



DNA物語 (1)

これまでのニュースレターで紹介してきましたように、かずさDNA研究所ではDNAに関するいろいろな研究を進めています。これらの研究を行なうに当っては、さまざまな施設・設備や機器が必要であることは言うまでもありません。そのような理由から、前号までのニュースレターで、DNA研究に関連する各種の機器について紹介してきました。本号からは、DNAにまつわる歴史やエピソードなどを紹介いたします。

自然科学分野の研究では、特定の現象や「もの」を誰が一番最初に発見したかが重要視されます。多くの研究者が、「少しでも早く論文として公表すること」にしのぎを削るのはそのためです。一方、「たとえその発見が歴史的には最初であっても、その段階で他の研究の発展に貢献したのであれば意味がない」という科学者もいます。現代の生物学の基となるミーシャーによるDNAの発見やメンデルによる遺伝現象の発見はそのような例であるとも言うことができます。そこでまず、この二つの歴史的な発見の概要をお伝えします。

ミーシャー (Johannes Friedrich Miescher) は1844年にスイスのバーゼルで生まれました。父はバーゼル大学の臨床解剖学の教授であり、また同じ家に住んでいた母方の叔父もバーゼル大学の解剖学・生理学の教授であるなど、一家はアカデミックな雰囲気に包まれていました。幼少時のチフス感染の後遺症で難聴に悩まされていたミーシャーは、内気な少年でしたが、成績は抜群だったようです。バーゼル大学で医学を勉強した後にドイツのゲッティンゲン大学で有機化学で学位を修得し、その後ドイツのチュービンゲン大学のホッペ-ザイラー教授の下で白血球の生理化学を開始しました。



ミーシャーの肖像画

インターネットのいろいろなサイトにこの画像が掲載されていますが、元の絵はバーゼル大学に所蔵されているようです。

研究室のボスであるホッペ-ザイラー教授はミーシャーにリンパ球で研究することを求めたらしいのですが、リンパ球は大量に手に入れることが難しいため、ミーシャーは同じ血球系の細胞である白血球を使うことにしました。そしてその後ミーシャーは、単離した白血球の核から、彼がヌクライン (ドイツ語読み; 彼は細胞核にある特殊なタンパク質

だと思っていたようです) と名付けた新しい物質を発見したのです。

すでに当時の科学者の間では、細胞が分裂後に自分の性質を維持できるのは核の果たす役割によるのだろうという考えがかなり浸透していたようでした。そこでミーシャーはそのような重要な核の役割に貢献する物質を、白血球の核を化学的な方法で分析していくことで見つけ出させるのではないかと考えたのです。ただ、化学的な分析を進めるためには、材料である白血球を沢山手に入れる必要がありました。そして、そのために彼が注目した材料が、なんと大学病院から大量に出る「膿のついた包帯」だったのです。今は抗生物質のおかげで、傷口が膿むなどということはほとんど見られなくなりましたが、多くの若い人は膿についてあまり知らないかも知れませんが、恐らく当時は、どこの病院でも毎日大量の「膿のついた包帯」が洗濯に出されていたことだろうと思います。膿には死んだ白血球の核が沢山含まれているのです。

こうして白血球の核から得られたミーシャーのヌクラインについての研究結果は、1869年に彼のボスであるホッペ-ザイラー教授に提出されたのですが、ホッペ-ザイラーは自らも時間をかけてミーシャーの研究結果を慎重に確かめ、2年後にようやく公表を許しました。これが、後に生物学の発展の根幹となるDNAの最初の発見となったミーシャーの論文であり、「膿の細胞の化学的な構成成分について」という表題がつけられ、1871年に発表されました。

その後ミーシャーは28歳の若さでバーゼル大学の教授に迎えられ、学生達とさらにヌクラインの分析を進めました。その結果、ヌクラインには多くのタンパク質に含まれている硫黄 (アミノ酸のメチオニンとシステインに含まれる元素) がなく、逆に普通のタンパク質には含まれない燐があること、また、ライン川をさかのぼってくる鮭の精子やニワトリの赤血球 (ほ乳動物の赤血球と異なり、鳥類の赤血球は核を持つ) などにもヌクラインがあること、ヌクラインは生物種によらずよく似ていることなどを見いだしました。しかし、残念ながらミーシャーのヌクラインの発見は、当時の生物学を根底から変えてしまうような力を発揮できませんでした。DNAの役割が認められるためには、ミーシャーのヌクラインの発見から80年ほどの歳月が必要だったのです。

このようなミーシャーのDNA発見の功績を讀えて、バーゼル大学には「フリードリッヒ・ミーシャー生物医学研究所」という研究所があります (次号ではミーシャーとほぼ同時代に生きたメンデルの功績について振り返ってみる予定です)。



DNA物語 (2)

前号では、膿のついた包帯から単離された白血球の核から、当時ヌクレインと名付けられたDNAの発見の歴史の概略を書きました。本号ではミーシャーとほぼ同時代の人で、遺伝学の基礎を築いたメンデルの功績の概略を述べます。

ミーシャーによるDNAの発見は1871年に論文として発表されましたが、ちょうどその頃、前号の「キーワード」でも簡単に触れましたように、当時のオーストリア帝国(現在のチェコ共和国)のブルノーという小さな町にある修道院の修道僧であったメンデルが、後の時代に「メンデルの法則」と呼ばれるようになる遺伝学の基礎となる現象を発見して発表していました。

メンデル (Johann Gregor Mendel) は、1822年に、バルト海に注ぐオーダー(オドラウ)川沿いにある、ドイツ語でハイツェンドルフ(チェコ語ではヒンチツツェ)という現在のチェコ共和国の小さな村で、ドイツ系の両親の間に生まれました。現在メンデルの生家は知る人ぞ知る観光名所となっており、彼の遺伝現象の原理の発見の功績を讃える小さな博物館になっているそうです。生家が農家であったためもあり、メンデルは幼少の頃から養蜂をはじめいろいろな農作業に従事しており、この経験が後のエンドウを用いた遺伝の実験を行なうための植物栽培の基礎となったようです。

メンデルについて書かれたいろいろな記述を調べますと、メンデルは18歳から21歳までの3年間オルムツの哲学校に通い、その物理学の教師の推薦で、ブルノーにある聖トーマス・アウグスチヌス大修道院(abbey)に行くことが決まったようです。彼の名前のGregorはこの修道院に入ることによって新たに付けられた名前だということ

です。その後1851年にメンデルはウィーン大学に入りますが、修道士であるメンデルがなぜ大学へ送られたのか、また大学で学ぶことと修道院におけるメンデルの宗教活動との間にどのような関連があったのか、などについてはいろいろ調べてもよくわかりません。しかもメンデルはウィーン大学では物理学を学んでおり、その時の指導教官が



メンデルの肖像画

このメンデルの肖像画は、遺伝学の原理を発見したメンデルの風貌を伝えているものとして有名なものです。

「ドップラー効果(救急車のサイレンが近づいてくると遠ざかる時とで音の高さ変わる現象など)」で有名なドップラー教授だったのです。そしてメンデルは、1953年にブルノーの修道院に帰り、そこで物理学を教えています。またその直後からメンデルは、何と数年間に29,000株ものエンドウを栽培して、一連の実験を始めているのです。彼がどうして修道院でそのようなことを始めることができたのかの詳細は不明です。

こうしてメンデルは有名なエンドウの実験を開始したのですが、このメンデルの実験の歴史的な意義を理解する上で非常に重要なことは、実験に取りかかった時点でメンデルは、遺伝現象の背後に、後に彼が遺伝の「基本要素(element)」と名付けた遺伝子の存在を想定し、さらにその基本要素には二種の拮抗する働きをもつものがあるということを仮定していたと思われることです。そのことは、メンデルが実験に用いる親株を遺伝的に「純化」するために、かけ合わせを繰り返して純系を得る努力をしたことから明らかです。恐らく彼は、最初に行なったエンドウの株のかけ合わせの結果を注意深く観察することにより、花の色には後に優性と劣性と名付けられた二つの形質があり、したがってそれを規定している要素(遺伝子)には二通りの種類があることを見抜いていたのでしょう。

メンデルが遺伝子の存在を仮定していたことを示すもう一つの証拠は、メンデルが特定の形質(例えば花の色)の雑種第二代における分離比が3:1になると主張したことにあります。特定の形質についてのかけ合わせの実際の結果は、例えば1,356対446のような分離比になります。これが3:1であることを主張するためには、その背後に二通りの遺伝子(しばしばAとaのように記載されます)の存在を仮定し、実際の花の色はその組み合わせによって決まるのだと説明する必要があります。つまり、ウィーン大学で物理学を学んだメンデルは、遺伝現象の背後に遺伝子を仮定することで説明できる理論を組み立てており、それを丹念な実験とその結果の統計的な解析から実証するという、今日の科学に十分通用する方法で研究を行なったのだということが出来ます。

このエンドウについてのメンデルの一連の研究結果は1865年にブルノーで開かれた自然史学会において口頭で発表され、翌年論文として発表されました。しかし残念ながら、このメンデルの遺伝現象についての重要な発見と基本的な考え方が、当時の他の科学者の考え方に影響を及ぼすことはありませんでした。例えばダーウィンはメンデルのことを知らなかったのです。もしダーウィンがメンデルの遺伝学の基礎を知っていれば、もっと早い段階で遺伝と進化の関係が論じられ、今日とは別の学問的な展開になっていたかも知れません。



DNA物語 (3)

ショウジョウバエというハエの名前を耳にされたことがあるでしょうか。普通のハエよりもずっと小さいのでコバエとも呼ばれ、英語の fruit fly (果物バエ) という名前からもわかりますように、熟した果物などによくたかるハエです。今回はそのうちのキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) にまつわる物語です。

生物学とは、生物のもつ多種多様な遺伝子の順列 (時系列) と組み合わせ (相互関係) を解明する学問であるといえます。生物の示すいろいろな現象の中には、どの生物にも共通するものと個々の生物種で固有なものがあり、それらが生物の発生過程 (受精卵から細胞分裂を重ねて成長していく過程) のいろいろな段階で複雑に組み合わさって働いているのです。したがって、特定の現象を解明する目的で実験を行なうためには、まずその実験の目的に「適した」材料を選ぶことが大切になります。

前号で述べましたように、メンデルは遺伝現象の基本を解明するという目的のために、重要な家畜でも重要な作物でもありませんが、多くの個体を栽培して子孫を解析することが容易であるという理由で、エンドウを自分の実験の目的に適した材料として選択したのです。メンデルの見いだした遺伝の基本的な法則は、1900年になってから3人の生物学者によって「再発見」され、そこから近代的な遺伝学が発展することになります。

ところで、遺伝学では、1) 大量な個体の栽培 (飼育) が容易なこと、2) かけ合わせによって得られる子孫を解析することが容易なこと、そして、3) 特定の形質に関する多様な変異体を得ることができること、の3つの特徴をもつ材料が重要になります。いろいろな材料が用いられましたが、上記の要件に適合した材料として定着するのがキイロショウジョウバエです。キイロショウジョウバ

エはその名の通り体色が黄色で、目が名前の由来の猩猩 (しょうじょう = 鮮やかな赤) 色をしたハエです (左図参照)。体長は3ミリほどの大きさで、実験室



キイロショウジョウバエ

1908年頃から実験生物として登場したハエで、本文に書きましたように、遺伝学上の重要な発見がなされた生物材料として知られています。【写真は薄井一恵さんのご好意による。】

で酵母などを餌に大量の飼育が容易にできます。

20世紀に入って開始された近代遺伝学では、遺伝子は細胞のどこにあるのか、また、それぞれの遺伝子はどのような相互関係を持っているのかを明らかにすることが重要な課題でした。キイロショウジョウバエを用いてこのような課題に取り組み、遺伝学を発展させたのがアメリカ人のモルガン (T. H. Morgan) と彼のグループの研究者達でした。彼らのもっとも顕著な功績は、突然変異を誘発して遺伝子を同定し、かけ合わせ後にその形質の分離比を解析するという作業を重ねることによって、遺伝子と染色体の関連を明らかにしたこと。そのうち、彼らが最初に同定した「白い眼 (white)」の突然変異は、偶然にも雄に現れた性染色体上の遺伝子に起こった突然変異でした。

彼らはいろいろな突然変異を同定していく過程で、同じ染色体上にある遺伝子は関連して子孫に伝わることを見だし、そこから「遺伝子の連鎖」という概念に到達しました。その上で、連鎖した遺伝子の子孫への分布を調べ、「乗り違い」と呼ばれる染色体の部分的な交換が起こること、連鎖している二つの遺伝子の間で起こる乗り違いの頻度はそれらの遺伝子間の距離に比例するという非常に重要な考え方を提出し、「遺伝子地図 (染色体上に遺伝子がどのように並んでいるか)」を発表したのです。このモルガンの功績を讃えて、染色体上の遺伝子間の距離を表す単位は「モルガン」と呼ばれています。

このようにしてキイロショウジョウバエという小さなハエはモデル生物として遺伝学的发展に多大な貢献をしましたが、その過程で、キイロショウジョウバエの唾腺腺の細胞には、染色体が複製後も分離しないで留まるために巨大化した「唾腺染色体」が観察できること、唾腺染色体の構造変化と遺伝子の発現が関連していることなどが明らかにされ、さらに、キイロショウジョウバエを材料とした研究でもっとも有名な「ホメオティック変異」が発見されるに至ったのです。

ハエや蚊の仲間は双翅 (そうし) 類と呼ばれ、他の昆虫類と違って翅が一对 (2枚) しかありません。キイロショウジョウバエから分離されたいろいろな突然変異の解析結果から、BX-Cと名付けられた一群の遺伝子が働かなくなると、発生過程で第3体節が正常にできず、第2体節が繰り返して作られる結果、翅を4枚持った突然変異株 (参考文献をご覧ください) が生ずることがわかりました。この研究を契機として、生物の器官の形成に関する遺伝学的な解析が発展し、一連のホメオティック変異と呼ばれる変異と関連する遺伝子群の解析が進むようになったのです。現在では、高等生物の器官の形成過程でも同じような仕組みが働いていることがわかっています。



DNA物語 (4)

これまでの3回の物語で、白血球の細胞核から物質として発見されたDNAと、「生物のもつ形や色などの性質がどのように親から子に受け継がれていくか」を調べる遺伝学の成り立ちとその発展について説明してきました。今回は、この両者がどのようにして結合するに至ったのかについての歴史を振り返ります。

前回述べましたように、キイロショウジョウバエを対象として精力的に行われた多くの研究によって、細胞内で遺伝子の存在する場所は染色体であり、さまざまな働きをする遺伝子が染色体上にならんで存在しているのだということが次第に明らかになってきました。そこで次に問題になるのが、それでは一体遺伝子とはどんな物質でできており、それがどのような仕組みで遺伝を司っているのかということになります。当時すでに、染色体は物質としてはタンパク質とDNAからできていることが明らかにされていきましたので、この問題は結局「タンパク質とDNAのどちらが遺伝を司る物質なのか」ということに帰着します。この問題について当時の研究者の多くは、「タンパク質には性質や大きさの異なる多くの種類があるが、DNAはどの生物由来のものも多様性に乏しく、化学的に類似している。したがって、遺伝子の本体はタンパク質であろう。」と考えていたようです。

ところで、この問題を考えていく上では、遺伝という現象をより一般的に定義する必要が生じてきます。それはつまり、メンデルが解析の対象とした花の色とか種の形、あるいはその後キイロショウジョウバエで研究された目の色、体毛や翅の形状などといった「遺伝的形質」は遺伝子によってどのように「決められるのか」ということを考えることです。

そのように遺伝現象の本質を考え、遺伝の仕組みを明らかにしようと迫った研究者の一人に、肺炎双球菌という病原菌を対象として研究していた、イギリス人のグリフィス (Frederick Griffith) という細菌学者がいました。肺炎双球菌には、S (smooth) 型と呼ばれる病原性をもつ型と、R (rough) 型という非病原性の型があることが知られていました (表1)。両者はコロニーの形状が異なり、R型の菌は寒天培地上で周囲がぎざぎざしたコロニーを形成しますが、S型の菌はのっぺりしたコロニーを形成するので容易に区別できます。S型菌は細胞の周りに多糖類でできた「莢膜 (きょうまく)」と名付けられた膜を持っており、宿主の抗体からの攻撃に耐えることができるので病気を引き起こします。これに対してR型菌はそのような防御膜をもっていないので病原性を持ちません。グリフィスは1928年に、予め加熱処理をしたS型菌 (死滅しているので肺炎を起こさない) と生

きているR型 (非病原性で肺炎を起こさない) を混合してマウスに感染させると、マウスは肺炎を引き起こし、病気になるマウスから生きたS型菌が回収されるという実験結果を報告したのです。そしてこの実験結果を、「死んだS型菌の菌体のもつ何かがR型菌に入って、R型菌の遺伝的な形質をS型菌に転換したことによるのだ」と説明し、S型菌からR型菌へ移行した物質を「形質転換因子」と名付けたのです。このグリフィスの実験結果はドイツやアメリカの研究者によって確認され、その実験の正しいことが証明されました。

表1：肺炎双球菌の形状と性質

菌の型	コロニーの形状	莢膜	病原性
R 型	周囲がギザギザ	なし	なし
S 型	周囲は円滑	あり	あり

このグリフィスの論文に触発され、グリフィスの言う形質転換因子の本体が何であるのかを明らかにしようと考えたのがアメリカのロックフェラー大学のエイヴェリー (Oswald T. Avery) でした。彼はそれまで長い間肺炎双球菌の型の特性を研究テーマとしてきたこともあって、最初グリフィスの「肺炎双球菌の型は互に変換できる」という考えに同調しなかったのです。しかし、グリフィスの報告は確かに実験的に確認できましたので、その実験で用いた加熱処理をしたS型菌を使って、多量の莢膜多糖類を含む多種類の成分からなる抽出液を注意深く分別して実験を重ねたのです。その結果、抽出液に含まれる形質転換因子はDNA分解酵素によって失われるが、タンパク質や脂質の分解酵素では失われないということを見だし、その結果を1944年に発表しました。それによって、肺炎双球菌の「莢膜を作るという遺伝的性質」がDNAによって伝達され、莢膜を作らない菌が莢膜を作るように転換されるということが明らかにされたのです。これが後に有名になった肺炎双球菌のDNAによる形質転換実験です。

上記の1944年のエイヴェリーらの論文を読んでみると、彼らは非常に注意深く実験を行ない、その結果を慎重に解釈していることがわかります。実験は今から見ても論理的に正確に進められており、その説明はほぼ疑いのないものとも言えるのですが、時あたかもアメリカも参戦した第二次世界大戦の真っ最中であつたこともあり、この論文は残念ながらあまり大きなインパクトを与えることはありませんでした。ただし、このエイヴェリーらの実験結果を非常に高く評価した人の中に、後にいろいろな生物のDNAを調べ、DNAを構成する4種の塩基のもつ重要な特徴を明らかにしたフランスのシャルガフという生化学者がいました。このシャルガフの発見の中にこそ、遺伝子の多様性とDNAの示す見かけ上の均質性というパラドックスを解く鍵があつたのです。



DNA物語 (5)

訂正：前回の物語の最後に、「フランスのシャルガフという生化学者」と書きましたが、これは「オーストリア生まれのシャルガフという生化学者」の間違いでした。おわびして訂正させていただきます。

前回述べたような経緯で、肺炎双球菌の莢膜(きょうまく)を持つS型菌から得られたDNAが、莢膜を持たないR型菌の遺伝的な形質を転換するというエイヴェリーらの研究結果が発表され、遺伝子の本体はタンパク質ではなくDNAであるということがほぼ証明されたのです。

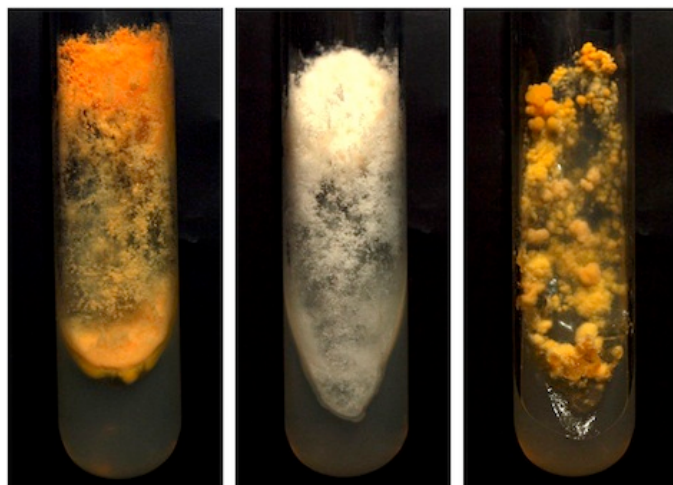
この発表には、それまでエンドウなどの花の色や種の形、あるいはショウジョウバエの眼の色や体毛の形などといったいわゆる高等生物のもつ形質について見いだされて研究されてきた「遺伝」という現象が、少なくとも一部の研究者にとっては細菌にも当てはまる現象として考えられ、研究されていたのだという歴史的な意義もあります。ただし、遺伝という現象が生物種を問わず共通の仕組みによるものであり、それを司る本体がDNAであるということが広く受け容れられるためには、遺伝子の働く過程をより詳細に分析し、DNAのもつどのような性質が遺伝子としての働きにかかわっているのかということをはっきりさせる必要がありました。

その過程で非常に重要な役割を果たしたのがアカパンカビ(*Neurospora crassa*)と名付けられたカビであり、またそれを使って「生化学的突然変異」という概念を確立するとともに、実際に多くの突然変異株を分離して解析したのがビードル(George W. Beadle)とテータム(Edward L. Tatum)という二人のアメリカ人研究者でした。はじめビードルは、第3回のDNA物語で述べたモルガンの研究室で、ショウジョウバエの目の色素を生化学的に解析しようとしていました。彼は、キンギョソウの花の色素であるアントシアニンの合成についての研究や、「アルカプトン尿症」という、排出された尿が黒く変色するというヒトの病気についての研究に触発され、生化学的な解析によって遺伝子の働きを明らかにすることを目指したのです。この二つの研究についてはここでは詳述しませんが、1900年に「再発見」されたメンデルの遺伝学と、生物材料を化学的に解析する生化学を結びつけることの大切さが当時すでにアメリカでは認識されていたようで、アメリカにおける生物学分野の研究の奥深さとその進展のスピードに驚かされます。

いずれにせよ、上述したような理由でビードルは、遺伝学的に詳細に研究されている生物材料に含まれる化合物について生化学的に解析を進めることが大切であると認識し、そのために、キイロショウジョウバエという、当時遺伝学的にもっとも解析の進んでいた生物の眼の色素の解析を開始したのです。この研究で、いろいろな眼

の色の突然変異株の幼虫の眼の原基(眼という器官の基となる組織)を別の幼虫に移植してその色がどうなるかを調べることにより、眼の色素はいくつかの段階を経て作られ、それぞれの段階では異なる遺伝子が働いているという結論に至りました。ビードル本人は、後に「一遺伝子一酵素仮説」として有名になる考え方はこの過程で形成されたのだと回想しています。

次にビードルが手がけたのは、もっと体制の簡単なカビなどの生物を用い、沢山の突然変異株を分離して、その生物のもつ何らかの化合物の生成過程と突然変異の関連を解析することでした。こうして登場したのが、当時モルガンの研究室ですでに初期の解析が始まっていたアカパンカビです。このカビは無機塩類と糖やビタミンなどを含む培地で容易に生育させることが可能です。



アカパンカビ：ショ糖やビタミン類などの栄養素を寒天で固めた培地に植えて25℃で生育させたもの。一番左が野生株、真ん中は菌糸が白色の変異株、一番右は菌糸の生育形態の変異株(埼玉大学・田中秀逸准教授のご好意による)。

ビードルはテータムとともに、キイロショウジョウバエの目の色素に関する研究から得られた結論を実証するため、「アカパンカビに放射線を照射して突然変異を誘導すれば、特定の栄養素を与えれば生育できるが、それがないと生育できない株が分離できるはずである」という非常に重要な考えを提出し、実際に生育にビタミンB6やビタミンB1を必要とする「生化学的突然変異」をもつ株の分離に成功しました。これによって彼らが当初目指したように、遺伝子の働きを生化学的に解析する道が開けたのです。そして、種々の突然変異を生化学的に解析した結果、ビタミンなどの代謝物は段階を経て作られ、それぞれの段階では特定の遺伝子から作られる特定の働きをもった酵素が働いていることを明らかにし、「一遺伝子一酵素仮説」を提唱したのです。

この仮説が正しければ、それでは遺伝子であるDNAは酵素タンパク質の何をどのように決めているのかということが次の重要な課題になります。この生物学の根幹をなす問題はどのように解決されていったのでしょうか？次号以降で辿ることになります。



DNA物語 (6)

前回述べた「生化学的突然変異」という語の意味やなぜそれが重要なかがよくわからないというご意見をいただきました。生化学とは生物体内でいろいろな物質を作り出す化学反応を解析する学問です。私たちはいろいろな食物を食べ、それを消化してエネルギーを得たり栄養素を吸収して生命活動に必要な化合物を合成していますが、その過程で起こるのが生化学反応です。したがって、「生化学的突然変異」とは、特定の生化学反応がうまくいかなくなった突然変異ということになります。例えば、アミノ酸やビタミンの合成ができなくなった突然変異などです。当時の遺伝学では、花の色とか種の形などといった目に見える性質が解析の対象だったのですが、それでは遺伝子を物質的に捉えることが困難です。それを打ち破るきっかけを作ったのが、生化学突然変異の解析から導かれた「一遺伝子一酵素仮説」という考え方だと言えます。

こうして、「それぞれの遺伝子は細胞内でいろいろな物質の合成反応に携わっている酵素タンパク質を作りだす役割を果たしている」という考えが受け入れられるようになりました。しかし、これで直ちに遺伝子の働きが物質的に解明された訳ではありません。そこに至るにはなお長い道のりが必要でした。そしてそれには、キロシヨウジョウバエやアカパンカビなどの「モデル生物」に加えて、ヒトを含むほ乳類の大腸に寄生して生育している大腸菌と、大腸菌に感染するバクテリオファージと呼ばれるウィルスの果たした役割について触れなければなりません。

第4回の物語でエイヴェリーの行なった肺炎双球菌という細菌の研究について紹介した折に述べましたように、すでに1940年代には、「遺伝という現象はあらゆる生物に普遍的なものであり、もっとも下等とされる細菌でも遺伝の仕組みは基本的に同じである」と考える研究者が存在しました。前回述べたテータムの弟子であるレーダーバーグ (Joshua Lederberg) もその一人でした。19世紀末からその当時までに、フランスのパスツール (Louis Pasteur) やドイツのコッホ (Heinrich Hermann Robert Koch) らによって行われてきた多くの研究により細菌についての知識は深められていましたが、細菌の研究が医学と密接な関係をもって発展したため、細菌は基礎生物学の研究材料として用いられることはほとんどありませんでした。

レーダーバーグは自分自身の研究の指導者であり、細菌の栄養素に関する研究経験をもつテータムと協力して、アカパンカビよりもさらに体制が簡単に培養しやすい細菌を材料として遺伝学の研究を開始することを考えていました。その材料として彼らが選択したのがK-12株という大腸菌でした。この大腸菌株は1922年にスタン

フォード大学で分離されて保管されていたもので、当時テータムがX線による突然変異の誘導を調べるために用いていたものでした。レーダーバーグはテータムとともに、アカパンカビの場合と同じような方法で、特定の栄養素が培地になれば生育することのできない突然変異株を分離するとともに、二種類のそれぞれ異なる栄養素がなければ生育できない株を混合すると、その中で「遺伝的組換え」が起こり、どちらの栄養素がなくても生育できる株が生じてくるということを発見しました。第二次大戦直後の1946年のことです。

この大腸菌に遺伝的組み換えが起こるという発見は他の研究者を刺激し、やがて分子生物学の発展を導く細菌遺伝学の基礎となりました。そして、遺伝的組換えはFと名付けられた因子の作用で起こるもので、F因子をも

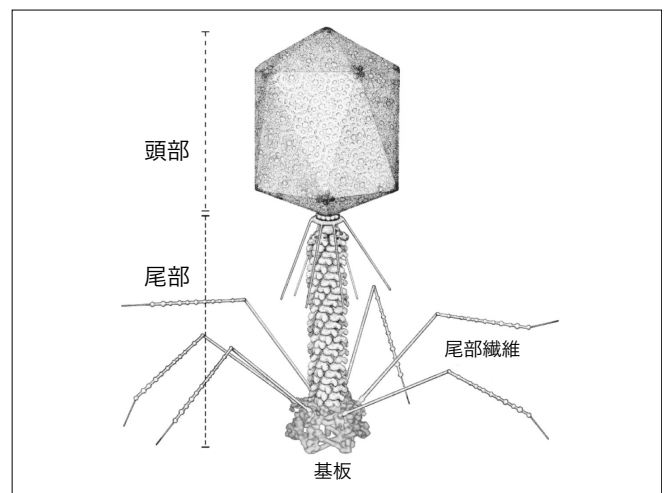


図1 T4ファージ：大腸菌に感染するウィルス的一种であり、大腸菌に吸着すると頭部に詰め込まれているDNAは基板から大腸菌細胞内へ注入される。(Eiserling, 1983を改変)

つF⁺菌とF因子をもたないF⁻菌の間で稀に起こる「接合」により、前者から後者へと遺伝子が移行することで生ずること、また、F因子の存在状態は大腸菌の細胞内で染色体とは独立した状態と染色体に組み込まれた状態があり、後者はHfrと呼ばれる高頻度に遺伝的組換えを起こす状態であることも明らかになりました。

こうして大腸菌K-12株がその後の遺伝学の発展の鍵となる重要な実験生物として登場したのですが、このことは歴史的に非常に幸運なことだったと言えます。大腸菌K-12株は非常に簡単な組成の培地で生育させることができ、最短20分で分裂増殖をくり返します。しかも、染色体上に組み込まれた状態でも存在し得るラムダファージと呼ばれるウィルスをもっており、また、それ以外にもT型ファージ (図1) と呼ばれるウィルスが発見され、それらについての研究から、ファージが感染する際にはDNAのみが大腸菌に注入されて子ファージができることもわかりました。このことはDNAが遺伝物質であることを再確認する結果になるとともに、バクテリオファージがモデル生物となる道を開いたのです。



DNA物語 (7)

この連載を始めた時点では、全部で10回くらいで物語の完結を考えておりましたが、実際に書き始めてみると、あのことにこのことにも触れた方がいいだろうということになり、その結果、完結までには最初の予測よりも多くの回数を費やすことになりそうです。

前回述べましたように、レーダーバグによって大腸菌K-12株で遺伝的組換えが発見されたことにより、多くの研究者が大腸菌を用いた遺伝学的・生化学的な研究を開始するようになりました。このK-12株という大腸菌が遺伝学の研究材料としてさまざまな長所を持っていたことは歴史的な偶然であったと言えるのですが、それらの特徴によって大腸菌K-12株を用いた研究が進展し、遺伝現象を分子のレベルで詳細に理解することができるようになったのだと言えます。

大腸菌K-12株のもつ優れた特徴のひとつは、高等生物の有性生殖と基本的に同じ生物学的意味をもつ「遺伝物質を混合する仕組み」を持っていることですが、もう一つの特徴が前回述べたファージと呼ばれるウィルスの存在です。前回T4と名付けられたファージを紹介しましたが、1952年にハーシーとチェースというアメリカの研究者により、T4とよく似たT2と名付けられたファージを用いて非常に巧妙な実験が行なわれ、それによって第4回の物語で述べた、エイヴェリーの「DNAが肺炎双球菌の遺伝的な性質を転換する」という、DNA＝遺伝子という考え方がより確実に証明されたのです。

ハーシーとチェースは、ファージDNAには含まれているが外套タンパク質には含まれないリンの原子を、放射性同位元素の ^{32}P で置換したファージを作製して大腸菌に感染させると、放射性物質は大腸菌の細胞内に入ることがわかりました。これに反して、外套タンパク質には含まれるがDNAには含まれない原子である硫黄（タンパク質を構成するシステインとメチオニンという二つのアミノ酸に含まれる）を放射性的 ^{35}S で置換したファージを用いて同様の実験を行なうと、放射性物質は大腸菌の細胞内に入らずに細胞の外側に残っていることがわかったのです。この歴史的に有名な実験により、DNAが遺伝物質であることが疑いのないものになり、後述するワトソンとクリックによるDNAの構造モデルの発表が一段と重要なものになったのです。

ところで、ファージは生物学者がたどり着きたいわば究極の微細な実験生物でした。そして、T2やT4ファージの研究が契機になって、大腸菌をはじめいろいろな細菌でいろいろなファージが分離されて研究されました。ファージは感染後に宿主である細菌の細胞中でたくさんの「子ファージ」を作り、それらが細菌の細胞を内側から溶かして殺します。したがって、細菌をファージとともに寒天で固めた培地に撒きますと、ファージのある場所

では細菌が生育せず、プラークと呼ばれる透明な円斑が生じます（ファージという語はフランス語の「食べる」という語に由来します）。ファージの突然変異は、このようなプラークを作ることができないものとして分離することができます。このようなファージについての研究の過程で、詳細な説明は省きますが、二種類のファージの突然変異株を同じ大腸菌に同時に感染させてプラークの形成を調べることにより、シストロンと名付けられた遺伝子の最小の機能単位を確定する研究もなされ、ファージを対象とした遺伝学は遺伝子の詳細な構造の解明に大きく貢献したのです。

一方、ファージについての解析が進む過程で、大腸菌K-12株のゲノム中に、ラムダと名付けられたプロファージ（ファージの前駆体）が組み込まれて存在していることが発見され、このラムダファージについても詳細に研究が進められました。その結果、ラムダファージのDNAは直線になったり環状になったりすることができ、直線状になった分子では、両端に12塩基からなる相補的な塩基配列が一本鎖になった状態で存在しており、この部分の配列が再結合することで環状の分子になること、プロファージは、紫外線照射などによってプロファージの状態を維持しているリプレッサーと呼ばれる分子が破壊されると、増殖を開始して大腸菌を溶かし、ファージとして出てくること、などの興味ある仕組みが解明されました。さらに、こうして得られたラムダファージの集団の中には、ファージのゲノムの一部が、プロファージとして存在していたゲノムの近傍の大腸菌の*gal*と名付けられた遺伝子と置き換わったファージが含まれており、それによって*gal*の大腸菌の突然変異株を*gal*⁺に変える能力を持っているものがあること（これをラムダファージによる「特殊形質導入」と呼びます）もわかりました。

さらに、大腸菌の遺伝的組換えに重要な役割を果たすことがわかったF因子についての研究から、F因子はゲノムとは独立に行動する環状のDNA分子であり、大腸菌にはF因子のほかにも、抗生物質に対する耐性を伝達するR因子と名付けられた因子も存在すること、さらに、いろいろな細菌類にはF因子やR因子と同じように行動する因子があることがわかり、それらを総称してプラスミドと名付けられました。このラムダファージやプラスミドは、大腸菌やファージについての遺伝学的な解析を進めただけでなく、後で述べますように、DNAやタンパク質の分子の構造や機能を研究対象とする「分子生物学」の発展に大きく寄与することになります。

こうして、20世紀の半ばまでに生物学は大きな変貌を遂げ、「生命とは何か」という問題に迫っていくためのいろいろな道具立てが整っていくことになります。もちろんその最大の立役者は、1953年に発表されたワトソンとクリックによるDNAの二重らせん構造モデルの発表でした。このDNAの構造モデルがその後の生物学に与えた影響については次号以降で述べます。



DNA物語 (8)

前回までに、スイスのミーシャーによるDNAの発見に始まり、遺伝学の勃興と発展とともに行われてきた、DNAが遺伝情報を担っている分子であることを証明する実験についての歴史を振り返ってきました。この半世紀以上にわたって行われた多くの研究の過程で、メンデルがその存在を想定した「遺伝子」の実体は次第に明らかになってきました。しかし、「遺伝子とDNAはどのように関連しているのか」、「遺伝子はどのようにして働くのか」、さらに、「遺伝情報は生物体内でどのように維持され、どのようにして子孫に伝達されるのか」という、生命活動を理解する上で根幹となる問いについての明確な解答は得られていませんでした。そこで、遺伝の仕組みを理解するためにはDNA分子の物理化学的な構造を解き明かすことが必須であろうと考えられるようになり、DNA分子の構造を解明するための研究が行なわれるようになったのです。

このDNA分子の物理化学的な構造解析で非常に重要な役割を演じたのがX線です。X線は、1895年にドイツ人のレントゲン (Wilhelm Conrad Röntgen) によって発見されたものであり、波長の極めて短い電磁波 (電氣的な波と磁氣的な波から成り、波長の長さによって電波、可視光線、X線などと呼ばれる) で、現在では、胸部のX線撮影などのように日常生活にも用いられています。X線が波の性質を持ち、物質の結晶を透過させると、透過するX線が結晶を構成する物質の原子のもつ電子の障害を受けてその背後で回り込む現象 (これを回折と呼びます) を示すこと、さらに、その結果得られる「X線の回折像」を解析すれば物質の結晶構造を明らかにすることができることが20世紀のはじめに見いだされました。

20世紀の中ごろに、イギリスの女性物理化学者であるフランクリン (Rosalind Elsie Franklin) は、ロンドンのキングスカレッジでX線を使ったDNAの結晶構造解析に没頭していました。そして、フランクリンが得た質の高いX線回折像と彼女の的確な解釈を土台として、当時同じイギリスのケンブリッジ大学にいたワトソン (James Dewey Watson) とクリック (Francis Harry Compton Crick) による、有名な二重らせんのDNA構造 (図1) が導かれたとされています。ただし、このDNAの構造モデルの確立という功績に与えられた1962年のノーベル賞の前に、フランクリンはガンによって37歳の若さで亡くなっており、ノーベル賞はワトソンとクリック、ならびにフランクリンと同じ研究所で研究を行っていたウィルキンス (Maurice Hugh Frederick Wilkins) に与えられています。

フランクリンとウィルキンスの間には、DNAのX線回折についての研究の成果をめぐる種々の確執があったようであり、しかもワトソンとクリックが二重らせんモ

デルの提出に当たって、論文でフランクリンの業績を正當に評価して言及しなかったことが、その後の生物学を新しい方向へと導いた彼らの輝かしい成果にやや暗い影を落としているのは否めません^(註)。

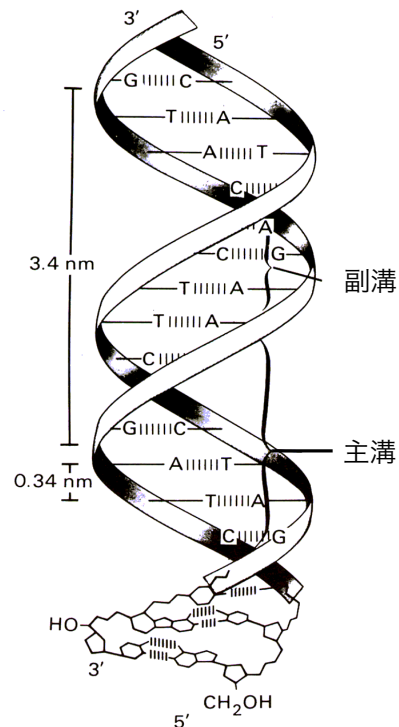


図1：DNAの二重らせんモデル

DNAはデオキシリボース糖がリン酸で連結された右巻きらせんの骨格構造となり、化学的に互いに逆向きのらせんが二本縋り合わさっています。らせんの内側には、らせんの中心軸に対して垂直に、AとTおよびGとCの塩基が対合してらせんを支えています。

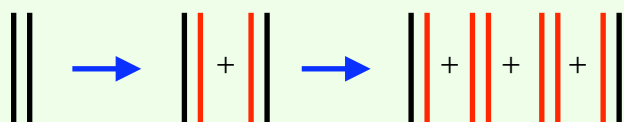
さて、こうして提出されたDNAの二重らせん構造モデルはどのような生物学および歴史的な意義を持っていたのでしょうか？ワトソンとクリックが1953年にNature誌に発表した2ページの論文の骨子は：

- 1) DNAは化学的に互いに逆向きの2本のらせんからできている。
- 2) 二本のらせんのそれぞれは、リン酸がデオキシリボース糖と結合して外側に骨格構造を形成しており、塩基は内側に配置している。
- 3) 一方のらせんの塩基がAであれば他方はT、GであればCになっており、互いに向き合ったAとTおよびGとCは水素結合で結ばれて対合し、らせん構造を安定に保持している。

というものでした。上記の第3点は、ワトソンとクリックが指摘しているように、「遺伝情報はどのように複製するのか」ということを暗示しているという点から非常に重要ですが、同時にこのことは、第4回の物語で触れたシャルガフの発見した「どの生物から抽出したDNAも、AとTおよびGとCの量比は同じである」という規則を満たしています。つまり、このDNAの二重らせんモデ

ルは、1953年の時点でDNAについて知られていたことをすべてうまく説明するものであったのです。

その後1958年に、アメリカのメーセルソン (Matthew Stanley Meselson) とスタール (Franklin William Stahl) が後に非常に有名になったDNAの複製過程を調べる実験を行ないました。彼らは、大腸菌をまず窒素の重い同位元素 (N^{15}) を含む培地で十分培養した後、通常の窒素 (N^{14}) を含む培地へ移して培養を継続し、その後一定時



DNAの複製は左から右へ倍々になるように進み、古いものが黒、新しくできたものが赤で示してあります。

図2：DNAの「半保存的複製」を証明したメーセルソンとスタールの実験を模式的に示したもの。青い矢印は時間の経過を表し、最初重い窒素 (黒) を含むDNAですが、時間とともに軽い窒素 (赤) を含むDNAの割合が高くなっていきます。この図ではDNAを直線で表しています。

間ごとに大腸菌の一部を取り出して氷冷し、そこからDNAを抽出して分析用超遠心分離機という機械でDNAを重さで分離して分布の変化を調べたのです。その結果は図2に示したようになり、最初は重いDNAですが、時間の経過とともに中間のDNAが現れ、さらに軽いDNAが現れるという経過を辿ることがわかりました。このことは古いDNAが鋳型になって新しいDNAが作られていくという「半保存的複製」で説明できます。つまり、この実験によって遺伝情報を担うDNA分子の自己複製の仕組みが実験的にも証明されたのです。

(註) このことに関連することですが、2000年にロンドンのキングスカレッジで開かれたフランクリン・ウィルキンス棟の完成式典で述べた式辞の中で、ワトソンは、1961年に出されたクリックの手紙 (フランスのパスツール研究所で保存されていたもの) の中に書かれているように、「彼らの1953年の論文は、フランクリンのX線回折データを使ってまとめた」ということを認めたとされています。DNAの二重らせんの発見にまつわる物語の陰の部分です。



DNA物語 (9)

前回は、この「DNA物語」のいわば中心となるメインイベントであり、生物学の歴史的な転換点となった、ワトソンとクリックによるDNAの二重らせんモデルの発表とそれにまつわる話を述べました。それではこの二重らせんモデルによって生物学はその後どう変わったのでしょうか？

今更言うまでもないことですが、ヒトをはじめとするあらゆる生物のもつ最も重要な性質は「絶え間なく自己増殖すること」であり、同時に、何千年・何万年という長い時間自己増殖をくり返して行く過程で、それぞれの生物のもつ性質が少しずつ変化していくこと、すなわち進化することにあります。そしてそのような生物のもつ性質や行動を規定し、種の継続と進化を可能にしているのが遺伝子なのです。1953年までには、メンデルが発見した遺伝子の本体がDNAであることはほぼ間違いないと思われてはいましたが、そこに横たわる最大の問題点は、どの生物から抽出しても性質がよく似ているDNA分子が、どのようにしてさまざまな働きをもつ遺伝子として働くことができるのかという点の解明でした。

ここで、遺伝子の持つべき性質を考えてみますと：

- ・細胞分裂に際して高い精度で複製して二つの細胞に均等に分配される
- ・いろいろな生理条件下における多種・多様な働きを説明できる
- ・物理化学的に安定であるとともに、一定の頻度で突然変異が生ずることを説明できる
- ・近縁の生物では類似し、分類的に隔たったものの間では類似度が低くなることを説明できる

ということが考えられます。このうち、最初の自己複製については「DNAが互いに相補的な(すなわち、A-TとG-Cの対合形成により、二重らせんの一方の構造が定まれば他方は自動的に定まる)性質をもつこと」により説明され、かつ実験的に証明されたということを前回述べました。しかし、それ以外の点については何もわかっていませんでした。

一方、1940年代の前半には、スウェーデンのカスパーソン (Torbjörn Oskar Caspersson) とフランスのブラシェ (Jean Louis Auguste Brachet) によって、タンパク質の合成にはRNAが関与しているらしいという組織化学的な報告が独立になされており、さらにその後、前号で述べたクリックにより、細胞の中には遺伝子 (DNA) とタンパク質を「橋渡し」する何らかのアダプター分子 (おそらくRNA) の存在が予測されたのです。それまでの研究によってDNAが細胞の核に存在することはわかっていましたが、タンパク質の合成は、核の外側にあってRNAとタンパク質からできているリボソームと呼ばれる構造の上で行われるということが次第に明らかになってきまし

た。すでに、いろいろな組織に多種類の性質の異なるタンパク質 (その多くは酵素) があって生命活動を支えていることが知られていましたので、「遺伝子はどのようにして働くのか」ということを突き詰めて考えると、それはタンパク質を合成することなのではないかという考えに至ったのでしょう。

それでは、当時タンパク質が合成されることと遺伝子が働くことを結びつける何らかの根拠が存在したのでしょうか？前回書きましたように、1952年にハーシーとチェースは、大腸菌のウイルスであるバクテリオファージの感染に際してはDNAのみが細胞の中に入り、その後何らかの過程を経てタンパク質ができ、ファージ粒子がタンパク質に包まれて出てくることを示しました。また、1941年に、ビードルとテータムがアカパンカビの突然変異の解析から「一遺伝子・一酵素仮説」を唱えたことについても触れました (第5回の物語)。酵素はタンパク質ですから、彼らもDNAからタンパク質ができてくることを考えていたことになります。ですから、これらの知見をまとめますと、「DNAは遺伝情報を担い、その情報に基づいてタンパク質を作ることと機能を果たしている」ということになります。程度の差はあったにしても、多くの科学者はこのように理解していたようです。それに加えて、一部のウイルスではRNAがDNAに代って遺伝情報を担っているということもわかっていましたので、彼らは、DNAとRNAの間には遺伝情報の伝達の過程での密接な関係が存在すると考えていたと思われます。

このような背景に立ってクリックは、アダプター分子の予想からさらに進めて、1958年にいわゆる「セントラルドグマ (central dogma ; 中心教義)」を提出しました。これは、図1に示しましたように、遺伝情報はDNAに保存されており、そこからDNAの塩基配列 (の一部) を写し取ったRNAが作られ、さらにそのRNAの塩基配列が何らかの仕組みでアミノ酸の配列に変換されてタンパク質になるというものです。その後実際に細胞内には多種類の低分子のRNAがあり、それぞれのRNAには異

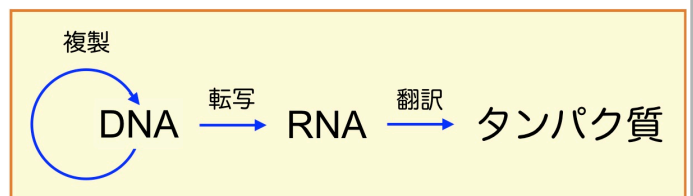


図1：クリックの提唱した遺伝情報の伝達に関する「セントラルドグマ (中心教義)」

遺伝情報はDNAからDNAに複製され、メッセンジャーRNAに転写 (おそらく遺伝子単位で) され、その上でタンパク質のアミノ酸の配列へと翻訳されることを仮定しています。後になって、RNAに転写された後に一部が除去されるスプライシングという仕組みのあること、RNAに転写されてから塩基配列が変更される場合のあること、RNAからDNAに「逆転写」される場合のあること等がわかって現在に至っています。

なるアミノ酸がついていることが発見され、これらのRNA分子はクリックの予想したアダプター分子の一種であり、タンパク質合成でアミノ酸を運ぶ役割を担うtransfer (転移) RNA (tRNA) と名付けられました。

しかし、それではDNAの担う遺伝情報を核からリボソームへと導くという重要な役割を果たすのはどの分子なのでしょう？一時期、それはリボソームRNA自身ではないかとも考えられたことがありましたが、よく調べてみると、リボソームRNAは全体として均一であり、個々の遺伝子に対応する多様性のないことが明らかになり、この考えは捨てざるを得ませんでした。

一方、1956年にヴォルキン (Elliot Volkin) とアストラカン (Lazarus Astrachan) は、大腸菌にT2ファージを感染させ、直後に放射性のリン (^{32}P) を与えて塩基の化学分析を行なうと、「大腸菌のDNAではなくT2ファージのDNAによく似た短い寿命のRNA (DNA-like-RNA) ができる」ということを報告しました。この報告は、大腸

菌の β ガラクトシダーゼという酵素についての研究から、遺伝子から酵素タンパク質ができる際には不安定なXという分子の介在が必要だと考えていたパスツール研究所のジャコブ (Francois Jacob) とモノー (Jacques Monod) らにもたらされ、彼らはXがヴォルキンとアストラカンの発見したDNA-like-RNAであり、核のDNAの遺伝情報をコピーしてリボソームへ受け渡しする役割を担う重要な分子であることに気がついたのです。こうしてXは、遺伝情報を伝達するという意味でメッセンジャーRNA (mRNA) と名付けられました。

このように、DNAの二重らせん構造の発見とともに、現代生物学上でもっとも重要とされるmRNAの発見の端緒はヴォルキンとアストラカンのDNA-like-RNAの発見によって作られました。しかし、1965年のノーベル賞はパスツール研究所の3名の研究者に与えられたのです。爾来、ヴォルキンとアストラカンが歴史上正当に評価されていないという意見は今も根強く残っています。



DNA物語 (10)

前回、DNAの二重らせん構造の発見後もっとも重要な課題であったDNAと遺伝子の関係、特にDNA上にある遺伝子が働く（これを「遺伝子が発現する」と言います）ということとは何か、それはどのようにして明らかになってきたかについて述べました。そして、遺伝子が発現するということは、遺伝子 (DNA) の塩基配列が一旦メッセンジャーRNA (mRNA) にコピーされ、作られたmRNAが核から出てリボソーム上でタンパク質の合成を誘導することであるという考えに至った過程を説明し、それに関連してクリックの提唱したセントラルドグマについて紹介しました。

ただし、このように述べますと、はじめから「アミノ酸を結合してタンパク質を作る過程は遺伝子によって決められている」と考えられていたように受けとめられるかも知れませんが、実は1950年代までの段階では、そもそもタンパク質がどのようにして作られるのかがはっきりしておらず、ビードルとテータムの「一遺伝子一酵素」仮説 (第5回のDNA物語) による予想にもかかわらず、タンパク質の合成はタンパク質の分解反応の逆反応によっておこなわれるのではないかと考えていた研究者も多かったようです。ところが、1951年にイギリスのサンガー (Frederick Sanger) によってインスリン (またはインシュリン。膵臓から分泌され、血糖値の調節を行うタンパク質性ホルモン) のアミノ酸配列が決定され、タンパク質分子はアミノ酸のでたらめな集合体ではなく、きちっとした一定の配列をもった重合体であるということが明らかにされました。これによって、タンパク質は遺伝子からの指令に基づいて一定のアミノ酸配列をもつ重合体として作られることが確定したのだと言えます。

一方、タンパク質の合成の過程で何が起きているのかを実験的に証明するための工夫もなされ、いろいろな研究者による試行錯誤の結果、細胞を破碎したホモジネート (細胞の内容物の混合物) に、その頃までに利用することが可能になっていた放射性同位元素で標識したアミノ酸を加え、放射性のアミノ酸を取り込んで合成されたタンパク質を解析するための「無細胞タンパク質合成系」が築かれました。つまり、複雑な「生体の中の (*in vivo*)」反応を解析するために、各種の実験条件を制御できる「ガラス管の中の (*in vitro*)」反応を解析する系の確立です。そして、この研究法は、DNAやRNAあるいはさまざまな酵素等を用いた生化学反応の解析のための重要な研究法として発展していきます。

ところで、DNAが多数の塩基の連なった直線状の分子であり、また同じようにタンパク質も多数のアミノ酸の連なった直線状の分子であることを考えますと、DNAからタンパク質ができるということは、DNAの塩基の配列が何らかの機構でアミノ酸の配列に変換されるとい

うことを示しています。したがって次の段階としては、当然のことながら：

1. 塩基配列をアミノ酸配列に変換する仕組み
2. この変換の行われる場所であるリボソームの果たす役割
3. 転移RNA (tRNA) の構造とその役割

を明らかにすることが重要な課題となります。これらは全体として「遺伝暗号」の解析の問題と呼ばれ、長い間多くの研究者を巻き込む大きな問題になりました。

その第一歩として行われたのが、アメリカのニレンバーグ (Marshall Warren Nirenberg) による研究で、試験管内の無細胞タンパク質合成系に人工的なmRNAを加えるとどのようなアミノ酸の重合体が生じてくるかを解析したものでした。この研究でニレンバーグは、ウラシルの重合体 (ポリUと表記します) を人工的なmRNAとして加えると、アミノ酸のフェニルアラニンが重合した一種のタンパク質ができてくることを見いだしたのです。したがって、ポリU上のUの「ならば」はフェニルアラニンのならばに変換されることが実験的に確かめられたことになります。

ところで、それでは塩基のならばをアミノ酸のならばに変換 (この変換を「翻訳」と呼びます) する際に、一体何個の塩基のならばが一個のアミノ酸に対応するのかという点が問題になります。塩基は4種類であり、タンパク質に含まれるアミノ酸は20種類であることはわかっていました。ですから、数学的には2個の塩基が1個のアミノ酸に対応するのだとすれば16種類のならば (順列) しかできませんので4種類足りず、3個では64種類できますので多すぎることになります。

この問題の解決は、後述しますように、最終的にはニレンバーグとレーダー (Philip Leder) の開発した巧妙な解析法により、1960年代の半ばまでに決着をみることになるのですが、その過程で重要な示唆を与えたのがアメリカのベンザー (Seymour Benzer) がT4ファージを用いて行なった、遺伝学的な解析としては究極の精度をもつ歴史的な研究でした (これらの詳細については次回に述べます)。

DNA物語・異聞

第8回のDNA物語で、DNAの二重らせん構造発見の陰で、若くして亡くなったフランクリンという女性研究者のDNAの結晶のX線回折像が重要な役割を果たしたことを書きました。最近、この悲劇の女性研究者を主人公とした物語が、51号写真 (Photograph 51) というタイトルの演劇としてニューヨークで公演されたそうです (11月18日号のNature誌のニュース記事)。もとは、フランクリンがユダヤ人であり、かつ女性であったために受けたいろいろな差別に対する反発からなのかもしれませんが、彼女の態度は当時の仲間の研究者にも誤解されたようです。



訂正：前回の物語の最後にジンダー (Norton Zinder) と書きましたが、これはベンザー (Seymour Benzer) の間違いですので、訂正させていただきます。

早いもので、この物語もすでに10回を超えました。この間、物質としてのDNAの発見から遺伝現象の担い手としてのDNAの役割、そして二重らせん構造の発見に至るまでのDNAの歴史を述べて参りましたが、皆様はこの物語をどのように読んでいただいているのでしょうか？よろしければ、どんなことでも結構ですから、ご質問やご意見などを“NL-admin at kazusa.or.jp” (atを@に変えてお送り下さい) にお寄せいただければ幸いです。

さて、前回途中で終わっている遺伝暗号の解説の問題を続けます。すでに、mRNAの塩基配列をタンパク質のアミノ酸配列に変換する翻訳過程の解析は、無細胞タンパク質合成系の確立と放射性同位元素で標識したアミノ酸を利用して行われたということ、そして、ニールバーグにより、UだけからなるポリUを人工的なmRNAとして用いると、アミノ酸のフェニルアラニン (Fと略します) のつながった「タンパク質」ができるという発見がなされたことを述べました。このことは、何個のUが一個のFに対応するのかは別としても、「連続するUはFの遺伝暗号である」ことを示しています。

この画期的な実験結果の報告に刺激されて、いくつかの研究グループがいろいろな人工的なmRNAを合成し、どの塩基の配列がどのアミノ酸に対応するのかという解析を競いました。その結果、ポリAがリジンに、ポリCがプロリンに対応すること、さらに例えばAとCの一定割合の混合物のポリマーの場合は、その混合比に依存して、セリンやトレオニンが混ざって結合した「タンパク質」が合成されることがわかり、遺伝暗号は次第に明らかになってきました。しかし、なぜかポリGに対応するアミノ酸 (グリシンに対応するはずなのですが) は発見されませんでした。

こうして遺伝暗号が少しずつ明らかになってくると、一つのアミノ酸には何個の塩基が対応するのかを確定する必要があります。そこに登場するのが、アメリカのベンザー (Seymour Benzer) がT4ファージを用いて行なった研究でした。そこで、遺伝暗号の詳細な解析について述べる前に、やや横道にそれますが、このベンザーの行なった研究内容について述べようと思います。

第6回の物語でT4ファージを取り上げましたが、T4ファージは大腸菌に感染すると、多数の子ファージができて大腸菌の細胞を内側から溶かします (これを「溶菌する」と言います)。したがって、大腸菌とT4ファージの混合物を寒天で固めた肉汁エキスなどを含む培地の上に広げますと、ファージが次々と感染を繰り返して周囲

の大腸菌を溶菌する結果、寒天培地上に一面に生えた大腸菌の細胞層の所々に、ファージの感染で穴の開いたように大腸菌の生えていないところ (これをプラークと呼びます) ができます。ベンザーは、溶菌能をもたないT4ファージの突然変異株を分離して解析したのです。

もしAという変異をもつT4ファージとBという変異をもつT4ファージを大腸菌に同時に感染させた場合 (大腸菌当りのファージの濃度を大きくするのです) に溶菌したとしますと、AとBは違った「遺伝単位」の突然変異であると結論できます。溶菌の起る理由は、図1に示しますように、両者の間に「遺伝的相補」が起るためです。これに対し、もし同時に感染させてもプラークが生じないとすると、両者は同じ遺伝単位に起った変異であることが考えられ、このようにして決定された遺伝単位がシストロンと名付けられました。この遺伝的相補を利

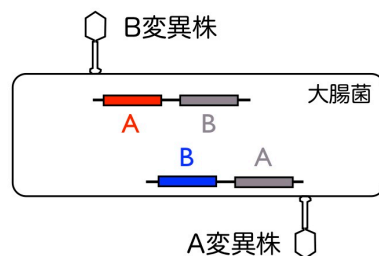


図1：T4ファージの感染と遺伝的相補

T4ファージの二種類の突然変異株 (それぞれの変異株は単独ではプラークを作れない) を大腸菌に同時に感染させると、B変異株のもつ正常なA遺伝子、およびA変異株のもつ正常なB遺伝子が働いて互いに他の失われた機能を相補する結果、プラークを作ることができるようになります。

用することで、T4ファージの遺伝解析は短時間 (通常一晚) で結果を得ることができます。その結果、T4ファージの遺伝解析はスピードが速くかつ高精度なものとなり、膨大な数の突然変異を解析して作製された「遺伝子地図」は、ほとんど個々の塩基のレベルの精度をもつようになったのです^(註)。

一方、この過程でベンザーが分離・解析したT4ファージのrIIと名付けられた遺伝子の特殊な突然変異株を使って、すでにこの物語に度々登場しているクリックらが、塩基の挿入や欠失 (遺伝子に塩基を余分に加えたり、遺伝子から塩基を除くような変異) が遺伝子の発現に与える影響を解析した結果、遺伝子の塩基の数の変化がタンパク質のアミノ酸のならびに与える影響は、「3個の塩基を一つの単位として生じている」ことを見いだしました^(註)。この発見によって、それまで統計的な可能性にとどまっていた塩基とアミノ酸の対応関係に実験的な根拠が与えられ、遺伝暗号の解析は次の段階へ進むことになります。

註：詳細な説明は別紙をごらん下さい。



DNA物語 (12)

前回、ワトソンとクリックのDNAの二重らせんモデルの提出後のもっとも重要な課題であり、多くの生物学者の注目を集めた「遺伝暗号」に関連する問題として、少し横道に逸れるのを承知の上で、ベンザーの行なったT4ファージの実験を中心とした研究を紹介しました。その折に強調しましたように、T4ファージは、第2回の物語で紹介しましたメンデルのエンドウを用いた遺伝現象に関する最初の報告以来、遺伝学の対象とされて用いられてきた数多くのモデル生物の中で、もっとも高い精度で遺伝地図が作成された生物種です。T4ファージを使った研究により、生物学は実質的に分子レベルでの生物学の時代に入って行ったのだと言えます。

さて、こうして遺伝暗号の「解説」に際しては、どうやら3個の塩基が一組になってそれぞれのアミノ酸に対応し、タンパク質を合成する際のアミノ酸の並びを決める役割を果たしているらしいということが推測されるようになったのですが、それを決定づける画期的な研究がニーレンバーグとレーダーによって行なわれました。今回は遺伝暗号の解説がどのようになされたのかということ述べます。

すでに、人工的なmRNAを使ってタンパク質を合成する実験系の概略について説明しましたが、そこで中心的な役割を果たすのがリボソームと呼ばれる細胞の中にある小さな構造体です。リボソームは1950年代に電子顕微鏡が実用化されていろいろな生物試料が次々と調べられていく過程で、ルーマニア人でアメリカに帰化した研究者であるパレード (George E. Palade) によって見い出され報告された細胞内に見られる構造体であり、当初は「パレード顆粒」と呼ばれていました。パレードはもともとタンパク質の分泌に注目していろいろな組織や細胞を電子顕微鏡で調べており、その過程でリボソームという顆粒状の構造体が分泌タンパク質の合成に関与しているらしいことを見いだしたのです。その後の研究でパレード顆粒はRNAとタンパク質の複合体であることがわかり、リボソームと名付けられました。

第10回の物語で説明しましたように、ニーレンバーグは試験管内の無細胞タンパク質合成系に人工的なmRNAを加えるとどのようなアミノ酸の重合体が生じてくるかを解析していましたので、それまでの研究を土台として、どの遺伝暗号がどのアミノ酸に対応するかということをも直接明らかにする方法を模索していました。この課題に取り組んだのがレーダーで、彼の工夫により、それまでの研究が大きく進展したのです。それまでに、リボソームがmRNAを結合し、さらにそのmRNAのもつ遺伝暗号に対応するアミノ酸をもった転移RNA (transfer RNA; tRNA) が結合すると、メンブレンフィルターと呼ばれる孔の径の小さな多孔質のフィルターに保持されこ

とが見いだされていました。そこで、mRNAの極端な例として、UUUなどの3塩基 (これをトリプレットと呼びます) を合成して用い、そのような結合が起こるかどうかを調べたのです。その結果、UUUというトリプレットは確かにアミノ酸のフェニルアラニンを結合したtRNAとリボソーム上で結合し、メンブレンフィルターに保持されることがわかりました。

この研究をさらに進めた結果、64種類のトリプレットについてどれがどのアミノ酸に対応するかがわかり、それが「遺伝暗号表」(表1)としてまとめられました。さらにその過程で、遺伝暗号の中にはどのアミノ酸にも対応しないものがあるらしいこともわかり、いろいろな研究者によって調べられた結果、それらは「終止暗号」と名付けられた、翻訳の終了の暗号であることがわかりました。さらに後になって、翻訳を開始する「開始暗号」も同定され、大腸菌での研究から翻訳の開始は特別のtRNAによって行われることも明らかになりました。

こうして、長い間の遺伝暗号についての論争に終止符が打たれました。なお、その後の研究で、地球上のすべての生物は、一部が少し異なっているものの基本的に同じ遺伝暗号をもっていることがわかり、すべての生物は同一起源であることが確定したのです。

表1：遺伝暗号表

UUU	F	UCU	S	UAU	Y	UGU	C
UUC	F	UCC	S	UAC	Y	UGC	C
UUA	L	UCA	S	UAA	*	UGA	*
UUG	L	UCG	S	UAG	*	UGG	W
CUU	L	CCU	P	CAU	H	CGU	R
CUC	L	CCC	P	CAC	H	CGC	R
CUA	L	CCA	P	CAA	Q	CGA	R
CUG	L	CCG	P	CAG	Q	CGG	R
AUU	I	ACU	T	AAU	N	AGU	S
AUC	I	ACC	T	AAC	N	AGC	S
AUA	I	ACA	T	AAA	K	AGA	R
AUG	M	ACG	T	AAG	K	AGG	R
GUU	V	GCU	A	GAU	D	GGU	G
GUC	V	GCC	A	GAC	D	GGC	G
GUA	V	GCA	A	GAA	E	GGA	G
GUG	V	GCG	A	GAG	E	GGG	G

上の表には64種のそれぞれの「遺伝暗号」に対応するアミノ酸を一文字記号で表しています。アルファベット順に、A=アラニン、C=システイン、D=アスパラギン酸、E=グルタミン酸、H=ヒスチジン、I=イソロイシン、K=リジン、L=ロイシン、**M**=メチオニン (開始暗号)、N=アスパラギン、P=プロリン、Q=グルタミン、R=アルギニン、S=セリン、T=トレオニン、V=バリン、W=トリプトファン、Y=チロシン。なお、3ヶ所の*は「終止暗号」を表します。



DNA物語 (13)

前回までに、ワトソンとクリックによるDNAの二重らせん構造の解明後、生物学の分野でもっとも重要な課題であった「遺伝暗号の問題」として、メッセンジャーRNAの塩基配列がタンパク質のアミノ酸配列へと翻訳される過程がどのようにして解明されてきた

かについての概略を述べました。しかし、第10回の物語（2010年12月号）で触れましたように、遺伝暗号の翻訳の過程にはもう一つの重要な役割を担う分子があります。すなわち、メッセンジャーRNAの塩基配列を読み取ってタンパク質のアミノ酸配列に翻訳する過程を仲立ちするという重要な役割を担っている転移RNA（運搬RNAとも呼ばれ、tRNAと略称されます）がそれです。

tRNAは「アミノ酸をタンパク質の合成の場に転移させる役割」を担う分子という意味で名付けられた低分子のRNA分子であり、その存在はクリックによって予想されたものでした。tRNAはメッセンジャーRNAの塩基配列の中に埋め込まれた遺伝暗号を正しく認識し、それぞれの遺伝暗号に対応するアミノ酸を運んで結合させるという役割を担っています。それでは、この二つの機能はtRNAの構造の中のどの部分にどのように存在しているのでしょうか？そのことを明らかにするためになされたのがtRNAの構造解析（塩基配列の決定と構造上の特徴の解析）です。その最初の例が、1964年に発表されたアメリカの生化学者であるロバート・ホーリー（Robert W. Holley）と共同研究者らによる、酵母から精製したアミノ酸のアラニンを運ぶtRNAの塩基配列の決定です。

上記のtRNAの構造的特徴のうち、第一の点については、ウラシルに類似する以下の3種類の塩基が同定されました。すなわち、リボチミジン（通常チミンはDNAに含まれる塩基であり、したがってデオキシリボース糖と結合しますが、これはチミンがRNAのリボース糖に結合したもの）、シュドウリジン（リボース糖とウラシルの結合部位が異なるもの）およびジヒドロウリジンの3種です【ウラシルがリボース糖に結合したものをウリジンと呼びます】。最後のジヒドロウリジンは、すべてのDNAおよびRNAの塩基と糖の結合物のもつ260ナノメートル（1メートルの10億分の一）付近の紫外線を吸収しません。1970年代になってDNAの塩基配列決定法が確立した後、tRNAの遺伝子の塩基配列を調べてみると、これら3種の塩基は遺伝子レベルではすべてT（すなわちRNAではU）であることがわかっています。

以上tRNAの構造解析について、やや専門的に深入りして説明いたしました。その理由は、こうして判明したtRNAのもつ独特な修飾塩基が、メッセンジャーRNAのもつ遺伝情報の翻訳にどのような役割を果たしているのかが未だにはっきりとはわかっていないことにあります。生物はなぜ遺伝情報の翻訳に際してこのような特殊な塩基を必要とするのでしょうか？謎はまだ解かれてはいません。

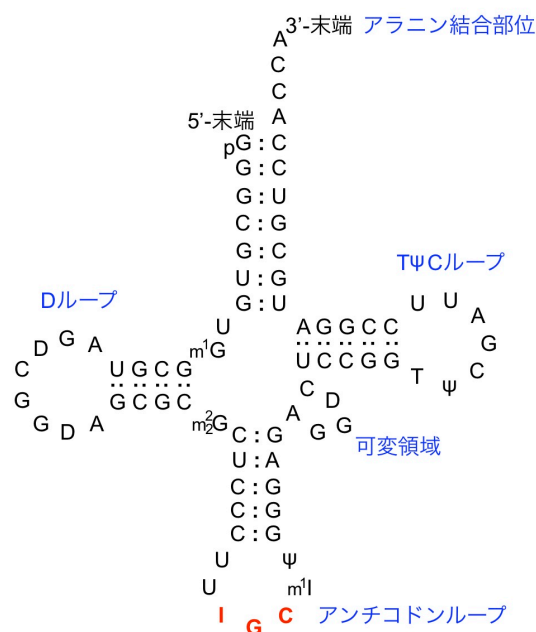


図1：tRNAの二次（平面）構造

酵母のアラニンを運ぶtRNAの塩基配列から推測した二次元平面上の構造（いわゆる「クローバーの葉」構造）。ホーリーらは、分子内での安定な構造を考え、通常のA-UとG-Cの塩基対合のほか、G-Uという塩基対合の存在も仮定しました。さらにtRNAは、通常のACGUの4種のRNA塩基のほか、ジヒドロウリジン（D）、リボチミジン（T）、シュドウリジン（ψ）、イノシン（I）を含み、また多数の修飾された塩基をもつことがわかりました。**赤字の3塩基（IGC）**がメッセンジャーRNA上のアラニンの遺伝暗号（GC・）に対応するアンチコドンです（・はどの塩基でもよいことを示します）。



DNA物語 (14)

前回の物語でtRNAの構造と機能について述べました。その過程で、なぜtRNAにはいろいろな構造変化をもつ「修飾された塩基」があるかなど、まだ生物学的な意義のわからないことがあるということにも触れました。あまりに専門的になり過ぎるので詳細な説明は省きますが、tRNAに含まれる多数の修飾塩基の構造の解明には、国立がんセンター研究所の西村博士らが大きな貢献をされています。ところでそのこととは別に、tRNAについて触れなければならない生物学史上で極めて重要なもう一つの側面があります。それはインドからアメリカに帰化した生化学者であるコーナ (H. Gobind Khorana) らによるtRNA遺伝子の全人工合成です。

現在の若い研究者はさほど重きを置いていないように思いますが、Journal of Molecular Biology (JMB) という学術雑誌は、かつては次々と重要な論文を掲載したことで有名な雑誌であり、JMBに掲載された論文のもつインパクトは非常に大きなものでした。ただしその当時は、現在のように、学術雑誌が当該分野の研究者に与える影響力を示す指標としてのIF (impact factor; 影響力指数) というものはありませんでしたので、残念ながら現在の状況と比較することはできません。いずれにせよ、そのように大きな影響力をもつ雑誌であるJMBの丸々一冊 (1972年12月28日号) に、コーナらのtRNA遺伝子の全化学合成の詳細を報ずる、13編の論文 (総ページ数283ページ) が一挙に掲載されたのです。その標題は「出芽酵母のアラニンtRNA遺伝子の全合成」というものでした (ただし、この論文で「遺伝子」と呼んでいるのは、tRNAというRNA分子の塩基配列をDNAの塩基配列にしたものというだけの意味であり、発現に必要な塩基配列を含む遺伝学的な意味での遺伝子という意味ではありません)。前回の物語で詳細を述べましたように、ホーリーらが酵母のアラニンtRNAの塩

基配列を直接解析した結果、このtRNAにはジヒドロウリジンやリボチミジンといった多数の修飾塩基が存在していることがわかりましたが、コーナらが合成したのは、いわばそれらの塩基の修飾が行われる前の段階のtRNAの塩基配列に対応するDNA (遺伝子) であり、その時点ではホーリーらにより全長は77塩基であると報告されていたので、77塩基の長さをもつ二重らせんのDNAでした。

現在では、DNAの化学合成はコンピュータープログラムによって自動化された「DNA合成機」を使えば誰にでも容易にできますが、当時はもちろんすべての過程が経験を積んだ化学者の手作業に依っていました。DNAを構成する塩基には、化学的な反応性に富んだアミノ基や水酸基などの「官能基」が多く含まれていますので、コーナらは、それらの官能基を一時的に保護して部分部分の短いDNAを合成しては繋ぎ合せていくという作業を重ねて、最終的なアラニンtRNA分子の全長に対応するDNAを作り上げたのです。そして、このそれぞれの短いDNA断片の合成過程の詳細を記述したのが上記のJMBの13編の論文です。そのうち、最初と最後の論文は合成計画と合成過程のまとめですので、実際の合成過程の記述は残りの11編の論文になります。このようにして、生物学史上初めて、ひとつの小さな、しかし生物学的に意味をもつDNA分子 (遺伝子) が全くの手作業で化学的に人工合成されたのです。

現在でも、DNAの塩基配列を決定したり、細胞中の特定の遺伝子の働きを調べたりするためには、塩基配列のわかったDNAを化学的に合成することが必要不可欠です。上述したコーナらの研究は、そのように重要な意義をもつDNAの化学合成を初めて成し遂げたものです。昨年5月にベンターらによって報告されたヘモフィルス・インフルエンザ菌の全ゲノムDNA (約180万塩基) の人工合成は、いわば上述したコーナらの研究の延長上にあるものであり、その質的な差は、30年間の分子生物学のめざましい進歩を物語るものだと言えます。



DNA物語 (15)

2010年11月号に掲載した第8回のDNA物語で、フランスのパスツール研究所のジャコブ (François Jacob) とモノー (Jacques Lucien Monod) らが、大腸菌の β ガラクトシダーゼという乳糖を分解する酵素の遺伝子の働きを研究中に、遺伝子 (DNA) からタンパク質ができる際には、Xという未同定の物質が関与しているという考えに至り、そのXが、ちょうどその頃ヴォルキンとアストラカンの見いだした「DNAに似たRNA」ではな

いかということから、メッセンジャーRNAと名付けられたという経緯を述べました。今回は、時系列的に少し遡りますが、ジャコブとモノーらの研究者がどのようにしてそのような考えに至ったのかということを説明します。そのために、当時彼らが行なった研究で、遺伝学・分子生物学の発展の歴史の中で非常に重要な位置を占める「 β ガラクトシダーゼ遺伝子の発現とその制御機構」についての研究の概要を述べます。

ジャコブとモノーらは、当時「適応酵素」と呼ばれていた β ガラクトシダーゼがどのように作られるのかに着目しました。この酵素がどうして適応酵素と呼ばれてい

たかと言いますと、大腸菌は培地に乳糖がなければ β ガラクトシダーゼを作りませんが、培地に乳糖を与えると直ちに β ガラクトシダーゼを作って乳糖を分解して摂取することがわかったためです。つまり、見かけ上、 β ガラクトシダーゼは乳糖があるかないかという状況に適応して作られる酵素のように思われたのです。そこでジャコブとモノーらは、大腸菌がどのようにして状況に適応するのかということを解明しようと試みました。そのために彼らのとった戦略は、大腸菌のいろいろな突然変異株を分離し、それらを遺伝学的・生化学的に詳細に解明するというものでした。つまり彼らは、多数の「ペトリ皿」【コッホの弟子であったドイツ人のペトリ (Julius Richard Petri) が考案したとされる直径10センチほどの蓋付きの円形のガラス容器。通常シャーレとも呼ばれ、培地を寒天で固めて使用するために用います】を使用し、いろいろな糖の誘導体、および、与えた糖が分解されれば色の変わる色素を加えた培地（図1に例を示します）を使うことによってこの問題に挑戦したのです。そして、分離した膨大な数の突然変異株とそれらのかけ合わせによる遺伝学的解析結果から彼らは、「遺伝子の中には他の遺伝子の発現を制御する遺伝子がある」という驚くべき結論を導いたのです。

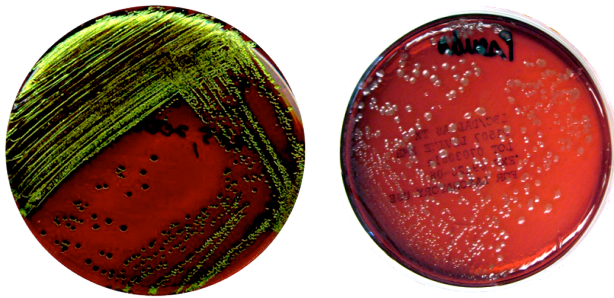


図1：大腸菌の乳糖を利用できる株とできない株

培地にエオシンとメチレンブルーという二つの色素を加え、乳糖のみを糖として培養する（EMB-乳糖培地）と、野生型の大腸菌は乳糖を分解できますので、金属光沢をもった青黒いコロニーを生じます（左）。しかし、突然変異によって乳糖を分解できなくなると、コロニーは無色透明になります（右）。ジャコブ・モノーらはこのようにして分離同定した多数の突然変異株を用いてさまざまなかけ合わせを行ない、その結果を解析したのです。

ジャコブとモノーらの行なった各種の実験から得られた結論であるラクトースオペロン（オペロンとは、特定の働きに関連した一つ以上の遺伝子をもち、遺伝子の発現を調節する仕組みを含んだ機能の単位）の構造とその働きの概略を示しますと図2のようになります。この図は、培地中に乳糖のある時とない時で何が異なるのかということに焦点を当てて説明を簡略化したものであり、そのもっとも重要な点は、リプレッサー遺伝子という他の遺伝子を制御する遺伝子の存在を予測したことです。後年、実際にリプレッサータンパク質が単離され、この考えの正しかったことが実験的に証明されました。最初

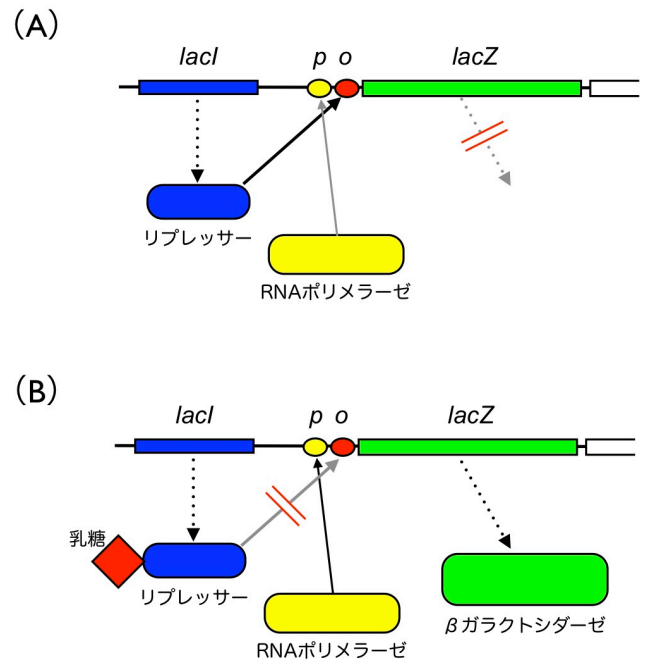


図2：大腸菌のラクトースオペロン（簡略化したもの）

図は、大腸菌の乳糖分解酵素である β ガラクトシダーゼについて行われた一連の遺伝学的な実験の結果得られたものをまとめたものです。 β ガラクトシダーゼを作る遺伝子（*lacZ*）にはオペレーター（作用子）と呼ばれる領域があり、培地中に乳糖のない時（Aの場合）は、ここに*lacI*と名付けられた遺伝子から作られるリプレッサーと呼ばれるタンパク質が結合する結果、*lacZ*遺伝子の転写が起こりません。しかし、培地に乳糖を加えると（Bの場合）、乳糖からできる化合物がリプレッサーに結合して不活化し、その結果*lacZ*遺伝子の転写が起こり、 β ガラクトシダーゼが作られるのです。

にジャコブ・モノーらが考えたラクトースオペロンの説明図はほぼ図2に示したものと同じでしたが、その後、グルコース（ブドウ糖）が存在すると、たとえ乳糖を加えても β ガラクトシダーゼは作られないことがわかり、実際にはこの図に示したよりもさらに複雑な系であることがわかりました。

このようにしてその働きが解明されたラクトースオペロン（ジャコブとモノーらは1965年にノーベル医学生理学賞を受賞）ですが、その後の研究から、このオペロンの働きを利用した応用例が多数生れました。特に、DNAの人工的な繋ぎ換えができるようになると、*lacZ*遺伝子を他の遺伝子の発現調節領域に結合させ、その遺伝子の発現量を簡単かつ定量的に測定できる β ガラクトシダーゼの活性に置き換えて測定することや、 β ガラクトシダーゼで切断されると水に不溶性の化合物を遊離して青色を呈するX-galという特殊な糖の化合物を利用し、特定の遺伝子の発現領域に結合させた*lacZ*遺伝子が生体内のどの部位で発現するかを、X-galから遊離する化合物の青色を目印として観察するなどという応用例は、いろいろな生物の遺伝子の作用を調べる上で極めて有効な方法だったのです。



DNA物語 (16)

前回、大腸菌のラクトースオペロンについて少し専門的なことを含めて紹介し、ジャコブとモノーらの精力的な研究により、遺伝学の歴史上初めて、「遺伝子の発現の制御」という概念が生れたことを述べました。ところで、ちょうどその頃、同じ大腸菌を対象として発見された「制限」という奇妙な現象の追求から、生物学を根底から変えるに至った新しい技術が生まれました。今回はその制限という現象と、そこから生れた「組換えDNA技術」について述べます。

第7回のDNA物語（[2010年9月](#)）で、バクテリオファージ（あるいは単にファージ）と呼ばれる大腸菌に感染するウィルスについて、さらに、第11回のDNA物語（[2011年1月](#)）とその[別紙](#)でファージが感染してできるプラークについて説明しました。その際に触れましたように、ファージを用いた実験は一晩で結果がわかることから、多くの研究者がファージを用いた実験を行ないました。その過程で、これから述べる「制限」という現象が発見されたのです。それでは、制限とはどういう現象であり、どうしてそう呼ばれたのでしょうか？

1950年代のはじめに、アメリカのいくつかの研究グループが「バクテリオファージには、宿主に依存した一過性の変異が生ずることがある」ということを発見して報告しました。それらの報告によれば、大腸菌に感染するファージの「感染力」は大腸菌の株に依存し、ある株（X株）で生育したファージをもう一度同じX株に感染させた場合にはすべてのファージがプラークを作りますが、そのファージを別のY株に感染させると感染力（プラークを作る能力）が一万分の一以下に低下するというものです。ただし、奇妙なことは、一度Y株でプラークを作ったファージはY株で100%プラークを作りますが、今度はX株への感染力が一万分の一以下に低下してしまうというのです。この現象から、「一つの株で生育したファージは、その株で独特な修飾を受けるため、その株では生育できるが、別の株での生育は制限される」と説明されました。ただし、この現象は、当時ファージを研究対象としていた一部の研究者に知られていたのみであり、広く一般には注目されませんでした。

その後、1950年代の末になってこの現象に再び注目したのが、ジュネーブ大学のアーバー（Werner Arber）でした。彼は、大腸菌のBおよびB/rという株にλ（ラムダ）ファージを感染させるという実験を行っている過程で、上述した宿主依存性の修飾と制限という問題に直面したのです。アーバーの優れた点は、この現象を単に説明するだけでなく、この現象の背後に隠された仕組みを解明しようと挑戦したこと。アーバーの述懐によれば、ジュネーブ大学で彼に課せられた任務の一つに生物

に対する放射線の影響の調査があり、そのために大腸菌にλファージを感染させた後に放射線を当ててλファージのDNAがどうなるかという実験を行いました。そして、λファージのDNAが放射線によって切断されて断片になることを見いだしたのですが、それと平行して行なった実験で、λファージを制限する宿主内でも同じようにλファージのDNAが断片になることを見いだしたのです。アーバーは、放射線と制限という、一見何の共通性ももたないように見える二つの事象の間の共通性は何かということを考え、「大腸菌の宿主間を移動するファージのDNAは宿主固有の修飾を受けるため、その宿主では分解されないが、修飾の仕方の異なる新しい宿主では分解される。これが制限という現象である。」と考えるに至ったのです。こうして、制限という現象は大腸菌の株に特異的な「制限酵素」と名付けられたDNA分解酵素によるDNAの分解であることが推測されるに至り、その後実際に制限酵素が分離されて確かめられました。序ですが、修飾は同じ配列を認識する別の酵素によって行われることもわかりました。

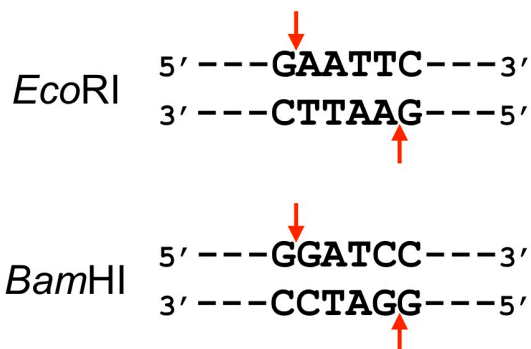


図1：制限酵素によるDNAの切断

本文に述べたような過程でその存在が推測され、実際に生化学的に分離された制限酵素がどのようにDNAを切断するかを代表的な二つの制限酵素で示しました。これらの酵素は、互いに相補的な二本鎖の6塩基の「回文構造」を認識して、DNAを↑↓の位置で切断します。これらの酵素による切断によって生じた断片の末端は片側の4塩基が突出しており、したがって、同じ酵素で切断された別の断片の末端と相補的な4塩基の「親和性」をもちます。したがって、もしこの親和性をもったDNA末端を再結合させることができれば、人工的なDNAの「組換え体」を作ることができます。詳細は省きますが、その再結合を行なう能力を持つものとして見いだされたのがリガーゼという結合酵素です。

実際にはいろいろな事象がからんでもっと複雑だったのですが、これらを踏まえて1970年代には、制限酵素と制限酵素によって生じたDNA断片を結合することのできるリガーゼを用いれば、二つの異なる生物のDNA分子を繋ぎ合せる（すなわち、人工的に組換えを起こす）ことができることが実験的に確かめられ、ここに「組換えDNA技術」が確立されたのです。そして、この技術を応用し、大腸菌の細胞内で自律的に増殖することのできるプラスミドやファージを使うことにより、別の生物の遺伝子が大腸菌の中で増やすという「クローニング」の技術が生まれたのです。



DNA物語 (17)

前回のDNA物語で、大腸菌のファージと宿主の関連を解析する過程で発見された「制限」という現象の解析から、異なる生物に由来するDNA分子を人工的に切断して再結合させるという「組換えDNA技術」が誕生したことを述べました。今回は、こうして確立された組換えDNA技術の応用から生れた「遺伝子クローニング」について述べ、さらにそれに密接に関連するDNAの塩基配列を決定する方法について述べます。

前回代表的な制限酵素としてEcoRIとBamHIの二つの例をあげ、これらの二つの酵素がDNAの塩基配列中にある6塩基の「回文配列」（塩基の回文配列は、塩基配列がまったくランダムだとしますと4,096塩基に一回起こります）を認識して左右対照的に切断することを説明しました。その折に簡単に触れましたように、これらの酵

素によって切断された断片の末端の塩基配列はすべて同じであり、突出した4塩基の一本鎖の配列（EcoRIではAATT、BamHIではGATC）をもっています。この切断片の突出した部分は互いに相補的で親和性をもっていますので、同じ酵素で切断した断片を混合することで断片同士を「繋ぎ合せること」が可能になります。したがって、もし大腸菌の細胞内で自律増殖する（大腸菌のDNAとは独立に増える）能力をもつファージやプラスミドなどのDNAを同じ酵素で切断して加えますと、ファージやプラスミドなどに目的とするDNA断片が結合されたものができることになります（図1をご覧ください）。

ところで、一般に有性生殖を経ないで生じた細胞集団はクローンと呼ばれます。例えば、植物の接ぎ木や挿し木によって得られる個体はすべて同じクローンです。クローンの特徴は、もとの個体のDNAと同じ塩基配列のDNAをもっていることです。その後このクローンの意味が拡張されて、「塩基配列の変更を起こすことなく自律

増殖させたDNA集団」もクローンと呼ばれるようになり、それにしたがって、ファージやプラスミドなどに目的とするDNA断片を結合させて増殖させ、均一なDNA集団を得ることを「クローン化する」（クローニング）と呼ばれるようになったのです。そして、クローニングの技術を用いることにより、いろいろな生物の遺伝子を含むDNA断片を大腸菌や酵母などの微生物で増やすことが可能になり、それによって、研究対象とする遺伝子から作られるタンパク質を大量に得ることも可能になったのです（ただし、そこにはいくつかの付随する問題があるのですが、専門的になり過ぎますので割愛させていただきます）。

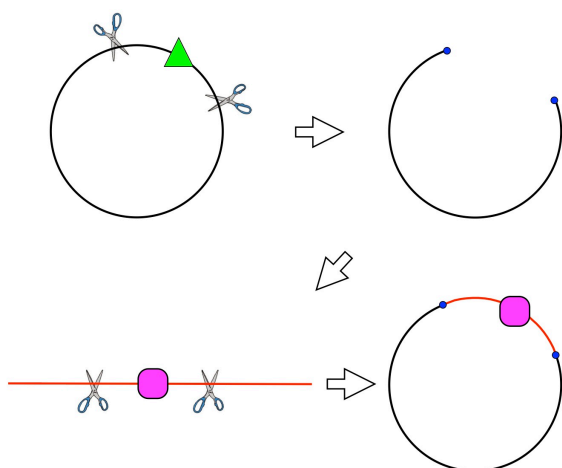


図1：制限酵素を用いたDNAクローンの作成

DNAを切断する制限酵素はしばしばハサミにたとえられます。前回説明しましたように、このハサミで切断したDNAは切り口が同じ形のギザギザをしています。そのことを利用して、ある生物の遺伝子を含む断片を環状のプラスミドに埋め込む様子を模式的に示しました。もとのプラスミドには目印となる遺伝子（▲）があります。まずこのプラスミドを制限酵素で切断し、次に、目的とする遺伝子（■）をもった生物のDNAを同じ制限酵素で切断して混合し、リガーゼという「のり」役割をする酵素で結合し、もとのプラスミドにあった目印の▲はもたず、代わりに■をもつものを選択するのです。

こうして、制限酵素をハサミのように用いてDNAを切断し、リガーゼと呼ばれる結合酵素をノリのように用いて再結合させて用いることにより、自然界では起こることのない人為的なDNAの組換えを起こすことができるようになりました。これが遺伝子クローニングの方法です。それまでは遺伝子の機能を知るための方法としては突然変異株を遺伝学的に解析するしかなかったのですが、この方法によって対象とする遺伝子をクローン化すれば、その遺伝子の作るタンパク質の生化学的な性質や働きを直接調べることができるようになりました。その後遺伝子クローニングの方法はいろいろな方面での研究に応用され、やがてこれまでは非常に困難であった病気の治療にも用いられるようになりました。たとえば、成長ホルモンの不足によって引き起こされる病気の患者さんを治療するために、成長ホルモンの遺伝子をクローン

化すれば、成長ホルモンを大量に作らせることができますので、得られたホルモンを抽出して純化した後に患者に投与するのです。成長ホルモン以外にも、遺伝子を微生物にクローン化することで安価でかつ大量に得られるようになったタンパク質製剤はたくさんあります。

一方、このようにして遺伝子のクローニングの方法が確立したのとはほぼ同じ時期に、DNAの塩基配列（G, A, T, Cの4種の塩基の並び）を解読する二つの方法が編み出されました。一つは化学的な分解による方法で、他は酵素を用いた合成による方法です。どちらの方法も、部分的な分解反応または合成反応の過程を工夫することで得られる、末端に既知の塩基（G, A, T, Cのどれか）をもつ断片を、電気泳動という方法で長さの順に並べることによって塩基配列を解読するのです（図2をご覧ください）。後者の方法（発明者の名を冠して「サンガー法」と呼ばれます）では、用いる酵素の改良や塩基の検出方法などの改良が重ねられ、1990年代になって、DNAシーケンサーという機器として自動化され、上述したDNA断片のクローニングの方法と相まって、生物のゲノムDNAのすべての塩基配列を解析するという「ゲノム解析」の実現に至りました。こうして生物学は、生物の生命活動を支える根幹の情報であるゲノムDNAの塩基配列を基盤とした新しい時代に入り、ゲノム情報学という、コンピューターを駆使してゲノムDNAの塩基配列のもつ意味を解析する分野も登場してきました。

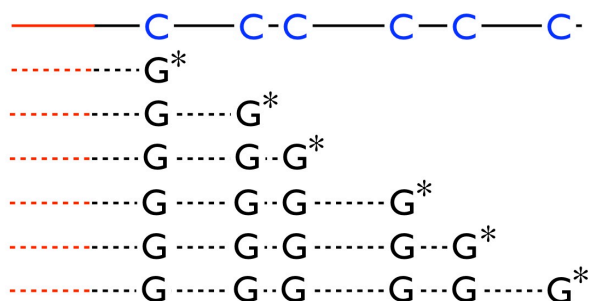


図2：サンガー法によりDNAの塩基の並びを決める方法

DNAは4種類の塩基のなんだ長い二本のらせん状の分子が、互いにG-CおよびA-Tの相補的な対合で支えられています。DNAの複製（コピー）に当たってDNA合成酵素は、一方のらせん（鋳型と呼ばれ、図の最上段に示します）の塩基配列を、G-CおよびA-Tの相補性にしがたい、プライマーと呼ばれる部分（図の左端の赤い部分）からコピーして伸長していきます。そこで、このコピー反応の際に、通常のGに加えて、Gと構造的に類似したG*を少量混ぜるのです。G*が一旦取り込まれますとコピー反応はそこでストップするようになっています。したがって、G*を混ぜたコピー反応の生成物は、図に示しますように、末端にG*をもち長さの異なるDNAの混合物になります。同じような反応を、A*, C*, T*で行ないます。全体の反応生成物のそれぞれは、他に比べて必ず1塩基だけ長さが異なっていますから、それらを電気泳動によって長さの順にふり分けするのです。G*, A*, C*, T*にはそれぞれ異なる蛍光を発する色素が付けてありますので、DNAシーケンサー内を通過していくDNA断片の蛍光を検出することにより、G, A, C, Tの並びが判別できることになります。



DNA物語 (18) - 最終回

これまでの17回にわたるDNA物語を通じて、19世紀の半ば過ぎにスイスのミーシャーが最初に膿のついた包帯から取り出して発見したDNAが、その後百年以上にもわたる長い間、多数の研究者によってどのように研究されてきたのか、そしてDNAの構造や働きがどのような研究から明らかにされてきたのかということを述べて参りました。この間、DNAに関する重要な研究でありながら触れることのできなかった研究があります。そこでこの物語を終了するに当たって、そのうちのもっとも重要な例を紹介したいと思います。

皆様はトランスポゾン (transposon) という語をご存知でしょうか？トランスポゾンは転移因子と訳され、自分自身でゲノムのある場所から別の場所に移ることのできる因子のことであり、顕微鏡による分裂期の染色体の観察から知られるようになった転移 (transposition；特定の遺伝子を含む染色体の一部が他の染色体に移動すること) という現象に似ていることからこのように名付けられたものです。

1940年代に、アメリカの女性研究者で、トウモロコシの実に生ずる斑入りの現象 (写真をご覧ください) を研究していたマクリントック (Barbara McClintock) は、斑入り現象の詳細な解析から、この現象は二つの因子の相互作用によってもたらされることを見だし、それらの因子をDs (Dissociator) およびAc (Associator) と名付けました。そして、斑入りが生ずるのはAcという因子によって転移を促されたDsが第9染色体からゲノム内の別の部位に転移し、その際それまでDsによって発現が抑制されていた色素 (アントシアニン) を作る遺伝子の抑制が解除され、色素が作られるようになるからであると説明しました。それでどうして斑入りになるのかについては、Dsの転移はランダムに起こり、転移が起こらない細胞では色素が作られないので、結果的にそれぞれの種子の表面に転移を起こした細胞 (アントシアニンの赤紫色がつく) と起こしていない細胞 (無色) がランダムに分布するためであると説明したのです。最近のトウモロコシでは赤紫の色のついたものは見かけませんが、日本でもかつては色のついたトウモロコシが広く栽培されていましたので、記憶しておられる方もおおいのではないのでしょうか。トウモロコシの実の色の背後にはこのようなことが隠されていたのです。

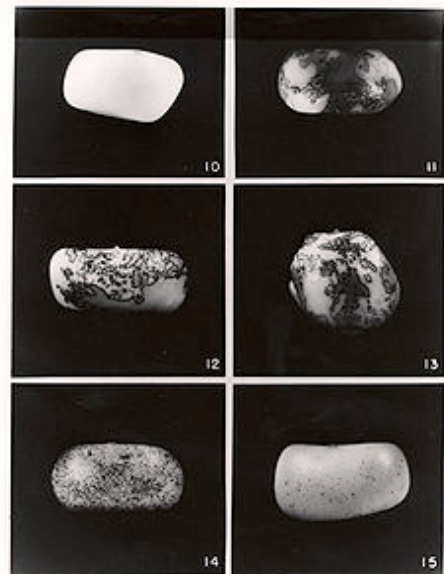
しかし、この「遺伝子が動く」というマクリントックの考えは素直に多くの人に受け容れられた訳ではありません。彼女の研究を理解し支持した人もいる反面、彼女の研究を理解せず、次々とより複雑な現象を説明しようという彼女の試みに懐疑的な人も多く、そのため彼女は、1953年以降は論文発表を一切しないと決意したと

いうことです。

このような困難な事情が改善され、動く遺伝子、すなわちトランスポゾンという概念が広く受け容れられるきっかけになったのは、1970年代半ばになって、大腸菌をはじめとするバクテリアにもトランスポゾンがあることが相次いで見いだされ、それによってトランスポゾンの転移する仕組みが明らかになったためです。そして、トランスポゾンの解析から、トランスポゾンには抗生物質などの薬剤に耐性の遺伝子 (薬剤を細胞外へ排除したり、薬剤を不活化したりする酵素をつくる遺伝子) を持っているものがあることがわかり、さらにトランスポゾンが挿入されることで働いている遺伝子の不活化が起こること等が次々に明らかになってきました。

その後、このようなトランスポゾンの性質を利用することで、いろいろな生物でそれまで困難だった遺伝学的な解析ができるようになりましたし、さらに、トランスポゾンを目印として追跡することにより、生物の進化・系統関係が明らかにされるようになっていきます。一人の女性科学者の主張が20年以上たってようやく認められ、そこから新しい分野が開花したのです。

一年半にわたってDNA物語を書いて参りましたが、今回で最終回にしたいと思います。当初は10回くらいの連載にしようと思っておりましたが、いろいろなことを収録しようとしたため大分長くなってしまいました。物語をまとめるに当たってはできるだけ平易な表現で書くように努めてきたつもりですが、それでもわかりにくい部分が多々あったのではないかと危惧しております。長い間ご愛読下さいましてどうもありがとうございます。(かずさDNA研究所・参与 磯野克己)



写真：トウモロコシの種子に見られる斑入り

写真はアメリカのWikipediaのページに掲載されていたのをコピーしたもので、左上のものではAcがないためにDsが転移することがなく、結果として全く色素をもたない種子ができます。右上と中央の二つではAcによってDsの転移が起こり、色素を持った細胞がランダムに分布する結果、色素をもつ細胞のパターンができます。最下段の左のものでは2個のAcが、右のものでは3個のAcが働く結果、上のものとは異なったパターンになります。

T4ファージを用いた遺伝解析

今回のDNA物語の本文では説明を尽せませんので、興味を持たれる方のために、やや専門的になることを承知の上で付加的な説明を試みました。参考にいただければ幸いです。

シス・トランス テストとシストロン

読者の多くの方は、「シス・トランス テスト」とか「シストロン」と言われても何かおまじないのように思われるかも知れませんが、これはベンザーによって非常に高い精度で行なわれたT4ファージ（以下、T4と略記します）を用いた遺伝解析で得られた方法とそこから導かれた結論なのです。DNA物語の本文中に、T4を用いた解析では、二種類の突然変異株を「同時感染」させた場合に起こる「遺伝的相補」を利用することができるので遺伝解析のスピードが速く、高い精度になると述べました。最初にこのことについて詳しく述べます。

大腸菌の培養液（通常は肉エキスや酵母エキスにナトリウム、カリウム、リン酸などの無機塩を加えた液体培地を用います）にT4を混合するとします。この時、大腸菌の濃度が1ミリリットル（1 ml；別の表現では 1 cc）当り 10^9 個（10億個）であるとします。もし、希釈後のT4の濃度が1ml当り数百個であり、その10分の1（0.1 ml）を大腸菌

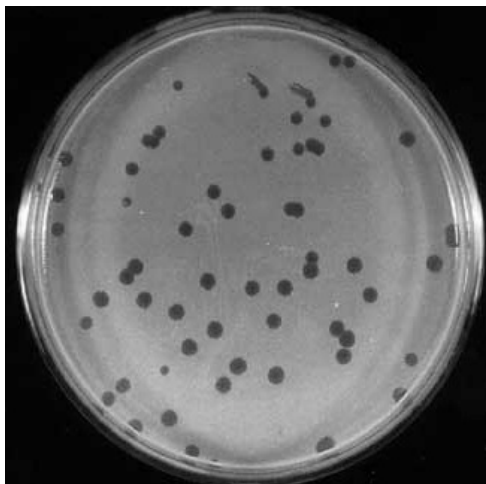


図1：ファージ感染によるプラークの形成

大腸菌にT4ファージを適度に希釈して混合し、混合液を寒天で固めた培地（寒天平板）に広げると、一面の大腸菌の細胞層の上に、T4の感染で大腸菌が溶菌されたプラークが生じます。上の写真はT4の感染によってできたプラークではありませんが、T4の場合も似たようなプラークが観察されます。

と混合したとしますと、図1に示すように寒天平板当り数十個のプラークが観察されます。

$$Pr = \frac{m^r}{r!} e^{-m}$$

図2：ポアソン分布

多重感染度が m の時、 r 個のファージが大腸菌に感染する確率 Pr は上のポアソン分布の式で与えられます。ここで e は自然対数の底（ネイピア数と呼ばれます）であり、その値は約2.718です。また $r!$ は「 r の階乗」と読み、1から r までの積を表します。

混合するT4の濃度が大腸菌の濃度と同じ場合には、一個の大腸菌の細胞に感染するT4の平均の個数（これを「感染多重度」と呼びます）は1となります。この条件下で、T4に感染していない大腸菌の割合とか、2個以上のT4が感染した大腸菌の割合は、ほぼ「ポアソン分布」（図2）という統計分布になります。図2の式で計算しますと、前者が37%、後者が26%になります。因に、この時ちょうど一個のT4に感染する大腸菌の割合は全く感染を受けない大腸菌の割合と同じで37%になり、三者の割合の合計は当然1になります。もし、感染多重度が2（すなわち、大腸菌の細胞当りのT4の数が2）ですと、これらの値はそれぞれ14%、72%、14%となります。この条件下では、72%の大腸菌が2個以上のT4によって感染を受けることとなります。

次に、上に述べたT4の感染で、二種類のT4の突然変異株を同時感染させる場合を考えます。二種類のT4の突然変異株を1対1（すなわち両者とも同じ濃度）で混合しますと、例えば、多重感染度2の場合には72%の大腸菌が2個以上のT4によって感染を受けることとなりますので、その半分の36%で二種類の突然変異株の混合感染が起ります。もし用いた突然変異が異なる遺伝単位に生じたものであれば、DNA物語の本文の図に示しましたように同

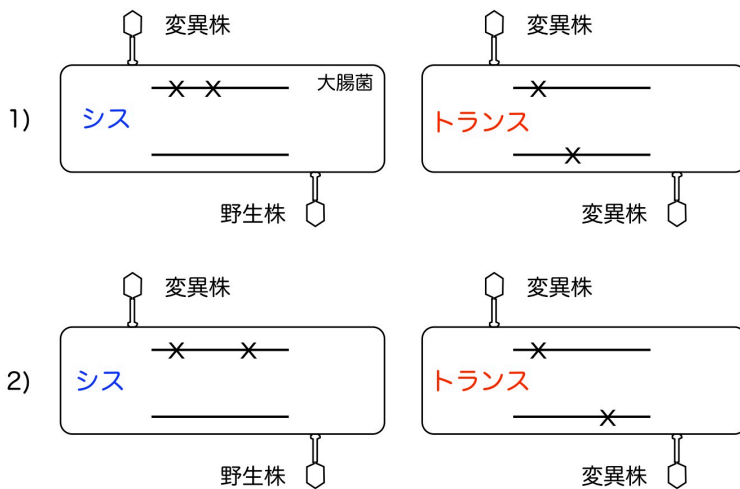


図3：シス・トランス テスト

1) 二つの突然変異（X印）がシスの位置（左）にある場合にはプラークができ、トランスの位置（右）にある場合にはプラークができない場合には、両者は同じ遺伝単位（シストロン）にあると考えます。
2) これに対して、シスの位置でもトランスの位置でもプラークができる場合には、両者は異なる遺伝単位にあると考えます。通常の同時感染で観察するのはトランスの場合（図の右側）のみであり、したがって、T4の遺伝解析では、プラークができるかできないかを見ることにより、同じ遺伝単位に起った突然変異かどうかを迅速に判定できることになります。

時感染を受けた大腸菌の細胞で「遺伝的相補」が起こりますので、感染に用いた大腸菌細胞の36%は溶菌します。もし同時感染を行なっても溶菌が起こらないとしますと、それら二株のT4の突然変異は同じ遺伝単位に生じていることが考えられます。これがシス・トランス テストと呼ばれる実験であり、その結果同定される遺伝単位がシストロンなのです。

通常の遺伝解析では、かけ合わせによって子孫を得てそれらの遺伝的形質を調べる必要がありますので、もっとも解析スピードの速い大腸菌の場合でも3日ほどの解析時間が必要です。さらに真核生物としては解析のスピードが比較的速いアカパンカビ（第5回のDNA物語で触れました）の場合でも1週間程度の解析時間が必要です。それに対して、シス・トランス テストによるT4の遺伝解析では一回の感染実験で結果がわかりますので、通常一晩で解析結果が得られます。これは、あらゆる遺伝学の研究材料を対象とした解析方法のうちでもっとも高速な方法です。

T4のrIIという遺伝子領域（rはrapidの略であり、早い増殖を意味します）に突然変異が起こると、T4のもともとの宿主である大腸菌B株では野生型よりも大きなr-プラークと呼ばれるプラークを形成します。しかし、r変異株は大腸菌のK-12(λ)と呼ばれる株ではプラークを作れません。そこでベンザーは、大腸菌B株を宿主として多数のr-変異株を分離し、それらの変異をK-12(λ)を宿主に用いて図3に概略を示したシス・トランステストによって調べました。その結果 rII領域はA・Bと名付けられた二つの遺伝単位（すなわちシストロン）から成り立っていることが見いだされました。

さらにベンザーは、この解析の過程で、通常の突然変異株に生じている「点突然変異」（DNAの一つの塩基が例えばAからGへとか、CからTへというように変化した場合）のほか、隣り合った塩基が同時に脱落して生じた「欠失変異」と呼ばれる変異も多数分離し、それらをいろいろな点突然変異に対するシス・トランス テストで解析し、欠失の範囲を確定しました。そして、範囲のわかった欠失突然変異を利用すると、未知の突然変異の起った場所がより素早く確定できることを見いだしたのです。このようにしてベンザーは2,400株に上る多数のrII突然変異株を分離し解析したのです。

ところで、T4の場合にももちろん子孫の遺伝形質を解析する通常の遺伝解析が可能です。そのためには、同時感染によって得られたプラークの中に含まれている多数の「子ファージ」の中に一定の頻度で生じている、二つの突然変異の間の「遺伝的組換え体」（両方の突然変異を持った株）の出現頻度（遺伝的組換え率）を測定し、それによって両者の突然変異の間の相対的距離を計算します。もし染色体のどの位置でも組換えの起る頻度が同じだと仮定しますと、遺伝的組換え率は二つの変異の間の距離に比例して高くなります。このことを利用した解析から、突然変異の位置を示した遺伝地図ができあがります。T4の場合には多数の変異を高速で解析することができますので、得られた遺伝地図の精度は、個々のDNAの塩基のレベル（理論的に突然変異の起こる単位）の1/5程度にまで迫ったのです【現在では、2003年に発表されたT4のゲノム解析結果から、Aシストロンは2,178塩基、Bシストロンは939塩基の大きさであることがわかっています】。

元の「読み枠」： ACG TAC GTA CGT ACG TAC GTA CGT ACG TAC GTA CGT ACG TAC GTA

1個のAの付加： ACG TAC GAT ACG TAC GTA CGT ACG TAC GTA CGT ACG TAC GTA CGT A

1個のGの脱落： ACG TAC GAT ACG TAC GTA CGT ACG TAC GTA CTA CGT ACG TAC GTA

3個のAの付加： ACG TAC GAT ACG TAC GTA CAG TAC GTA CGT ACG TAC GAT ACG TAC GTA

図4：翻訳に際しての「読み枠」の突然変異

r-1589株で機能をもたないAシストロン部分にプロフラビンで変異を誘導し、さらに別の変異を導入して、最初の変異がどのように救済されるかを調べる実験を模式的に示したものです。

プロフラビン等の色素で突然変異を誘導しますとDNAには塩基の付加や欠落が起ります。これは、その結果生ずる「読み枠突然変異」がどのようなものであるかを理解していただくための模式図です。ACGTの繰り返しの塩基配列があり、3個の塩基が一つの単位としてアミノ酸に対応すると仮定した場合（最上段）に、第一段階でAが一個挿入されますと、挿入点以降の読み枠はすべてずれてしまいます（二段目の赤線）。次に青い矢印の点で一個のGが脱落しますと、脱落点以降の読み枠は元に復帰します。同じような復帰は、脱落以外にも、二個のAが付加された場合にも見られることがわかります（最下段）。ただし、いずれの場合も青線部分の読み枠は元と異なっています。

遺伝暗号は何文字か？

ところで、ベンザーが分離して解析した欠失突然変異のひとつに、r-1589と名付けられた突然変異株がありました。遺伝的解析から、この株の欠失変異の生じた場所は、AシストロンのBシストロン側の末端であり、欠失によりAシストロンとBシストロンの境界が失われていること、Aシストロンの機能は失われているもののBシストロンの機能は正常であること、さらに、AシストロンとBシストロンが融合していることがわかりました。

この特殊な突然変異株を利用してクリックらが非常に巧妙な解析を行なったのですが、そのことを説明する前に、まずアクリジン色素という突然変異を引き起こす薬剤の特性について説明しなければなりません。アクリジン色素は、コールタール中から1971年にドイツの科学者によって単離されたものであり、その誘導体は古くから局所的な消毒剤として用いられていました。アクリジン色素の誘導体として、プロフラビンとかアクリジンオレンジという色素がありますが、これらの化合物はDNAの二重鎖の間に入り込み（これをDNAにインターカレートすると言います）、DNAの合成に際しては塩基を一つ（あるいは複数）欠落させたり、あるいは逆に付加したりします。したがって、これらの色素で突然変異を誘起しますと、図4に示すように、塩基の挿入点（あるいは欠落点）以降で

は、mRNAの遺伝情報の翻訳に際して「読み枠」がずれるという現象が起こります。

もし、アクリジン色素を用いて生じた最初の突然変異が二度目の突然変異によって解消されたとします（図4）と、それぞれの突然変異はプラスとマイナスの関係にあることが推測できます。クリックらはこのことを利用してr-1589のAシストロン部分に生じた第一の「読み枠突然変異」が、その後誘起した第二（あるいは第三）の同様な突然変異によってどのように回復するか（あるいはしないか）を丹念に調べたのです。その結果、Aシストロン部分に3個のプラスの変化を導入するとBシストロンの機能が回復することを見だし、このことから彼らは「遺伝暗号は3個でできているのではないかと推測しました（実際の実験結果とその解釈はもっと複雑なのですが、詳細な説明は省略します）。このことから、それまでは単に統計的な可能性のみで考えられていた一つの遺伝暗号を構成する塩基の数が3であると推測されたのです。

遺伝暗号を構成する塩基の数は、最終的にはニールセンとレーダーという二人のアメリカの研究者の精力的な実験結果から3個であることが確定し、その結果がまとめられ、どの暗号がどのアミノ酸に対応するかという「遺伝暗号表」として発表されました。これについては、次回のDNA物語で触れます。

6月号のニュースレターで取り上げた記事のうちの二つの項目に関して、具体例を入れた付加的な説明をまとめました。参考にしていただければ幸いです。

ラクトースオペロンの応用例

今月号のDNA物語（15）に、大腸菌のラクトースオペロンがどのようにして発見されたかということについての概略を説明しました。その際、ラクトースオペロンの研究からいろいろな応用例が生まれたことに触れましたが、ここで、実際にどのように応用されたのかについて例を挙げて説明します。

まず、図1をご覧ください。図1はDNA物語の本文に掲載

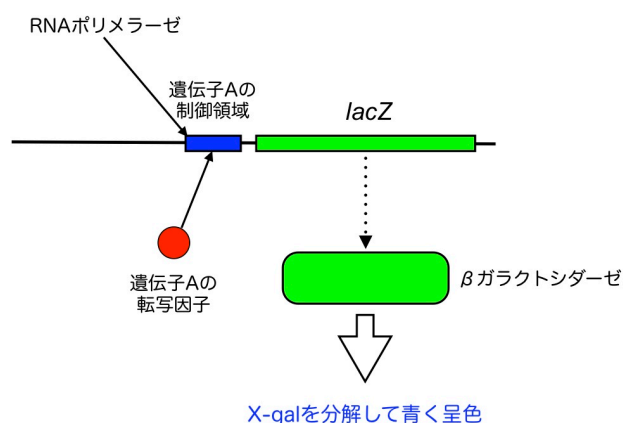


図1：lacZを他の遺伝子の制御領域と結合する

遺伝子操作（DNAの繋ぎ換え）によって、遺伝子Aの「制御領域」（遺伝子Aの発現のタイミングや発現量を制御する領域であり、遺伝子によっては、この領域に正や負の働きをするさまざまな転写因子の結合する部位があります）とlacZ遺伝子を結合させ、いわばハイブリッドの遺伝子を作ります。こうして作ったハイブリッド遺伝子をプラスミドに結合して保存し、今後のDNA物語で説明する予定の方法で研究対象とする生物の組織や細胞に導入するのです。

した図の一部を改変したもので、図中の青い部分が特定の遺伝子の「制御領域」を模式的に表したものです。制御領域とはその遺伝子（この場合は「遺伝子A」）がどのような条件下でどれだけ働くのかを「制御」する働きをもった領域のことであり、実際の転写を行なうRNAポリメラーゼが結合する部位（プロモーターと呼ばれます）を含みます。DNA物語で説明したラクトースオペロンの例では、リプレッサーの結合するオペレーターと呼ばれる塩基配列も制御領域に含まれます。図1に示すような遺伝子操作を行なうことによって作られたハイブリッドlacZ遺伝子は、遺伝子Aが発現する条件下で発現してβガラクトシダーゼを作るようになります。した

がって、ある条件下で遺伝子Aが量的にどれくらい発現するかを、βガラクトシダーゼの活性を測定して定量することが可能になるのです。

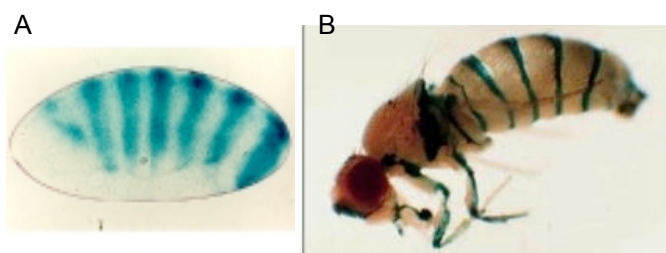


図2：キイロショウジョウバエの遺伝子の制御領域に結合したlacZ遺伝子の発現

幼虫（A）で発現するftz遺伝子と、観察のために翅を除去した成虫で発現するengrailed遺伝子（B）の発現パターンをX-galの染色で見たもの。両遺伝子とも、特定の体節で発現する結果、体の軸にほぼ垂直な青色のパターンが見られます。

【出典：Aは <http://www.stolaf.edu/people/colee/sections/teaching/classes/bio372platforms/drosophila/main.htm> から、Bは Molecular Biology of the Cell, 3rd edition から】

さらにX-galを使いますと、ハイブリッドlacZ遺伝子が発現すれば、βガラクトシダーゼの働きによって「水に不溶な青い色素」が生じます。したがって、例えば動物の体の組織の中のどこで特定の遺伝子が発現しているかということ、青い色素を目印にして調べることができるのです。図2Aに示したのはそのような例であり、ショウジョウバエのftzという遺伝子が、幼虫の特定の体節*註で発現している様子を示したものです。同様に、図2Bには別のengrailedと名付けられた遺伝子の成虫における発現のパターンを示してあります。このようにすることで、特定の遺伝子の発現の様子やその条件を追求することができるようになったのです。

*註 昆虫はムカデやエビなどとともに「節足動物」に分類されています。昆虫の体をよく見ますと、多数の節で分けられた「単位」となる構造が連結されて全体を構成しているのですが、それぞれの単位を体節とよぶのです。昆虫の翅は、胸部を構成する前・中・後の三個の体節のそれぞれに一つずつあり、さらに翅はそのうちの中・後の体節のそれぞれに一つずつあります。

ホメオティック遺伝子と変異

6月号のトピックス「翅などの器官の形成を促す仕組み」の欄で、キイロショウジョウバエで4枚の翅をもつ突然変異が発見されたことに触れ、そこから高等生物を含むすべての生物にホメオティック遺伝子と名付けられた「体のつくり」に影響を与える遺伝子のあることが見いだされた経緯を説明しました。そのことからさらに、烏骨鶏の足の指についてのホメオティック変異や、ツノ

ゼミと呼ばれるセミに近縁の昆虫の持つ英語で「ヘルメット」と呼ばれるマントのような構造のできるホメオティック変異の例も紹介しました。ホメオティック遺伝子（英語でhomeotic genes; あるいはhomeobox genes、略してhox genes）の名前の由来は、生物の器

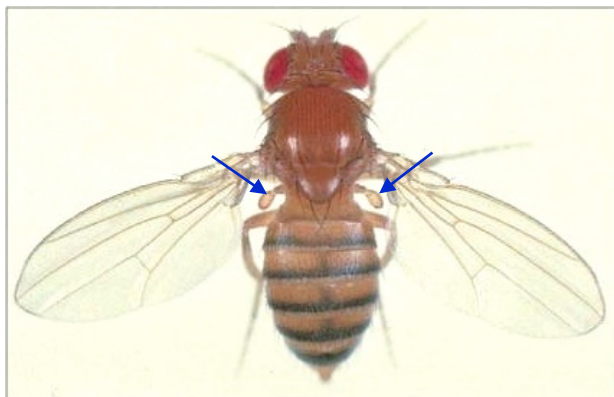


図3：野生型のキイロショウジョウバエ

キイロショウジョウバエは分類的に双翅目（ハエ目）ショウジョウバエ科に属する昆虫で、目（もく）の名前が示しますように、セミやトンボなどの他の昆虫と異なり、四枚ではなく、二枚の翅をもつ昆虫です。昨年5月に発行したニュースレターに第29号のDNA物語（3）にキイロショウジョウバエに関する詳細な説明を掲載しましたのでご参照下さい。図中の青い矢印については図4の説明をご覧ください。【出典：Molecular Biology of the Cell, 3rd edition】



図4：4枚翅の突然変異株

ニュースレターの本文に書きましたように、4枚翅になる突然変異はbithoraxという遺伝子（‘bi’は「二個」、‘thorax’は「胸部」という意味）に生じたものであり、胸部の第3体節が第2体節と同じになり、その結果、「翅の生えた胸部の体節が二個になる」ということから名付けられたものです。図3と比べるとおわかりになりますように、野生型では「平均棍」と呼ばれる棒状の構造（青い矢印）が見られる部位に、突然変異により翅が生じているのです。なお、平均棍の働きについては諸説ありますが、名付けられた当時考えられていたような体のバランスをとるためではなく、飛翔に必要な働きをしていると考えられています。【出典：JAMA, March 18, 1992 vol.267: 1524-1531】

官の再生に関する相同異質形成（homeosis）という現象にあります。この現象は、例えばザリガニの眼柄（先端に眼球をもつ棒状の器官）を実験的に取り除くと、眼

柄の代わりに触覚の再生が見られるようになることもあるという現象のことを言い、眼柄と触覚は「相同な器官」であるためにこのような「相同で異質の器官」の再生が起こるのだと説明されている現象です。上のキイロショウジョウバエの例に則して言えば、平均棍と翅の間で相同異質形成が起こったということになります。

前ページの節足動物の説明に、昆虫の翅は通常胸部の第二および第三の体節に一对ずつ生ずると書きましたが、今は絶滅した昆虫の中には、図5に示しますように胸部の第一体節にも一对の翅をもった種類があったことが指摘されています。しかしこの翅は進化の過程で失われ、その後出現してきた現存の昆虫の多くは、胸部の第二および第三の体節に一对ずつの翅をもつ種類であることは皆さんもよくご存知の通りです。

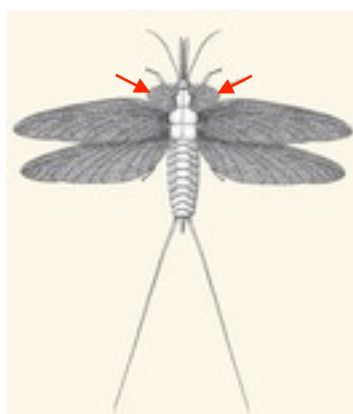


図5：絶滅した昆虫で胸部の第一体節に一对の翅をもつもの

この絶滅種では、頭部のすぐ下の胸部第一体節に一对の翅（赤い矢印）があるのがわかります。

【出典：Armin P. Moczek; Nature 473, 34-35 (05 May 2011)】

ところで、ツノゼミは、胸部の第一体節に、進化の過程で一見翅のような膜状の構造をもつようになったという特徴があることに触れました。ですからツノゼミ（英語でtreehopperと総称されます）では、他の昆虫で発現が抑えられた胸部の第一体節の翅と相同な膜状の構造を、進化の過程で新たに「復活させた」ことになります。最近のNature誌の論文“Body plan innovation in treehoppers through the evolution of an extra wing-like appendage” (Nature 473, 83-86, 05 May 2011) では、そのようなツノゼミで見られるホメオティックな変異が詳述されています（<http://www.nature.com/nature/journal/v473/n7345/extref/nature09977-s1.pdf>）。

なお、ツノゼミをご存知ない方は、NHKの「ダーウィンが来た」（<http://www.nhk.or.jp/darwin/program/program168.html>）や、「ツノゼミ画像」（<http://www.ne.jp/asahi/rhyncha/index/sam/memsam.html>）をご覧くださいと、この不思議な昆虫の写真を見ることができますので、ご参考にどうぞ。

なお、今回は触れませんでした。同様なホメオティック遺伝子や突然変異は、植物界でも広く知られていることを付け加えさせていただきます。