



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という株に入 (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でした。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入ファージを感染させた後に放射線を当てて入ファージのDNAがどうなるかという実験を行いました。そして、入ファージの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、入ファージを制限する宿主内でも同じように入ファージの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。

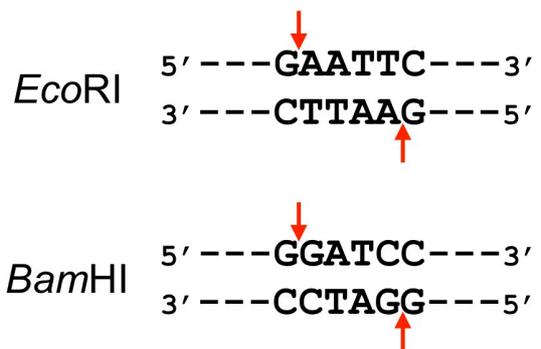


図1：制限酵素によるDNAの切断

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分子を繋ぎ合わせる (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、別の生物の遺伝子を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。