

題名	遺伝子研究の冒険
Title	Adventures with Genes
著者名	シドニー・ブレンナー
Author(s)	Sydney Brenner
言語 Language	日本語・英語 Japanese, English
書名	稲盛財団：京都賞と助成金
Book title	The Inamori Foundation: Kyoto Prizes & Inamori Grants
受賞回	6
受賞年度	1990
出版者	財団法人 稲盛財団
Publisher	The Inamori Foundation
発行日 Issue Date	10/31/1992
開始ページ Start page	90
終了ページ End page	117
ISBN	978-4-900663-06-9

## 遺伝子研究の冒険

シドニー・ブレンナー

遺伝学は、生物の設計プランを調べる学問で、とてもユニークな魅力にあふれた生物科学です。何世紀にもわたって、人類は「カエルの子はカエル」ということを知っていましたが、メンデル (Mendel) が初めて、エンドウ豆を用いた実験で、この科学を創始しました。彼は、丈の高いエンドウと低いエンドウとを交配して得られた第一世代はすべて丈が高く、その中間のものはないということを見つめました。そして、この第一世代 (F1) 同士を交配すると、第二世代 (F2) では、丈の低いエンドウと高いエンドウとが1:3の比率で現れてきました。これらの観察から、彼が得た解釈は驚くべきものでした。彼は、外面的な性質、つまり丈の高さは、内的な因子によって決定されていると仮定しました。生物はそれぞれの性質に対して、二つずつの因子を持っており、その一つ一つをそれぞれの親から受け継いでいます。様々な因子が存在し、丈の高いことを特定しているT因子が、丈の低いこと（むしろ高いことの欠損）を特定しているt因子と、第一世代F1で対合したとき、メンデルが仮定したように、tはTに対して劣性なので、そのエンドウは丈が高くなります。次の世代では、それらの因子は分離し、1TT:2Tt:1ttの比率を生じるようなすべての組合せで受け継がれます。初めの二つの組合せは丈が高いので、高いエンドウと低いエンドウの比率は、3:1となります。後にメンデルは、二つの異なる対の因子が独立に分離し、9:3:3:1の比率になることを示しました。彼は、すべての因子についてそうなるだろうと考えましたが、後になって、モーガン (Morgan) は、そうではないことを示しました。遺伝について様々な法則がヨーロッパで仮定されたり、論議されたりしましたが、メンデルの仕事は35年間以上忘れ去られていました。1900年、コレンス (Correns)、ツェルマク (Tschermak)、ド・フリース (de Vries) の三人によって、個々に、メンデルの仕事が再発見され、確認されて、遺伝学の近代化の時代が始まりました。新たな実験の生物材料、特に、キイロショウジョウバエ (*Drosophila*) が利用されるようになりました。メンデル因子は遺伝子ということになり、モーガンは、異なる遺伝子は独立して分離するというには常に例外があること、またある対は、他の対よりももっと連鎖していることを示しました。分離の度合いは組換えによっていて、組換えの測定頻度は離れている距離に比例し、その距離は異なる対に対しては相加的でした。こうして彼は生物の遺伝子地図を作製し、この方法で検出される連鎖群が、可視的な染色体に相等することを示しました。後に、キイロショウジョウバエの巨大なバンドをもつ唾腺染色体が発見され、遺伝子地図上の突然変異の順番は、物理的な地図上の位置の順番に一致することが示されました。ほとんどの突然変異が劣性形質であることから、二つの異なる突然変異において、同一の遺伝子が欠損しているかどうかを決める遺伝学的な相補実験を行うことができました。雑種は次のようにして形成されます。生物が野生型 (正常) であれば二つの異なる遺伝子が関与し、逆に、それが変異型であれば欠損は同一の遺伝子に

## ADVENTURES WITH GENES

Sydney Brenner

Genetics is a uniquely fascinating biological science because it is the study of the plan of the organism. Although for many centuries, men had known that like begets like, it was Mendel who first began the science with his experiments on garden peas. He crossed tall with dwarf peas and found that all of their progeny were tall and not half-way in between. Then, when he took these F1 hybrids and crossed them with each other, dwarf plants reappeared in the F2 generation in the ratio of one dwarf to three tall. His explanation of these observations was remarkable. He postulated that the external *character*, the height of the plant, is determined by internal *factors*. Organisms have two such factors for each character, one inherited from each parent. Variant factors exist and when the factor *T*, specifying tallness, is paired with the variant, *t*, specifying dwarfness - or rather lack of tallness - in the hybrid F1, the plants are tall because, as Mendel postulated, *t* was recessive to *T*. In the next generation the factors segregate and are received in all combinations to produce the ratio 1TT:2Tt:1tt. The first two classes are tall and this gives the 3:1 ratio of tall to dwarf plants. Later Mendel showed that two different pairs of factors segregated independently to give ratios of 9:3:3:1 and he thought that all factors would do so, but this was later shown not to be the case by Morgan. Mendel's work lay unheeded for more than 35 years, while all kinds of theories of inheritance were proposed and debated in Europe. It was the rediscovery of Mendel's work and its independent confirmation by Correns, Tschermak, and de Vries in 1900 that ushered in the modern era of genetics. New experimental organisms were introduced, most particularly, the fruitfly *Drosophila*. Mendelian factors become genes, and Morgan showed that there were regular exceptions to the independent segregation of different genes and that some pairs were linked more than others. Their degree of separation was due to recombination, the measured frequency of such recombinants was proportional to their distance apart and such distances were additive for different pairs. Thus, he was able to construct genetic maps of organisms and the linkage groups detected in this way were shown to be equivalent to the visible chromosomes. Later, when the large-banded salivary chromosomes of *Drosophila* were discovered, the order of the mutants on the genetic map was shown to correspond to the order of their locations on the physical map. The recessive nature of most mutations allowed genetic complementation tests to be performed to decide whether or not the same gene was defective in two different mutants. A hybrid was formed; if the organism was wild type (normal), two different genes were involved, but if it was mutant, the defects were in the same gene. Until Müller



存在することになります。後にミュラー (Müller) が電離放射線により突然変異が誘発されることを発見するまでは、ほとんどの突然変異は偶発的なものでした。誘導による突然変異によって、研究者が利用できる遺伝変異体のレパートリーを増やすことができました。

こうして、1930年代までに、遺伝子についての古典的な概念が形成されました。つまり、かつて遺伝子とは、突然変異と機能と組換えの単一の単位でした。‘数珠玉’モデルはこうしたことを、簡明に絵画的に表現していました。一つ一つの数珠玉は機能を持つ一つの遺伝子であり、突然変異は玉の形を変形させ、そして組換えは玉と玉の間で生じるのです。しかし、遺伝子の機能とはいったい何なのでしょう。遺伝子は細胞分裂ごとに複製されなければならないことから、イラルダン (Ilaldane) は、1929年頃すでに、自己合成触媒モデルを案出し、遺伝子は細胞の中である触媒作用を有する酵素でなければならないだけでなく、遺伝子それ自身を合成することができるという特殊な酵素であると考えました。ビードル (Beadle) とテータム (Tatum) によるアカパンカビ (*Neurospora*) の生化学的突然変異体の研究で、注目すべき進展が得られました。彼らは栄養分の突然変異体を得て、1945年までにビードルは、一つ一つの遺伝子が一つの酵素の構造を特定する機能を有しているという仮説をたてました。それは、一遺伝子一酵素説として知られ、現代分子遺伝学の基礎の一つとなりました。これを普遍化することについては、懐疑的な考え方もずいぶんありました。一遺伝子一酵素説が生合成の経路に関して正しいらしいとすぐに理解できても、ほとんどの遺伝学者はもっと複雑な形態や発生の突然変異体を研究していて、生物の精巧な構造や機能が、酵素作用によって生じているという考えを容易に受け入れることはできなかったのです。

生化学的な遺伝学の到来と、実験材料としての細菌、特に大腸菌 (*Escherichia coli*) の導入によって、生合成経路とその遺伝的特定に関する知識は大幅に進展しました。レーダーバーグ (Lederberg) の大腸菌の性の発見は、遺伝学的相補実験や遺伝子地図製作を可能にしました。例えば、あるアミノ酸要求性の突然変異体を容易に単離することができるようになったのです。相補性によって、どの突然変異が同一あるいは異なる遺伝子に存在するのかが示され、そうした遺伝子を地図上にマップすることができました。それぞれの遺伝子は、アミノ酸生合成経路の一過程を触媒する特定の酵素に対応しました。これこそが遺伝子の解析の有力な方法なのです。つまり、生合成経路を研究するうえで遺伝学者がやるべきことは、何らかの栄養要求性の突然変異体を単離し、遺伝学的相補性で遺伝子をつづつ表現型ごとに組分けをし、遺伝子地図上にマップするだけなのです。さらにこれを、生化学的分析と併用するので、突然変異細菌自身の利用価値は高まりました。なぜならそれは、突然変異細菌が欠損の過程の前で前駆物質を蓄積し、そのうえ試験管内で相補が生じるので、酵素を精製できるようになったからであります。突然変異を見つけだし、細菌から細菌へ遺伝子に移

discovered the induction of mutation by ionising radiation, most mutants were of spontaneous origin, and induced mutants considerably enlarged the repertoire of genetic variation available to the experimentalist.

Thus, by the 1930s the classical concept of the gene had been formulated. It was at once a singular unit of mutation, function, and recombination. The “beads on a string” model captured this in a simple pictorial form; each bead was a gene with a function, mutation altered the shape of the bead, and recombination occurred between the beads. But what could the function of genes be? Because the genes had to be replicated in each cell division, Ilaldane had as early as 1929 formulated the autotrophic catalyst model, in which he thought that the gene not only had to exert some catalytic function in the cell, that is, was an enzyme, but it was a special enzyme, because it could also catalyse its own synthesis. The single advance was made by Beadle and Tatum who turned to the study of biochemical mutants of *Neurospora*. They were able to obtain nutritional mutants, and by 1945 Beadle formulated the hypothesis that each gene exerted its function by specifying the structure of an enzyme. It became known as the one gene—one enzyme hypothesis and one of the foundations of modern molecular genetics. There was much scepticism about this generalization, because while it was easy to see how this could be true for biosynthetic pathways, most geneticists worked on much more complex morphological and developmental mutants and could not readily accept the idea that elaborate biological structures and functions could be produced by enzyme action.

The advent of biochemical genetics and the introduction of bacteria, particularly *Escherichia coli*, as experimental organisms, gave rise to an explosive development of knowledge of biosynthetic pathways and their genetic specification. Lederberg's discovery of sex in *E. coli* allowed genetic complementation and genetic mapping. For example, mutants requiring a single amino acid could be easily isolated. Complementation could show which mutations were in the same or in different genes and the genes could be mapped. Each gene corresponded to a specific enzyme catalysing one step in the amino acid biosynthetic pathway. This is the powerful method of genetic dissection: to study biosynthetic pathways, all a geneticist had to do was to isolate mutants with requirements for added nutrients, classify the genes for each phenotypic class by genetic complementation, and put them on a genetic map. This could then be coupled with biochemical assays, for which the mutant bacteria themselves provided a valuable enhancement because they not only accumulated precursors before the missing step, but



動させる簡単な方法で、遺伝学者は、単に細菌のコロニーが特別な条件下で成育できるかどうかを観察することにより、生物の一般的な生理学的構造についての奥深く驚くべき結論に到達することができ、同時に以前までは不可能だった新しい実験材料を利用できる道を開くことができました。

ほぼ同じ頃、バクテリオファージの研究が、自己複製の問題を解決する実験システムとして発達しました。ウイルス粒子は細菌の中に侵入し、20分から30分後には溶菌し、数百に及ぶ新たなウイルス粒子が放出されます。ウイルス粒子はDNAを含んでいますが、当時、すべての遺伝情報は、DNAに含まれていると信じる人はあまりいませんでした。実際、細菌がほかの異なる系統株からのDNAによって遺伝的に変換されるという、アベリー (Avery) とマッカーティ (McCarty) の肺炎双球菌の形質転換の初期の業績は、懐疑的な受けとめ方をもって迎えられました。裸の遺伝子そのものと細胞の遺伝的なかけ合わせがおこったと見なすことは、当時の科学者の一般的な概念を越えていたし、また誰もが遺伝子はタンパク質を含んでいるに違いないという概念にとらわれていて、遺伝子が自己触媒酵素であるという古い考え方を継承していたためであります。1952年、ハーシー (Hershey) とチェイス (Chase) は、バクテリオファージを使った実験によって、感染後にウイルスのタンパク質のほとんどは細胞の外側に残ったままであるが、DNAのほとんどは細胞中に侵入することを示しました。今日でしたら、この論文は、多くの学術雑誌の厳しい掲載条件を満たせず終わってしまったことでしょう。それはタンパク質のすべてを排除したわけではないからです。それでも、この業績は、肺炎双球菌の研究を補強するうえでの精神的影響を与え、遺伝情報がDNAに担われているという考えにさらに強い信頼が得られるようになりました。

1953年、ワトソン (Watson) とクリック (Crick) によるDNA構造の発見は、分子生物学の新時代が到来したことを告げました。これで一挙に、遺伝子がどのようにして複製され、その機能がどのようにして対応するタンパク質の構造を特定することで発現されるかを理解する基礎ができあがりました。今では信じがたいことかも知れませんが、サンガー (Sanger) が1952年にインシュリンのアミノ酸配列の決定を成し遂げて初めて、化学者達はタンパク質がランダムなポリマーではなく、アミノ酸配列で限定された化学構造を持っていることを認めるようになりました。DNAとその最終産物のタンパク質とがどう結びつくのかは、フランシス・クリックが配列仮説と名付けたもので説明されました。つまり、ヌクレオチドの一次元的配列は、何らかの方法でポリペプチド鎖のアミノ酸の一次元的配列と対応して、このことがタンパク質の三次元的な折りたたみを決めているという仮定です。この対応こそが、もちろん、遺伝暗号ということです。

新しい分子遺伝学に最終的に重要な寄与をしたこととして、ベンツァー (Benzer) による

also allowed the purification of enzymes by *in vitro* complementation. With simple methods to find mutants and to move genes from one bacterium to another, the geneticist, simply by observing whether or not bacterial colonies could grow under specified conditions, was able to reach deep and remarkable conclusions about the general physiological structure of an organism and, at the same time, open the way to novel experimental material, not previously available.

At roughly the same time, bacteriophage research developed as an experimental system for solving the problem of self-replication. A virus particle enters a bacterium and 20 to 30 minutes later, the bacterium lyses and releases several hundred new virus particles. The virus particles contained DNA but not many people believed at the time that all the genetic information was contained in DNA. Indeed the earlier work of Avery and McCarty on pneumococcal transformation, in which bacteria were genetically altered by DNA coming from a different strain was also viewed with some scepticism, partly because it was just beyond the conceptual horizon of contemporary scientists to view this as a genetic cross between a naked gene and cell, and partly because everybody was still gripped by the notion that genes had to contain protein, an inheritance of the old idea of the gene as an autocatalytic enzyme. In 1952, Hershey and Chase did an experiment with bacteriophage which showed that after infection most of the protein of the virus remained on the outside of the cell, while most of the DNA entered. Today, this paper would not survive the stringent rules of entry into the pages of many journals, because it by no means excluded *all* of the protein, but it had great psychological impact in reinforcing the pneumococcal research and gave stronger credence to the idea that genetic information was lodged in DNA.

The discovery of the structure of DNA by Watson and Crick in 1953 ushered in the modern era of molecular biology. It provided at one blow a basis for understanding how genes were replicated and how their functions might be expressed by specifying the structure of their corresponding proteins. It may be hard to believe now, but it was only when Sanger completed his determination of the amino acid sequence of insulin in 1952 that chemists accepted that proteins were not random polymers and had a *defined* chemical structure in the form of this sequence. The connection between DNA and its final protein product was stated in what Francis Crick called the sequence hypothesis, namely, that the one-dimensional nucleotide sequence corresponded in some way to the one-dimensional sequence of amino acids in the polypeptide chain and that this in turn determined the three-dimensional folding of the protein. The correspondence, of



バクテリオファージT4のrII遺伝子座の詳細な構造遺伝子地図の作製があげられます。この研究によって、突然変異と機能と組換えの単位としての遺伝子という古い考え方が、くつがえされました。グリーン (Green) やポンテコルボ (Pontecorvo) 等の遺伝学者たちはすでに、偽対立遺伝子 (pseudoalleles) と呼ぶものを見つけていました。これらは、たしかに機能面での相補実験では同一遺伝子中に存在する突然変異ですが、組換えではまだ分離可能でした。ベンツァーはこれを極限にまで押し進め、バクテリオファージT4のrII遺伝子座の機能的に異なる二つの遺伝子のそれぞれは文字通り幾百もの異なる突然変異を有し、それらはすべて組換えで分離可能であることを示しました。さらにベンツァーは、詳細な構造地図の尺度はDNA構造の分子の尺度と一致しており、突然変異の一つ一つが一個の塩基対に対応していることを示しました。

私は、1954年の夏、コールド・スプリング・ハーバーでベンツァーに会って、この研究の開始について話を聞いたとき、これこそが遺伝暗号を研究する実証的方法になるだろうと気づいたのです。当時、生化学的なアプローチは、複雑な構造になるにきまっているものを試験管内で再構成する必要があると、問題外のことであり、ずっと先の将来まで着手できないと思われていました。私達は、生化学のブラック・ボックスを開けるには時間がかかりすぎて、生化学なしで進めていく方法を見いださなければと考えていました。その当時、実験をまったくせずに解答を得ることができるし、遺伝暗号は理論的に導き出しようと考えている人たちがいました。こうして、提起された多くの特殊な暗号が不整合であることが証明され、1955年、私は当時知られていた少数のアミノ酸配列によって、それらを正確に利用すれば、もし与えられた遺伝暗号が普遍的であるならば、重なり合う、縮重したトリプレット暗号すべてを排除することができるということを示すことができました。暗号の理論的な研究は、論点の考えを明確にするのに歴史的な役割を果たしました。私は、この仕事から、理論とは正しいことが大切であるだけでなく、実際にありうるものでなくてはならないということを手伝ったのです。すなわち、どのような抽象的なモデルの生体補完にも、それが物理的にどうということなのか、生物学的にありうる事例が存在しなくてはならないということです。

このようにして、遺伝子の微細構造とタンパク質の化学的配列との関連性を研究することが、遺伝暗号を解析するうえで、実用的な唯一の方法だとわかったのです。遺伝子がブラックボックスの一方の端から入っていき、タンパク質がもう一方の端から出てきます。つまり、私達は、この二つを比較検討して、この変換の規則性を探究しようとしていました。

私は、遺伝子からタンパク質への情報伝達がどのようにしてなされるかを研究するのに応用できる、遺伝子-タンパク質の対を見つけだす実験計画に乗り出しました。

course, was the genetic code.

One final important contribution to the new molecular genetics was Benzer's fine-structure genetic map of the rII locus of bacteriophage T4. This work demolished the classical singularity of the gene as a unit of mutation, function, and recombination. Other geneticists, such as Green and Pontecorvo, had already found what they called pseudoalleles. These were mutations which were clearly in the same gene as defined by functional complementation tests, but which could still be separated by recombination. Benzer took this to the ruthless limit, by showing that each of the two functionally different genes of the rII locus in bacteriophage T4 had literally hundreds of different mutations, all separable by recombination. He showed that the scale of the fine structure map was consistent with the molecular scale of the DNA structure and that each of the mutations could correspond to a single base pair.

When I met Benzer in the summer of 1954 in Cold Spring Harbor and heard about the beginnings of this work, I realized that this might provide an empirical way to study the genetic code. At that time, a biochemical approach seemed out of the question and very far in the future because it would need the reconstitution, *in vitro*, of what was bound to be a complicated system. We thought it would take a long time to open the black box of biochemistry and that we would need to find a way forward without it. At the time, there were some who thought they could find the answer without doing any work at all, and that the code could be deduced theoretically. Many of the special codes proposed could be proved to be inconsistent, and in 1955 I was able to show that even the small number of amino acid sequences available at the time, when used correctly, could eliminate all overlapping, degenerate triplet codes, given that the code was universal. Theoretical work on the code had the historically useful function of clarifying thoughts on the issue and I learned from my work here that it is not only important for theories to be correct, they should also be capable of being true. That is, you should always be able to provide a biologically plausible example for the physical implementation of any abstract model.

Thus, studying the correlation between the genetic fine structure and the chemical sequence of its protein became the only practical way we could see of analysing the genetic code. The gene went in one end of the black box, the protein came out of the other; we were going to study the rules of this transformation by comparing the two.



遺伝子配列の微細構造を知るのは容易であり、その情報伝達のペタンパク質は、バクテリオファージにあるはずであり、またその到達の可能性からそれはウイルス外被のタンパク質でなければならず、それはより簡単に精製できるだろうと考えました。ジョージ・ストレイシinger (George Streisinger) は、バクテリオファージT2の寄生範囲の遺伝学について仕事を始めましたし、私は1955年、南アフリカ共和国に戻り、近種のバクテリオファージT4のトリプトファンのコファクターの遺伝学についての仕事を始めました。イングラム (Ingram) がタンパク質のフィンガープリント法を開発し、鎌状赤血球細胞の突然変異がヘモグロビンの一個のアミノ酸の変換を引き起こしていることを示すことができたときには、この分野での私達の興奮は高まりました。これが、まさに私達が必要としていた方法だったのです。それはたとえ小さなタンパク質であってもその完全なアミノ酸配列を決定するということは当時ではとても手に負えないことであり、野生型といくつかの突然変異型について配列決定することは論外のことでした。フィンガープリント法を使えば、異なる小さなペプチドを調べるだけでいいことになりました。この初期の段階で、このアプローチによって解決することができるひとつの問題事項が、組織化されつつありました。つまり、一対一対応の問題です。皆がそうであることを確信していたにもかかわらず、その二つの配列が一対一対応であること、つまり、DNA上の突然変異が一対一対応でポリペプチド鎖のアミノ酸の変換になっていることは、まだ証明されていませんでした。様々な遺伝子地図が想像されたので、私が1957年の初めにケンブリッジにおもむき、フランシス・クリックと分子遺伝学のグループを作ったとき、一対一対応であるということが、最初の私達の研究目標になりました。その年の終わりまでには、ジョージ・ストレイシinger、セイモア・ベンツァーと彼の学生、スウェル・チャンプ (Sewell Champe) という力強い仲間が私達に参加しました。私達は、バクテリオファージT2から尾部繊維を精製する仕事にとりかかりました。私達のアプローチは、ファージ粒子を種々の構造単位物にばらばらにし、簡単な手法で分離することでした。けれど、大部分のタンパク質化学者たちはこれをまったく意味のないことだと考えていて、まずファージの全タンパク質を可溶化し、それから一般的な方法で異なるタンパク質を分離するように私達に忠告してきました。幸いにも、私達は彼らの言うことを聞き入れませんでした。この仕事で私達は、ウイルス複合体の構造の分野の全貌を明らかにし、そのときの副産物として、私はロバート・ホーン (Robert Horne) と共に、生物構造の電子顕微鏡検査のための新しく有力な方法として、ネガティブ染色法を開発しました。まもなくして、尾部繊維の企画は困難につきあたりました。尾部繊維は全ファージのほんの一部分を形成しているだけですが、驚くべき大きい分子量を有しているように思えました。私達は、尾鞘や頭部タンパク質などの主要成分の粒子の仕事に方向転換しましたが、これらに対する遺伝子を

I launched an experimental program to find a gene-protein pair that could be used to study how information was transferred from gene to protein. It had to be in a bacteriophage because fine structure genetics could be easily carried out and it should be for a protein of the virus coat, because at least that was accessible and might be more easily purified. George Streisinger began to work on host range genetics in T2 and, on my return to South Africa in 1955, I began work on tryptophan cofactor genetics of the related bacteriophage T4. Our excitement in this field increased when Ingram invented the protein fingerprinting technique and was able to show that the sickle cell mutation caused the change of a single amino acid in haemoglobin. This was exactly the method we needed, because to determine the complete amino sequence of even a small protein was a formidable task in those days, and to have to do it for a wild type and several mutants was out of the question. With fingerprinting, we would only have to look at the short peptides that were different. During this early period, one particular problem came to be formulated that could be solved by this approach—this was the question of co-linearity. Although no one believed otherwise, it had not been proved that the two sequences were co-linear, that is, that the mutations in DNA could be put in a one-to-one linear correspondence with the amino acid changes in the polypeptide chain. We could imagine all kinds of mappings and so, when I came to Cambridge at the beginning of 1957 to begin a molecular genetics group with Francis Crick, co-linearity became the first target of our research. Later that year, we were reinforced by George Streisinger and Seymour Benzer and his student, Sewell Champe. We set ourselves the initial task of purifying tail fibers from bacteriophage T2. Our approach was to dissociate phage particles into various structural components and then separate these by simple means; most protein chemists thought this was nonsense, and told us that we should first solubilize all of the proteins and then separate the different ones by standard methods. Fortunately, we did not listen to them. In this work, we opened up the whole area of the structure of complex viruses and as a by-product, together with Robert Horne, I introduced the negative staining method as a new and powerful method for the electron microscopy of biological structures. Soon the tail fiber project got into difficulties. Tail fibers composed a very small fraction of the total phage, and they appeared to have an alarmingly large molecular weight. We turned to work on the major components of the particles such as the tail sheaths and the head protein, but for these we had no defined genes. In the meantime, other groups started to work on the same problem with different pairs of genes and proteins, mostly in



一つも特定できていませんでした。そうこうしているうちに、ほかの幾つかのグループが、主に細菌で、異なる対になる遺伝子とタンパク質でこの問題と取り組み始めたのです。競争相手はうまくいっているようにみえたのに、私達はタンパク質なしのすばらしい遺伝子か、遺伝子なしのすぐれたタンパク質しか持ち合わせていなかったのです。頭部タンパク質はバクテリオファージ粒子の主要成分で、ファージ全体のフィンガープリントは本質的にこのタンパク質のフィンガープリントを示すのです。したがって、このタンパク質を単離する仕事は、遠心分離器を使った一回だけの簡単な操作でファージを精製することに等しくなり、私はバクテリオファージT4の頭部タンパク質の遺伝系を見つけることに着手しました。私は、浸透圧ショックの性質を利用し、異なる浸透圧ショック耐性突然変異体を選別して単離する方法や、さらに重要な、ショックに敏感な組換え体を検出する方法を見つけました。こうして微細構造地図が製作されて、私は浸透圧ショック突然変異体が頭部タンパク質を特定する遺伝子の中に存在することを、T2とT4の頭部のフィンガープリントの相違がショック突然変異体を含んでいる遺伝子に遺伝的につながりがあることを観察することによって証明しようとしていました。一時私は、浸透圧ショック突然変異体がちょうど頭部タンパク質の遺伝子の中までマップできたと考えましたが、結局突然変異体のフィンガープリントの相違の研究は実りなきものであるとわかりました。後に、浸透圧ショックは遺伝子24に位置していて、それは頭部タンパク質を特定する遺伝子23に隣合わせであることがわかりました。このようにほとんど正しいことは、まったく間違いであることとあまり変わらないのです。しばらくして私達は、頭部タンパク質を使用し、まったく新規な方法で一対一対応であることを証明しました。アナンド・サラハイ (Anand Sarabhai) は、アンバーの一群のサプレッサー突然変異体がペプチド鎖の終結であることを発見しました。そうした突然変異体は、非許容的な条件下で生きたファージを作りませんが、頭部タンパク質はファージ感染後期に合成される全タンパク質の主要成分となっていますから、私達はまったく精製する必要もなしに、簡単に頭部タンパク質のフィンガープリントをあるひとつの細胞という縮小版の中に見ることができました。鎖が終結したタンパク質はそれぞれ、ペプチド成分の異なるパターンを有することが示され、鎖が長ければすべてのより短い鎖の全ペプチドと、それに付け加わる部分の新しいペプチドの両方を含んでいました。このような明快なトポロジー (位相数学) 的論理によって、その部分の順序が判明します。私達は、これが微細構造の遺伝子地図上の突然変異の直線的な序列と同じであることを示しさえすればよかったし、タンパク質の全配列を決める必要はまったくなかったのです。実際、そうした梯子状は、現在の配列決定において多くの順序決定の技術の基礎になっています。

私達は、突然変異生成そのものにも興味がありました。セイモア・ベンツァー (Seymour

bacteria. Our competitors seemed to be doing well, whereas we had excellent genes with no proteins, and excellent proteins with no genes. The head protein is the major component of the bacteriophage particle, and a fingerprint of total phage shows essentially only the fingerprint pattern of this protein. Thus, the work of isolating the protein could be trivialised to the purification of phage by a simple centrifugation step, and I therefore set out to find a genetic system for the head protein of bacteriophage T4. I used the property of osmotic shock, and found ways of selecting for and isolating different osmotic shock-resistant mutants and, what was more important, ways of assaying for the shock-sensitive recombinants. A fine structure map was constructed, and I tried to prove that the osmotic shock mutants were in the same gene as that specifying the head protein by looking at the genetic linkage of fingerprint differences between T2 and T4 heads to the gene containing the shock mutants. At one time, I thought I had mapped the osmotic shock mutants right into the head protein gene, but searches for fingerprint differences in the mutants proved fruitless. Later it was shown that osmotic shock was localized in gene 24, which is just next to 23, the gene specifying the head protein, but being almost right is not much better than being totally wrong. We later used the head protein to prove co-linearity by an entirely novel method. Anand Sarabhai discovered that the *amber* class of suppressible mutants were chain-terminating; such mutants did not make viable phage under nonpermissive conditions, but since the head protein represents the major component of all proteins synthesized late in phage infection, we could easily see the fingerprint of the head protein in a digest of the complete cell without any purification at all. Each of the chain-terminated proteins was shown to have a different pattern of peptide components, such that longer chains contained all of the peptides of shorter ones, together with new peptides defining the additional segments. This simple topological argument establishes the order of the segments, and all we had to do was to show that this was the same as the linear order of the mutations on the fine structure genetic map. We never had to determine the total sequence of the protein at all and, indeed, such ladders form the basis of many ordering techniques in modern-day sequencing.

We were also interested in mutagenesis. Seymour Benzer and Ernst Freese had worked on chemically induced mutations in the *rII* locus, using analogs of the normal bases, which are incorporated into DNA and had been shown to be mutagenic. The idea was to try to find very specific mutagens which could be uniquely assigned to one particular base pair substitution, for example, G-C→A-T.



Benzer) とエルンスト・フリーセ (Ernst Freese) は、DNA中に取り込まれて突然変異の誘発物であることがわかっている塩基アナログを使用して、r II遺伝子座に化学的に生じる突然変異を研究しました。考えとしては、G-C→A-Tというような特定の塩基対の置換のみを生じさせる特殊な突然変異誘発物を見つけだそうというものでした。遺伝子タンパク質の一对があれば、それを利用して一対一対応であることを立証できるし、さらに、その特殊な誘発物で生じるアミノ酸の置換を観察することによって、遺伝暗号を解明できるのです。後ほど説明しますが、これは、ナンセンストリプレットの配分についての私達の仕事では部分的にしか成功しませんでした、タバコウイルスのタンパク質の突然変異体によって、遺伝暗号の決定に有力な証拠となる多くの情報が得られました。一方で、セイモア・ベンツァー、レスリー・バーネット (Leslie Barnett) と、私の3人は、プロフラビンというアクリジン染料によって生じる突然変異のスペクトルを観察することにしました。このアクリジン染料は私がずっと興味をもっていたもので、10年前の超生体染色の研究に使ったのが初めてのことでした。特筆すべき結果は、アクリジンによる突然変異は、以前決定されていた塩基アナログによる突然変異のスペクトル中の突然変異と、同じ場所にマップされるものはないということでした。さらに重要なことは、後になって発見したことでしたが、どの塩基アナログ突然変異もアクリジンによって復帰することはないということでした。しかしながら、それぞれは自然発生的に復帰するし、それを起こしたのと同じ突然変異誘発物によってなら、高頻度に復帰するのです。これは矛盾でした。一見して、突然変異生成のこの研究での予測は、突然変異誘発物M1で起こる変異は、M1で復帰しないけれどもM2では復帰し、そして、その逆も真となるようなM1、M2といった二つの突然変異誘発体が見つかるだろうということでした。例えば、G-C→A-Tを生じるものとA-T→G-Cを生じるものの二つといった、特定の誘発体が発見できるだろうということでした。しかしこれはあまりにも単純化しすぎて、すぐわかりましたが、そんな純粋な結果を期待するのは間違いなのです。というのは、いつも例外というのはつきもので、それは、初めの突然変異とは異なる場所に、例えば同じトリプレット中にか、または遠く離れた箇所において、タンパク質の変異を補正してしまうような変異が生じることもあるのです。フリーセが、塩基アナログはトランジション (Pu-Py→Pu-Py) を生じ、プロフラビンはトランスバージョン (Pu-Py→Py-Pu) を生じると予測したとき、私達には、この理論がどちらの場合にも例外が予想されるため、それが正しくないことがわかっていました。厳密な実験事実によれば、突然変異の二つの群は、まったくかけ離れていました。フランシス・クリックと話していて、私はアクリジンによって、例えば短いそれも一つだけおこるような塩基の付加や欠失という特異な突然変異群が引き起こされるという考えがひらめきました。これによって、

Then, if we had a gene-protein pair, not only could we use it for establishing co-linearity but, by looking at the amino acid changes produced by specific mutagens, we might even be able to work out the genetic code. As will be seen later, this was only to be partially realized in our work on the assignments of the nonsense triplets, but the tobacco virus protein mutants later provided a useful source of supporting information in the determination of the genetic code. As a sideline, Seymour Benzer, Leslie Barnett and I decided to look at the spectrum of mutants induced by proflavine, an acridine dye, and one in which I had a long interest, going back to work that I had done a decade earlier on supravital standing. The remarkable result was that not a single acridine mutation mapped to the same place as mutants in the previously determined spectra of base analog mutants and, more importantly, as we discovered later, no base analog mutant could be reverted by acridines. However, each set reverted spontaneously and showed enhanced reversion by the same mutagen that induced it. This was paradoxical. At first sight, one expectation of this work on mutagenesis would have been to have found two mutagens, M1 and M2, such that mutants induced with M1, were not reverted by M1, but by M2, and *vice versa*. That would give us two very specific agents, one producing G-C→A-T and, the other A-T→G-C, for example. But this is an over-simplification because, as we realized, it would be wrong to expect such pure results; there would always be exceptions produced by mutations at sites different from the initial mutation, either in the same triplet or even at a remote site producing a compensating alteration in the protein. Thus, when Freese suggested that base analog produced transitions (pu-py→pu-py) and proflavine produced transversions, (pu-py→py-pu), we knew that this theory could not be right, since exceptions would be expected in both cases. The hard experimental fact was that the two classes of mutants were totally disjointed. Then, in a conversation with Francis Crick, I had the idea that acridines might cause a special class of mutations such as short, perhaps single, base additions and deletions. This would explain how proflavin could revert acridine-induced mutations and, at the same time, why it did not induce reversions of base analog mutations. Arguing that such additions and deletions would have drastic effects on gene function, we quickly supported this notion by showing that while both bromouracil and acridine would produce mutations in the rII gene, whose products were dispensable, only bromouracil could induce mutations in the *h* gene which had an *essential* protein product.

We had already shown that revertants of acridine mutants occurred at a site



どのようにしてプロフラビンがアクリジンで生じた突然変異を復帰させるのか、一方でなぜ塩基アナログの突然変異は復帰しないのかが、同時に説明できるようになります。そうした付加や欠失が、遺伝子の機能に劇的な影響を与えているのではないかという議論をしていて、私達は、すぐに、プロモウラシルとアクリジンの両方では、rII遺伝子にその産物があってもなくてもよいような突然変異を起こすけれども、プロモウラシルだけでは、h遺伝子に重要なタンパク質産物をもつ突然変異を起こすということを示すことによって、この見解を支持することができました。

私達は、すでに、アクリジン突然変異の復帰がもともとの突然変異とはかけ離れた場所で起こることを示していました。だから、もし初めのものを(+)記号で表記すれば、すべての抑制型は(-)であるように、これらの抑制型は初めのものの影響を補正もしていますのです。これが遺伝メッセージの読み取りの相(Phase)という考え方なのです。私達は、遺伝暗号の普遍的な性質を解析するのに、この純粋に遺伝学的方法が適応できることに気づきました。(+)突然変異によって、メッセージ中に余分な塩基が導入されるとすれば、これは完全に相をはずさせてしまいます。例えば、もしメッセージが次の三文字の単位で読まれたとすれば、

CATCATCATCATCAT . . . . .

1個余分な塩基が挿入されて相はずれます。例えば、

CAATCATCATCATCATCA . . . . .

+

これは、(-)突然変異体によって、その変異のあとの読み取りの相が正しく維持されるように補正されます。例えば、

CAATCATCATATCATCAT . . . . .

—

こうした二つの突然変異の間の距離は、そのタンパク質がどれだけ変異した配列を許容できるかに依存しています。これによって、確かめることのできる二つの結果がわかります。

遺伝暗号がトリプレット暗号であるとしたら、(-)と(+)の記号で表記できる二つの突然変異群がなくてはなりません。さらに同じ記号の突然変異体を2回同時に挿入しても、変異体のままですが、三番目に同じ記号のものをさらに挿入すれば、相は保持されることになります。私達は、これを証明できたのです。こうして私達は、突然変異の抑制の抑制がもとの突然変異と同じ記号を有していて、同じ記号の突然変異が3回起これば、事実、野生型に復帰することを示しました。タンパク質の厳格な配列をもつ必要はないrII遺伝子のBシストロンのはじめの部域を研究することを選んだということ、そして、その多くが相のずれた

distant from the original mutant. These suppressors therefore compensated the effects of the first, so that if the first was assigned the sign (+), all the suppressors would then be (-). This is the notion of *phase* in the reading of the genetic message, and we realized that we could use this purely *genetic* method to analyze the general nature of the genetic code. Thus, imagine that the (+) mutation introduces an extra base into the message, this would throw it out of phase completely. For example, if the message was read in groups of three letters:

CATCATCATCATCAT.....

putting in an extra base would advance the phase:

CAATCATCATCATCATCA.....

+

This could then be compensated for by a (-) mutant to give

CAATCATCATATCATCAT.....

—

and restore the correct phase of reading after the change. The distance apart of the two mutations would depend on how much of an altered sequence the protein could tolerate. This had two consequences which we could test. If the code was a triplet code, there should be only two classes of mutants, one of sign (-) and one of sign (+). Furthermore, putting two mutants of the same sign together should still be mutant, but adding a third of the same sign should restore the phase. We were able to prove this. Thus, we showed that the suppressors of the suppressors of a mutant had the same sign as the original mutant and that adding three mutants of the same sign was in fact a wild type. It was fortunate but deliberate that we chose to work in the first part of the rII B cistron where the exact sequence of the protein is not critical, and that Francis Crick correctly realized the importance and significance of the so-called barriers, many of which turned out later to be chain-terminating mutants produced in the phase shifted sequence. This work proved that the genetic message was read in groups of three, that is, it was a non-overlapping triplet code, and since we had viable phase-shifts over a considerable length of the gene, it also showed that the code was highly degenerate with very little nonsense and with the majority of triplets corresponding to amino acids. There were, of course, some anomalies, which we could not understand, but, which at that time we resolved to set firmly aside. Several years of additional work were required to disentangle these, but what is interesting is that



配列で生じる、後に鎖終結突然変異体であることが判明するいわゆるバリヤーというものの重大性と意義をクリックが正しく理解したということは、まったくの幸運というだけではなく、熟慮の賜物でもあったのです。この研究は、遺伝メッセージが三つの単位で読みとられていること、すなわち、それは重なり合わないトリプレット暗号だったことを証明しました。また、遺伝子のかかなりの長さにわたって相のずれが生じたことから、暗号というものが、非常に変性の多いもので、無駄な情報がなく、大部分がアミノ酸に対応するトリプレットで構成されていることがわかります。そこには、もちろんまだ理解できていなかった変則的事例もありましたが、私達は、そのときには問題を未解決のままにすることに断固決めました。続く数年間はこれを解決するのに費やされましたが、面白いことには、それぞれの変則的事例に特殊で別個の解釈が必要だったのです。例えば、明らかに抑制された変異体がうかがわれるけれども、もとの突然変異体一つだけが単離できる突然変異がありました。これらは、重複変異というもので、(+) 記号のもとの突然変異が重複した地点での (+) と、第一番目の突然変異の重複で生じた第三番目の (+) とによって補正されていたのです。また、アナンド・サラハイは、(0) である塩基アナログ突然変異がアクリジン突然変異を補正できないという仮定にはユニークな例外があるということから、メッセージの読み取り相を修正するような遺伝子の中に新たな開始点があることを発見しました。

こうした遺伝学研究のほとんど奇跡的な性質を判っていただくことは、大変なことです。実験は簡明で、寒天培養の皿とわずかな試験管と紙切れがあれば十分でした。数百もの実験を同時に行うことができ、その結果は半日やそこらで得ることができました。観察は、ファージが成育したかしないかを 0 と 1 の数字で記録するだけです。バクテリオファージの生存数の単純な観察から、生命系の詳細な分子構造としくみについて、有力な推論が得られたのです。生化学というブラックボックスは開ける必要はありませんでした。けれども楽園というのは、そう易々と訪れないもので、この仕事での最も重要な段階としては、塩基アナログとアクリジン突然変異の正確な相違を理解したことであり、それらの物理的性質についてのはっきりした見解を得たことでした。これなくしては、すべての実験が不可解な事柄の巨大な羅列におちいってしまいます。

ブラックボックスは開けねばなりません。いろいろなことが、次々と起こったのです。ザメクニク (Zamecnik) とその一派が、生化学的な試験管内でのタンパク質合成方法を開発しました。ホーグランド (Hoagland) はアミノ酸の活性化を発見し、ザメクニクは転移 RNA を発見しました。クリックのタンパク質合成のアダプター仮説は、完全に立証され、物理的に実証されました。タンパク質合成がリボソーム上で起こることは知られていましたが、遺伝子とタンパク質との間をつなぎ合わせる情報の中間体の性質については知られておらず、

each anomaly had a special and different explanation. Thus, there were mutants which were clearly suppressed, but from which only the original mutant could be isolated; these turned out to be duplications in which the original mutant of sign (+) was compensated by a (+) at the duplication junction, the third (+) being provided by the second copy of the first mutant. A unique exception to the expectation that no base analog mutation of sign (0) should compensate an acridine mutant allowed Anand Sarabhai to discover novel reinitiation sites in the gene that corrected the phase of reading of the message.

It is hard to convey the almost miraculous nature of this genetic research. The experiments were very simple and required only agar plates, a few tubes and paper-strips. Hundreds of experiments could be done at the same time and the results were available in half a day or so. The observations were simply to score whether or not growth of the phage occurred—only two numbers, 0 and 1. From such simple observations made at the level of populations of bacteriophage, powerful deductions could be made about the detailed molecular structure and workings of a living system. The black box of biochemistry did not have to be opened. However, paradise does not come cheaply and the most important step in this work was to have understood the correct difference between the base analog and acridine mutations and also to have had a clear notion of their physical nature. Without this, all the experiments would have degenerated into a gigantic set of incomprehensible facts.

The black box had to be opened. Many things happened in close succession. Zamecnik and others had developed *in vitro* biochemical systems for protein synthesis; Hoagland had discovered the activation of amino acids; and Zamecnik had discovered transfer RNA. Crick's adaptor hypothesis of protein synthesis was totally vindicated and given physical realization. We knew that protein synthesis occurred on ribosomes but the nature of the information intermediate between the gene and the protein was unknown and surmised by all to be the ribosomal RNA itself. In their experiments in Paris, Jacob and Monod had come to the conclusion that either there was a relatively short-lived intermediate or that perhaps that some proteins were made directly on DNA. Another possibility was that a small number of special ribosomes could be made which were capable of prodigious protein synthesis. It was during a historic discussion in my rooms at King's College Cambridge in April 1960 that I suddenly realized that the small amount of new RNA made after bacteriophage infection, discovered by Volkin and Astrachan, had the properties expected of a genetic intermediate. In particular, its



すべてがリボソームRNA自体がやっているのではないかと推測されていただけでした。パリでは、ジャコブ (Jacob) とモノ (Monod) が実験によって、比較的短命の中間体があるのか、それともいくつかのタンパク質は直接DNA上で作られるのかどちらかであろうという結論に達しました。莫大な数のタンパク質の合成をすることができる少数の特殊なリボソームが作られるのではないかと、もう一つの可能性も考えられていました。歴史的な議論がなされたのは、1960年の春、ケンブリッジのキングス・カレッジの私の部屋でした。私は、その時突然、ボルキン (Volkin) とアストラチャン (Astrachan) によって発見されたバクテリオファージの感染後につくられる、少量の新しいRNAこそが、遺伝の中間体として予測される性質を有していることに気づいたのです。特に、このRNAは、宿主である大腸菌 (*Escherichia coli*) のDNAの、それより高いA+T/G+C比を持ち、大腸菌のリボソームRNAとも違ったもので、見たところの塩基組成は、感染ファージDNAとほとんど類似していたのです。当時の深刻な矛盾点の一つはこうだったのです。すなわち、異なる生物のDNAのA+T/G+C比はいろいろと変動しますが、リボソームRNAのそれは一定でした。このRNAが、たしかに遺伝子本体の複製であるならば、ありえないことではありませんか。ボルキンとアストラチャンは、そのRNAは不安定で、すばやく作りかえられるとも実証していました。このことは、酵素誘導実験の結果を説明するのに本質的なものでしたが、どのようにしてファージ・メッセンジャーが感染後すばやく細菌の全タンパク質合成と置換されるのかを説明できる点が、私達にとっては特に重要なことだったのです。塩基組成こそが、重要な一里塚になりました。さてボルキンとアストラチャンの結果の解釈は、このRNAは、ファージDNAの前駆物質であるということでしたが、一方しばらくして、スピゲルマン (Spiegelman) は、これは少数の新しいリボソーム粒子が、感染後、ファージのタンパク質を作っている証拠だと結論しました。現在よく知られているように、フランソワ・ジャコブと私は、1960年の夏パサディナで極めて重大な実験を行い、メッセンジャーRNAの存在をすっかり確信できる証拠を発見しました。私達は、他の説明を排除するために、今日ではその大部分がまったく遠回りと思えるような、いくつもの対照実験をやったものです。

メッセージがリボソームの一部ではなく、リボソームに付け加えられるものであることが理解されて初めて、遺伝暗号は、生化学研究の直接の対象となりました。ニーレンバーグ (Nirenberg)、オチョア (Ochoa)、コラナ (Khorana) の3人の研究によって、アミノ酸に対する直接のトリプレットの割当てが、まずランダムな同一ポリマーに結合させることで、次に、特異的に合成した配列を使用することでわかってきました。やがて直接的に、暗号は決定されていき、ナンセンス鎖終結突然変異体についてのみ、遺伝学的アプローチの最後の花が咲きました。それは、CをC'に変化させることにより (つまりそれは、結果としてTのよ

apparent base composition strongly resembled that of the infecting DNA, which had a higher A+T/G+C ratio than that of the DNA of its host, *Escherichia coli*, and was also very different from that of the ribosomal RNA of *E. coli*. I should remind you of one of the deep paradoxes of the time, which was that while the A+T/G+C ratio of DNA of different organisms varied over an enormous range, that of the ribosomal RNA was constant and this was certainly not to be expected of a copy of the genetic material. Volkin and Astrachan had also shown that this RNA was unstable and turned over rapidly which would be essential for explaining the results of enzyme induction experiments, but only important for us in that it could explain how the phage messenger could displace all of bacterial protein synthesis quickly after infection. The base composition was *the* telling point. Now Volkin and Astrachan's explanation of their results was that this RNA was a *precursor* to phage DNA, while, later, Spiegelman concluded that it was evidence for a small number of new ribosomal particles making phage protein after infection. As is now well known, Francois Jacob and I did the critical experiments in Pasadena in the summer of 1960, and we found totally convincing evidence for messenger RNA. We also did a large number of control experiments to eliminate other explanations, many of which sound totally farfetched today.

Once it was realized that messages were not part of ribosomes, but could be added to them, the genetic code became amenable to direct biochemical study. The work of Nirenberg, Ochoa, and Khorana allowed the direct assignment of triplets to amino acids, first by binding to random homopolymers and later by the use of specifically synthesized sequences. Eventually, the code was determined directly and only in the case of the nonsense chain-terminating mutants was there the last flicker of the genetic approach. This was based on the unique mutagenic specificity of hydroxylamine which produces the transitions, G-C→A-T, almost to the exclusion of other changes, by modifying C to C', say, which then behaves like T. Now only one strand of DNA carries the message; it is the strand that will be copied into RNA. If this has an altered sequence, the messenger will be mutant and will not function. If the other strand contains the alteration, the messenger made off the normal strand will be normal, and a non-functional messenger will appear only when the defect is copied into that strand by DNA replication. One characterized class of chain-terminating mutants, *amber* mutants, were known to be induced by hydroxylamine, and our experiment then was to compare the spectra of induced *amber* mutants of the rII gene generated under different conditions. In the first, the mutagenized phage was passed through a strain where



うにふるまうわけですが)、ほかの変換をほとんど除外して、 $G-C \rightarrow A-T$ という変換のみを引き起こす、ハイドロオキシルアミンのユニークな突然変異生成の特異性を基礎にした研究です。DNAのうちの一本鎖だけがメッセージを担っているのです。RNAへと複製されていくのはその鎖なのです。これの中に、変異配列があれば、メッセンジャーは突然変異型であり、機能しません。他方の鎖に変異があれば、正常な鎖から作られたメッセンジャーは正常ですが、機能を持たないメッセンジャーは、その欠損がDNAの複製によってもう一方の鎖にコピーされたときにのみ現れます。鎖終結突然変異体の中でも特徴的な一群であるアンバー突然変異体は、ハイドロオキシルアミンで誘発されることが知られていましたので、私達は異なる条件下で生じた、rII遺伝子の誘発アンバー突然変異のスペクトルを比較する実験を行いました。まず初めに、突然変異をもつファージを、すべての突然変異が温存されたままになるように、その機能が要求されない株で、培養します。それとは別に、同じ突然変異を持つファージをrII遺伝子の発現が成育に必要とされる株で培養します。メッセンジャーに複製される鎖の中の変化がすぐに発現されて、こうして生じたアンバー突然変異が消失されるようにするためです。同じ場所に再発する多くのアンバーを得るために、何千ものrIIの突然変異が解析されました。その結果はとても満足すべきものでした。機能が要求される一群では見いだされない、いくつかのアンバーの場所がありました。それらは、メッセンジャーでの $G \rightarrow A$ の変換によっているのに違いないのです。したがって、アンバー・トリプレットは、1個のAを持っていました。しかし、排除的な条件下でいくつかの場所だけが存在しないのですから、アンバー突然変異体は、メッセンジャーの中で $C \rightarrow U$ の変換によってもまた引き起こされえます。だから、そのトリプレットはUをも持っているはずで、したがってその組成は、UAなのです。頭部タンパク質の鎖終結突然変異の研究で、私達は、アラン・ガレン (Alan Garen) の、ホスファターゼ遺伝子の研究同様、アンバーに関連したアミノ酸の決定には突然変異体を利用しました。例えば、アンバーは一段階でチロシンに復帰するけれど、これは塩基アナログの誘発物では引き起こされません。つまり、トランスバージョンなのです。私達はもう一つの鎖終結突然変異群であるオーカー (ochre) 突然変異がアンバー突然変異に変換されることがあり、これは塩基アナログ突然変異で高頻度で生じるけれども、ハイドロオキシルアミンでは、生じないことを発見しました。こうして、アンバーはUAGあるいはUAC、オーカーはUAAかUAU、チロシンはUAPyかUApuらしいことがわかりました。そして、これらのうち、初めのトリプレットこそが示した塩基の順に正しいことが証明されました。

その頃には、この分野は強力な生化学の基礎を持っていました。それも当然のことといえます。人は、独特な研究の時代が去っていったことを嘆くかもしれないけれど、すべてのこ

the function was not required, so that all mutations were recovered; in the second, the phage was passed through a strain in which the expression of the rII gene was needed for growth, so that modifications in the strand copied into the messenger would be immediately expressed and *amber* mutants produced in that configuration would be lost. Thousands of rII mutants were analyzed to obtain many recurrences of ambers at the same site. The result was most satisfying. There were several *amber* sites which were missing in the set which required function and these, therefore, had to be due to  $G \rightarrow A$  changes in the messenger. Thus, the *amber* triplet had one A. However, because only some of the sites are absent under the excluding conditions, *amber* mutants could also be produced by  $C \rightarrow U$  changes in the messenger and, therefore, the triplet also had to have a U, and its composition was therefore (UA). In our study of the chain-terminating mutants of the head protein we had determined the amino acids connected to ambers by mutation, as had Alan Garen in his work on the phosphatase gene. For example, ambers reverted in one step to tyrosine, but this was not induced by base analog mutagens and was, therefore, a transversion. We also found that another class of chain-terminating mutants, *ochre* mutants, could be converted to *amber* mutants and that this was enhanced by base analog mutations, but not by hydroxylamine. Thus, it was likely that ambers were (UAG) or (UAC), ochres, (UAA) or (UAU) and tyrosine (UAPy) or (UApu). The first of these alternations proved to be the correct one with the bases in the order shown.

By then, the field had become very strongly based on biochemistry, and rightly so. And although one could lament the passing of a unique style of research, there was now no need to use elegant cunning when everything could be done directly by chemistry. We did use genetics in our studies of the suppressor transfer RNAs, but we had learned the important lesson that powerful means of analyzing mutant phenotypes considerably enhances genetic analysis. In that case, we used a genetic trick to amplify the suppressor gene and its product—today it would be called cloning—so we could apply the new methods of RNA sequencing developed by Sanger. I also did some work with Francois Jacob on DNA replication; we created the theory of the replicon and started to study conditional mutants of DNA replication.

But already my mind had turned to other things and in the early 1960s I had begun to look seriously at studying new areas of biology, using the same combination of genetics and phenotypic analysis, and in this way initiated the nematode



とが化学で直接に解決されるようになると、もはや、優れて巧妙な実験をあみだすような必要性はなくなりました。私達は、抑制型転移RNAの研究には遺伝学を用いましたが、突然変異の表現型を解析する有力な手段は、遺伝学的解析の効率をかなり高めるという重要性を学んだのです。この場合、抑制型遺伝子とその産物が増幅されるような遺伝学的な仕掛けを用いました。それは今日では、クローニングと呼ばれています。そうすることによって、サングー (Sanger) が開発したRNA配列決定の新しい方法が利用できました。私は、フランシス・ジャコブとDNA複製の研究をして、複製単位 (レプリコン) の仮説を案出し、DNA複製の条件付きの突然変異体の研究を始めました。

しかしすでに、私の心は、ほかのことに向いていました。1960年代の初め、私は、生物学の新しい領域を研究しようと真剣でした。そしてまたもや遺伝学と表現型の解析とを組み合わせることで、線虫の研究を開始しました。ほかのところで、私は、簡単に線虫 (*Caenorhabditis elegans*) をどのようにして始め、それでやろうとしたことについて概略を書いています。*C. elegans* は、小さな、自由生活の (寄生しない) 線虫で、研究室で安易に飼えますし、取り扱いが簡単で、また、世代交代が短く、わずかな細胞からなっています。約300個の細胞からなる神経系を持っています。発生や行動を変化させる突然変異を単離し、それらをできるだけ詳しく研究して、どのようにして複雑な生物が遺伝プログラムから作られていくのかを解明していくことが、着想でした。私は、その線虫の数千の突然変異株を得、それらを分類し、マップしました。私は、線虫の全解剖図を電子顕微鏡の連続切片によって、再構築する企画を始めました。多くの人はこの仕事をまじめに受け取ってくれませんでした。心優しい批評家達も、あまりにも長期的研究にすぎ、私は20年先にやるべき研究に無茶して手をつけたと考えました。しかし、もちろん、20年間先のことを取立てて、ほかの人が20年も待たなくてもよい、先駆になる人も必要なのです。成功する人は成功するし、成功しない人のことは誰にもわかりません。

私と共に線虫の研究を手伝ってくれる人も現れて、私達は、他の方面からの仕事、特に線虫が極めて重要な貢献をしている分野で、ある筋肉の分子生物学についての仕事を開始することができました。ジョン・サルストン (John Salston) は、ある有能な学生が始めた研究を受け継いで、線虫の完全な細胞系統を決定しました。遺伝学だけでどこまで到達できたでしょうか。少なくともいくつかの体系では、幅広い遺伝学的な論理体系は、線虫の細胞系統の突然変異体や性決定で利用された方法が役立ちそうです。しかし、あらゆるものをあらゆる人にとって変えてしまったものは、新しい遺伝学の発展なのです。

1970年代半ばから、DNAクローニングと配列決定という二つの技術の発展が、生物学研究の全分野に波及していきました。線虫の筋肉の遺伝学の研究も、その遺伝子をクローンし、

project. Elsewhere, I have briefly described how my work on *C. elegans* began and what I had set out to do with it. *Caenorhabditis elegans* is a small free-living nematode, easy to grow and handle in the laboratory, with a short life cycle and a small number of cells. It has a nervous system of some 300 cells. The idea was to discover how a complex organism was produced from its genetic program, by isolating mutants that altered its development or behavior and then studying these as deeply as we could. I isolated a few thousand mutants of the worm and classified and mapped them. I began a project to reconstruct the entire anatomy of the worm by serial section electron microscopy. Not many people took this work seriously. My more polite critics thought it was too long-term and that I was 20 years ahead of my time. But, of course, somebody has to be 20 years ahead of the time, so that others do not stay 20 years behind. The successful succeed, and nobody knows about those who do not.

Others joined me in the nematode work and we were able to start other lines of work, particularly on the molecular biology of muscle, to which field the worm has made a distinctive contribution. John Sulston took over work begun by a talented student and determined the complete cell lineage of the worm. How far could we have got by genetics alone? It seems that, at least for some systems, the broad scheme of the genetic logic can be worked out by these methods as has been done for lineage mutants and for sex determination in the nematode. But what has changed everything for everybody is the development of the new genetics. From the mid-1970s two technical developments, DNA cloning and sequencing, have pervaded the entire field of biological research. We very early saw that our work on the genetics of muscle in the nematode could be really carried down to the molecular level if we could clone the genes and determine their structure by sequencing. What was satisfying is that when John Karn and Sandy MacLeod cloned the nematode myosin gene, we actually used the mutants to help us find the gene and to prove that the right one had been found. Although, initially, there was some resistance to this approach, the new methods of molecular genetics have pervaded all fields of biological research, and the nematode project has grown into a large international effort by many people.

Working on the nematode was a very different experience from working on phage. In phage genetics, ideas could be very rapidly converted into experimental practice, and so ingenuity in design of both models and experiments became highly prized. It was positively dazzling and made all other research seem pedestrian. It



構造を配列決定で解明できれば、分子レベルでできることがとても早い時期に私達にはわかっていました。ジョン・カーン (John Karn) とサンディー・マックレオド (Sandy MacLeod) の二人が、線虫のミオシン遺伝子をクローンしたとき、私達は実際突然変異体を使用することによってその遺伝子を見つけ出し、かつ、正しい遺伝子が発見されたことを証明したのは、満足すべきことでした。初めのうち、このアプローチに対する抵抗もいくらかはありましたが、分子遺伝学の新しい方法が生物学研究の全分野に普及して、線虫の研究は、多くの人々によって、だんだん大きな国際的影響を持つようになりました。

線虫の研究は、ファージの研究とはとても異なる体験でした。ファージの遺伝学では、考えていることがすぐに実験の実施にもっていけるし、そのためモデルと実験の構想の巧妙さが高く賞賛されました。明らかに才気煥発の華やかさがあつたので、ほかの研究が凡庸に思えました。それはまさに、若い科学者にふさわしい主題でした。一方、線虫の研究は、重々しい企画で、いろいろな長期的かつ戦略的な判断（私はそれを決断とは呼ばないのです）を必要とし、すぐに報いられることはほとんどありません。かなり危険性も伴う研究ですが、それでもずっと堅実な性格のもので、中年の世代の私に合っていました。ときには、頭脳的な遺伝学的実験も必要となりましたが、最も大切なことは、持続する力と忍耐ということだったのです。

話が終わりになってきました。新しい遺伝学は、生物学に革命を引き起こそうとしています。それは意義深い革命です。古典的な実験遺伝学では、私達は、突然変異対立座を見つけることでのみ野生型遺伝子を特定できたのですし、遺伝子を組分けし、マップするには交配実験に頼りきっていました。生物学の実験的研究全体が、遺伝子産物の機能の研究にゆだねられていました。今日では、すべては違ってきています。つまり、クローニングすることで遺伝子を同定し、配列決定することで遺伝子を性格づけています。生物の世代交代から自由になり、もはや遺伝配列を読み取る道具として生物を利用することはありません。それを直接やれるようになったのです。DNAが手に入れられるどんな生き物をも研究できますし、遺伝解析は、今では人類を含むすべてで可能です。ヒト・ゲノム・プロジェクトとして知られるものの主たる理由は、それが現在可能だからであり、協力してやれば、より効率的にできることだからです。

しかし、この新しい仕事で最も重要なことは、それが、生物学的解釈のパラダイムをまったく変えてしまうのではないかということです。私達の解釈は、ほとんどメカニズムに頼りきってきました。私達は、このメカニズムがどのように機能するかを見つけ出すのは得手なのですが、それらの複雑な集合体を解析したり、その構成を理解したりするのは不得手です。これは、特に、自然選択による進化をとげたもの、また、機会ごと増加してふくれあがって

was just the subject for a young scientist. On the other hand, the nematode was a weighty project, requiring many long-term strategic moves (I do not call them decisions), and with fewer immediate rewards. Although it was a very risky project, it nonetheless had a much more solid air about it and fit my middle age. And what became prized were the qualities of persistence and endurance, although every now and then a clever genetic experiment could be carried out.

And so to the final chapter. The new genetics is creating a revolution in biology. It is a deep and profound revolution. In classical experimental genetics we could only define a wild type gene by finding a mutant allele, and we were totally dependent on breeding experiments to classify and map genes. The whole of experimental research in biology was then devoted to the study of the functions of gene products. Today, all is different; we identify genes by cloning them and we characterize them by sequencing them. We have become liberated from the life cycles of organisms, and we no longer have to use the organism as an instrument to read its genetic sequence; we have direct access to it. We can study any organism for which we have DNA, and genetic analysis is now possible for everything, including Man. The main reason for what has become known as the Human Genome Project is that it can now be done, and done more efficiently if we all work together on it.

But what is most important about this new work is that it will change the paradigm of biological explanation. Our explanations have depended very much on mechanisms; while we are very good at finding out how these work, we have difficulties in analyzing complex assemblages of them and understanding their organization. This is especially true for biological systems which have evolved by natural selection, and are loaded with opportunistic accretion, unlike a man-built system where careful study might ultimately reveal the logical mind of the designer. Studying organisms from their genomes, from within, so, to speak, produces a new point of view. We can ask ourselves whether it is possible to compute organisms from their genomes. I use the term compute in its broadest possible sense, in the sense that I view an organism as a system of natural computation, with its genome going in at one end and an organism coming out at the other. Achieving this would be equivalent to having a complete understanding, but it will be done not by some grand equation, but by embedding everything in existing biological knowledge. And this must be the manifesto of genetics, if not its program.



きた生命系によくあてはまるといえましょう。注意深く研究すれば、設計者の理論的意図がわかってくるような人工物の組織とは異なっているわけです。生物をそのゲノムから、いわばその内側から研究していくことで、新しい観点が生まれるでしょう。私達は生物をそのゲノムで演算することが可能であるのか問いかけることができます。私は演算という言葉をしてできるだけ広い意味で使いました。つまり、私は、一方でゲノムが入力され、他方で生物が出力されるという自然の演算のシステムとして、生物を考察しているのです。これを成し遂げることは、完全な理解を得ることに等しいでしょうが、そうはいつでも、何らかのものすごい方程式を用いてできるのではなく、今わかっている生物学的知識の中にすべてを埋め込んでいくことで、なしとげられるのだと思います。これが、遺伝学の研究課題とは言い切れないにしても、宣言、と申しておきましょう。

私は、遺伝学は天文学のようになって、今では私達は、日々の実験的科学の実践を行っているというよりむしろ、胸躍る発見の航海に出ていると先日思ったのです。遺伝学の天体には、まだほとんど天体図がないようなものです。天文学では、非常に離れた物体を見るときに、私達が見ている光は、こちらに到達するまで長い時間がかかっているので、私達は、時間を遡って観察することができます。天体望遠鏡は、天体の太古をさぐるクロノスコープになっています。私は、現在、配列を観察することに時間を費やしています。つまり配列とはシンボルの流れで、その多くは生物の現在の構造と機能の意義を有しており、残りは、おそらく意味がなく、遠い過去の遺物なのでしょう。私達が、これらを研究すれば、太古の生物の遺伝子を観察することになるでしょう。遺伝学の顕微鏡は、遺伝子の太古をさぐるクロノスコープになりうるのです。生物のゲノムは、生物が現在利用している遺伝子のライブラリーとなっているばかりでなく、過去を記録した莫大な情報をも含んでいて、両方ともに遺伝子の研究によって解明され理解されることができるようになるのは、誠に理にかなっていると言えましょう。

\* \* \* \* \*

I thought the other day that genetics had become like astronomy and that we are now engaged in exciting voyages of discovery rather than in the practice of everyday experimental science. The genetic heavens are still almost totally uncharted. In astronomy, when one looks at objects very far away, the light we see has taken a long time to reach us and so we can look far back in time and the astronomical telescope becomes an astronomical chronoscope. I now spend a lot of time looking at sequences; streams of symbols, many with meaning for the present structure and function of organisms, others probably with none and perhaps relics of a long-ago past. If we study these, we might be looking back at the genes of organisms of a very long time ago, and so our genetic microscope could become a genetic chronoscope. It would be fitting that the genomes of organisms should contain not only the library of genes that they use now but also a voluminous archive documenting their past, and that both could be discovered and understood by the study of the gene.



稲盛財団1990——第6回京都賞と助成金

発 行 1992年10月31日

発 行 所 財団法人稲盛財団

京都市下京区四条通室町東入函谷鉾町87番地 〒600

電話〔075〕255-2688

製 作 (株)ワーク

印刷・製本 大日本印刷株式会社

ISBN4-900663-06-9 C0000