



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となります（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）。

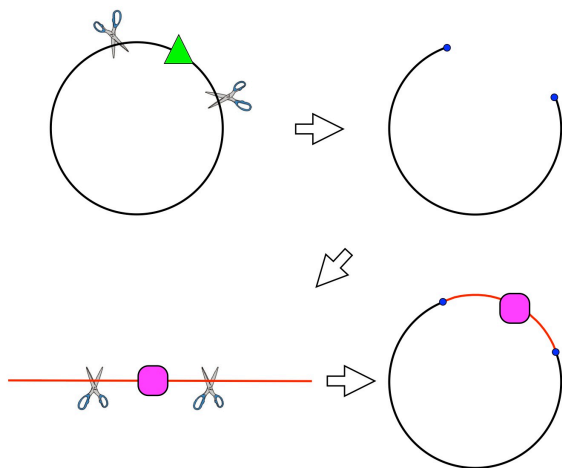


図1：制限酵素を用いたDNAクローンの作成

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。

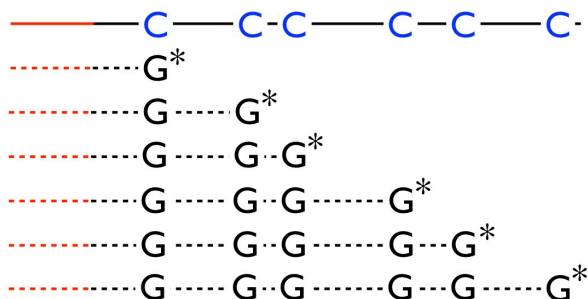


図2：サンガー法によりDNAの塩基の並びを決める方法

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の相補性にしたがって、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るい分けするのです。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ようになります。