

たところ、tRNA、その他の小さな RNA 分子、それに mRNA は、それぞれ、同じ種類の RNA の輸送のみを飽和させることがわかった。つまり、RNA は少なくとも三つのグループに区別して搬出されていることになる。

タンパク質の中には細胞質と核の間を“往復”するものがある。これらのタンパク質はいずれの区画にもごく短時間しかとどまっておらず、すぐにもう一方の区画に戻ることを繰り返す。このような性質は、核内においても細胞質中においても、ポリ(A)⁺ RNA に結合するいくつかのタンパク質に特徴的である。そのようなタンパク質の一つ (M9) に存在する輸送を担うモチーフは一連のアミノ酸の配列で、この単独の配列が搬入、搬出の両方のシグナルとして働き、したがって両方向の輸送を担っている。

mRNA の搬出に関する特殊な問題として、プロセシングが完了した最終的な mRNA とプロセシングが完了する前の (たとえばイントロンがいくつか残っているような) 前駆体 mRNA をどのようにして区別するのかという疑問がある。ある程度は反応が起こる順序とタイミングで区別されるのかもしれない。転写とプロセシングの関係は、mRNA が DNA から解離するまでにプロセシングは完了しているとされている。しかしそれだけではなく、搬出とそれに先立つ反応とを連結しているとみられる特異的な結び付きもある。mRNA に結合して核から搬出される mRNA 結合タンパク質の一つは、転写開始時に転写装置との相互作用を通じて mRNA に結合する。つまり、mRNA の搬出にかかわるタンパク質は、mRNA 合成の非常に早い段階で mRNA との複合体を形成している可能性がある。そしてそれから、スプライシングを受ける mRNA では搬出装置の他の成分が mRNA に結合するためにはスプライシングが起こる必要があるのかもしれない (§ 24・10 参照)。早い段階で mRNA に結合したタンパク質は、その後、酵母では Mex67、動物細胞では Tap とよばれるタンパク質と相互作用する。Mex67/Tap はエキスポーチンにもインポーチンにも似ていないがヌクレオポリンと直接相互作用することができるタンパク質である。

8・31 ユビキチンが付加したタンパク質は分解へと誘導される

- ユビキチンは三つの成分で構成された分解装置により分解の標的となるタンパク質に付加される。

タンパク質の分解を行う主要な経路には二つの段階がある。まずタンパク質は分解へと誘導され、ついで次の項で述べる巨大な複合体によって実際に加水分解される。分解されるべき基質タンパク質にはユビキチン (ubiquitin) とよばれる小さなポリペプチドが共有結合で付加される。図 8・67 に示すように、このユビキチン化の系には三つの因子が関与する。

- ユビキチン活性化酵素 E1 は、ATP の加水分解のエネルギーを用いて自身のシステイン残基とユビキチンの C 末端のグリシン残基との間に高エネルギーのチオエステル結合を形成し、結合する。
- E1 と結合したユビキチンは、つぎにユビキチン結合タンパク質 E2 に移される。
- さらにユビキチンリガーゼである E3 が、ユビキチンと基質タンパク質中のリシン残基の ε-アミノ基との間にイソペプチド結合を形成させ、ユビキチンを E2 から基質タンパク質に移す。

基質タンパク質が分解されると、ユビキチンはイソペプチダーゼにより切離される。ユビキチン化する基質を選択する役目は E2 と E3 が担っている。多くの場合、ユビキチンの基質タンパク質への転移反応が始まるより前に、E3 が基質タンパク質を選んで結合している。基質を選択する基準が異なる何種類もの E3 が一つの細胞に含まれている場合もある。また E2 にも複数の分子種があり、しばしば E3 とは独立に基質タンパク質の誘導を行っている。

ユビキチンを一つ付加するだけでは、基質タンパク質の分解を起こさせるのに十分ではない。図 8・68 に示すように、さらにたくさんのユビキチンが付加されてポリユビキチン鎖を形成する。このとき後から付け加えられるユビキチンは、すぐ前に付加され

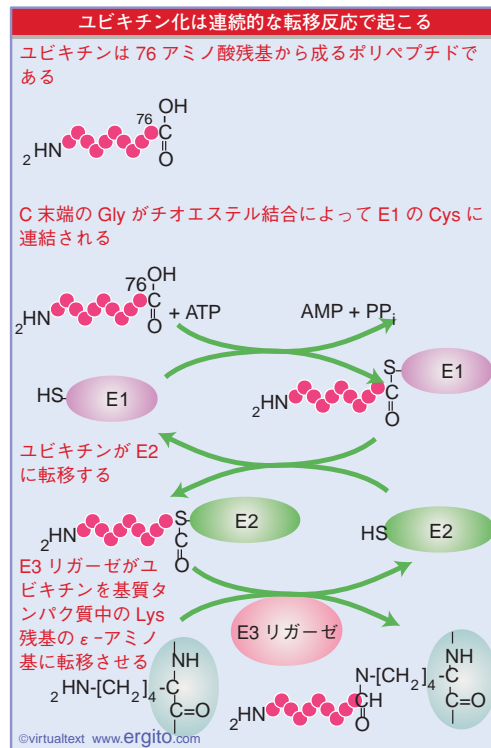


図 8・67 ユビキチンサイクルは三つの反応から成り立っている。E1 がユビキチンに結合する。E3 が基質となるタンパク質に結合する。E2 がユビキチンを E1 から基質タンパク質へと移す。このサイクルを繰り返すことでポリユビキチン鎖がつくられる。

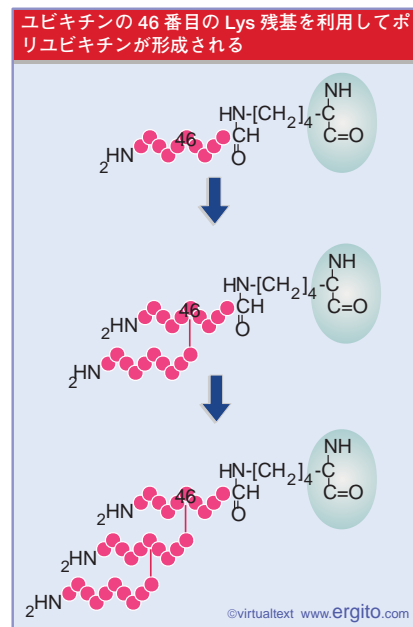


図 8・68 ユビキチン化の反応サイクルが繰り返され、ポリユビキチンが形成される。

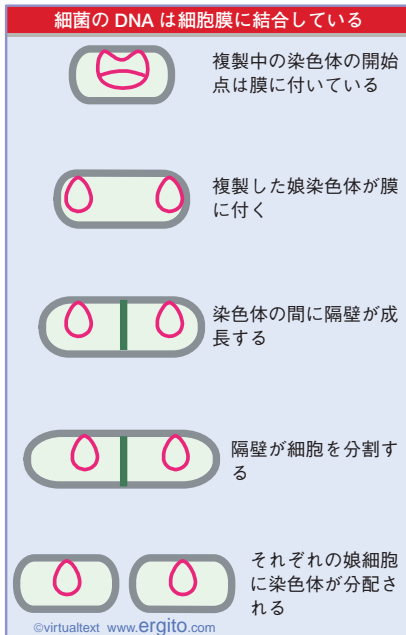


図 13・26 細菌の DNA は細胞膜に結合している。この結合を通して、染色体の娘細胞への分配が行われる。



図 13・27 細胞分裂が失敗すると多核の繊維状細胞を生じる。写真は平賀壮太氏のご好意による。



図 13・28 大腸菌では染色体分配に失敗すると無核細胞が生じる。染色体のある細胞は青く染まり、染色体を欠いた娘細胞は青く染まらない。この写真は *mukB* 変異株で、正常な分裂と異常な分裂が見える。写真は平賀壮太氏のご好意による。

プチドグリカン層としてできるが、EnvA タンパク質がこの 2 層間の共有結合を切断し、娘細胞が分離する。

ペリセプタル環の挙動から位置を測る機構には細胞膜の関与が示唆される。細胞膜は染色体を正確に分配する際にも利用されているという考え方ももっともらしい。DNA と膜が直接結合していることから複製後の分配もうまく説明できる。もし娘染色体が膜に結合しているならば、それらの間の隔壁が形成すれば染色体は物理的に離れることになる。図 13・26 は複製開始点がペリセプタル環のあちら側とこちら側に結合していれば、隔壁の形成によりそれぞれの染色体は異なる娘細胞に分配されることを示している。

13・16 細胞分裂と染色体分配に関する変異は細胞の型に影響する

- *fts* 変異株は長い繊維状になるが、これは隔壁が形成されず分裂して娘細胞ができないからである。
- あまりに多くの隔壁ができてしまう変異株はミニセルを生じる。それらは小さく、DNA がなくなっている。
- 染色体の分配が異常な変異株は細胞の大きさは正常だが無核細胞を生じる。

細胞分裂にかかわる変異体の単離が難しいのは、生物にとってきわめて重要な機能における変異は致命的であったり、あるいは多くの機能に変化をもたらすためである。たとえば、環構造の形成が起こる場所が膜そのものの成長にとって必須な部位であるとすると、環構造の形成を特異的に妨害する変異と通常の膜の成長を阻害する変異とを区別することは困難であろう。分裂装置の変異体のほとんどは条件致死変異株として同定されてきた（これら変異株の分裂は非許容条件下では影響を受け分裂できなくなる。典型的な例は温度感受性である）。細胞分裂と染色体分配に関する変異は、どちらかといえば意外な表現型を示す。図 13・27 と図 13・28 に、細胞分裂の失敗と染色体分配の失敗が対照的な表現型となった例を示す：

- 長い繊維状細胞は、隔壁形成が阻害され、DNA 複製は何の影響も受けていない場合に生じる。細菌は増殖を続け、その娘染色体の分配も正常に続いたとしても、隔壁が形成されないで細胞はきわめて長い繊維状の構造となり、それぞれの核様体 (nucleoid, 細菌の染色体) は長い細胞内に等間隔に分布している。この表現型は *fts* 変異体 (temperature-sensitive filamentation から名づけられた) に特徴的で、細胞の分裂自体に欠損があることを表している。
- ミニセル (minicell) は隔壁の形状の頻度が高かったり、不適當な場所で起こったりして、新しい娘細胞が染色体を欠いた場合にできる。ミニセルはやや小さくて、DNA がないことを除けば形態的には正常である。無核細胞 (anucleate cell) は染色体分配が異常な場合に形成され、ミニセルと同様に染色体をもっていないが、隔壁形成は正常なので娘細胞の大きさは正常である。*par* (partition, 分配) 変異体 (この名前は染色体分配の欠損に由来している) はこの表現型を示す。

13・17 FtsZ タンパク質は隔壁形成に必要である

- *ftsZ* 遺伝子は前もって決められた場所に隔壁を形成するために必要である。
- GTP アーゼ活性をもつ FtsZ タンパク質は細胞膜の内側に環構造を形成し、細胞骨格の成分に結合する。

ftsZ 遺伝子は細胞分裂の中心的役割を果たしている。*ftsZ* の変異株では隔壁が形成されず、細胞は繊維状になる。一方過剰に発現させると単位細胞体積当たりの隔壁形成が増加しミニセルができる。*ftsZ* 変異体はペリセプタル環が移動する時期や隔壁の形態形成などさまざまな段階で影響を与える。それゆえ、FtsZ タンパク質は、すでに存在している隔壁形成の場所が利用できる場合に必要となり、ペリセプタル環の形成やその場所そのものには影響しない。

FtsZ タンパク質は隔壁形成の初期の段階で作用している。分裂周期の初期には FtsZ

をヒツジが摂取することによって伝わっていく。ヒトのクールー (kuru) 病はニューギニアで見つかった。人肉、特に脳を食べる習慣によって伝わっていたようである。このような伝達様式で遺伝するよく似た病気が西ヨーロッパでも見つかった。Gerstmann-^{ゲルスマン}シュトロイスラー-Sträussler 症候群である。これと近縁のクロイツフェルト・ヤコブ (Creutzfeldt-Jakob) 病 (CJD) は偶発的に起こる。最近 CJD に似た病気が“狂牛”病 (BSE; ウシ海綿状脳症) を患った牛の肉を食べることによって伝わったようである。

スクレイピーに感染したヒツジの組織をマウスに接種すると、75~150 日で発症する。この組織から活性のある成分を精製したところ、アミロイドのような構造を形成するプロテアーゼ抵抗性のタンパク質が同定された。このタンパク質は脳で通常発現している遺伝子によってコードされている。正常な脳のタンパク質の形は Pr^{PC} とよばれ、プロテアーゼに感受性である。Pr^{Sc} とよばれるプロテアーゼ抵抗性の形への転換は病気の発生と相関している。感染性成分からは核酸は検出されず、紫外線照射では核酸よりタンパク質に損傷を与える波長で感受性が高いが、感染性は低い (1 感染単位/10⁵ Pr^{Sc} タンパク質)。正常の細胞も病気の細胞も同じ Pr^P 遺伝子をもっていて、タンパク質の Pr^{Sc} 型は感染性の因子であり、Pr^{PC} は無害なので、これは遺伝情報に何の変化もないエピジェネティックな遺伝に相当する。

Pr^{Sc} 型と Pr^{PC} 型がなぜ違うかはわかっていない。両方のタンパク質はグリコシル化されていて、GPI を介して膜に結合している。このような修飾になんら違いは見つかっていない。Pr^{Sc} 型は Pr^{PC} 型にはない β シートを多くもっている。

この違いがアミノ酸配列に依存しているかどうか調べるためにマウスへの感染性試験を行い、いくつかの重要な結果を図 23・47 に示した。正常な場合は、感染したマウスから抽出した Pr^{Sc} タンパク質を被験マウスに注入すると病気が誘発される (そして最後には死ぬ)。Pr^P 遺伝子がノックアウト (欠失) されていると、マウスは感染に耐性を示す。この実験は二つのことを証明している。まず、おそらく感染性の因子に変換される素材を提供するため内在性のタンパク質が感染に必要である。つぎに、病気の原因は Pr^{PC} 型のタンパク質を除くことではない。なぜなら Pr^{PC} のないマウスは正常に生きるからである。すなわち病気は Pr^{Sc} の機能獲得により起こる。

種による障壁が存在することを利用して感染に必要な特徴を明らかにするために、ハイブリッドタンパク質がつくられた。最初のスクレイピーの因子はいくつかの動物で維持されてきたが、これらは必ずしもすぐに伝達されたわけではない。たとえば、マウスはハムスターからのプリオンの感染に耐性を示した。このことはハムスターの Pr^{Sc} はマウスの Pr^{PC} を Pr^{Sc} に変換できないことを意味している。しかしながら、マウスの Pr^P 遺伝子をハムスターの Pr^P 遺伝子に置き換えると状況は変わってくる。(これはハムスターの Pr^P 遺伝子を Pr^P ノックアウトマウスに導入することによってできた。) ハムスターの Pr^P 遺伝子をもったマウスはハムスターの Pr^{Sc} の感染に感受性になる。このことから細胞の Pr^{PC} タンパク質が Pr^{Sc} 状態に変換されるためには Pr^{Sc} が Pr^{PC} タ

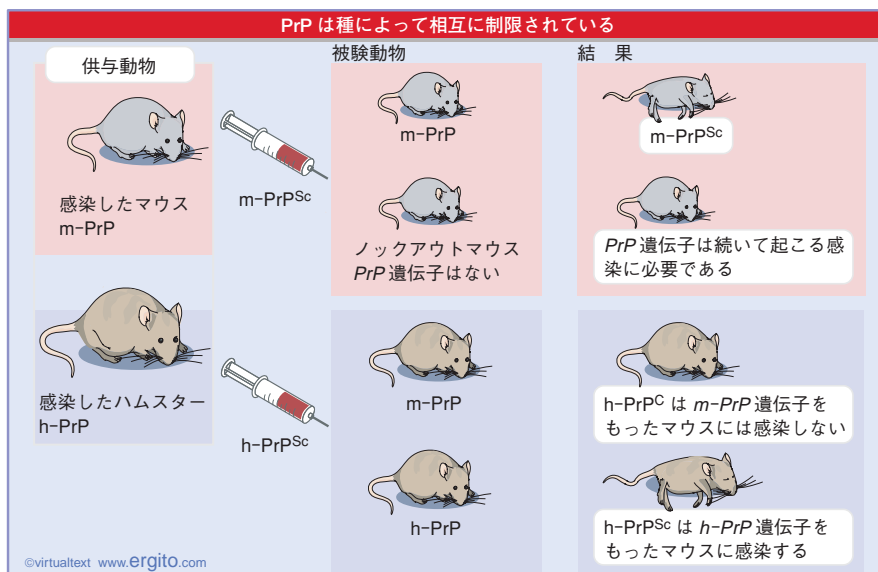


図 23・47 Pr^{Sc} タンパク質は同じ型の内在性 Pr^{PC} タンパク質をもっている動物にだけ感染する。

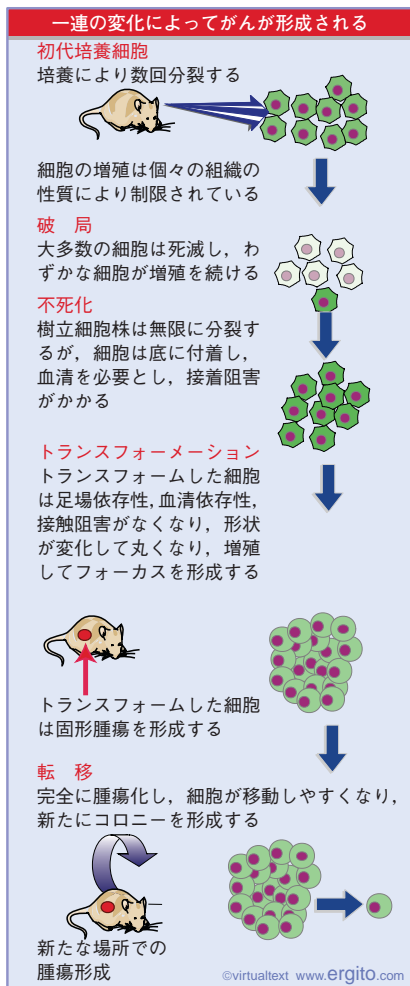


図 30・4 がん細胞と正常細胞を見分ける三つの特徴がある。培養細胞に連続して起こる変化は腫瘍形成能の変化と関連している。

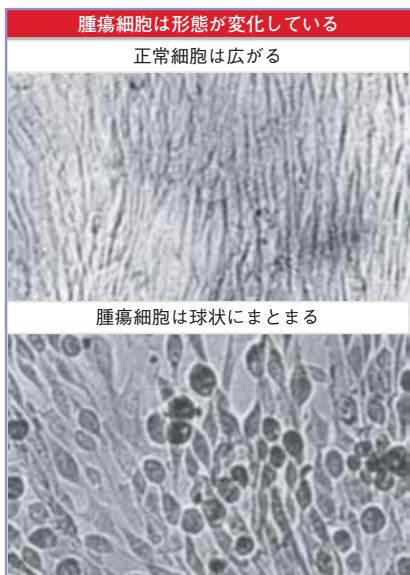


図 30・5 正常な繊維芽細胞は平たく広がった単層の細胞として増殖する。一方、トランスフォームした細胞は丸くなり、細胞塊として増殖する。写真は花房秀三郎氏のご好意による。

大多数の細胞の寿命が破局に至るまでと制限されていることから、トランスフォームしていない細胞を研究するには二つの選択肢しかなく、そのういづれもとても満足できるものではない：

- **初代培養細胞** (primary cell) は生体から直接採取した細胞を培養したもので、*in vivo* の表現型を忠実に模倣する。しかし、多くの場合破局に至り完全に死滅するので、比較的短期間しか生存しない。
- 破局を乗り越えて (非腫瘍) 細胞株として樹立された細胞 (**樹立細胞株**; established cell line) は無限に培養維持できる。しかし、これらの細胞の性質は破局を通過したときに変化しており、培養に適応する間も変化し続けている可能性がある。これらの変化は、腫瘍形成にかかわる変化と部分的に類似していると思われ、そのため細胞の有用性が減少している。

樹立細胞株は当然すでに不死化しているが、普通、腫瘍形成能はない。腫瘍形成をしない樹立細胞株は次にあげるような初代培養細胞と同様の性質を示す：

- **足場依存性** (anchorage dependence) — 細胞が付着するのに固体か固い表面が必要である。
- **血清依存性** [serum dependence, または増殖因子依存性 (growth factor dependence)] — 成長に必要な増殖因子の供給を受けるため血清が必要である。
- **細胞密度依存性増殖阻害** (density-dependent inhibition) — 細胞の増殖はおそらく細胞同士の接触にかかわる反応により増殖阻害を受けるため、限られた細胞密度までしか増殖できない。
- **細胞骨格の構成** — 細胞は扁平で付着面に広がっており、(アクチンフィラメントから成る) ストレスファイバーが典型的に伸びたネットワークを形成している。

これらの性質の結果、細胞は付着面上に**単層** (monolayer, すなわち細胞 1 個分の厚さの層) の状態で増殖する。

これらの性質は、細胞が正常であるかどうかを判断する基準となる。もちろんどのような樹立細胞株でも *in vivo* での制御におおよそ近いというだけにすぎない。このような細胞の増殖制御の遺伝的基盤を解析するにあたっては、そのほとんどに染色体数の変化があり、真の二倍体ではないということに注意しなくてはならない。染色体の構成が真の二倍体から変化した細胞は**異数体** (aneuploid) とよばれる。

腫瘍由来の培養細胞では、正常組織由来の細胞と違ってこうした性質のいくつか、あるいはすべてが変化している。これらの細胞はトランスフォームした状態と表現される。**トランスフォームした細胞** (transformed cell) はあまり制約を受けずに増殖する。すなわち、固体表面への付着は必ずしも必要とせず (そのため個々の細胞は平たく広がらず丸くなる)、血清依存性は低下し、平たく単層で増える代わりに細胞の固まりとして厚く積み重なり [フォーカス (focus) とよばれる]、さらに適当な実験動物に注入すると腫瘍を形成する場合がある。図 30・5 に培養系での“正常な”繊維芽細胞と“トランスフォームした”細胞を比較して示す。この違いは図 30・6 の走査型電子顕微鏡写真において、より劇的に見ることができる。

培養細胞の不死化とトランスフォーメーションの両方を合わせた変化は動物腫瘍の一つの典型となっている。トランスフォームした細胞株と正常細胞を比較することにより、腫瘍形成の遺伝的基盤が明らかにされ、またその変化にかかわる表現型上の過程が理解できると期待される。

いくつかの反応が起こると、正常細胞はトランスフォームした細胞に変化し、そのような変化は腫瘍形成過程のモデルとなる。がんがつけられるには通常複数の遺伝的変化が必要で、ときには一連の変化の結果としてがんの悪性度の増大が起こることもある。

多種多様な物質が高頻度に細胞 (または動物個体の細胞) をトランスフォームした状態に変えることが知られており、これらの物質は**発がん性**があるといわれる。これら**発がん物質** (carcinogen) は腫瘍形成を“開始する”ものと、それを“促進する”ものとに分けられることがある。これは、発がん過程に複数の段階が存在することを意味している。発がん物質は遺伝子とは無関係に変化を起こすことも、(もっとよくあるのは) 直接あるいは間接的に細胞の遺伝子型を変化させることもあるだろう。