by injecting an animal (usually a mouse, rabbit, sheep, or goat) with antigen A.



Because many different B cells are stimulated by antigen A, the blood will contain a variety of anti-A antibodies, each of which binds A in a slightly different way.

USING ANTIBODIES TO PURIFY MOLECULES

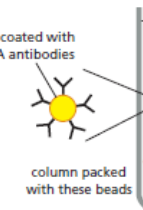
IMMUNOPRECIPITATION



add specific anti-A antibodies

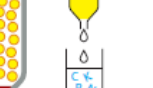
collect aggregate of A molecules and anti-A antibodies by centrifugation

IMMUNOAFFINITY COLUMN CHROMATOGRAPHY



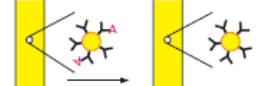
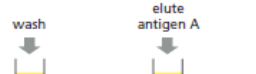
discard flow-through

mixture of molecules



wash

elute antigen A



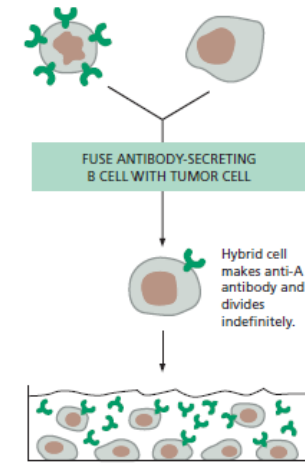
collect pure antigen A

MONOCLONAL ANTIBODIES

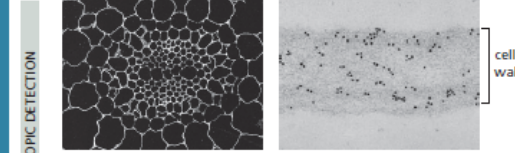
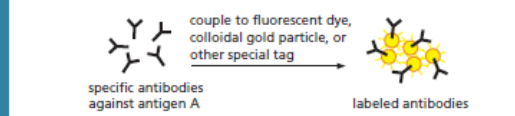
Large quantities of a single type of antibody molecule can be obtained by fusing a B cell (taken from an animal injected with antigen A) with a tumor cell. The resulting hybrid cell divides indefinitely and secretes anti-A antibodies of a single (monoclonal) type.

B cell from animal injected with antigen A makes anti-A antibody but does not divide forever.

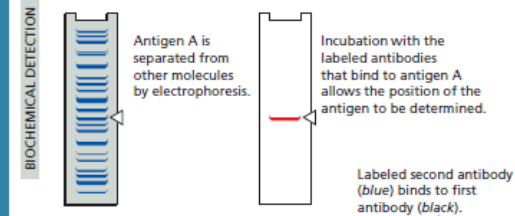
Tumor cell from cell culture divides indefinitely but does not make antibody.



USING ANTIBODIES AS MOLECULAR TAGS

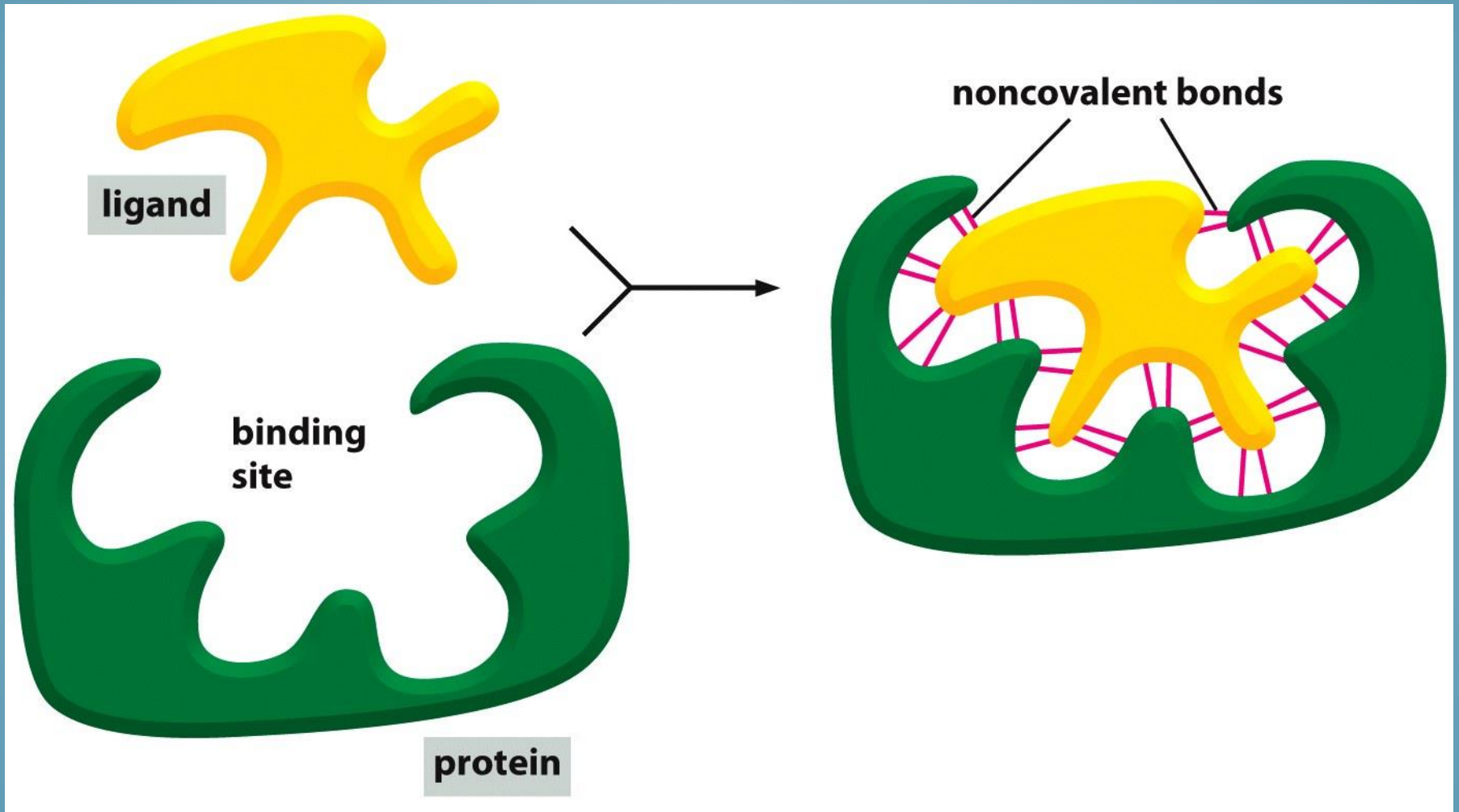


Fluorescent antibody binds to antigen A in tissue and is detected by fluorescence in a light microscope. The antigen here is pectin in the cell walls of a slice of plant tissue.

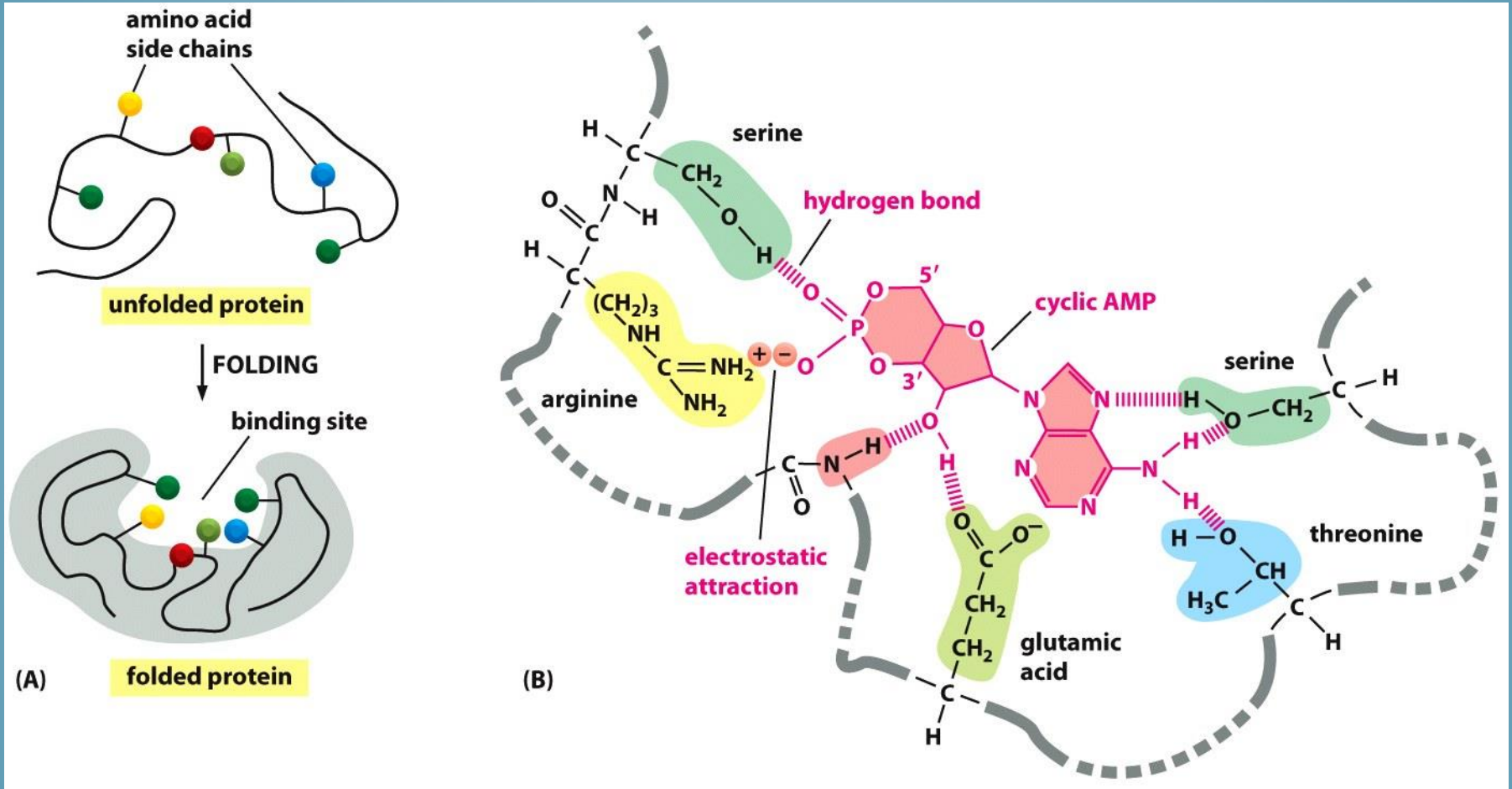


Note: In all cases, the sensitivity can be greatly increased by using multiple layers of antibodies. This "sandwich" method enables smaller numbers of antigen molecules to be detected.

タンパク質はほかの分子と結合する



タンパク質は結合部位で他の分子と特異的に結合する



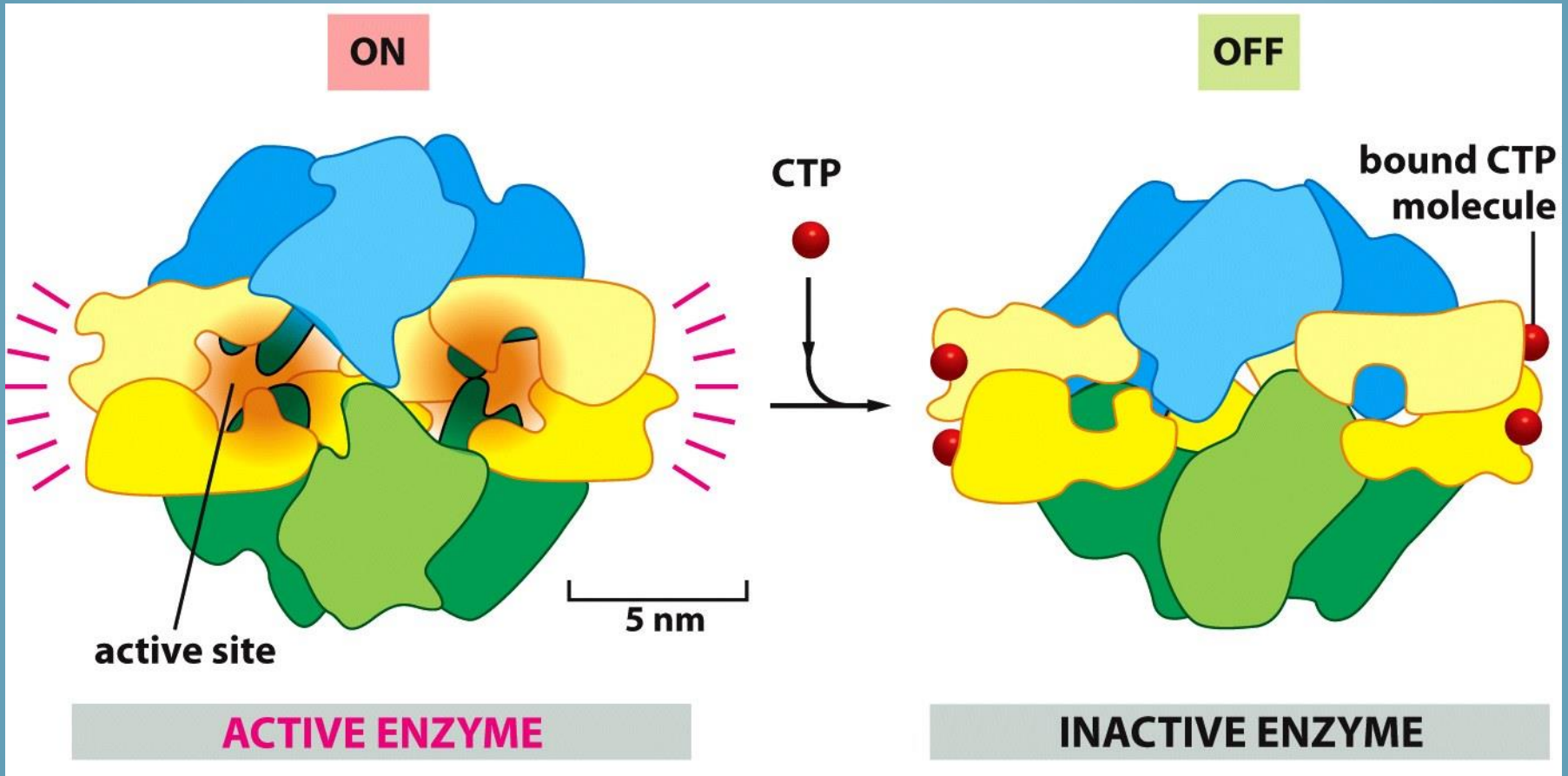


Figure 4-36 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

1211 宿題について

出欠および評価のため、
Moodleの課題を提出して下さい。

課題提出締め切り: 12/18