■ 11 章 ■

1. 原核生物の mRNA は転写されている最中に翻訳が行われる．それに対して真核生物では，転写が行われる場所を翻訳の実施場所から分離することで，選択的スプライシング，ポリアデニル化，細胞質への選択的輸送などの転写後の機構によって mRNA の制御が可能となる．さらに，転写因子の核への移行を調節することによって，転写を制御することもできる．
2. 核外輸送シグナルを不活性化すると，そのタンパク質は核内にとどまることになる．
3. エクスポーチン t は tRNA の核外への輸送に必要である．そのため，エクスポーチン t に対する RNAi は tRNA の核外輸送を阻害し，その結果，翻訳が抑制される．
4. 変異を導入した転写因子は，その核局在化シグナルがリン酸化されなくなる．その結果，転写因子は恒常的に核へ輸送され，標的遺伝子の発現が活性化される．
5. 3C 法では，近接して存在する DNA 配列を架橋し，その配列を増幅した後，DNA シークエンシングにより配列を決定する．
6. ラミン B 受容体に対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降法を行えばよい．
7. ブロモデオキシウリジンを細胞に加えると，チミジンの代わりに DNA に取込まれるので，新しく複製された DNA を標識することができる．その後ブロモデオキシウリジンに対する抗体を加えて蛍光顕微鏡で観察することで，標識された DNA の場所を特定できる．
8. 活発に成長している細胞では大量のタンパク質合成を行うために，より多くのリボソームを必要とするため．
9. フィブリラリンは RNA のメチル化を触媒する酵素であり，snRNA のメチル化はカハール小体で，rRNA のメチル化は核小体で行われるため．

Molecular Medicine　核ラミナ病

転写が不活性な遺伝子は，核ラミナと相互作用して核周縁部に局在している．この相互作用が失われると，活発に転写されているクロマチンと共にこの遺伝子も核の内部に局在することになり，異常な遺伝子発現がひき起こされうるため．

Key Experiment　核局在化シグナルの発見

Smith 彼らは，通常は細胞質に局在しているタンパク質（β−ガラクトシダーゼとピルビン酸キナーゼ）に，T 抗原の 126〜132 番目のアミノ酸を融合した組換え DNA を用いた．これらの融合タンパク質が核内に蓄積したという結果から，この SV40 の配列が核内への局在化に十分であることが示された．

データ分析問題 11　タンパク質の核内への輸送

1. Ran のみでは蛍光標識したタンパク質に何も影響を及ぼさない．
2. インポーチンのみの蛍光顕微鏡像では，ATP 存在下・非存在下いずれの条件でも標識タンパ

ク質が核の周りに局在していることから，インポーチンは ATP のあるなしに関わらず標識タンパク質を核膜に蓄積させることがわかる．

3. Ran とインポーチンを同時に加えた場合は，ATP を加えた条件でのみ標識タンパク質を核内へ輸送することができる．ATP 非存在下では，標識タンパク質は核膜周辺に蓄積する．これはインポーチンがタンパク質を核膜まで運び，その後 Ran によって核内への取込みが駆動されることを示す.
4. 核内輸送を駆動する Ran GTP の Ran GDP に対する濃度勾配を形成するために GTP が必要であるが，この GTP を合成するのに ATP が必要となる．
5. 細胞質には核内輸送に必要なタンパク質（Ran とインポーチンの両方）が含まれることがわかる．また，ATP 存在下では標識タンパク質は核内に輸送される．