

DNA 複製研究の歴史と最前線

正井 久雄

DNA複製
段増短鎖
DNAがどうなる
ことかわかり?

片方の鎖は

DNAポリメラーゼに
対して複製されない
はずがある?

名古屋大学理学部分子生物学科元教授、岡崎令治博士による、岡崎フラグメント発見から50周年を記念して、2018年12月17日、18日に名古屋大学で「岡崎フラグメント-不連続DNA複製モデル50周年記念国際シンポジウム」が開催された。本稿ではDNA複製研究のこれまでとこれからを概観する。

berg博士によるDNAポリメラーゼの発見により、DNA複製の基本的機構は解明されたかに見えた。しかし、DNAポリメラーゼの発見は、新たな問題を生み出した。DNA鎖は反平行に対をついているため、一方の鎖が5'→3'方向に複製され、もう一方は3'→5'方向に複製されなければならない。しかし、知られているすべてのDNAポリメラーゼは5'→3'の一方方向にのみしかDNAを伸長できない。つまり、DNA複製の進行に従い、片方の鎖上には未複製領域が生じてしまう。

析した。この解析から新生短鎖DNAが発見され、これらの新生短鎖DNAは、その後大きな分子へと変化していくことが明らかとなった。さらに、単離されたばかりのDNAリガーゼ変異体を用いて、短鎖DNA鎖の長鎖への移行にDNAリガーゼが必要であることを示した(図1)。これらの結果に基づき、岡崎令治博士は、新生短鎖によるDNAの不連続DNA複製モデルを提唱した。このモデルでは、ラギング鎖とよばれる3'→5'鎖(DNA複製の方向とDNA鎖伸長の方向が逆の鎖)は、5'→3'方向に不連続に合成された短いDNA断片が最終的にDNAリガーゼによって連結され、一本の長いDNA鎖になることにより合成されると提唱した(図2)。岡崎令治博士は1968年にコールドスプリングハーバーシンポジウムでこの不連続DNA複製モデルを報告した。博士が発見したラギング鎖のDNA断片は岡崎フラグメントと名付けられ、今では世界中の分子生物学の教科書に重要用語として掲載されている。生命の神秘を解き明かそうとする学生や研究者でその名前を知らない人はいないであろう。

この矛盾を説明するために、岡崎令治博士らは(1)手ミジシを数秒のバルス標識を行うことにより、新生DNA鎖を解

1953年のDNAの二重らせん構造の発見により、DNA二本鎖のそれぞれ一本鎖が鋳型となり、娘鎖が合成され、新たな二本鎖DNAが複製されるという半保存的DNA複製機構が提唱され、時を待たずにモデルシステマの実験により証明された。その後、Arthur Korn-

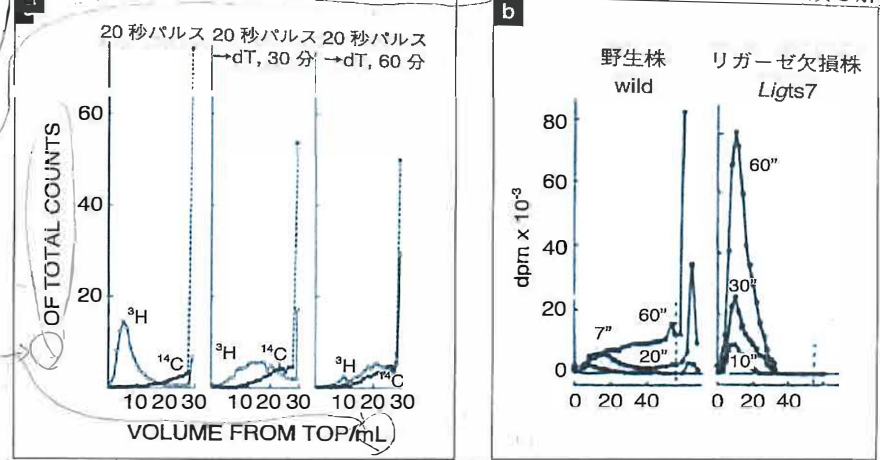


図1 岡崎フラグメントの発見に至った実験

半保存的DNA複製機構、不連続DNA複製機構はDNA複製の二大基本ルールとなったが、その詳細な分子機構の解明は、その後の長い研究を待つことになる。ここで簡単にその歴史を振り返る。

1960年代初頭にFrançois Jacobらは、

2019年9月 現代化学

発表に当時の反響
(反論も多かった
か)について
簡単にふいいて
2019/07/19 11:01
まこと帯いす。

DNA複製機構
の分子メカニズム

小見出しを
入れてはいいか
でしょうか?

←写真お入れし可
(こちら許可可)

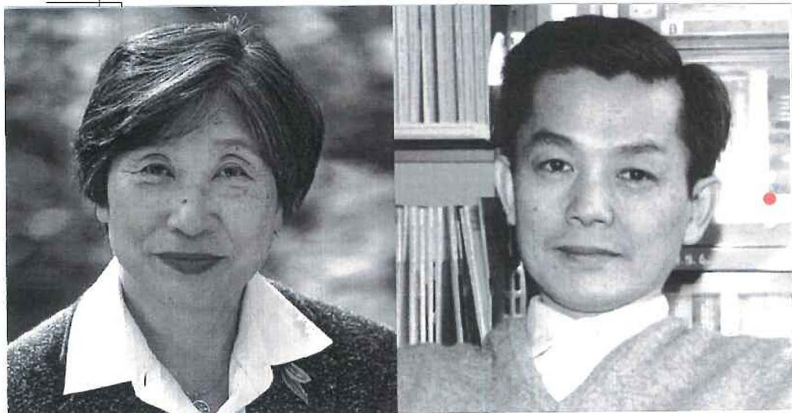
字話修正

DNA複製方向の謎
など、小見出しを
入れてはいいか
でしょうか?

3Hチミジンを用いて?

不明な点

分野外の方には
難しいと思いきなり
図1は書かなくて
よろしいでしょうか?
本文の内容だけでも
十分伝わるかと思いきす。



が必要で、これらが一つの複製単位を構成している？

DNA複製の単位を構成する二つの遺伝的部、レプリケーターとイニシエーターを想定し、イニシエーターは、レプリケーターを正に制御する因子を規定するという仮説(レプリコン仮説)を提唱した。この仮説は、その後大腸菌の複製開始タンパク質である*anaA*と複製起点*oriC*の発見により、妥当性が示された。その後、ファージやウイルスを用いた研究により、宿主細胞のDNA鎖の伸長の過程に関して多くの知見が得られた(文

献1)。一方、レプリケーターにおける複製開始のメカニズムは、*oriC*配列からの複製開始反応を試験管内で再構成することにより解明された(文献2)。これらの研究から、原核細胞の複製開始のメカニズムがほぼ明らかとなった。その後、真核細胞におけるDNA複製開始におけるイニシエーターとレプリケーターの探索が行われ、その存在が明らかとなっている(文献3)。真核細胞では、「細胞周期1回につきDNA複製は

1回しか起こらない」という一度きりの複製(once and only once replication)を保証するライセンスとよばれる概念が確立され、その実体も明らかになった。この再複製抑制の詳細なメカニズムは真核細胞におけるDNA複製制御において最も重要なものの一つである。また、原核細胞ゲノムの複製起点は通常一つしかなく、その配列に完全に依存してきわめて効率よく複製開始するの



諦めずに追いつけた岡崎フラグメント

岡崎フラグメントの発見は名古屋大学で行われた日本発の独創性のある研究である。岡崎フラグメントの発見者として分子生物学の歴史にその名を残し、早逝されなければノーベル賞確実だったともいわれる岡崎令治博士とはいったいどのような人だったのか。

共同研究者で令治博士の夫人でもある岡崎恒子博士に尋ねると、一言、「典型的日本男児」と評した。モットーは「的を定めたことはちゃんと解決するまではやめない」ことだったという。その姿勢は研究においても同様で、研究一筋の人だった。令治博士の研究以外の趣味について尋ねると「さあ、あったのかしらね」と首をひねる。とにかく神経質なまでに研究のことを考え続けていたという。家に帰っても何か気になることがあれば、夜中に何度も研究室を訪れることもあった。研究室から自宅までの短い距離の度重なる往復は車のバッテリーをあげるには十分だった。

当時の研究で苦労したことを恒子博士に尋ねると、真っ先に「とにかく、お金がなかったこと」と答える。当時の日本では、研究を援助する制度が十分に整っていなかったという。研究に使う試薬も日本にはなく、海外から輸入するしかなかった。1ドル360円の時代である。海外の個人財団から援助をもらってはいたものの、私費を投じることもあった。

そんな厳しい研究環境のなかで令治博士は議論を重視した。黎明期の分子生物学の研究は「実験で手を動かす人も言われたままにやるのではだめで、アイデアを出していかないと進んでいかなかった」と恒子博士は話す。令治博士との議論について、岡崎研究室出身で令治博士のもとで研究をしたことがある玉野井冬彦博士は「正しい考察、正しい実験方法にたどりつくまで何時間も議論をしていた。とにかく妥協がなかった」と振り返る。岡崎フラグメントの発見はその妥協なき議論のたまものだったのだろう。

岡崎フラグメントの存在が確認されたあと、鍵となる研究は複製の開始に必要なプライマー RNA の構造を決定す

ることだった。しかし、分解されやすいプライマー RNA を相手にした研究は困難を極めた。そのさなか、令治博士は自身が示したDNAの不連続複製過程を証明できぬままこの世を去ることとなる。享年44。白血病だった。1945年8月6日、中学生だった岡崎令治博士は広島にいた。今なお輝き続ける功績に反して、その生涯はあまりにも短い。

岡崎フラグメントをめぐる物語は、恒子博士に引継がれることになる。令治博士の死後、岡崎フラグメントに似たDNA短鎖がDNAの修復時にも生じる研究が発表された。当然、岡崎フラグメントによる複製モデルに対する批判が上がることとなる。恒子博士らはその批判に対する反証を行いながら、プライマー RNA の構造を決定づける研究に奮闘した。そして、ついにプライマー RNA の正体をつかむ。さまざまな媒体は、ここに至る研究を「執念の研究」と表現している。恒子博士は「それは書く人がそう書いているだけ」と笑うが、岡崎フラグメントの発見を報告してから約10年の月日がたっていた。

最後に「研究者にとって一番大事なことは何か」を尋ねると恒子博士はこう答えた。「ギブアップしないこと。一つに決めてやり出したらちょっと困難だからといってやめるのではなく進めること。私の場合は、夫に先立たれ、ギブアップするしかないかという場面が種々あった。それでも諦めずに続けてきて道が開けたことがたくさんある。だからネバーギブアップっていうのが一番大事」令治博士の「的を定めたことはちゃんと解決するまではやめない」というモットーと共鳴する言葉だった。諦めないこと、ネバーギブアップ。ともすれば使い古された言葉と思われるかもしれない。しかし、実際にその姿勢を貫き、道を拓き続けた恒子博士のその言葉は金言として響いた。

今回の岡崎フラグメント50周年シンポジウムの懇親会が終わった後、恒子博士の周りを女性の研究者や学生が取り囲み、記念撮影をする光景があった。恒子博士に「先生は研究者の目標だ」と言うと「そう言われると気恥ずかしい」と笑った。

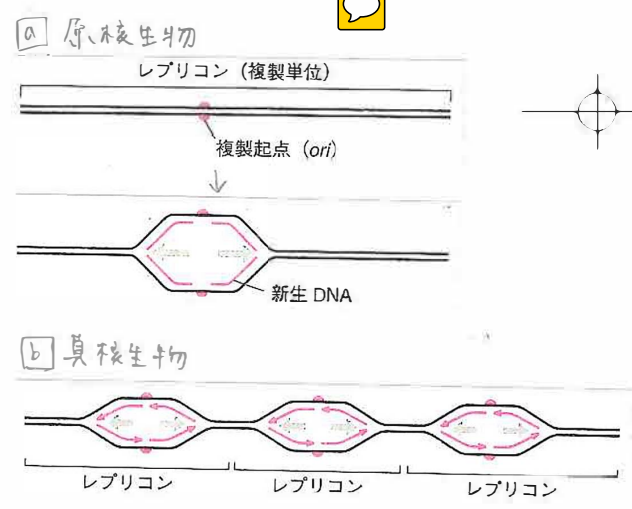
(現代化学編集グループ)



現代9-016.indd 3

2019/07/19 10:11

このように図を
お入れしては
いかがでしょうか?



複製起点 *ori* には、複製開始に必要な DNA 領域(レプリケーター)配列があり、そこには複製開始因子群(イニシエーター)が結合する領域がある。イニシエーターが結合することで、そこから DNA の変性が始まり、複製が進行する。原核細胞ゲノムの複製単位(レプリコン)は通常一つだが、真核細胞ゲノム上には複数の複製単位がある。

キャプション: 図2 原核細胞と真核細胞の DNA 複製機構

専門的な内容を、初學者にも
 楽しいと思わせたいのでは？
 楽しいと思わせたいのでは？

対し、真核細胞ゲノム上には複製起点は
 多数存在し、ゲノム全体を過不足なく複製
 するという目的を達成するために、ど
 の複製起点が使用されるかというルール
 は柔軟であり、ランダムに複製開始を
 行っているようにさえ見える。
 しかし、巨大なゲノム(どの部分をい
 つ、どこで複製するかというルールは、
 各細胞において、大まかに決まってお
 り、染色体の核内における配置や、高次
 クロマチン構造と密接に関連すること、
 また、その決定は細胞周期のG₁初期に
 されることが明らかになっている(文献
 3)。

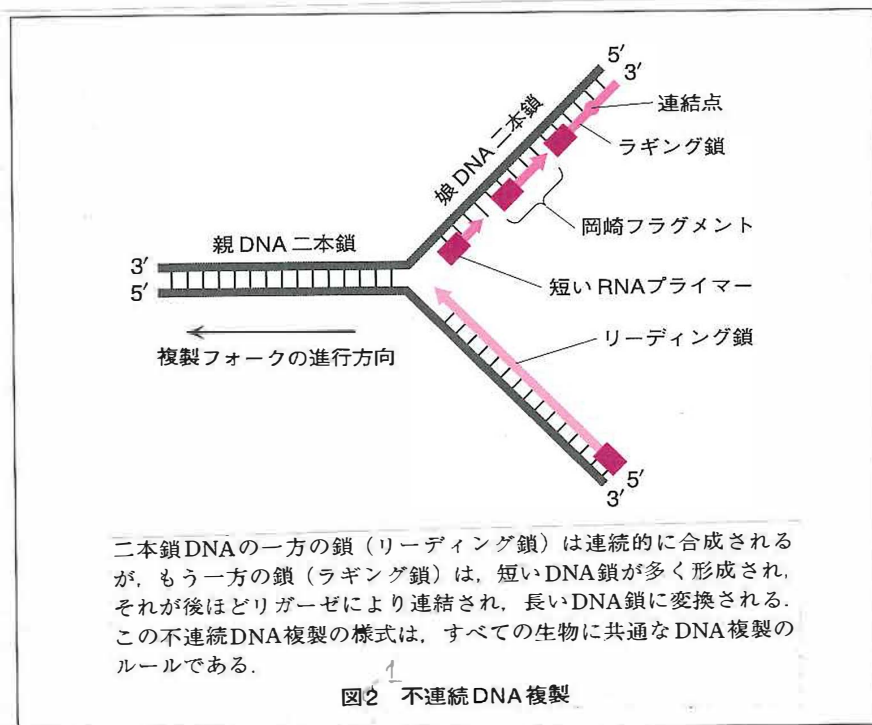
このような背景のもと、ここ数年の間
 にDNA複製の研究は急速に進展してい
 る。

①複製開始から終結までのメカニズムの
 解明 近年、真核細胞である出芽酵母
 の染色体複製開始が、精製タンパク質か
 ら再構成され(文献4)。日本人研究者
 を含め多くの研究者の貢献があったが、
 中心的な役割を果たしたBruce Stillman
 およびJohn Diffley両博士がノーベル賞
 の登竜門とよばれるガードナー国際賞を
 今年受賞している。

②DNA複製複合体の構造の解明
 DNA複製の過程には多くのタンパク質
 が関与する。これらのタンパク質は、鋳
 型DNAの上で種々の複合体を形成する。
 近年クライオ電子顕微鏡技術の発展によ
 り、これらの構造の分子レベルでの解析
 が進んでいる(文献5)。

③DNA複製の障害と疾患の解明 外
 的、内的要因による複製フォークの進行
 の障害は、DNAに傷をつけ、がん細胞
 発生の根本的な原因となる。細胞が複製
 フォークをどのように防御し、損傷から
 回復させるかを理解することは、DNA
 複製と疾患の関連から重要な課題となっ
 ている。

④複製システムの進化の解明 複製開



始のstochasticity(確率論的現象)や
 diversity(多様性)の解明は、生物の
 robustness(頑強性)と複製システムの
 進化の分子背景を明らかにするうえで重
 要である(文献6)。

⑤今後の展望 複製、転写、組換え、
 修復などDNA鋳型上での反応は、互
 いに連動して制御されるとともに、染色
 体の分離分配の過程とも密接に連携す
 る。その際、核内におけるクロマチンの
 空間的配置、形態は、ゲノム配列、エピ
 ゲノム情報の支配のもと、生物の成長、
 生存、あるいは細胞死、がん化、老化を
 制御する。全ゲノムのクロマチン一次元
 情報から三次元情報の解析、試験管内再
 構成システムによる複雑な反応系の分子
 メカニズムの解明を通じて、核内染色体
 の動態の全貌を明らかにすることが近い
 将来可能になるであろう。そして、これ

らの知見は、有機化学、核酸化学、ナノ
 工学などの技術と組み合わせることによ
 り、染色体の構造、機能を自在に操作す
 る技術開発、そして染色体異常に関連す
 る疾患の診断、治療のための画期的戦略
 への応用とつながっていくであろう。

参考文献

1. T. Kellyほか, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1042, 1 (2017).
2. D. Bramhill, A. Kornberg, *Cell*, 54, 915 (1988).
3. H. Masaiほか, *Annu. Rev. Biochem.*, 79, 89 (2010).
4. J. T. Yeelesほか, *Nature (London)*, 519, 431 (2015).
5. L. Baiほか, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1042, 207 (2017).
6. 正井久雄, 遺伝, No.04, 375 (2018).

岡崎フラグメントの発見から、
 DNA複製の研究は、
 まだまだ方向性に展開
 して来ている？

↑
 今後ついでにもよろしいでしょうか？
 (適宜お直しください)