



研究ノート

## 遺伝的組換えについて

小川英行\*

### 遺伝子操作と遺伝的組換え

遺伝的組換えとか、遺伝子組換えとか言う  
と、昨今では、かなり多くの方が、それについて知っているという反応をするようになりました。しかしその場合、大抵、制限酵素とリガーゼという酵素を使って、何か有用な遺伝子の DNA を大腸菌のプラスミド DNA につなぐ操作、われわれが「遺伝子操作」と呼んでいるものを指していることが多いようです。確かに、この「技術」を用いて、有用な物質を多量に「生産」することが可能になって以来、この技術の注目のされ方は大変なもので、われわれできえ、重工業系の会社の研究所の方から相談を持込まれ、その興味を持たれ方、利用方法の多様性には驚かされるほどです。

御存知の様に、生物が増殖したり、外界環境の変化に対応して生命を維持していくプログラムは、細胞の中の染色体 DNA 分子上に盛り込まれています。DNA 分子は、その形の上から言っても、ちょうどコンピューターで使われるテープに喩えられます。そのテープに情報が塩基の配列によって順次一列に並べられているのです。情報量が多くなれば、それだけこのテープの長さ、つまり DNA 分子の長さが長くなることとなります。ただ DNA 分子の方は、テープが一本だけでなく、本来の情報を持っているテープとその情報をネガの形に写し取ったもう一本のテープが、いつも一対に、より合わさった、二本鎖のらせん構造になっています。そのため、一部に破損が生じて相手側のテープを基に再生が可能で、情報が安定に維持される仕組みになっています。そして DNA テープに書かれている言葉はどの生物でも基本的に

は共通です。このような構造ですから、DNA テープの必要な情報の部分を切り出して、別の DNA テープのある部分に、はめ込むということが出来そうです。それを実際に可能にした道具が、先ほどの制限酵素とリガーゼで、それぞれ DNA テープをある場所で切る役目と、切れたテープ同志をつないで一本のテープにする働きをしています。これらの酵素は、すべて生物から取り出して来たものですから、生体内でもこれと同じ反応が起こっても良いように思いますが、実際には、ほとんど起こらない仕組みになっています。したがって、この遺伝子操作の技術は、人間がつくり出した純粋な技術といっても良いでしょう。しかし細胞の中では、実際には、遺伝情報の部分的入れ替えや、付加や除去、配置換えなどの編成変えが、まったく別の仕組みでかなり頻繁に起こっております。われわれはそのことを遺伝的組換えと呼んで来ております。この仕組みによって、生物は、遺伝情報の質的变化と量的変化を起こすことが可能で、ひいては、その高次化をも可能にして、生物進化の原動力になって来たと思われま

### 遺伝的組換えの種類

遺伝的組換えは、その仕組みの違いから大雑把に分けると次の3種類になります。

1. 普遍的組換え：かなりの長さにわたって相同部分を持つ DNA 分子間で起こり、しかも相同部分のどこでも起こる。
2. 定点同志での組換え：比較的短い相同部分（たとえば、十数個の共通の塩基配列）同志の間で起こる。その領域に特異的に働らく酵素によって行なわれる。
3. 非正統的組換え：組換えが起こる点の付近に、特に相同性が見出されない場合で、転移遺伝子の転移や、遺伝子の欠失などが

\* 小川英行 (Hideyuki OGAWA), 大阪大学, 理学部, 生物学科, 教授, 理学博士, 分子遺伝学

これに当る。

このように、多様な様式の組換えが、それぞれ違った酵素群によって、細胞内では行われております。われわれは、最近この中の普遍的組換えの仕組みに興味を持ち研究をして来ております。これは、バクテリオファージから人間に至るまで、どの生物でも、最も共通して見られるもので、これを利用して、遺伝学では、遺伝子の染色体上での配列である染色体地図を作製しますし、育種の上でも欠くことのできないものです。その仕組みを明らかにすることは、学問的に意味が大きいだけでなく、組換えを制御できることをも可能にしますから、細胞中での遺伝子の入れ替えが簡単になったり、細胞の変化を制御したりできるかもしれません。

普遍的組換えの仕組みについて

この組換えの特徴は、相同部分間で DNA の入れ替えが起こり、その際に全く間違いを起こさないことです。自分と同じ分子を、また同じ部分をどういう仕組みで互いに認識するか。ど

うやって相互作用をするか。どういう仕組みで DNA を入れ替えるかなど興味のある問題であります。われわれは、これらの点を明らかにする目的で、最もこの種の研究には適している、バクテリオファージと大腸菌を用いて研究を行ってきました。まず T7 ファージについて述べてみましょう。

(a) T7 ファージの組換え

組換えの仕組みを DNA 分子レベルで明らかにする一つの直接的な方法は、組換えの途上にある分子を分離して、その形状と、その分子を形成するのに必要な機能を明らかにしていく方法です。ファージでは二つの親 DNA を密度差をつけて標識することなどが容易ですので、中間体の分離も容易です。ファージの中でも T7 ファージは遺伝的解析の上でも DNA 分子操作の上でも最も適した性質を持っていますので選ばれました。そして T7 ファージのいろいろな遺伝子の機能を欠いたときに、組換え中間体がどうなるかが感染菌で調べられ、それをもとに仕組みのあらましと関与する機能が図1のよ

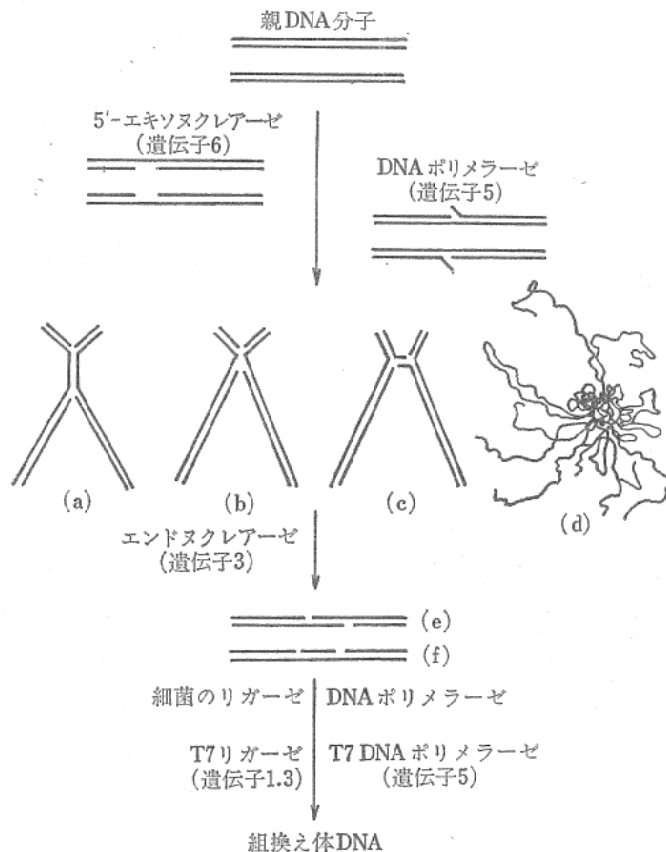


図1 T7 ファージ DNA の組換えモデル

うに明らかになりました。ここでの最大の特徴は、エキソヌクレアーゼが主役をしていることです。まず DNA テープ二本の内のどちらかに切れ目が入り、そこからエキソヌクレアーゼが切れ目の入った方のテープを一方方向に切り刻んで、相手方のテープをある部分、剝出しにしていまいます。ある他の分子では、これと同じことが、ちょうど反対側のテープ上で起こっています。するとこの二分子では、剝出しの部分は、ちょうどポジトネガの関係で、対になることが出来て、互いにより合わさり、安定に二つの分子が結合した状態がとれます。後は二つ出ている枝の一方が切り取られ、その跡を埋めてつなげば組換え体が出来あがることとなります。われわれは、現在、この感染菌での反応を、関与している酵素群だけを使って試験管の中で再現しつつあります。この研究過程で、二つの親 DNA 分子をより合わせて結合させ、組換え中間体を形成するところに、新しい因子、DNA 結合たんぱく質が関与していることが明らかになってきています。またわれわれが次の課題として取り組んでいるのは、何が、どのようにして、DNA 鎖に最初の切れ目を入れるかということです。これは残された問題中で最も面白いものの一つでありましょう。

#### (b) 大腸菌の組換え：recA 遺伝子のはたらき

大腸菌の組換えに関係しているとはっきりしている遺伝子は今のところ 8 個ほどありますが、この中で最も組換え頻度が低下し、大腸菌に大きな影響を与えるのが recA 遺伝子の変異です。この変異は、組換え能の外に同時に、放射線に対する感受性が非常に高くなる上に、突然変異が起こらなくなり、溶原フェージの誘発も全く無くなります。なぜ単一遺伝子の変異でこうも多くの変化が起こるのか、大変興味のあるところですが。われわれは、recA 遺伝子をクローニングし、遺伝子の塩基配列を決定するとともに、recA たんぱく質の精製にも成功しました。recA たんぱく質は 37,000ダルトンの分子量を持ち、剝出しの一本鎖 DNA があると ATP を分解する活性を持つことを見つけ

ました。この活性が明らかになると直ぐ、米国のグループによって、recA たんぱく質は、ATP を分解しながら、一本鎖 DNA を、それと同じ塩基配列を持つ二本鎖 DNA に巻き込んでいく働きのあることが示されました。つまり、二つの相同な分子の一方の DNA テープが、他方の分子のネガのテープと対をつくりながら入り込んで行き、可成り安定な、二つの分子の結合したものが、recA たんぱく質の働きで出来あがるというわけです。ところがさらに面白いことに、recA たんぱく質は、ある特殊なたんぱく質を二つに切断する活性を合わせ持つことが明らかになりました。特殊なたんぱく質とは、溶原フェージのリプレッサーたんぱく質と lexA たんぱく質です。lexA たんぱく質については少し説明を要しますが、大腸菌が持っている一種のリプレッサーたんぱく質で、普段は recA 遺伝子をはじめ、DNA 障害修復に関係した遺伝子群とかコリシン産生の遺伝子などを抑える役割りをしています。ところが、DNA に障害が生じ、恐らく剝出しの一本鎖 DNA 部分が出来ると、recA たんぱく質が急にたんぱく質を切断する活性を出すようになり、lexA たんぱく質が切られ、recA たんぱく質自身の合成、DNA 障害修復遺伝子の形質発現、コリシンの産生などが一斉に開始されることとなります。もちろん溶原フェージがあればそのリプレッサーも切断され、誘発が起こるというわけです。そしてその切り口は、どの場合も、アラニンとグリシンの間であることが明らかになりました。recA たんぱく質がこのようなたんぱく質切断活性を持っていることが明らかになって、変異株の多様な性質も説明がつくようになりました。しかしなぜ recA たんぱく質がこのような二種類の活性を持つようになったかは、わかりませんが、組換えという反応をするようになるには、DNA 修復の機能を不可分に持ち合わせていなければ達成できないのかもしれない。とりとめもなく綴ってきましたが、最後に生物というのは、やっぱり良くできている、面白いというのが、われわれのいつわらざる実感です。