

1 複製(DNA複製) 1956年にコーンバーグが大腸菌でDNAポリメラーゼという、1本鎖DNAを鋳型にして、相補的な塩基配列をもつDNA鎖を合成する酵素(DNA合成酵素)を発見した。ワトソンは「DNAが酵素によって合成されるという発見は誰も予期しなかった」と評価している。コーンバーグがDNAポリメラーゼを発見する少し前に、オチョアがRNAの人工的な合成に成功した。カギとなったのは、RNAヌクレオチドを結合するRNAホスホリラーゼという酵素だった。この酵素はRNAを生成するとともに切断するものであることもわかった。成果を聞いたコーンバーグはそれまで進めていたRNA合成酵素の研究を止めて、DNA合成酵素の研究に全力を傾けた。人工DNAがつくれるということは人工遺伝子がつくれるということだからである。

大腸菌の酵素を含む液に、炭素の放射性同位体で標識したチミン、子牛胸腺のDNA、ATPを加えて反応させると、DNA中にチミンが取り込まれていることが確認できた。子牛のDNAを鋳型にして人工DNAが初めて合成されたのだった。実験の成功をもたらしたのは子牛のDNAを加えたことだった。ふつうだったら大腸菌の酵素には大腸菌のDNAを加えるべきである。しかし、コーンバーグはあえてそうしなかった。大腸菌の酵素を含む液には、DNA合成酵素だけでなくDNA分解酵素も含まれている可能性があった。あらかじめDNAを加えておけば、放射性同位体で標識したチミンを取り込んだ新DNAのすべてが分解されてしまう可能性が減ると予想したのである。

コーンバーグはDNAポリメラーゼを精製する作業を開始、38,000Lの培養槽で90kgあまりの大腸菌を生産し、そこからおよそ1.5gのDNAポリメラーゼの精製に成功した。この酵素は大腸菌由来ではあったが、大腸菌以外の生物の鋳型DNAでも忠実に複製されることが証明された(1958年)。この功績により、コーンバーグは、RNAの人工合成に初めて成功したオチョアとともに1959年度のノーベル生理学・医学賞を受賞した。

ところで、この酵素DNAポリメラーゼは、ヌクレオチドを一定方向5'から3'の方向にしか結合できなかった。しかし、大腸菌の環状DNAの複製中を写した画像(1963年)には2本鎖の複製が一定の方向に進むことが示されているようだった。

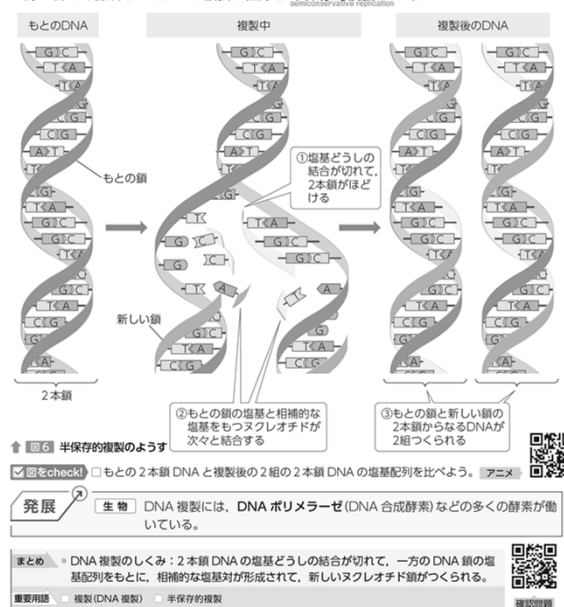
2本鎖のうち、1本は合成方向が逆向きなのに複製が一定方向に見えるというのは矛盾ではないのか。名古屋大学の岡崎令治は逆向きのDNA鎖(ラギング鎖)の合成に注目し、1960年から米国に留学し、後半には

半保存的複製

もとのDNAと同じDNAがつくれることを、複製(DNA複製)という。

DNAが複製されるとき、まず、2本鎖DNAの塩基どうしの結合が切れて1本鎖DNAにほだける。ほだけたそれぞれの1本鎖DNAを鋳型として、ヌクレオチドが結合して新しい鎖がつくれ2組の2本鎖DNAになる。

鋳型となる1本鎖DNAの塩基がAならば新しい鎖の塩基はT、GならばCというように、それぞれ相補的な塩基対が形成される。このように、塩基の相補性にもとづき、DNAが複製される。新しくできた2組のDNAの塩基配列は、もとのDNAの塩基配列と全く同じになる。探究2-2でも考えたように、DNA複製は、一方はもとの鎖のままで、もう一方は新しく合成される。この複製の仕方を半保存的複製という。



66

コーンバーグの研究室でも過ごした。帰国した岡崎は複製反応のスピードを落とすと同時に、放射性チミンの標識時間を秒単位にするという手法を工夫して合成されるDNAの短鎖を発見し、不連続複製モデルとして発表した(1967年)。翌年のコールド・スプリング・ハーバー量的生物学シンポジウム「微生物におけるDNA複製」で岡崎夫妻は不連続複製のしくみを解説し、座長をつとめたメセルソンは発見された短鎖を「岡崎フラグメント」と名付けた。

DNAの複製では複製点で2本の鎖が開裂してそこから両方向に複製が進んでいく。

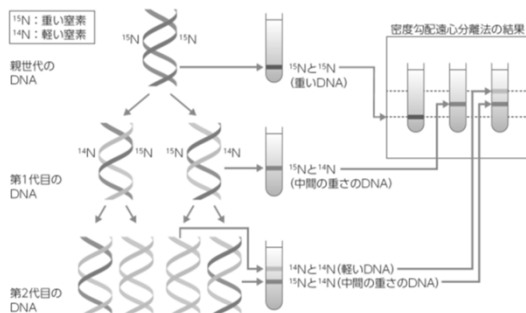
真核生物の染色体上には複製起点が多数存在するが、すべて細胞周期1回あたり1度しか複製が開始しないように調節されている。

(参考文献：『DNAの謎に挑む』『遺伝子の分子生物学』)

岡崎令治(1930-1975) 中学2年のとき、広島で原爆による黒い雨により被爆した。1960年、ワシントン大学のコーンバーグのもとに留学。スタンフォード大学を経て1963年、名古屋大学理学部化学教室へと帰国。

参考 半保存的複製の証明

DNAの複製が半保存的であることは、メセルソンとスタールの実験によって証明された(1958年、[図2](#))。DNAの塩基には窒素(N)が含まれている。窒素の同位体である ^{15}N と ^{14}N は質量が異なるが、窒素(N)としての化学的な性質はほぼ同じで、同じようにDNAを構成できる。まず、彼らは質量が大きいほうの ^{15}N を含む培地で大腸菌を長期間培養すると、大腸菌内の窒素がすべて ^{15}N に置き換わり、 ^{15}N からなる重いDNAができた。その後、質量が小さいほうの ^{14}N を含む培地に移して大腸菌を分裂させた。 ^{14}N の培地に移して1回分裂させた大腸菌と2回分裂させた大腸菌からそれぞれDNAを抽出し、もとの大腸菌のDNAと質量を密度勾配遠心分離法で比較した([図3](#))。その結果、1回分裂させた大腸菌のDNAは、 ^{15}N の培地のみで増殖した大腸菌のDNAと ^{14}N の培地のみで増殖した大腸菌のDNAの中間の質量であった。また、2回分裂させた大腸菌のDNAには、中間の質量のものと、 ^{14}N の培地のみで増殖した大腸菌のDNAと同じ質量のものが、1:1の割合で含まれていた。これはDNAが半保存的に複製されたことを表している。

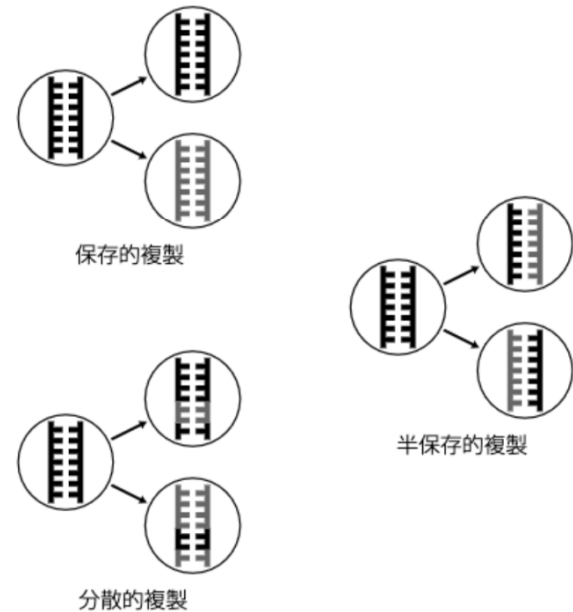


④ 図3 DNAの半保存的複製を証明する実験

④ 密度勾配遠心分離法：塩化セシウムの濃い溶液を遠沈管に入れ、高速で回転する遠心分離機で長時間遠心力をかけ続けると、塩化セシウムの密度は、底ほど高く、上部ほど低いという密度の勾配ができる。このときDNAを一緒に加えておくと、DNAの密度とつり合う塩化セシウムの密度の位置にDNAが集まって層になるため、その位置からDNAの質量のわずかな違いが検出できる。

67

2 この複製の仕方を半保存的複製という DNA複製の様子には、次の図に示す3つの仮説があり、半保存的複製のほかに保存的複製、分散的複製が考えられた。



▲複製に関する3つの仮説

3 半保存的複製の証明 1953年に提案された「二重らせん」構造は複製の際に、片方の鎖が新しく合成される鎖の鋳型になるという半保存的複製を示唆してはいたものの、実験によって確認されてはいなかった。たとえばマックス・デルブリュックはファスナーのように開いたら綺麗に分かれずにこんがらがってしまうのではないかと心配していた。

1957年、メセルソンとスタールによって半保存的複製が証明された。当時開発されたばかりの超遠心機を用いて高分子を比重によって分離する密度勾配遠心法を使っていた。「生物学でもっとも美しい実験」とジョン・ケアンズ(当時コールド・スプリング・ハーバー研究所長)は評価した。

1966年岡崎フラグメントを発見。1972年、岡崎フラグメント間をつなぐRNAを見だし、不連続合成モデルを完成させた。被曝が元で慢性骨髄性白血病で米国旅行中に44歳で急逝した。研究は夫人の岡崎恒子に引き継がれた。リーディング鎖には先導鎖，ラギング鎖には遅滞鎖と訳語が付されたことがある。

● 発問例 DNA鎖の塩基配列が決まった場合、もう一方の鎖の塩基配列がどうなるかを書いてみよう。また、このDNAが複製するとき新しい鎖の塩基配列がどうなるかも書き記してみよう。

板書例

DNA鎖
もう一方

A - G - T - T - A - G - C - T
○ - ○ - ○ - ○ - ○ - ○ - ○ - ○

<複製> ↓
A - G - T - T - A - G - C - T
□ - □ - □ - □ - □ - □ - □ - □

△ - △ - △ - △ - △ - △ - △ - △
○ - ○ - ○ - ○ - ○ - ○ - ○ - ○

できた二重らせんの塩基配列はもとと同じ！