

序にかえて

分子生物学の分子とは？

分子生物学の目的は、生命現象を分子レベルで理解することである。

その潮流は、2つの源泉から始まっている。1つは、生命現象を支える生命反応にかかわる分子の働きを分子の構造から理解しようというものである。1951年に、L. Pauling はタンパク質の基本二次構造である α ヘリックスと β シート構造を提唱した。やがて、英国ケンブリッジ大学の研究グループ (M. Perutz, J. Kendrew ら) はX線結晶解析により、ヘモグロビンの立体構造を明らかにし、この分子の機能、すなわち酸素と結合する酸素運搬体の機能原理を明らかにした。まさに、分子レベルで酸素の運搬を理解したのである。この流れは、現在の構造生物学と呼ばれる学問領域に繋がっている。もう一方の源は、G. Mendel の法則に始まり、T. Morgan によって体系化された古典遺伝学である。その後、米国の研究者を中心に、細菌やファージを用いて生命現象や生物の形質を支える遺伝の本質 (遺伝子 = DNA であること) が明らかにされるなか、DNA の二重らせんモデルが提唱され、セントラルドグマが打ち建てられた。興味深いのは、L. Pauling らは、生化学的方法で、遺伝性疾患である鎌状赤血球症が構造的に異常なヘモグロビンによって起こることを明らかにしていることである (当時は、構造学派も F. Crick, J. Watson も、お互いに近くで頑張っていましたからね!)。

「DNA makes RNA makes Protein」というセントラルドグマが実証された時点で、遺伝子 (情報) を扱う学問 (遺伝学、分子遺伝学) とタンパク質の (機能) 構造を扱う学問 (構造生物学) は、collinear な議論が可能となった。つまり、生命現象を支える分子とは、遺伝子 (情報) であり、そこにコードされるタンパク質 (機能構造) であるということになる。reverse genetics は、両者の視点からの研究を容易に繋げてくれる。

タンパク質を手に入れるためには？

とは言うものの、任意の遺伝情報から、それがコードするタンパク質の機能と立体構造を演繹することが充分できるわけではない。実際には、タンパク質の機能を明らかにし、構造を明らかにするという研究は、基盤であり、必須である。そのとき必要なのが、機能を解明でき、構造を明らかにできるだけの実体としてのタンパク質を手に入れることである。

ある生物反応にかかわる未知のタンパク質を同定し、精製するためには、目的とするタンパク質を特異的に検定できるアッセイ系を確立することが最も重要なポイントである。完全に特異性を保証できる系であれば、後は努力だけである。一昔前のように、低温室に籠りきりにならなくても、また手作業でカラムワークを行わなくても済むような時代になってきている。しかし努力といっても、やはりそこには理論的な裏付けはあるもので、目的とするタンパク質の性質をあらかじめよく眺めておけば、精製の過程もス

ムースに進む。一旦、目的とする活性をもったタンパク質を、SDS-PAGEで他と区別できる程度まで分離できればしめたもので、質量分析装置の助けを借りれば、ほどなく目的タンパク質のアイデンティティーに到達できる。

遺伝子配列にまでたどり着ければ、組換えタンパク質発現の技術により既知のタンパク質を必要な量だけ入手可能である。タンパク質の精製において、アフィニティークロマトグラフィーは、最も有力な方法である。DNA組換え技術により、目的タンパク質遺伝子に結合する相手（例えば抗体）が決まっているパートナー（例えば抗原）部分を融合させておけば、その両者の部分だけの特異性で結合が起こり、特異的に融合タンパク質を分離することが可能である。

いとも簡単である。いや、果たしてそうだろうか？そもそも、そのアフィニティークロマトグラフィーの条件はタンパク質が機能を保持したまま精製されるようにできているのか？本当にそのアフィニティークロマトグラフィーは特異的だろうか？アフィニティークロマトグラフィーでは、どうしても純品が得られない場合は？目的のタンパク質に最も適したパートナー部分は何だろうか？タンパク質の機能に翻訳後修飾がアミノ酸配列以上に重要なときはどうするのか？結晶を作るため大量にタンパク質が必要な場合の方法は？結晶くらいならまだしも、薬として使う場合はスケールが途方もなくなるだろう。さらにDNA組換えは無断ではできない。やはり、いざ始めようとする、「??」だらけになることはままある。

〇〇プロトコール集という類の本はかなり出版されている。1年ほど前に編集者から持ち込まれた提案は、これまでのその類の本やキットの説明書にはない部分をもった本を作成して欲しいということであった。そこで「説明書に書かれている美しい成文の裏にある一つの技術が完成される過程（歴史）と理論をしっかりと説明して、なお現場の初心者にも利用可能な現場感覚の宿った実験書」を目指しまとめてみた。本書執筆にあたり、実験計画を立てることができ、実際の実験がスムーズにできるよう工夫に努めた。DNAトランスフェクション法が、アデノウイルスのゲノムだけから感染性粒子ができることを証明するために開発されたことはご存知でしたか？本書が役立つことを切に願っています。

2010年2月吉日

著者集団を代表して
永田恭介