

▶▶▶ シリーズ「私と進化学」 第一回 ◀◀◀

虫から始まり虫で終わる（前編） 「昆虫採集から分子生物学へ」

大澤 省三（初代進化学会会長）

昆虫少年時代

私が少年時代に住んでいたのは名古屋市東区の新出来町。あまり豊かではない人たちの住むさびれた長屋街。すぐ裏手に徳川家由緒の「建中寺」があり、高い石垣にかこまれ、それをよじ上らなければ中へ入れない。人を入れないから中は鬱蒼とした原始林(?)で、昆虫の宝庫だった。この森で春から秋までは甲虫を中心に虫取りに熱中していた。時には、父につれられ、近郊へ“遠征”した。岐阜県郡上八幡へ行ったとき、ほとんど収穫らしいものはなかったが山道の石の下から当時としては珍しいガロアムシを採集することができ、岐阜の名和昆虫研究所から発行していた「昆虫世界」に投稿し、掲載された(図1-1)。これが私の活版印刷での論文(?)の最初である。その頃、故服部広吉氏が主宰する「愛知の昆虫

同好会」の存在を知り、早速入会した。間もなく愛知一中へ入学。ここでもあまり勉強をせず昆虫採集にうつつをぬかしていた。かといって、将来昆虫学者になりたいという具体的な考えを持つほど成熟しておらず、ただ虫が好きだから外のことに目が向かなかったというべきであろう。

やがて太平洋戦争(当時は大東亜戦争といっていた)が勃発(図1-3)、服部さんは勤め先の三井物産ビルマ支店へ出向。私に同好会の後を託された。数冊の同好会誌は私が手書・ガリ版で出した。会員は50名はいたと思う。戦争はますます激しくなり、敗戦へと突き進んでいったが、それでも終戦の前年と終戦の年の一月にはガリ版会社に頼んで、2冊の会誌を出した(図1-2)。

中学3年のころは、軍事工場で最初(3年生)は週1、2回働かされたが、4年になると、登校することなく、工場での兵器作りや、その他の重労働を科せられた。昼も夜もB29の空襲で、防空壕へ潜り込む生活の連続であった。このような事情で、私の中学での教育は3年生までである。動員の間をこっそり縫って、植物好きの友人と上高地や鈴鹿の山へ虫取りにでかけた。一度は上高地で台風にあい、足止めされたので、遭難届けが出されたというをしり、

4 (368) 昆虫世界 No. 556 (1943)

Galloisidea nipponensis (Caudell et King 1924)

ガロアムシを岐阜縣郡上郡にて得

大澤省三

図1-1 中学2年(1943)時代に書いた最初の昆虫の報文



図1-2 著者が編集/発行していたガリ版の昆虫同好会誌



図1-3 太平洋戦争勃発を報じた新聞記事

大目玉をくった覚えがある。会誌もそういった間を縫ってだした。当時の採集品は図1-4, 5に示すが、1-4の3種は後に図鑑を飾ったもの、図1-5は私の採集品がtypeになったもので、下の2種の種小名はosawaiである。一方、私の身には勤労動員や虫取りよりはるかに深刻な事情が持ち上がっていた。昨年8月15日のNHKスペシャル「15歳の志願兵」をみられたかたは記憶しておられると思うが、3年生以上で資格のあるものはほぼ強制的に甲種飛行予科練習生(予科練)に志願させられ、私もその一人であった。名古屋から岩国まで鈍行の列車にのせられ、形式的な試験の後、合格ということになってしまった。しかし幸いにも当時の混乱で私と、もう一人だけ招

集令状が届かず、難を免れた。合格した学友のほとんどは敵艦への体当たりで散っていった。NHKのあのドラマはよく真実を伝えていて、私は当事者の一人だったので、出演者の一人一人を実在の人物に対応させることが出来る。

その頃は名古屋の自宅は空襲で壊れ、郊外のさる寺に疎開していた。予科練事件の後、私は第八高等学校を受験した(この年だけは中学4年生で卒業)。受験といっても本格的な入試はなく、面接と作文書き程度のもので、八高の数学は日本一難しいといわれていたが、数学の苦手の私でも合格できたのは数学の試験がなかったからである! 出題された作文の題目がふるっている「茶の湯につき記せ」である。合格しても、戦争はなお続いていて、数か月は中学生のまま工場で働き、その後、八高生にはなったものの、やはり郊外の小学校に合宿、勤労動員の続きである。やがて原爆投下によりついに終戦(図1-6)。やっと母校に帰って講義は始まるとおもったら、終戦直前の空襲で丸焼け。名古屋から一時間あまりかかる河和の旧日本軍の建物で講義が始まった。生徒は勿論、近くの農家などへの下宿である。講義のほうは中学3年までしかやっていないことは顧慮せず、昔のままの程度ですと宣言され、事実、最初はほとんどの講義は極めて高度であった。とくに数学などは全く理解不可能で、事実上卒業までそんな状態であった。英語を例にとれば、いきなり海外の推理小説(たしかその一つはチェスタートンだった)を教科書に使い生徒に訳させる。“敵性英語”でほとんど中学時代のMy uncle has a good radio set程度くらいしか分からないのに、すらすらできるはずがない。教授曰く「君はitやisも辞書を引くのかね」とか、隣の学生がそっと教えて「友達とはありがたいものですねー」と、にやっとされる、といった具合である。

やがて、河和の建物も火災で消失、一年あまりの

大澤採集のカミキリムシ3種。図鑑に図示されたものを、複写。(北大中標コレクションと大澤自然史博の標本コレクションに分散して保管してある)

- ヒガトハナカミキリ (カミキリムシ科, 日本)
オオトラカミキリと共に信州高千穂で大澤採集。中学3-4年生のころ、ともに図鑑に使用された標本である。
- オオトラカミキリ (カミキリムシ科, 日本)
上述。
- タニグチコブヤハズカミキリ (カミキリムシ科, 日本)
中学4年生の夏、大澤が信州水登野ヶ谷で採集。原記載から2種の採集品。当時は極めて珍しい種とされていたが、最近採集法がわかって、多数入られるようになった。

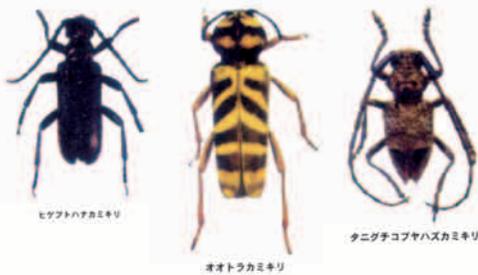
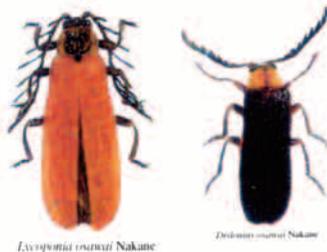


図1-4 戦時中に採集したカミキリムシ3種で、戦後の図鑑に使われた標本



Aphodius japonicus Nom. et Nk. Aphodius superlatratus Nom. et Nk. Aphodius unifasciatus Nom. Et Nk.
オオクワヤマガシコガネ トククワヤマガシコガネ クロオビマシコガネ
長野県標本 三重県標本 三重県標本



Eucyrtaria osawai Nakane

Dendroica osawai Nakane

図1-5 戦時中に採集した新種の甲虫。下の2種の種小名はosawai



図1-6 終戦を報じた新聞記事

後、名古屋へ復帰する運動が功を奏し、もとの場所へ戻ることが出来た、河和のときも、名古屋へ帰ってから、数人で生物学の教授、熊沢正夫先生の部屋に入り浸りで、先生は何でも好きな生物でやりたいことをやりなさいということだったので、私は勿論昆虫採集に専念し、幾つかの結果を和文で数編の報文を書いた。折もあり、東大を卒業された中根猛彦先生が名古屋大学理学部生物学科へ赴任されたので、しばしば採集品を持参して同定してもらったり、いろいろ昆虫学の初歩を教えてもらった。ちなみに熊沢正夫先生は木村資生さんや江上信雄さん（ともに故人）の指導教官でもあるので、私の5年先輩だが、同じ熊沢門下である。木村さんは、八高時代、熊沢先生の指導で百合の核型分析で立派な研究をされ、江上さんはショウジョウバエの遺伝の仕事をされた。私は母校の火災などで、本来は3年間の高校生活が約1年半、中学の正規の期間が5年のところを、3年しかやっておらず、正規の8年を4年半で駆け抜けたことになる。

やがて、八高を卒業し、名古屋大学理学部生物学科へ進んだ。君は昆虫が好きだから、中根君の部屋に同居せよ、と主任教授の一言で中根さんから昆虫学を学ぶこととなり、ときには一緒に上高地、木曾福島、鈴鹿などへ採集に同行させてもらった。幾つかの和文の報文を単独、または中根さんと共著で書いたり、中根さん担当の日本昆虫図鑑の一部の図と解説書きの手伝いなどをしていた。論文は世界共通だから英語で書きなさいということで、当時、日本でほとんどやられていなかったエンマムシの小文を英語でまとめ、中根さんにさんざんおされてやっとなにの目をみた（図2-1；右の写真が中根さんの助手時代）。これが私の書いた英語の最初の論文である。そうこうするうちに、中根さんは西京大学（現在の京都府立大学）へ移られ、昆虫をやる人がいなくなりました。

Entom. Rev. Japan, Vol. VI, Pt. 1, pp.4~6, Aug., 1952

**On Some Species of Histeridae from Japan
and its Adjacent District (Col.)**

By SHOZO OSAWA



図2-1 名古屋大学の学生の時、初めて書いた昆虫の英語論文（右の写真は昆虫学の指導をもらった中根猛彦先生（故））

混沌の時代

最終学年（3年生）になった年、わが国での発生学の“第一人者”といわれたY教授の指導をうけることになった。当時の日本、特に名古屋の生物学教室は発生学=生物学という雰囲気ですれ以外のことができない雰囲気はほとんどなかった。事実、中根さんもシーズンになると、モリアオガエルの組織化学を失礼ながらあまり熱心でなくやらざるをえなかったようであった。

折しも、先進国では核酸の重要性が認識されはじめたが、日本の生物学界ではほとんど無知であったのは上にのべたとおりである。渡辺格さんや柴谷篤弘さんが、外国の論文を広くサーバーして核酸の重要性をアピールし始めたのがちょうどこのころで、核酸研究会を組織し、啓蒙に全力をあげられた。その当時は、RNAのある所蛋白合成あり、といった程度の今からみればたわいもない時代で、諸外国でもいろいろな生物の成長、発生におけるRNAと蛋白合成のパラレリズムをみる研究が盛んにおこなわれていた。とはいってもリボソームRNA、tRNA（最初はsRNAといわれていた）、mRNAの区別などはもとより、遺伝子がDNAであることさえ証明されていなかった時代である。Y教授はRNAに注目したが、その引き金になったのは、ベルギーのJean BrachetがRNAの発生における重要性を言い始めたことによる。そこで、Y研究室ではモルモットの組織からとったRNAや核タンパクタンパクを誘導原（オーガナイザーの代用）とし、未分化外胚葉にはたらかせて神経組織を誘導するという研究と、オーガナイザーにRNAが多いかどうかを定量する研究が主流であった。しかし私は、後者はさておき、前者のようなやり方には大きな疑問をもっていた。その一つの理由はモルモットの組織にイモリのオーガナイザーと同じ誘導物質があるとは考えにくいし、たとえ類似のものがあつたとしても、その後をどのように解析したらいいのか皆目見当がつかなかったからである。私は

このような研究をやる気になれず、教授には幾度となく私の意見をのべた。そして、どうしてもこのような発生関係の研究はやりたくないの、分子生物学（当時はそのような名称はなく、細胞化学といっていた）に転向したいと申し出た所、数学も物理学

もろくに勉強していない君はもう手遅れだから、イモリがいやなら、別の動物の発生をやりなさい、といわれた。私は全く納得出来なかったので反骨精神を発揮してろくに返事をしないまま退散した覚えがある。そのため、Y教授にとっては次第に私の存在がうとましくなっていたようである。このころ、2年下の岡崎令治さんが同じ研究室にいたので、彼と私はモルモットの腎臓などではなく、イモリ胚からタンパクや核酸をとり、それを分画してアルコールで沈澱、イモリ外胚葉にうえこむ実験をやった。実験としてはこの方が正道である。私がタンパクをとり彼がイモリ胚の手術をやったと記憶している。どこかに誘導物質があればそれが真の誘導物質ではないかというねらいであった。ところが、どのタンパク分画にも多かれ少なかれ誘導能があり、どうもタンパクをアルコール沈澱すると本来誘導能のない内胚葉に由来すると思われるタンパクにも誘導能がでてくるように思えた。こういう次第で結局この仕事は失敗に終わった。私はこれでこの手の研究から手をひいたが、岡崎さんはイモリのオーガナイザーを室温でアルコール固定したものでもたしかに誘導能があるが、 -20°C のアルコールで固定したものにはまったく誘導能がみとめられないことを発見した(1955年ころ)。この結果は、タンパクの変性が少ないようなやり方でオーガナイザーを殺すと、誘導能は消えてしまい、つよく変性させると“ニセ”の誘導能がでてくると解釈される。この岡崎さんの実験で、私ははっきりと誘導物質追究がみのり少ないことをさとした。実際、外胚葉をアンモニア水などでばらばらにしたり、カオリンなどを植込んでも神経組織ができることが知られているから、むしろ種々な外的刺激に反応する外胚葉の動的過程の解析こそ本質的であると感ぜられた。しかし当時の生物学の進展状況では、このような複雑な系の解析は不可能で、岡崎さんも私も次第に発生学をあきらめることになる。

事実、その後、この線の研究は何の成果もえられず終焉した。教授に楯についてはみたものの、それならなにをやったらいいのか当時の私にはわかるはずがない。そこで、化学の江上不二夫先生の講義を聞きにいたり、アメリカ文化センター、工学部図書室、名市大図書室、理学部化学や数学の図書室へ足しげく通い、核酸と名のつく論文を片端からコピー(手書きと、後にはタイプライター)した。難しすぎて分からないものが多かったし、理解できても、

EMBRYOLOGIA

VOLUME 2 - No. 1

(PAGES 1-20) 1951

SYOZO OSAWA

HISTOCHEMICAL STUDIES OF ALKALINE PHOSPHATASE IN THE OOGENESIS AND THE EARLY EMBRYOGENESIS OF THE AMPHIBIA

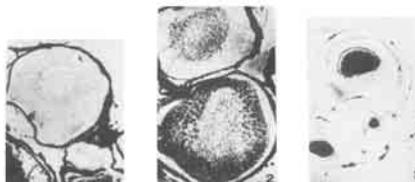


図2-2 卒業論文(1951)。下の図3枚は組織化学でイモリの卵母細胞の核のalkaline phosphatase反応で検出されるのは、artefactであることを示した実験

生物教室で実際に研究できるようなことはほとんどない。

話を少し前にもどす。岡崎さんとの研究の前に私には卒業論文を書かねばならない事情があり、それも発生と何らかの関係が必要であった。当時の雑誌を見ると、海外での“流行”の一つは組織化学で、核酸が主体であったが、もう一つはalkaline phosphataseであった。その理由は、核が強く染色されるので、核酸の代謝と深い関連があるらしいということだが、根拠は薄弱といわざるをえなかった。そこで、両生類(イモリ、サンショウウオなど)を使ってこの酵素の発生における分布の変遷を調べることに決めた。酵素の組織化学には凍結切片の使用が一般的だが、生物教室にはそんなしゃれたものはない。しかし生化学では幾つかの酵素はアセトン・パウダーにして活性を保つことを知り、氷冷アセトンで卵や胚を固定し、切片を作って当時盛んに用いられたGomori-Takamatsu法で、phosphataseの検出を行なった(ミクロトームの刃は自費で買った)。ところが、特定の胚組織には反応がでるものの、オルガナイザーに強く出るわけでもなく、核にもほとんど反応がでない。ただ、イモリの卵巣を調べると、たしかに卵母細胞の核に反応がでるが、それより周囲のfollicle cellsの反応は圧倒的に強いことがわかった。そこで、卵巣の切片を熱処理し、酵素を不活性化させたスライドを、熱処理をしない切片とface to faceにはりつけ、反応をみると、不活性化した切片の核が見事に染色されることがわかった。要する

に、反応中に活性のある切片から染色された酵素が diffuse して、非活性化した核に吸着されると言う結論をえた。結果としては無駄な実験だったといえるが、とにかく、英文で論文を書き、卒業論文とした(図2-2; 横の図は上から1) 卵巣の phosphatase 反応; 短時間では核にはほとんど反応がでないが follicle cells の反応は強い; 2) 長時間の反応では核にも反応がでる; 3) 不活性化した切片を活性のある切片とあわせて incubate すると核だけに強い染色がみられる)。教訓: 方法のマニュアルを盲目的に信ずるな!

私の卒業後は教授が一年アメリカへ出張、私にとっては勝手放題いろいろなことに手をそめることのできた時代であった(ただし実りが多かったわけではない)。前にも触れたが、世界各地の研究室では、組織化学の論文と並行して、RNAとタンパクの相関関係が、いろいろな生物で調べられているのに呼応し、卒業論文の材料として使った卵母細胞の成長過程のRNAとタンパクの消長をしらべることにした。卵母細胞は follicle 組織の中に包み込まれているので、いろいろな stage のものを単離できない。考えたすえ、卵巣をアルコール固定し、ピノキユラーの下で、ピンセットを使えばらすのが効果的であることがわかり、卵母細胞の成熟過程のRNAとタンパクの消長を追うことが出来た(ちなみに、核と細胞質も分離できる)。こんな研究でも Science に投稿したら採用してくれた時代で、まさに今昔の感がある(図2-3)。この外、植物の太田行人さんが、ミトリササゲの発芽、成長時、いろいろな物質がどのように変化するかを調べておられ、RNAの定量を私にまかされた(図2-4; 横の写真は太田さん; なお植物のRNAの定量は単純な orcinol 反応 — といっても若いひとは初耳だろうが — は orcinol に反応するペンタゼンなどがRNA分画に多量含まれるので使えない。

長々と昔話を書いたが、今から見ればほとんど意味のない研究ばかりであったことは否めない。しかし、これらの研究の中で私が考案したことが、後年、オサムシのDNA系統解析で役立っている。オサムシ(とその他の小動植物)は乾燥標本ではほとんど満足なDNA sequencingができないし、冷凍標本、酢酸エチル(ほとんどの採集家が使う)で殺した標本は駄目な場合が多い。そこで、何十年前のアセトンやアルコール固定を思い出し、試してみたところ、生きたものをこれらで殺し、保存すれば、ほぼ半永

SCIENCE, July 17, 1953, Vol. 118, No. 3055, pages 84–86.

Ribonucleic Acid and Protein in the Growing Oocytes of *Triturus pyrrhogaster*

Syozo Osawa and Yujiro Hayashi¹

Biological Institute, Science Faculty,
Nagoya University, Nagoya, Japan

図2-3 イモリ卵母細胞の発生過程のRNAと蛋白の定量

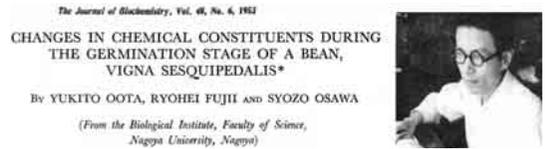


図2-4 太田行人先生(右の写真)がやっておられたミトリササゲの化学成分の分析の論文

久的に sequencing が可能であることが分かった。一時、DNA解析用に大掛かりな冷凍保存が叫ばれたが、これはほとんど無意味で、アルコール、アセトン中で保存すれば十分である。気になる人は、それを冷凍庫で保存すればなおいいのかもしれない。

Rockefeller 研究所時代

大学卒業後、文部省特別研究生となったが、翌年1月、突然研究生をやめて研究補助員になれという。教室の都合もあったのだろう。4月にはいつて助手となったが、遠からず転機がきた。Rockefeller Institute for Medical Research(現Rockefeller大学)のMirsky(図3左; 当時は50代初め)の研究室への Rockefeller Fellow としての留学である(1954年)。ここでは Mirsky のほか Allfrey(図3右)と女性研究者Dalyの3人だけの小さな研究室だった。なにしろ、名古屋大学では組織切片の作り方や、我流の生化学? 技術しか身につけておらず、こんなことが一流の研究室で通用するはずがない。最初の半年は英語もろくに話せなかったが、Mirsky先生はそんなことはおかまいなく、毎日朝9時から午後5時まで、付ききりですごかれた。夕方になると、翌日の実験の詳細なフローシート、使用する機具リスト(例えば、5mlのピペット何本、遠心管何本など)の提出を求められ、細かくチェックされた。これで次の朝から直ちに実験にとりかかることが出来る。極めて合理的、能率的である。しかし半年にわたるこのしごきはかなりきつかった。出勤時間は研究所員全体が厳守(9:00 AM)。昼食の時以外はほとんど立ち通しで実

験をし、帰りには脚がはれるほどだった。

半年後、これからは自由にやれ、というお許しがでて、その後、1年半楽しく研究に打ち込むことができた。ちなみに、この研究室では、仔牛の胸腺から分離した核での蛋白合成と、そのエネルギー源となるATP合成で、私はAllfreyの蛋白合成の研究の一部を手伝いながら、もっぱらATP合成をやっていた。蛋白合成もATP合成も細胞質でおきるのが常識であったが、分離核ではその両方が核でもおきるという、ある意味では画期的な研究と見なされていた。その後、蛋白合成のほうは、多分核膜についたりリボソームによるのではないかということになったらしいが、ATP合成のほうは追試した人がなく、私は間違っていないかと思っている。MirskyもAllfreyもすでに故人となったが、2人とも本格的な分子生物学(当時のCell Biology)の神髓を伝授してもらった私にとっての大恩人である。なお、写真の下の論文は私の留学中に行なった研究の結果である。

帰国後は岩波書店に頼まれ科学文献抄録の一冊として、「細胞核」を出版したが(図4左)、後に、Mirskyと共著でThe interphase nucleusを書いた(図4右) Mirskyは、私の書いた所をみて、自分の知らないことまでよく調べた、と褒めてくれた時は嬉しかった。

タンパク合成系の研究の発展

Mirskyは私の帰国に際して、日本では十分な研究が今のところ出来ないからアメリカに残ったら、と勧められたが、あの競争の激しいアメリカでの研究生活には少々自信がなかったので、丁重にお断りした。帰国後、SERVALの高速遠心機、上等のfraction collector、magnetic stirrer、日本では入手困難な試薬など多数を贈ってもらったが、これらが、その後の研究にどれだけ役にたったかはかりしれないものがあった(贈り物がくるまでは、ちゃちなfraction collector(年輩のかたはご存知のいわゆる“ヤジロペー”型)、magnetic stirrerなどは自費で購入してついていた。後者は定年まで何十年も愛用した。

1950~1960年は分子生物学の成熟期で、その進歩のはやさは目をみはるものがあった。DNAのほうは、私のRockefeller時代にWatson, Crick, Wilkins



図3 1954-55年にRockefeller Institute for Medical Research(現Rockefeller University)のDr. A.E. Mirsky(故)の研究室へ留学。右はDr. V. G. Allfrey(故)

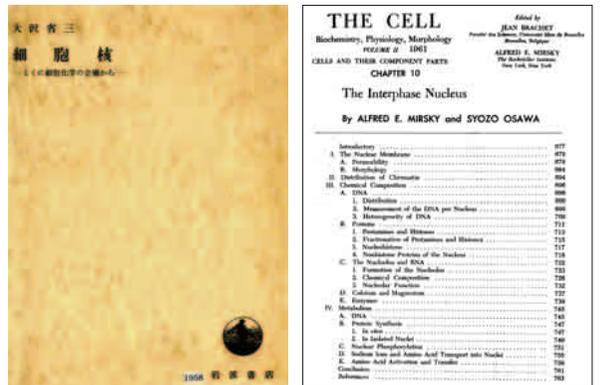


図4 1958年に岩波書店の科学文献抄録31として出版した「細胞核」74ppとMirskyと共著でAcademic PressのThe Cell, Vol.1. 2, Chapter 10に出した総説

により、分子構造が決まり、Hershey, Chaseの実験で遺伝子がDNAであることが決定的となった。その後KornbergらによるDNA polymeraseの発見、岡崎によるDNA合成過程詳細はメカニズムの解明(Okazaki-fragmentの発見など)によってDNAの研究は一段落した。私はDNA関係の研究にはタッチしていなかったので、これ以上詳しく書かない。その間、CrickがいわゆるCentral dogmaのidea(DNAの複製とDNAの遺伝情報はRNAに伝わり、さらにそれが鋳型となって蛋白をつくる)をだしたが、このような理論とは独立にin vitroの蛋白合成系が出来上がり、central dogmaの“DNA makes RNA

makes protein”の経路が確かなものとなった。その立役者はアメリカ Harvard Medical School の Zamecnick・Hoagland 一派だが、ほとんど同様の研究が予算も機器類も乏しい新潟大学の緒方規矩雄の研究室で独立に行なわれたのは、特筆すべきである。緒方さんとは、その当時から親しくしていただいでいて、定年後松山へ移られてからも研究をつづけられていたが、数年前亡くなられた。緒方さんは自称「名ピッチャー」、私も草野球に凝っていたので、緒方さんの球を私が打てるかという賭けをしていたが、実現できなかった。残念！その後、日本では京都大学の田代裕、同じく高浪満らがこのラインの研究に貢献した。これらの研究で、細胞の homogenate を超遠心にかけてえられるペレットのリボソーム顆粒(蛋白とRNAの複合体)が蛋白合成工場であること、それとは別に超遠心の上澄を pH5 で処理すると沈殿してくる fraction (いわゆる pH5 enzyme) が、RNA と蛋白の複合体で、この蛋白酵素がアミノ酸を RNA に付け、リボソームに運んでそこでペプチド合成が起きることが明らかとなった。これより前にリボソームでの蛋白合成のさい、template となる RNA は 3 つ組のヌクレオチド一種のアミノ酸に対応するらしいことが遺伝学的に示唆されていたので、Crick は一種のアミノ酸が RNA の 1 塩基座に対応することはありえず、対応する 3 組の塩基をもった短い RNA の先端にアミノ酸をつけ、リボソームに運ぶアダプターの存在を示唆した。それが pH5 で沈殿する RNA で、蛋白がその RNA に特定のアミノ酸をつける酵素(現在の aminoacyl synthetase)であることが明らかとなった。ちなみに、リボソームという名称は、1958 年に開催された First Symposium (Biophysical Society) の『Microsomal Particles and Protein Synthesis』で Carnegie Institution of Washington の Richard B. Roberts により提唱されたものである。

この段階でもっとも基本的な 3 つの問題が提示された。(1) 生体のタンパクのアミノ酸が 20 種なら、それに対応するアダプター RNA (当時は sRNA とよばれていた。現在の tRNA) は少なくとも 20 種が必要である。その正体は? ; (2) リボソーム RNA は分子量からいって、生体の全蛋白の情報量を満たし得ない。それならどのように多種類の蛋白が合成されるのか? ; (3) 20 種のアミノ酸に対応する 3 組のヌクレオチドの具体的配列の正体 (遺伝暗号) は?

私どもはまず (1) の問題から手をつけることに決めた。材料はイースト、大量培養の設備などないので、階段の下のスペースを仕切り、100 W の電球を幾つかともして保温培養。化学教室の Sharpless centrifuge をかりて集菌。それを冷凍室内で大型乳鉢を使い、すりつぶす。アメリカではすりつぶすのにアルミナ・パウダーを使っていたが、日本では良質のものが入手できない。いろいろ試した結果、NaOH, HCl で洗浄した石英砂の微細粒がアルミナよりも使いやすく、より優れていることをみつけた。石英砂ですりつぶしたものを、buffer に suspend して超遠心でリボソームを除き、上澄から phenol 法で sRNA fraction をとる。一読すれば簡単に思えるが、重労働の連続であった。このようにしてとった sRNA fraction には大量の polysaccharide が含まれているので、それを除去する方法を考案。当時、ECTEORA というイオン交換セルローズが、核酸の吸着、分画につかわれていたもので、まず、市販のセルローズを所定の試薬(薬品名など忘却)と反応させ、ECTEORA を作った。これに sRNA fraction を通すと、sRNA は吸着されるが、polysaccharide は完全に流しだされる。吸着された sRNA は 0.3M の NaClO₄ で ECTEORA から外し、アルコール沈殿で sRNA を回収。このようにしてえられた sRNA 分析用超遠心や電気泳動でも均一である。前者は高浪満さん、後者は高田健三さんに分析してもらった。分子量測定は遠心の沈降定数 (4.0S) と粘度から朝倉昌さんの指導で決定し、分子量 25,000 から 27,000 の間 (約 80 ヌクレオチド長) であることがわかった (図 5-1)。これまで、Crick は adaptor を 20 ヌクレオチド長にみえない RNA と考えていたし、Harvard のグループは 1.8S くらいだといっていたようだが、それより遥かに長い RNA だった。ただちに Nature に短報をだした (1960)。ところが、direct mail で Journal of Molecular Biology (JMB) の創刊号のチラシがきたので、contents をみると、Watson のところへきていた Tissieres が大腸菌で sRNA の分子量を決めた論文がでていることを知った。論文の題も yeast と E. coli の違いだけである。早速、Tissieres にこちらの preprint をおくったところ、E. coli の sRNA が約 25000 といっても、ほとんど誰も信用してくれない。Yeast で同じ結果がでたので、やっと広く信じてもらえるようになった、という返事がきた。なお、Wilkins (Watson, Crick とともにノーベル賞をもらった) は私たちの

tRNAのX-ray Patternを見たいからというので提供し、その結果はNatureに発表された。YeastのsRNAの塩基組成をDowex-1のカラム・クロマトグラフィー (Van Potterが始めた細胞の可溶性ヌクレオチドの分析法を私どもが改良し、正確な塩基組成決定を可能にした) でみると、A,G,C,U以外に幾つかの nucleotidesがあり、なかでもUの derivativeらしいものがかかなり含まれていることが分かった。リボソームRNAにはほとんどない成分である。このU関連の nucleotideは細胞全体からとったRNAからすでに見つかっており、5th nucleotideといわれていたが、Waldo Cohnにより構造決定がなされた (pseudouridine ; 5-ribosyluridine)。かくして問題のU-like nucleotideは pseudouridineであることがわかった (図5-2)。そこでの無細胞系を構築し、¹⁴C-leucineでと結合できるRNAをしらべていると、pseudouridineをふくむsRNAだけが¹⁴Cで標識されることが分かった。つまり、pseudouridineはsRNAにほぼ特異的な成分であるということである。当時は¹⁴C-leucineなどは簡単に日本で入手できるものではなく、それに isotopeを生物教室でつかうことには強い抵抗があったので、研究室の予算では入手不可能だった。そのころ、私は日本に分子生物学を浸透させるため奔走しておられる渡辺格さんの手伝いをしていたが、たまたま¹⁴Cアミノ酸が使いたいといったところ、さりげなくこれで買えよと、1万円札をポケットからだしていただいたのは忘れ難く、有り難い思い出である。その格さんも今はいない。なお、上記のsRNAに関する研究が私の博士論文となった。

このころ核酸の研究が急速に進み、国内でもそれを認識してもらふ必要性を感じ、広川書店から「核

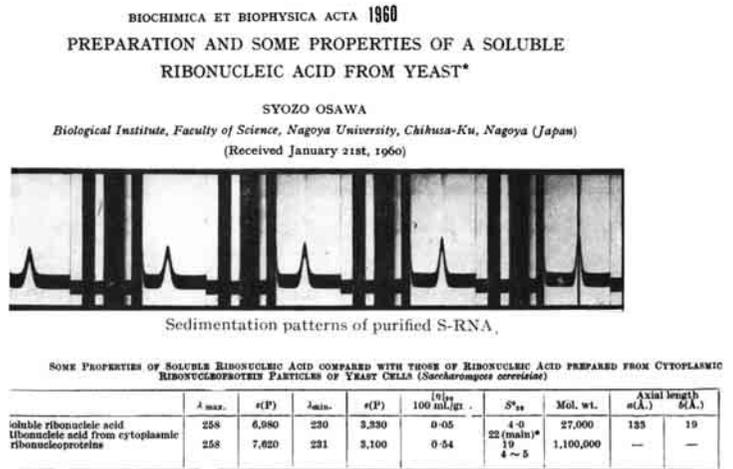


図5-1 sRNA(現在のtRNA)の分子量決定(学位論文)

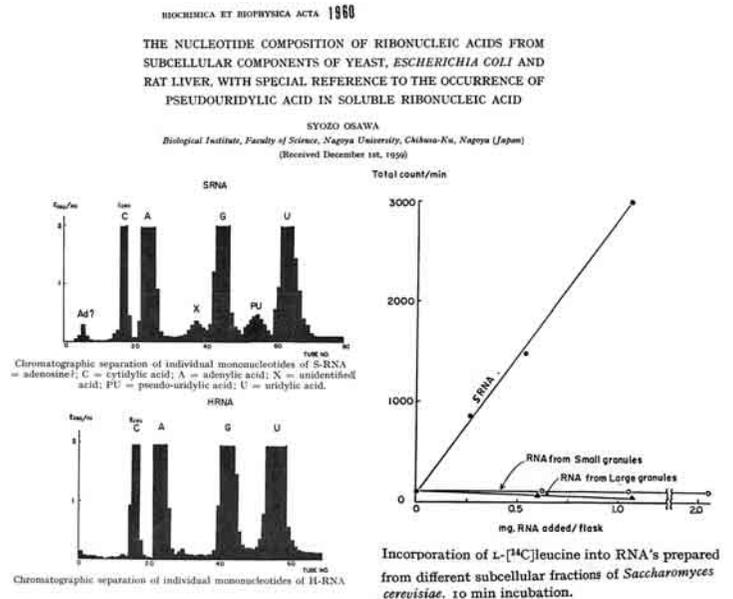


図5-2 sRNA中に pseudouridine が存在することを最初に示した論文(学位論文)

酸—その生物学、化学、物理学」を5名の共著で出版した。1963年までの世界の情勢をすべて網羅した大冊 (pp. 517) で江上先生の序文を頂くことが出来た (図6)。編集はほとんど私がやったが、広範にわたる分野の聰纏めであり、未熟な私には荷の重い仕事だった (図6)。

次の課題はこのsRNAは当然少なくともアミノ酸の数の種の混じりであるから、これらを分ける必要がある。私のような生物屋には技術的に限界がある

ことが分かっていたので、化学でDNAをやっていた竹村彰祐さんに一語にやらないかと持ちかけたが、DNAのほうが忙しくて断られた。竹村さんは当時Maxam-GilbertのDNA塩基配列法の基礎の一つとなったDNAのヒドラジン分解法の完成を目指しておられたのだから、断られて当然である。それとは別に江上不二夫先生が東大へ移られ、浅野仁子さんが分離に成功したribonuclease TIをつかってsRNAの構造決定をやらないか、と名古屋へこられて、われわれのsRNAをもってゆかれた。浅野さんが始めたが、彼女の事情で打ち切りになったのは残念であった。かなりの後、アメリカのHollyがアラニンsRNA [これ以降はtRNA (transfer RNAの名称を使う)] の全構造を決め、ノーベル賞をもらった。それも江上-浅野のTIを使って決めたのだから、皮肉としか言いようがない。その後、三浦謹一郎さんが名古屋へ赴任、竹村さんと多数のtRNAを精製し、構造決定をされた。私どもの研究がかなり進んでいた当時、Gordon ConferenceでHollyの講演をきいたが、全tRNAの塩基組成分析のような面白くない話であった。日本での研究がもう少しうまくcooperateしていたら、Hollyより早く構造決定が出来たと思うと、一抹の無念さを禁じ得ない。

Messenger RNA 発見の前後

しばらくして、化学、物理、生物学科の教授が台頭する分子生物学の重要性を認識し、分子生物研究

施設を開設した。教授 大澤文夫 (物理)、助教授 竹村彰祐 (化学)、助手 大澤 (生物、後に助教授) の布陣であったが、部屋もなく、理学部の既存の教室へ頼み回り、やっと部屋を確保したが、竹村さんなどは、しばらく部屋無しで苦渋の日々をおくられた。それにもっとひどいのは、予算で、総額100万円。3研究室で3等分し、年間30万円であった。これでは事実上にも出来ないで、アメリカのNIHやJane Coffin Foundationへグラントを申請、幸いにも両者とも研究を評価してくれて2万ドル近くの研究費をもらい、一応の基礎的設備をととのえることができた。折しも、Y教授はどういう理由か不明だが、突然退職してアメリカの研究所へ転出。日本をたつ前に、東京の動物学の著名な有力教授連を尋ね、大澤だけは日本の理学部生物学教室へは絶対入れないでくれと言っておかれたそうである。この話しはその有力教授の一人が京大の故N教授にはなしたのを、私がN教授から直接きいたのだから間違いではなかろう。それかあらぬか、私が後に広島大学へ転任し、その後、名古屋の生物へかえる機運が同教室からもちあがり、引き受けたにもかかわらず、実現するまでに5年の歳月を要した。Y教授はよほど私がきらいだったらしい (その逆もまた真)。私は彼のいやな思い出がトラウマとして残っており、体調の悪い時にはいまだに夢にでてきて悩まされている。

閑話休題。先に、リボソームRNAが、かなりヘテロでない限り、細胞の全蛋白をコードできないこ

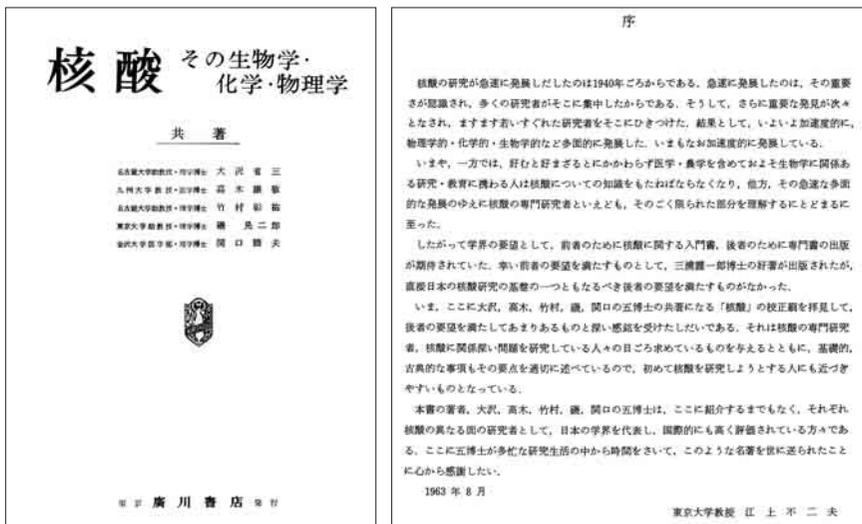


図6 1963年までの核酸研究の専門書と江上不二夫先生の序文。518 pp.この本は当時の核酸に関するほとんどすべての知見が網羅されている。共著者の中で磯、高木両博士は故人

とを述べた。一方、大腸菌にファージが感染すると、リボソームRNAの合成がとまり、新しい極めて代謝回転の早いRNAが合成されるという事が分かった。この研究はアメリカのVolkin & Astrakanと日本の渡辺格が独立に見つけたが、渡辺さんが論文にする前にVolkinらが発表してしまった。このRNAの塩基組成はファージのDNAを反映しており、大腸菌のものとはまるでちがう。この研究の後、同じ系をつかって、Brenner, Jacob, Meselsonが決定的な実験を行い、このRNAこそ、ファージDNAからつられ、ファージ蛋白質の鋳型となるもので、messenger RNA(mRNA)と命名した。

この発見に刺激されたのが、他ならぬWatsonで、あれはファージ特有の現象であり、大腸菌を始め、他の生物に当てはまるか分からない、というのである。そのころ、私どもは、大腸菌を用い、 ^{32}P とトレーサーとして、リボソーム合成過程の研究をしていた。短期間の ^{32}P の投与では蔗糖濃度勾配遠心でみると、確かに典型的リボソームより軽い成分が幾つも検出される。私どもは、これらはリボソームの前駆体と思っていた。同じような実験はWatsonの所と、アメリカCarnegie研究所のBolton, Britten, Robertsや、ソ連のSpirinの研究室でもやっていた。さる機会にBoltonが私どもの研究室を訪問したが、彼曰く「Watsonはkineticsをしらない。 ^{32}P でラベルされるのはみなりボソーム前駆体RNAだ」という。Spirinたちは、それらの幾つかにネオゾーム、エオゾームなどと言う名前を付けていた。私たちはどうも納得がいかないのので、別の方法でmRNAかどうかを確かめることにした。まず ^{32}P を短時間大腸菌に与え、それから全核酸をとり、メチルアルブミン・カラムクロマトグラフィー(アメリカのPhilipsonらが他の目的で開発したもの)で分析すると、tRNAともリボソームRNAとも全くことなる第3のRNAが検出され、しかもその塩基組成はリボソームRNAとは異なり、大腸菌全DNAの塩基組成に近似していることが分かった(図5-3; 白丸)。ファージ感染菌でも同じような、しかしファージのDNAの組成とほぼ同じRNAが検出された。このほかのかなり広範な実験から、問題のRNAはリボソームRNAの前駆体ではなく、mRNAであることが強く示唆された。早速論文を書き、Watsonに送ってJMBに出してくれるよう頼んだところ「これは非常に面白いからJMBにのせる。ただしIntroductionのお前の日

J. Mol. Biol. (1962) 5, 261-264

Molecular and Metabolic Properties of Messenger RNA from Normal and T2-infected *Escherichia coli*

AKIRA ISHIHAMA, NOBUKO MIZUNO, MASAYUKI TAKAI, EIKO OTAKA AND SYOZO OSAWA
Institute for Molecular Biology, Faculty of Science, Nagoya University, Chikusa-Ku,
Nagoya, Japan

(Received 24 April 1962)

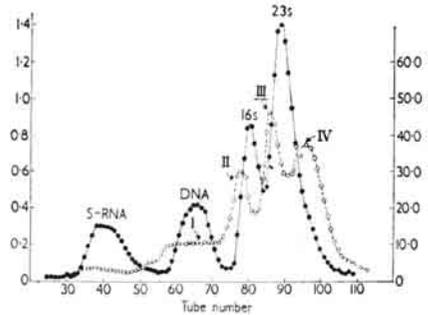


図5-3 メチルアルブミン・カラムによる messenger RNA の分析

本語 (Japanese English と書かずに Japanese と書いてきたのは、いかにも彼らしい) を英語になおしてやる」といってJMBに掲載してくれた。この研究は是非Gordon Conferenceで話せというので渡米、WatsonとHarvardからNew Hampshireの会場まで彼の車に同乗。会議が終わってHarvardへ帰ったが、折角ここへきたのだから1か月くらい遊んでゆけ、ということで、guest houseに滞在。研究室を一つあけてくれて、好きなことをやれといわれDNAカラムでmRNAを分画する実験をやったが、時間切れで終わってしまった。私の隣の部屋ではあのDNA sequencing法の開発でノーベル賞をもらったGilbertがコツコツとリボソームとmRNAのinteractionの実験(だったと思う)をしていた。Watsonは私と同年で、気さくに話しあうことができた。しばしばmember専用の食堂へ連れて行ってくれたが、彼はトレードマークのノーネクタイ。たわいもない話しの途中、こちらがハッとするようなideaをさりげなく口にする。やはり彼は天才だなと何度も感じた。ある日、Carnegieグループが主張していた ^{32}P 投与短時間でラベルされる例のリボソームRNAの前駆体説は撤回したのか、ときいたら、Oh, no, but they will understand slowlyと全く問題にしていなかった。事実、その後、Carnegieグループからこの点に関して、全く無音になった。Watsonの研究室には多数の研究者、院生がいたが、ほとんど指導し

ない。院生が私のところへきてしばしば愚痴をきかされたが、Watsonがなにげなくふっと言った会話中のideaをとらえ、理解して、実行するかどうかが問題で、天才の下で働くにはそういった覚悟が必要なのであろう。事実、initiation codonがf-メチオンンであることなどは、彼の何気ない会話からでたそうである。なお、この時は彼等がノーベル賞をもらう前の話である。私達がだしたmRNAの話とほぼ似た論文が、同じ雑誌にでているのを見て驚いた。フランス・パスツール研究所のGrosらのものである。あとで聞いたところ、Spiegelmanのところでも誰かがやっていたが、大澤らは我々の真似をしたと言っていたそうである。私は彼のところのことは全く知らなかったし、迷惑千万な話である。同じようなフィールドでは、独立に同じことを考えることの証左であろう。tRNAの時もTissieresと私達が全く同じことを独立にやっていたこともそういったことの例といえる。

さて、順序からいえば、mRNAのどの3組がどのアミノ酸に対応するかという遺伝暗号の話に移るべきであるが、話しの都合で暗号は後回しにして、リボソームの研究にふれる。

リボソーム研究ブームの到来

mRNA研究が一段落したのにつづき、蛋白合成の場であるリボソームの研究ブームの到来となる。なにぶん極めて複雑な構造体のため、研究内容も多岐にわたり、とても一研究室だけでは手におえるものではない。大きく分けると、(1) リソームの構成成分 (RNA、リボソーム蛋白) の分離、精製法の確立*；(2) リボソームRNAと蛋白の一次、高次構造；(3) リボソームにおける構成成分の配置；(4) リボソームの合成過程*；(4) 分離したリボソームRNAと構成蛋白からの活性をもったリボソームの再構成；(5) リボソームRNAと蛋白遺伝子の遺伝子マッピング*；(6) 抗生物質耐性菌とリボソームとの関係*；(7) リボソームの多様性*で、研究グループはほとんど全世界に乱立？したという盛況ぶりである (*は我々の研究室で手がけた課題)。図7-1は現在認められているリボソームの組成をしめす。

リボソームの研究を始めてしばらくの後、広島大学原爆放射能研究所生化学部門の教授だった柴谷篤弘さんからの誘いで、彼の研究室へ移籍し、名古屋での研究を継続した。(1) のリボソームRNAの

ANNUAL REVIEW OF BIOCHEMISTRY
Vol. 37, 1968
Copyright 1968. All rights reserved

RIBOSOME FORMATION AND STRUCTURE*

By SYOZO OSAWA
Department of Biochemistry and Biophysics, Research Institute for Nuclear Medicine and Biology, Hiroshima University, Kasumi-Cho, Hiroshima, Japan

CONTENTS

PERTIES OF rRNA AND RIBOSOMAL PROTEIN.....	109
STRUCTURE OF RIBOSOMES.....	113
FORMATION OF RIBOSOMES.....	115
SYNTHESIS OF rRNA AND RIBOSOMAL PROTEIN.....	122

図8-2 Annual Rev. Biochemistryの依頼で書いたリボソームの総説

分離、精製はすでにどこでもできる方法として確立されていたが、問題は蛋白である。一次元ゲル電気泳動でも少なくとも40種以上もあるが、分解能も劣悪で、しかも、それぞれの蛋白を単離する事が困難である。私達は、先ず50Sと30Sリボソームを分け、それぞれから蛋白を分離、carboxymethyl-cellulose (CMC) カラムで各蛋白を分離することから始めた。CMCは例によって手製である。その結果、50Sは少なくとも20、30Sは17のピークに分離され、50S蛋白は50-1 ~ 50-20；30は30-1 ~ 30-17と名付けた(不確実なピークは除外；後編図11-1参照)。このカラムでは分離不可能の蛋白ピークがあり、現在では50Sは~34種、30Sは21種の蛋白からなることされているが確定的でないものもある)。当時は、世界各地の研究室でカラムクロマトグラフィが試みられたが、分解能からみると私達のものももっとも優れていると自負している。話しが前後するが、後にドイツのWittmannらが2次元電気泳動で蛋白の分離を行い、世界各地の研究室で勝手な名前をつけていたものを30SはS1 ~ S21；50SはL1 ~ L34という共通名称に統一することを提唱、現在にいたっている。

次はリボソームの合成過程の解析である。¹⁴C-リジンで短時間ラベルした大腸菌の無細胞抽出液を特殊な方法でリボソーム蛋白以外の可溶性蛋白を除去し、蔗糖濃度勾配遠心にかける図7-3のようなパターンがえられる(●がラベルされた蛋白)。これらをさらに細かくわけて、再遠心すると、例えば図7-4が得られ、そのIからは図7-5のように、40S成分が精製できる。同様に4の~30Sも精製できる。これらの成分は23S rRNAを含むから、50Sリボソームの合成の前駆体と見なす。これらのピークをCMCカラムで分析すると、図7-9のように、rRNAと結合している蛋白のみが検出できる。図7-8は~

30S、図7-9は40S成分の蛋白組成である(矢印は欠除タンパク)。これらや他の解析から、50Sリボソムの合成は図7-10のような中間体を經由し、特定の蛋白をRNAに結合しながら完成すると結論した。30Sリボソムの結果は省略。

抗生物質とリボソムの関係は数カ所の研究室で進められていたが、私たちは、塩野義研究所の田中

兼太郎・寺岡宏さん(故)(図8-7)と密接な共同研究をおこなった(図8-3)。主としてエリスロマイシン(EM)との関係に重点をおいたが、私たちが別に進めていたリボソム蛋白の遺伝子マッピングの研究でさらに幾つかの別の抗生物質に関与する蛋白を同定した。そのころまでのマッピングの結果の詳細は図8-4を参照されたい。さて、幾つかのEM耐性菌

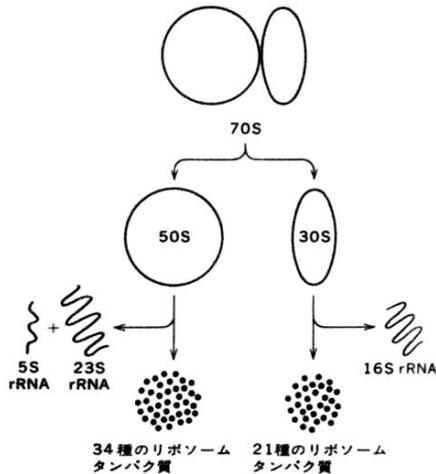


図7-1 大腸菌リボソムの構成

J. Mol. Biol. (1969) 40, 321-351

Biosynthesis of 50 s Ribosomal Subunit in *Escherichia coli*

SYOZO OSAWA, EIKO OTAKA, TAKUZI ITOH† and TAKESHI FUKUI
 Department of Biochemistry and Biophysics, Research Institute for Nuclear
 Medicine and Biology, Hiroshima University
 Kasumi-Cho, Hiroshima, Japan

(Received 26 May 1968, and in revised form 30 September 1968)

図7-2 大腸菌50Sリボソムの生合成の研究」の論文のタイトル

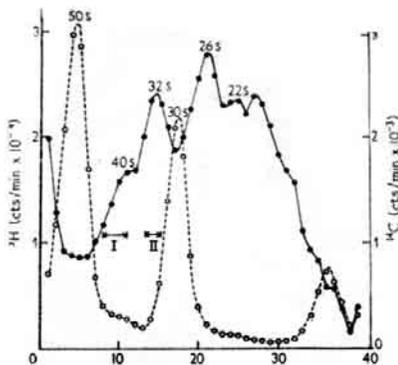


図7-3 14C-lysineでラベルしたリボソムの前駆体

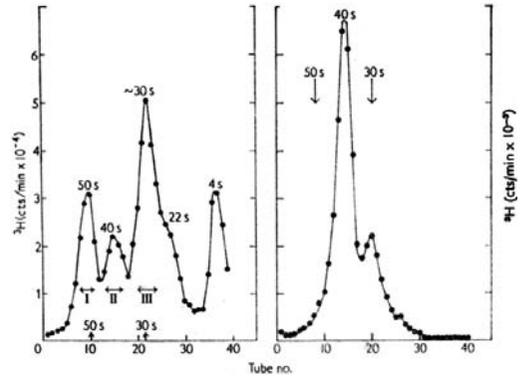


図7-4, 5 40S, 32Sの前駆体の存在をしめす。図7-5は40Sの精製

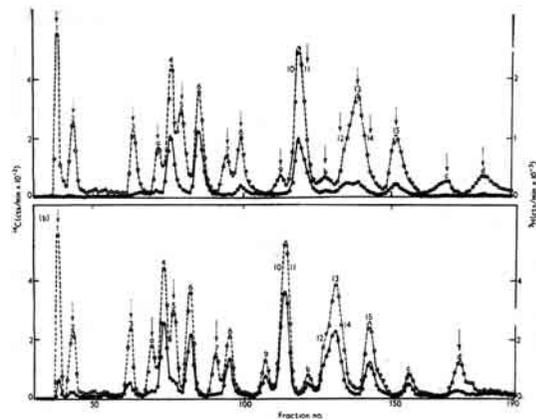


図7-8, 9 32S, 40S 前駆体に50Sリボソムに存在するリボソム蛋白(矢印)が欠除していることを示した図

[30 s]		40 s	50 s subunit
Formation of 23 s rRNA			
Early methylation of 23 s rRNA		Late methylation of 23 s rRNA	
Insertion of group I protein [components 4, 6 and 10 (3 components)]	Insertion of group II protein [components 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, b and c (9 comp.)]	Insertion of group III protein [components 1, 2, 3, 5, 7, a and d (7 components)]	
		Insertion of 5 s RNA	

Scheme for biosynthesis of 50 s ribosomal subunit in *E. coli*.

図7-10 上の結果とその他の解析を考慮した50Sリボソムの合成経路。詳細は本文参照

のリボソーム蛋白をCMCカラムで調べると50-7 (現在のL4) の流出位置がずれているし、ペプチド分析でもアミノ酸組成の違いが証明された。これらのリボソームはEMとの結合能がほとんどないか、著しく弱い。このほかの抗生物質耐性菌のリボソーム・タンパク質の変異についても、かなりのものについてしらべ、遺伝子座をきめ、抗生物質ごとに耐性決定蛋白がことなることが分かったが、細かい結果は省略する。なお、当時は抗生物質が直接問題の蛋白と結合することによって蛋白合成を不活性化すると考えられていたが、最近の研究では、抗生物質は直接rRNAの特定部分と結合し、その立体構造を問題の蛋白が支えていることが分かったようである。したがって、耐性菌で抗生物質が結合できなくなるのは、その蛋白に結合しているrRNAの立体構造が構成物質と結合出来ないようになるためということになる。

1965年ころから始まったリボソーム・ブームにともない、一年に2~3回の国際的ミーティングが世界各地で開かれた。私はその度に呼び出されほとんど出席したが、1、2のものは断らざるをえなかった。写真をとったり、記録を残すことの好きでない私のつたない記憶では、つぎのようなりボソームのミーティングやシンポジウム開かれた (順不同、年度も不確実なので省略: コロラド大学; ベルギー (EMBO); スイス・モントルー付近; ウィコンシン大学; ニューハンブシャー (ゴードン・コンファレンスの一部); コールド・スプリングハーバー研究所 (2回); ブルガリア (欠席); ハンブルグ; スウェーデンのヨテポリ (EMBO); マルセイユ (EMBO)、その他



図8-7 田中兼太郎博士 (左) と寺岡宏博士 (右)

RIBOSOMES Structure, Function, and Genetics

Proceedings of the 9th Sreenbock Symposium held at the University of Wisconsin-Madison, July 5-8, 1979



MOLECULAR EVOLUTION OF RIBOSOMAL COMPONENTS

SYOZO OSAWA and HIROSHI HORI

Department of Biochemistry
and Biophysics,
Research Institute for Nuclear
Medicine and Biology,
Hiroshima University,
Hiroshima, Japan

図8-5 Wisconsin大学で行なわれたリボソームのシンポジウム

Ribosomes from Erythromycin-resistant Mutants of *Escherichia coli* Q13

EIKO OTAKA, HIROSHI TERAOKA, MIKIO TAMAKI, KENTARO TANAKA
AND SYOZO OSAWA

J. Mol. Biol. (1970) 48, 499-510

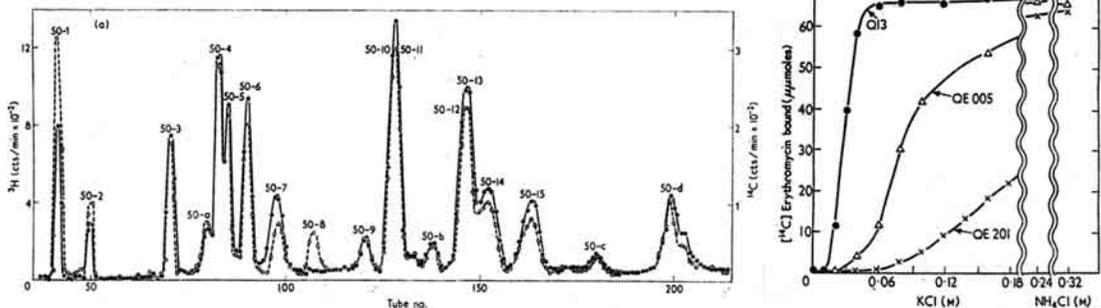


図8-3 塩野義研と共同で行なったエリスロマイシン耐性大腸菌リボソームの研究

[EMBOはEuropean Molecular Biology Organization]。

このリボソーム・ブームの立役者はウィスコンシン大学で、Khorana (ノーベル賞受賞者) の後をついで野村真康さんのグループと (図8-6) とドイツ

のMax-Planck Institut fuer Molekulare Genetik (MPMG) のWittmannのグループで、規模からいってもとても日本の小研究室の及ぶところではない。野村さんはideaや実験技術の点でぬきんでいて、一流のスタッフを揃えているし、Wittmann

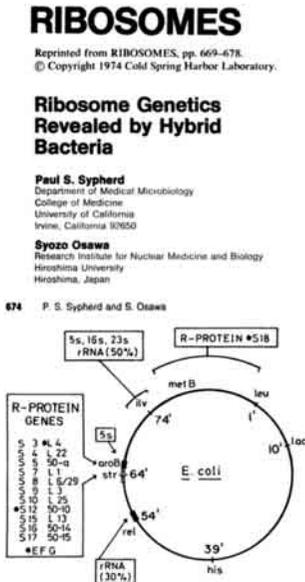


図8-4 Cold Spring Harbor Lab.で行なわれたリボソームのシンポジウム。類似のテーマ (リボソーム遺伝子のマッピング) で研究していたSypherd (Univ. Calif., Irvin) との共著論文



図8-6 当時のリボソーム研究の中心の一つであったWisconsinグループを率いた野村真康博士



図9-1 リボソーム研究のメッカの一つであったMax-Planck fuer Molekulare Genetik (MPMG)



図9-2 所長のH.G.Wittmann博士 (故) 夫妻



図9-3 留学中の寺岡宏 (故) 博士



図9-4 A. Böck (当時MPMG) へきていたが、後にミュンヘン大学教授となり、後世に残るセレンシステインの研究で著名。ライン河のほとりにて



図9-5, 6 Knud NierhausとR. Brimacombe (イギリスから留学)。ベルリン郊外の池でのセーリング

PROGR. IN NUCLEIC ACID RES. & MOL. BIOL., VOL. 4

© 1965

ACADEMIC PRESS INC., NEW YORK

**Biosynthesis of Ribosomes
in Bacterial Cells**

SYOZO OSAWA
*Research Institute for Nuclear
Medicine and Biology,
Hiroshima University,
Kasumicho, Hiroshima, Japan*

I. Introduction	161
II. The RNA and Ribosomes of Bacterial Cells	162
A. RNA Types	162
B. Ribosomes	162
III. Unusual Particles	164
A. Chloromycetin Particles	164
B. Mg ⁺⁺ Particles	166
C. RC Particles	166
D. Fluorouracil Particles	168
E. Other Particles	169
IV. The Process of Ribosome Formation	169
A. Experiments on Exponentially Growing Cells	169
B. Experiments on Shift-up Cultures	172
V. The Origin of Ribosomal RNA	180
VI. The Origin of Ribosomal Protein	181
VII. Concluding Remarks	183
Notes Added in Proof	184
References	186

図5-4 Messenger RNAの研究と同時に開始した主としてわれわれのリボソームの研究の総説

のグループは一つの研究所をほとんど独占しており(図9)、潤沢な研究費と世界各地から人材を集め、研究を推進していた。私は1974年、客員教授として招かれ、半年滞在したが、豊富と研究費とその規模の大きさには驚嘆を禁じえなかった。図9-2はWittmann所長夫妻(所長は故人)、図9-3は寺岡宏さん(故)、図9-4は当時MPMGへ来ていたAugust Boeckで 図9-5, 6はK. NierhausとR. Brimacombe(イギリスから来ていた)。MPMGが裕福だと言っても、Wittmann自身は不要となったコピー用紙を小さく切って裏をメモ用に使うという節約ぶりで感心した。ただし、所員がそれを見習っていたかどうかは別問題であるが、Wittmannの部屋の書棚をみると、ReitterのFauna Germanica(ドイツの甲虫研究のバイブルだった)が並んでいるではないか。そこで、あなたの昆虫が好きなのかと尋ねたら、大学の時に使ったもので、カラー図版は誰かが持って行ってしまったが、ほしければあげるよ、といって図版なしの3冊をもらった。いまでも大切に保存している。

私達のグループも度々人の入れ替わりがあり、小規模な研究室ではあったが、そこそこの研究をしていると自負していた。しかし、いまとなって考えてみると、しょせんお釈迦様の手のひら上の孫悟空で、同等または、よりすぐれた研究が山ほどあり、one of manyにすぎなかったようである。なお私はこの間、幾つかの総説を書かされたので、それほど捨てたものでもなかったかもしれない(図5-4, 図8-2など)。後者は、Waldo Cohnが名古屋の研究室へ来た際、頼まれて書いたものだが、英語の総説などとてもかけない、といったら、ノーベル賞受賞者の某大先生の英語などは、英語かどうか分からないほどひどいから大丈夫と言われた事が忘れられない。



**Proceedings of the Oji International Seminar on
Genetic and evolutionary Aspects of Translational
Apparatus held at Hokkaido on August 31-September
1979**

Edited by Syozo Osawa, Haruo Ozeki, Hisao Uchida
and Takasi Yura

図10 セミナーのProceedings (Univ. Tokyo Press/Elsevier), 669 pp

どのような事情からかわすれてしまったが、王子国際セミナーの開催をたのまれ、小関治男(故)、内田久雄(故)、由良隆さんらと北海道・苫小牧で「Genetic and evolutionary aspects of transcriptional and translational apparatus」と題して1979年8月31日から9月5日にかけて約50名の世界の著名学者を招きシンポジウムを開催した。この時の特別講演者は野村真康・木村資生博士であった。この時のProceedingsはUniversity of Tokyo Press/Elsevierから669 pp.の大冊となって発行された(図10)。

(以下次号へつづく)

▶▶▶ シリーズ「私と進化学」第2回 ◀◀◀

虫から始まり虫で終わる（後編） 「分子生物学から進化学へ」

大澤 省三（初代進化学会会長）

リボソームの分子系統進化学事始め

野村博士らが、分画したリボソーム・タンパクとリボソームRNAをまぜ、試験管内でリボソームの再構成に成功したことは既に述べた。彼等はさらに、*Bacillus stearothermophilus*の30Sタンパクと大腸菌16S rRNA（またはその逆）から再構成した30Sリボソームと大腸菌50Sリボソームからなるhybridリボソームでも大腸菌70S同様、タンパク合成能があることを示し、リボソーム蛋白は細菌に共通する（universal）と思われた（図11-2）。

一方、1964年、Cox & Flaksは、そのころよく使

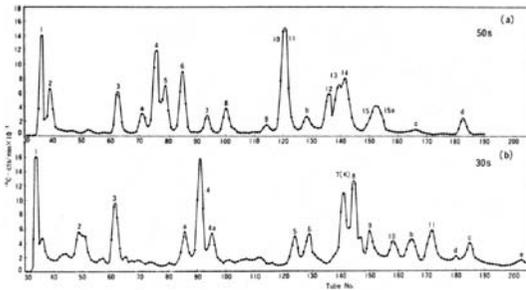


Figure 1. Chromatography on CMC columns of ¹⁴C-tyrosine-labelled ribosomal proteins from *E. coli*. (a) 50s of *E. coli* C; (b) 30s of *E. coli*

図11-1 われわれが開発し、スタンダードの分析法として用いたCMCカラムによるリボソーム蛋白の chromatographic patterns

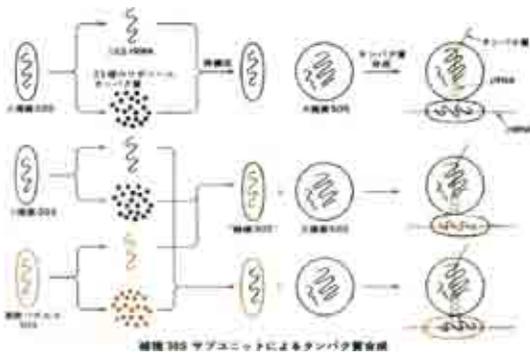
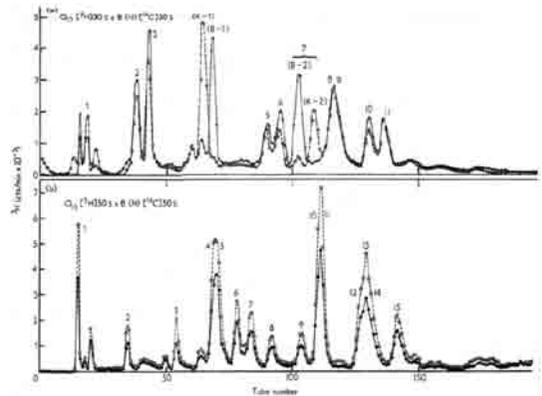


図11-2 野村博士のグループによるリボソームの再構成。分画したリボソーム蛋白とリボソームRNAをまぜ、試験管内でリボソームの再構成に成功した

われていた一次元ゲル電気泳動で、大腸菌B株とK株（両方とも実験によく使われる）で異なるバンドがでることを見付け、K-factorと名付けた（私たちはK-factor以外にもう一種の蛋白も変異していることを見つけた（図11-3；11-4はJ. Flaks）。そこで、ひろく多数種の細菌のリボソーム蛋白をCMCでしらべてみると、30S, 50Sともに、大腸菌とはまったく異なるCMCのパターンがえられた。リボソーム蛋白は、その構成は多種多様であるが、分類学的に近いものほどパターンが似ており、離れものでは、蛋白同士の対応が全く不可能になる。この事実は蛋白に変化があっても蛋白合成のマシーナリーとしては機能的には同じ働きをするようリボソーム構成に関与



Chromatography on a carboxymethyl cellulose column of ribosomal protein from Q19 and D strain of *E. coli*. (a) 50 s protein; (b) 30 s protein. —○—, [¹⁴C]-tyrosine-labelled *E. coli* Q19 protein; —●—, [¹⁴C]-tyrosine-labelled *E. coli* D protein.

図11-3 J.G. Flaksは大腸菌のK株には別のよく使われるB株とゲル電気泳動で異なるバンドがでることを見付け、K-factorと名付けた



図11-4 Joe Flaks ロッキー国立公園にて（1967）

していることを示唆している。

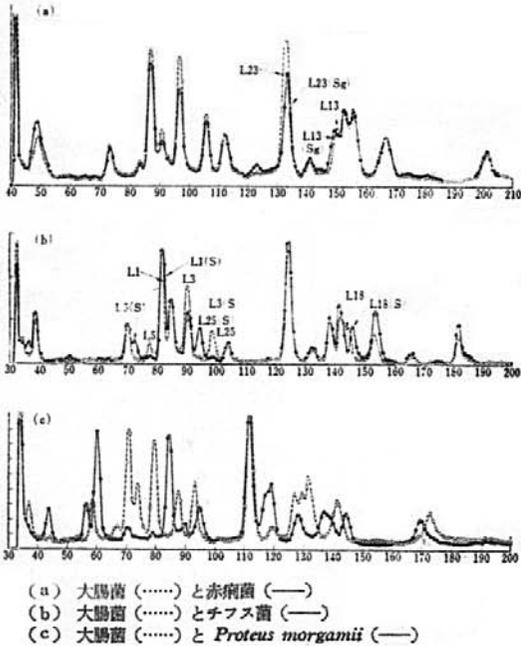
系統的に近いものでは、変化している蛋白の対応関係が比較的容易なので、狭い範囲のバクテリアでは、この事実を利用して系統関係を知ることが

Journal of Bacteriology 133: 1089-1096 1978:

Evolution of Ribosomal Proteins in *Enterobacteriaceae*

HIROSHI HORI* AND SYOZO OSAWA

Department of Biophysics and Biochemistry, Research Institute for Nuclear Medicine and Biology, Hiroshima University, Hiroshima, Japan 734



¹⁴Cと³H-アミノ酸で分別ラベルした2種の50Sリボソームタンパクの比較分析

Carboxymethyl-cellulose (CMC) column chromatographyによる。CMCは市販されていないので、自家製

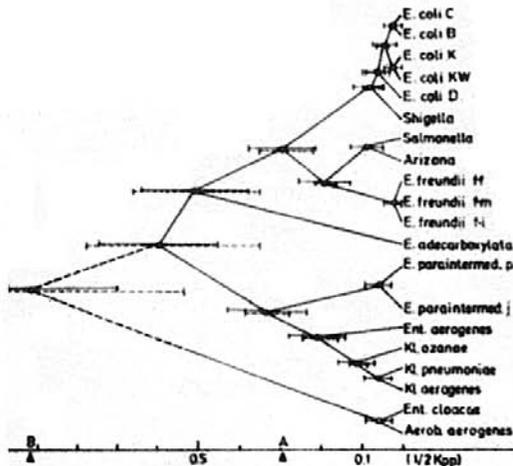


図12-1 CMCカラムによる腸内細菌 (*Enterobacteriaceae*) のリボソーム・タンパクの分析とその系統樹

出来ると考え、院生として入室してきた堀寛さんが *Enterobacteriaceae* (腸内細菌) でリボソーム蛋白に基づく系統樹を作成した (図12-1; 図12-6は堀さん)。これによると、大腸菌でも株によって少しずつ違うこと、赤痢菌はチブス菌より大腸菌に極めて近い事などが分かった。折しも、遺伝研の木村さんと太田さんが、当時しられている限りの5S rRNAの配列を使って系統樹を作成、真核生物と原核生物の分岐が18億年前という結果をNatureにだされた。堀さんはそれをみて、リボソーム蛋白での系統樹作りは生物全体の系統をみることができず、あまり実りがあるとは思われないので、5S rRNAを使うべきだといひ、遺伝研をおとずれ、木村さんと太田さんからいろいろな suggestion をいただいた。これで、分子系統解析は当面5S rRNAを使うことに決定。木村さんと太田さんはいうまでもなく集団遺伝学のtopで、木村さんは私の八高の先輩、いろいろ親しくしていただいていたことは既にのべた。木村さんの代表的名著、論文集、その他の写真を図13に掲げた。

さて、当時はDNA sequencingの技術はなく、RNAを使うしかなかった。ちなみに、RNAの塩基配列決定法は現在のDNAのそれにくらべて比較にならないほど難しく、短い5S rRNAとはいえ、相当な労力を要した。何種かのバクテリアと真核生物の5S rRNAの sequenceを決め、2次構造を組んでみると、明らかに違い、両者に系統的な“切れ目”がある事が明らかとなった。私には材料を探すくらいしか能がない。懇意にしていたカナダの Matheson と矢口真さんが好塩菌 (*Halobacterium*) のリボソームで興味深い研究をしていたので、もし5S rRNAの配列が分かっていたら教えてくれないかと言った所、早速配列を送ってくれた。堀さんにみせると、“こ

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 76, No. 1, pp. 381-385, January 1979
Evolutionary change in 5S RNA secondary structure and a phylogenetic tree of 54 5S RNA species HIROSHI HORI AND SYOZO OSAWA

図12-2 「5S rRNAによる主な生物グループを含む分子系統樹」の論文表題

Mol. Biol. Evol. 4(5):445-472, 1987
Origin and Evolution of Organisms as Deduced from 5S Ribosomal RNA Sequences
Hiroshi Hori and Syozo Osawa

図12-3 ほぼ生物界の主なグループを含む5S rRNAの系統樹 (総説)

りや eukaryote じゃ(広島弁)”, という。2次構造をみると確かに eukaryote に酷似している(図12-4の下)。これを機会にこれまで知られている 5S rRNA で系統樹を作成、木村さんの紹介で、Proceedings of the National Academy of Science (PNAS) に載せてもらった(図12-2)。Halobacterium 明らかに eukaryote に近いことは、系統樹をみれば一目瞭然である(図12-4の上)。この Halobacterium は他の極端な環境にすむ数種の“バクテリア”とともに、もっとも古い生物と言う意味で Carl Woese が Archaeobacteria と命名した一群の一つである。その後、彼のいう Archaeobacteria を数種入手してしらべても Halobacterium と同じ枝にくるし、2次構造もすべて似ている。そこで、eukaryote に近いのだから、“archae”は不適當と考え新しく Metabacteria

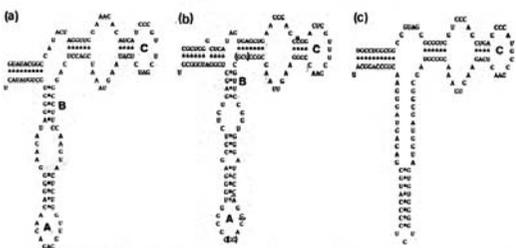
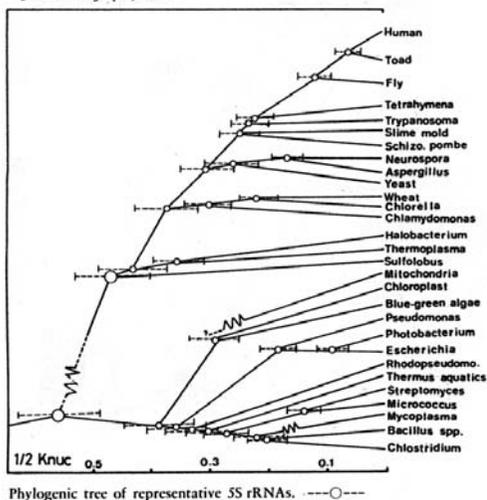
(後生細菌)と命名した(図12-4)。なお、Woese とはウイコンシン大学で開かれたリボソームのシンポジウムで矢口さんを交えて話した。矢口さんも Halobacterium は真核生物に近いといったところ、それは Halobacterium だけの話しにしてくれという(前編、図8-5)。それ以降、彼の主張を否定するデータが集積されたにもかかわらず、Metabacteria を認めないばかりでなく、Archaeobacteria を破棄して Archaea という新しい生物群とし、現在はそれが幅をきかせている(日本でさえも!)。しかし、Archaeobacteria が古い細菌などでなく、真核生物に近いバクテリアであることは明らかで、Woese の意見に強く反対している研究者もいる(図12-5)。どうも科学の世界でも道理の通らぬことがあるのは残念としか言いようがない。

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. C 3, 18-30 (1982)

The Phylogenic Structure of the Metabacteria*

H. HORI, T. ITOH, and S. OSAWA

* Paper given at the First International Workshop on Archaeobacteria, München, June 27 to July 1, 1981.



Models of secondary structures of three types of 5S rRNAs. (a) *Dictyostelium* (eukaryotic type); (b) *Sulfolobus* (metabacterial type); (c) *E. coli* (eubacterial type).

図12-4 3の系統樹と、真性細菌、後生細菌 Metabacteria (Archaeobacteria とよばれていた細菌) と真核生物の 5S rRNA の二次構造

遺伝暗号の可変性の研究

広島大学での最後に近い時期のこと、東昇博士の「ウイルスと生物のあいだ」(岩波新書)を読み「Mycoplasma というウイルスと生物の間のような“生物”から rRNA がみつかった」という意味のことが書かれていることを知った。そこで、文献をあ

Ernst Mayr (1998)

“ However, when it later appeared probable that they were not the most ancient bacteria and might have a common stem with the eubacteria, Osawa and Hori (7) suggested replacing the misleading name archaeobacteria by metabacteria. Neither Woese (8) nor other microbiologists accepted this change of name. Instead Woese renamed them Archaea, retaining the inappropriate component archae and discarding the informative component bacteria, which revealed their prokaryote nature.”

Cavalier-Smith T. (2002)

It is a pity that the name Metabacteria (Hori et al., 1982) did not catch on for archaeobacteria, since they are undoubtedly the most derived and recent of all bacterial phyla.

図12-5 Archaebacteria の名称は不適當であるという2つの意見



図12-6 リボソーム・タンパクと 5S rRNA の系統解析の中心的役割を担った堀寛博士

さって調べてみるとMycoplasmaはれっきとした寄生性の細菌で、ゲノムのサイズが小さく、DNAのGC含量がやたらに低い(25%)ということがわかった。これらの性質はミトコンドリアによく似ているので、Mycoplasmaの系統がわかれば、ミトコンドリアの起源と関係づけられるのではないかと考えたが、5S rRNAをしらべるにおよんで、両者は系統的に無関係であることがわかった。しかしMycoplasmaは半寄生性でほとんどの養分を寄主からもらっているの、細菌の最小単位の遺伝子構成を知ることができるのではないかと、これを材料にしようと考えた。しかし、5S rRNAのほうはまだ完成の域に達していないので、両者をパラレルに進行するのは当然である。しかし当時の広島の研究員もみな一人前になり、当然のことながら、自分で独立して研究をしたいと言う希望がつよく、Mycoplasmaには誰も興味をもってくれなかった。このままだと研究室は遠からず分解してしまう。そこで、内科から派遣されてきていた澤田信さんに先ずMycoplasmaの大量培養法を確立してもらうことにした。ちなみに、このバクテリアはきわめて培養が難しく、プレートの上でも

よほど工夫をしないと生きてこない。澤田さんは苦労をかさねて、ついに大量培養に成功し、これで今後の研究の基礎が出来上がった。このような事情から、5S rRNAとMycoplasma以外のテーマはやらないことを条件に数名と名古屋へ転出した(1980年)。

転勤してみたものの、研究室は荒れ放題。ガラクタの山で壁は一面にカビがはえ、流しはタバコの吸い殻の山が化石化しているし、むき出しの電線があちこちにあって危険極まりない。自分たちで壁塗りをしたり、ガラクタの始末をしたりした。残された試薬も管理がでたらめで、到底使用できないので、出入りの業者にほとんど始末してもらった。立つ鳥跡を濁さずというが、前任者の資質がうたがわれる(私はそれが誰かしらない)。イモリを飼っていたと思われる部屋の敷物をめくると、イモリの死骸がごろごろでてる。部屋全体を水洗したら、一階の地

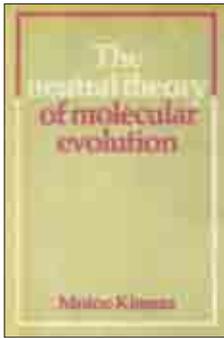


図13-1 木村資生博士(故)の歴史的名著



図13-2 生物進化のもっとも優れた解説書

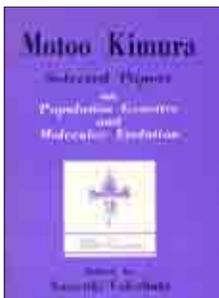


図13-3 木村博士の代表的論文集



図13-4 木村博士(遺伝研の庭にて)



図13-5, 6 大澤の名古屋大学退官パーティーに出席していただいた木村博士



To Dr. S. Osawa
with the compliments of
Motoo Kimura

April, 1984

図13-7 Goosbough (1984) の教科書「Genetics」に掲載され木村博士と共同研究者の太田朋子博士(下は木村博士のサイン)

球科学へダラもり。施設の人にしらべてもらったら、排水管が途中迄しかないことが分かった。一階の天井裏はまるでプールである。地球科学の研究室のかたがたには大変な迷惑をかけ、申し訳なく思っている。その研究室が私の八高時代の恩師のご子息である熊沢峰夫さんの所だったので、2重の恥さらしといえる。かくして、研究再開までに約半年かかってしまった。

先ず、5S rRNAの研究の継続だが、堀さんの着任が1年ほど遅れたため多少のラグが生じた。ほぼ全生物界の系統樹を完成するためには、なお多数の動植物を調べる必要がある。それには材料の採集が不可欠である。もともとナチュラリストを自称する私はこの5SrRNAの研究では大いに楽しませてもらった。材料とした生物は細菌、菌類(きのこ、など)、海藻、植物、原生動物、動物など100種以上に及んだ。堀さんと名大の菅島臨海実験所や岡山大の牛窓臨海実験所にかよって奇妙な海産動物の数々を集め、あるいは付近の山野でいろいろな植物をとっ

た。蛸の腎臓に寄生するニハイチュウなどは、知多半島まで行って蛸を購入、研究室で解剖してニハイチュウを集める作業などはそう簡単に経験できることではない。あげくの果て、台湾まで向いてプラナリアを集めたりなどした。これまででしか知らなかった珍奇な生物を、実際にこの目で見、この手でとり、生物の多様化のすさまじさを実体験できたことは何ものにもかえがたい貴重な経験であった。私は例によって、材料から5S rRNAをとるところまでしかやらせてもらえず、それからあとのRNAのsequencingと系統樹の作成は、堀さんや、彼が指導していた院生がうけもった。この研究の結果は多数の論文として発表されたが、Molecular Biology and Evolutionからの依頼でreviewを書き、一応の完成をみた(図12-3)。

Mycoplasmaの方は、まず、大腸菌などにくらべて、どれくらいの数の蛋白があるのか、リボソーム蛋白の組成やそれぞれの塩基配列はどうなっているのか、という基礎的なことから手をつけることにし

た。確かに、蛋白の種数はO'Farrelの電気泳動法でしらべると、約360種で大腸菌の1/3程度しかない。しかし、リボソーム蛋白の数は大腸菌並みで、数の上で差をみいだすことはできなかった。この頃からDNA sequencingが出来るようになったので、何種かのリボソーム蛋白遺伝子のDNA塩基配列の決定をすすめたところ、思わぬ事実が明るみにでた。なんと、いわゆる“普遍”暗号では終止コドンUGAがMycoplasma capricolumではトリプトファン(Trp)に読まれているのではないかと。それにUGAをTrpに翻訳するtRNAも立派に存在する。この発見は、木村さんに注目され、学士院で報告していただき、Proc. Jap. Acad.の1985年1月号とPNASの4月号(1985)に出してもらった(図15-1)。直ちに反響があり、NatureのNewsに出たり、雑誌Timeの記者が取材にきたりした。ところが、驚くなかれ、私たちの発見と相前後して、アメリカ、フランス、イギリスの研究者たちがセン毛虫では別

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 82, pp. 2306-2309, April 1985
Biochemistry

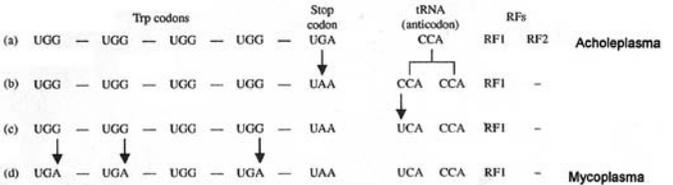
UGA is read as tryptophan in *Mycoplasma capricolum*

(ribosomal proteins/opal tRNA/*Mycoplasma* genetic code/*Mycoplasma* tRNA)

FUMIAKI YAMAO, AKIRA MUTO, YASUSHI KAWAUCHI*, MASAFUMI IWAMI†, SHOJI IWAGAMI, YOSHITAKA AZUMI, AND SYOZO OSAWA

Laboratory of Molecular Genetics, Department of Biology, Faculty of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464, Japan

MycoplasmaでUGAが終始からTrpコドンに変化する過程



UGG(trp)がUGA(Trp)に変異;終止座のUGAはUAAに変異。この変化に伴い、UGA(Trp)用のtRNA(*)ができる。UGGも少数Trpコドンとして残るので、UGG用のtRNA(#)も消えない

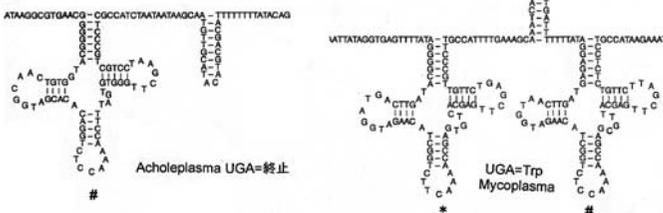


図15-1 核遺伝暗号が変化することを示した論文のタイトルと、変化の過程

の終止コドン UAA と UAG がグルタミン (Gln) に読まれていることを発見したというのである。TIME (1985年4月8日) の Science 欄では、この間の事情を “Breaking the genetic law. Tiny creatures defy the DNA code” と題して図入りで報道した (ただし、図は誤っている)。“普遍”暗号は普遍ではなかった! (図15-2)。



Science

Breaking the Genetic Law
Tiny creatures defy the DNA code

Ever since the genetic code was cracked in the 1960s, biologists have believed the language of DNA to be rather like the Latin of the medieval church: universal, fundamental and indisputable. It seemed that all creatures, from men to mice to humble *E. coli* bacteria, shared the same basic instructions for making proteins, the building blocks of life. Variations among organisms were thought to involve only the number and type of proteins that are strung together. Now researchers in the U.S., Europe and Japan have found species that defy certain words in the genetic scripture. In the bacterium *Paramecium*, a single-celled protist, and in a bacterium called *Mycoplasma* (eukaryote), the DNA patterns responsible for protein construction exhibit a surprising difference. Not only does the discovery undermine the “universality” of the genetic code, but it may cause scientists to rethink certain theories about evolution.

The double-helix DNA molecule, which is uncoiled in the center of every living cell, is shaped like a spiral staircase. Each step in the staircase is composed of a compatible pair of four different nucleotides, represented by the letters A, T, G and C. Grouped into sets of three, these nucleotides are called codons, which dictate, or code for, the 20 amino acids the substance of protein. A few codons, or code words, serve as punctuation marks, telling the cellular machinery to start or stop adding amino acids to the growing protein chain.

It was while studying the membrane

of *Paramecium* that Biologist John Freese Jr. and his colleagues at Indiana University in Bloomington stumbled onto the aberrant code. In the midst of the long sequences of *Paramecium* codons, they kept finding words that in most creatures read

as usually. As the two groups report in a recent issue of the British journal *Nature*, additional experiments showed that whenever the *Paramecium*'s cellular machinery read either of two “stop” words (UAG and UAA) in the standard code, it inserted the amino acid glutamine onto the protein chain rather than stop production; it obeyed only the third word for stop, UGA.

At Nagoya University in Japan, scientists have found that *Mycoplasma* also ignores a stop triplet. But in this case it is TGA that is translated into an amino acid, tryptophan, while the other two codons are read as stop. “Within a certain sphere,” says Biologist Syozo Osawa, “it seems that change is possible.”

The latest revelations challenge certain assumptions of the so-called codon-frameshift theory postulated by Francis Crick, who with James Watson discovered the structure of DNA. Crick proposed that the genetic code was essentially an accident of nature, which, once fixed a few billion years ago, would never change. Explains Freese: “It’s hard to imagine how one code could evolve into another without jeopardizing the protein in the cell.” Whatever the mechanism, the changes must have occurred very early on, since biologists suggest that the alterations may have been a ploy by one-celled creatures to resist viruses, which destroy cells by invading them and taking over their cellular machinery.

For now, scientists are baffled and excited by the eccentric codes. They suspect that as they look ever deeper into the structure of DNA, they will find more examples of variation. “There are millions of organisms on the planet,” says Osawa, “and only a handful have been examined genetically.”

By Natalie Angier
Illustrated by David Reynolds, New York

ANOTHER GENETIC CODE
DNA's code is translated into a sequence of amino acids (●) that form a protein. In the nearly fixed code, however, a DNA segment that ordinarily stops the formation of protein instead commands the production of another amino acid.

Protein made by standard code DNA
Protein made by other code

いわゆる普遍暗号は、大腸菌の系を用いて、1965年頃に確立された。暗号決定にかかわった人々を図14-1~7に示す。アメリカ留学中の日本の研究者がすくなく活躍したことは特筆に値する。解明された暗号はCrickにより図14-8のようにまとめられた。いわゆる普遍暗号表である。Crickは、酵母や脊椎動物にもこれが矛盾なく当てはまるので、地球上のすべての生物は同一暗号を使用していると、「現在の生物で暗号が変化すれば致命的となるか、または非常に強く選択除去される。従って暗号は変化しえない。それは、全生物の祖先で偶然に決められ、凍結されたものであろう」という“偶然凍結説”を唱えた (図16-1)。たとえばリジン (Lys) の暗号 AAA がアスパラギン (Asn) の暗号にかわれば、すべての遺伝子内にある AAA 座は Asn を指定することになる。この中で機能的に重要な座に起きた変化は、その蛋白質の機能を駄目にするので、その生物は致命的となる、というのである。この凍結説は、暗号の普遍性 (universality) として生物学の基本原則の一つとされ、広く受け入れられていた。その後、哺乳動物のミトコンドリアで少数の暗号変化が発見されたが、ミトコンドリアは少数のタンパクしかコードしておらず、暗号変化によって重要部分の氨基酸が変わる確率が少ないので、多少の変化は許容されると解釈されていた。しかし、Mycoplasma やセン毛虫で暗号変化が発見されたのにつづき、他の生

TIME の図は誤りで、終始座の UGA が Trp に変わるのではない
図15-2 遺伝暗号は変化すること報じたTIMEの記事



図14-1~7 暗号決定にかかわった人々
1. M. Nirenberg, 2. S. Ochoa (故)、3. F. Crick (故)、4. G. Khorana, 5. 岡田吉美、6. 西村 暹、7. 大塚栄子

遺伝暗号表 (1968)

UUU Phe (F) (フェニルアラニン)	UCU	UAU Tyr (Y) (チロシン)	UGU Cys (C) (システイン)
UUC	UCC Ser (S) (セリン)	UAC	UGC
UUA Leu (L) (ロイシン)	UCA	UAA 終止	UGA 終止
UUG	UCG	UAG	UGG Trp (W) (トリプトファン)
CUU	CCU	CAU His (H) (ヒスチジン)	CGU
CUC Leu (L) (ロイシン)	CCC Pro (P) (プロリン)	CAC	CGC Arg (R) (アルギニン)
CUA	CCA	CAA Gln (Q) (グルタミン)	CGA
CUG	CCG	CAG	CGG
AUU	ACU	AAU Asn (N) (アスパラギン)	AGU Ser (S) (セリン)
AUC Ile (I) (イソロイシン)	ACC Thr (T) (トレオニン)	AAC	AGC
AUA	ACA	AAA Lys (K) (リジン)	AGA Arg (R) (アルギニン)
AUG Met (M) (メチオニン)	ACG	AAG	AGG
GUU	GCU	GAU Asp (D) (アスパラギン酸)	GGU
GUC Val (V) (バリン)	GCC Ala (A) (アラニン)	GAC	GGC Gly (G) (グリシン)
GUA	GCA	GAA Glu (E) (グルタミン酸)	GGA
GUG	GCG	GAG	GGG

図14-8 いわゆる“普遍”遺伝暗号表

物や、いろいろなミトコンドリアで変化した暗号が次々と見つかり、Crickの偶然凍結説は完全に崩壊した。現存の生物は単一祖先由来であるから、そこで成立した普遍暗号が、基本的にはその原型を保ちながら、生物の多様化と共に、今もお進んでいるのである。従って、凍結説に代わる新しい説が必要となった。Crickがいうように、暗号の直接変化は明らかに有害だから、観察された暗号変化は木村博士の言う中立無害のものでなければならない。

MycoplasmaでUGAがTrpのコドンであることを発見したとき(1985)、遺伝暗号に深い興味をもち、これまでに多くの論文を出しているアメリカのJukes教授(故)(図17-1)からコンタクトがあり、それ以来議論を重ねつつ、私たちの研究室で蓄積したデータをもとに後述するコドン捕獲説を提唱することになる(図16-2)。Jukesとの交流は相互に大いに益す

るところがあった。彼は95歳で亡くなるまで、私たちと緊密にコンタクトをとっていた。彼の暗号に関する知識は広く、深い。しかし彼の暗号進化の研究は1983年以降発展が止まっていたように思う。我々のMycoplasmaの研究に端を発した相互交流によって、再び彼の暗号進化への興味を沸き立たせた。我々も彼のこれまでの知識、洞察力、インフォメーションの収集力から得たものは大きかった。

多くの生物で“普遍”暗号が使われていることは事実である。しかし、これらの多くは、分子生物学の解析の対象となっているモデル生物(大腸菌、枯草菌、酵母、シロイヌナズナ、センチュウ、ショウジョウバエ、ネズミ、ヒトなど)1000万から3000万といわれる全生物種数からみれば、ほんのひと握りにすぎない。分子生物学者に無視されたドロップ・アウト生物の数は莫大である。ドロップ・アウト生物とはいえ、それらは生物界で立派に生活しているのだから、人間が勝手に選んだエリートもドロップ・アウトも、生物の種としては平等である。面白いことに、非普遍暗号は、Mycoplasmaやセン毛虫など、エリート以外の生物が解析されるようになって次々と発見されるようになったのである。これらの生物には、ゲノムのGC含量が非常に高い(>60%)

遺伝暗号の偶然凍結説 (Crick, 1968)

「普遍暗号」は、大腸菌、酵母や脊椎動物で同一。地球上のすべての生物は同一暗号を使用。全生物の祖先で偶然に決められ、凍結された。この説はコドン配列(塩基配列)をそのままに保ちながら、コドンの暗号変化(アミノ酸指定の変化)がおきると、タンパク質のアミノ酸配列が変わってしまうので致命的となる。暗号は変化しえない。

*Met	Ile	Phe	Tyr	Trp	Lys	Gly	Stop	---	---	---
AUG	AUC	UUC	UAC	UGG	AAA	GGG	UGA	UUU	UUC	UAC
=Met	Ile	Phe	Tyr	Trp	Asn	Gly	Trp	Phe	Ser	Stop

*上段：正常なコドン配列から翻訳される蛋白

#下段：AAA(Lys)がAsnに、UGAがStopからTrpに変化した時に翻訳される蛋白(すべての遺伝子でこのような変化が起きるので、致命的となる)

図16-1 Crickの遺伝暗号凍結説



図17-1 共同研究者の故 Thomas H. Jukes 博士(故)

コドン捕獲説 (Osawa & Jukes, 1989)

*アミノ酸A(例えばLys)に対応するコドンAAAは、方向性(AT to GC)をもつ変異により、同義語コドンA'(AAG)に変異、同時にAAAを翻訳するtRNAも消失、ゲノム上から消失する(非指定コドン)

*消失したコドンAAAは、逆の方向性変異(GC to AT)により、再びゲノム上に現れる。同時にAAAを翻訳するtRNAも現れるが、もとのA(Lys)用のtRNAができれば、再びA'コドンの同義語変異によりアミノ酸A(Lys)を翻訳するコドンとなるが(AAG Lys to AAA Lys)、別のアミノ酸B(例えばAsn)用のtRNAができるとAsnを翻訳するコドンになる(AAC Asn to AAA Asn)。ただし、ゲノムのAアミノ酸(Lys)座ではなく、コドンB座(もとのAAC Asn)がコドンAAAに変異することによるので、AAAはもはやLysのコドンではなく、Asnのコドンである。この一連の変化ではタンパクのアミノ酸配列は変化しない

図16-2 Osawa & Jukesのコドン捕獲説

は、ナンセンスコドンが新しく出現したtRNAで捕獲されるプロセスを示すことにある。

ATまたはGC含量に極端に偏りのある細菌として *Mycoplasma* (GC 25%) と *Micrococcus* (GC 74%) を選ぶ。これらではナンセンスコドンの存在の可能性が高いからである。この選択は大成功であった。それ以降の実験ではほとんど予想が的中し、まず *Mycoplasma* では2種のコドンが、*Micrococcus* では6種のコドンが、調べた5,000～6,000コドン中使用回数ゼロと出た。そして、使用コドンと、それに

対応するtRNA間には正の相関関係があることがわかった(図18-1, 2)。使用例ゼロのコドンに対するtRNA(とその遺伝子)は全く検出されない。この事実は、ゲノムのGC含量の変化に対応して、tRNAも変換し、コドン使用がゼロになれば、必要でなくなったtRNAもゲノム上から消失することを示唆している。tRNAの動きは非常に“adaptiveな”かつ“flexible”であって、不要になれば捨て去られるし、必要となれば出現したり増量したりするものである(1988)。あるコドンはナンセンス化しているという可能性が高くなった。わずか数行で書いたが、この作業は大変で、上の2種の細菌の全tRNAの種類と配列を決定し、それぞれの菌内での量を測定してコドン使用と比較したのである。約4年の歳月を要した(1987～1991)。この研究では、コドン・アンチコドン対合のwobble rulesについてもいくつか

J Mol Evol (1989) 28:271-278

Journal of Molecular Evolution
© Springer-Verlag New York Inc. 1989

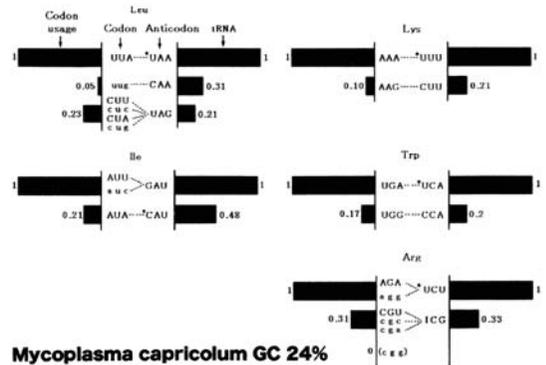
Codon Reassignment (Codon Capture) in Evolution

Syozo Osawa¹ and Thomas H. Jukes²

¹ Nagoya University, Laboratory of Molecular Genetics, Department of Biology, Nagoya 464, Japan
² Space Sciences Laboratory, University of California, Berkeley, California 94720, USA

Summary. The genetic code, once thought to be “frozen,” shows variations from the universal code. Variations are found in mitochondria, *Mycoplasma*, and ciliated protozoa. The variations result from reassignment of codons, especially stop codons. The reassignments take place by disappearance of a codon from coding sequences, followed by its reappearance in a new role. Simultaneously, a changed anticodon must appear. We discuss the role of directional mutation pressure in the events, and we also describe the possibility that such events have taken place during early evolution of the genetic code and can occur during its present evolution.

Key words: Genetic code — Codon reassignment — Codon capture — Directional mutation pressure — AT/GC pressure — Wobble rules — Mitochondria — *Mycoplasma* — Ciliated protozoa



Mycoplasma capricolum GC 24%

図18-1 コドン使用頻度とそれを翻訳するtRNA量の比例関係 (GC含量の低い *Mycoplasma capricolum*)

図17-2 コドン捕獲説を発表した論文

COLD SPRING HARBOR SYMPOSIA ON QUANTITATIVE BIOLOGY

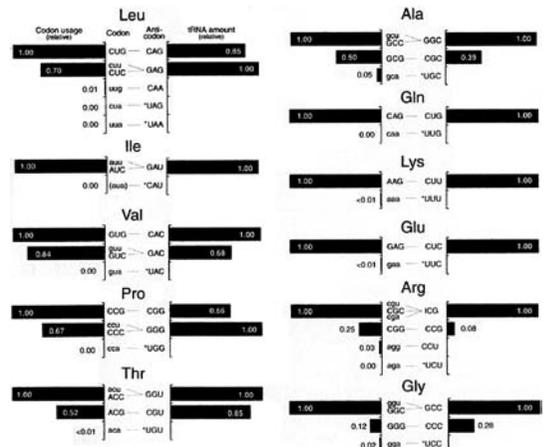
VOLUME LII
Evolution of Catalytic Function

COLD SPRING HARBOR LABORATORY
1987



Osawa, Jukes, Ozeki, Watson, Darnell

図17-3 コドン捕獲説を発表した Cold Spring Harbor Symposium での記念撮影



Micrococcus luteus GC 75 %

図18-2 1と同じ (GC含量の高い *Micrococcus luteus*)

の新知見を得た。

しかし、これだけでは、コドンやtRNAの検出もれの可能性があるので、ナンセンス候補のコドンが実際に試験管内で翻訳不可能かどうかを調べることにした。このためには、かなり鋭敏なin vitro系を確立する必要があるが、これもうまく動くようになった。Mycoplasmaのナンセンス候補はCGG(普遍暗号ではアルギニンArg)である。CGGを中間に含むmRNAをつくり、翻訳させてみるとCGGの前で合成が止まり、それまでにできたペプチドはリボソームに付着したまま、その後の反応は何も起こらない。CGGのかわりに別のArgのコドンを入れたものは、もちろんそのコドン読み、合成が進む。また、終止コドンUAAを入れたものでは、それまでに合成されたペプチドはリボソームから切り離され、遊離する(1991)(図18-3)。Micrococcusの場合(たとえばナンセンス候補のAGA)でも事情は同じである(1991)。これらの実験からナンセンスコドンの存在がほぼ証明されたので、捕獲説の仮定の一つは正しかったとみてよい。事実、最近Mycoplasma capricolumの全ゲノム配列が決定されたが、CGGコドンもそれを翻訳するtRNAも存在しないことが証明された。

終止コドンはしばしばナンセンスコドンと呼ばれるが、これは明らかに誤った表現である。終止コドンはmRNAのタンパク合成終止の位置にあり、tRNAのかわりにRFがこれを認識してペプチドをリボソームから遊離させるという重要な役割をもつ。ナンセンス(無意味)ではないのである。これに対して真のナンセンスコドンは、その生物にとって存在不可能(正しくは、突然変異で出現しても選択除去

される)である。ナンセンスコドンの存在(実際には存在しない!)は、すべての生物が、64通りのコドン全部を使用できるとは限らないことを意味するもので、Mycoplasmaのコドン表は63、Micrococcusではたぶん60以下からなっていることになる。ナンセンスコドンはこれまでになかった概念であり、私は“無”の発見と称している。数学ではゼロには何を掛けてもゼロだし、一般には無から有は生じないといわれるが、無のコドンは有のコドンに転ずるところが面白い。

UGA=Trpの発見それ自身は、NatureやTIME向きのトピック性はあったが、クローニング・シクエンシングという、いってみればルーティンワークから出た偶然の産物であった。偶然の発見を生かすも殺すも……、幸い、我々の暗号進化の研究の出発点にしえたという意味では“歴史的”に重要である(と思っている)。しかし、私個人としては、ナンセンスコドンの話の方に“科学”としての魅力を強く感じる。組み上げたモデルが、一連の実験で予想通り次々と証明されていったからである(進化のプロセスの一部の試験管内における再現と言えなくもない!)。科学者の生き甲斐を十分に味わうことのできた数年間であった。

突然変異で生ずるナンセンスコドンは負の選択の対象となるから、なるべく早くセンスコドンに転ずる方が、その生物種にとって多少なりとも有利であろう。ナンセンスコドンがセンスに転ずる過程はMycoplasmaでその大要を明らかにしえたので一つの例としてあげてみよう。この細菌のノムでは、AT含量がpredominantのため、終止の座にあったUGAはすべて他の終止コドンUAAに変異、同時に

UGAを終止コドンとして認識するRF2も除去されている。RF2の欠除は実験的に証明しなければならない。反応系は先にのべたMycoplasmaの無細胞系。(a)3種の合成mRNAを用意する。(b)mRNA, UAA) 終始暗号としてのUAAはmRNAのその位置で終始暗号として認識され、ペプチドはリボソームから遊離される。((c) mRNA, UGA, +Trp)。終止の付近にUGA, UAA, UAAをいれたものでは、UGAはTrpとして読まれ、次のUAAを終始暗号として認識し、ペプチドが遊離される。

Mycoplasma では CGG が nonsense codon である証明

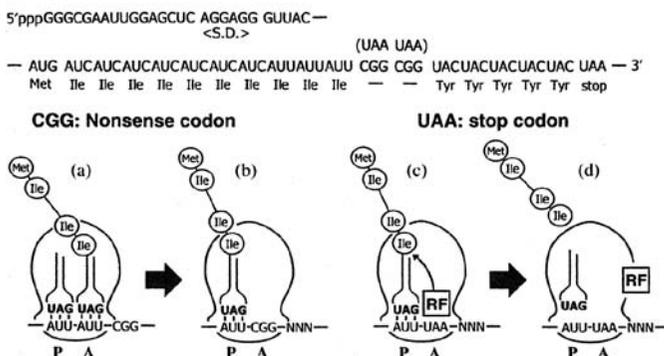


図18-3 コドンが消失することがあることを試験管内の実験で証明

物では20種(+稀なアミノ酸)に対するコドン64を使用しているが、それ以下のアミノ酸で生存している生物はいない。一般には、20種より少ないアミノ酸種の原始生物から、新しいアミノ酸が加わり、20種を使うようになり、それに対応する遺伝暗号が確

立された、といわれるが、果たして20種に満たないようなアミノ酸を使っていた生物が存在しえたかどうか疑問である。それが可能なら、生物のflexibilityからみて、現在も存在してよさそうに思えるのだがこれ迄発見されていない。私見では原因は不明だが偶然の機会に20種のアミノ酸に対応するコドンが出来た時が生物の起源ではないか、そして、64種のコドンは普遍ではなく、今でも20種のアミノ酸をコードできる範囲で進化していると考えerことはできないだろうか？

なお、私どもの最近の総説はOhama et al. *Evolving genetic code*. *Proc. Japan Acad., Ser B* 84: 58-74, 2008を参照されたい。

進化が“論”ではなく、精密科学として認知されはじめたころ、大澤是本庶佑博士らと「Evolution of Life」と題する国際シンポジウムをorganizeした(国際高等研主宰)。京都国際会議場でMarch 26~28, 1990の3日間。招待講演18名(アメリカ、イギリス、カナダ、南アフリカ)、一般参加者160名。

図21-1右は会場風景で写真右より、太田朋子博士、Jukes夫人(故)、Dr. Thomas Jukes(故)、根井正利博士、2、3、4はそれぞれ講演中の大野乾博士(故)、Dr. A.M Weiner、4 木村資博士(故)。5はシンポジウムのConcluding remaをおこなったDr. S. Brennerである。このシンポジウムの記録は6に



Proc. Jpn. Acad., Ser. B 84 (2008)

Review

Evolving genetic code

By Takeshi OHAMA,^{*1} Yuji INAGAKI,^{*2} Yoshitaka BESSHO^{*3} and Syozo OSAWA^{*4,*5}

(Communicated by Takao SEKIVA, M.J.A.)

Abstract: In 1985, we reported that a bacterium, *Mycoplasma capricolum*, used a deviant genetic code, namely UGA, a “universal” stop codon, was read as tryptophan. This finding, together with the deviant nuclear genetic codes in not a few organisms and a number of mitochondria, shows that the genetic code is not universal, and is in a state of evolution. To account for the changes in codon meanings, we proposed the codon capture theory stating that all the code changes are non-disruptive without accompanied changes of amino acid sequences of proteins. Supporting evidence for the theory is presented in this review. A possible evolutionary process from the ancient to the present-day genetic code is also discussed.

図19 遺伝暗号の進化だけでなく、暗号研究の歴史、概説を含めた本(2005, 205 pp., Oxford)とその和訳(2007, 252 pp., 共立出版)。下の英文はProc. Japan Acad. (2008) に書いたreviewで、新しい発見も入れている。



図20 名古屋大学理学部生物学教室分子遺伝学研究室で遺伝暗号進化の研究に携わった共同研究者。1~16(ABC順) 1. 安達佳樹、2. 安積良隆、3. 別所義隆、4. 堀寛、5. 稲垣祐司、6. 岩見雅史、7. 狩野(大場)愛、8. 森美樹、9. 武藤明、10. 岩上昌治、11. 大場崇智、12. 大濱武、13. 大久保尚一、14. 田中玲爾、15. 澤田信、16. 山尾文明。Gは渡辺公綱 博士(当時、東大)、いくつもの共同研究を行なったのでguestとしてあげた。

示したようにEvolution of Lifeと題してSpringer-Verlag、から461ページの大冊として1991に出版された。

図22～23は、ここまでの話しの中で、直接、間接にいろいろご教示をいただき、多大の影響を与えられた方々である(ただし昆虫関係の方や、本文中に掲載した方々は原則としていれていないし、順不同である)。これら方々の外にも入れるべき方が10名以上あるが、原稿の締め切り(依頼されてから一ヶ月もなかった)までに写真の準備が間に合わず、残念ながらのせることが出来なかった。

プラナリア

遺伝暗号の研究途上、プラナリアの暗号を調べる必要が生じた。プラナリアの権威である川勝正治博士(図25-2の左端)から、いろいろご教示をいただきながら、主として、堀さん指導の院生だった別所さんが、その解析にあたった。暗号のほうはさておき、この生物の生殖様式で興味ある事実が明る

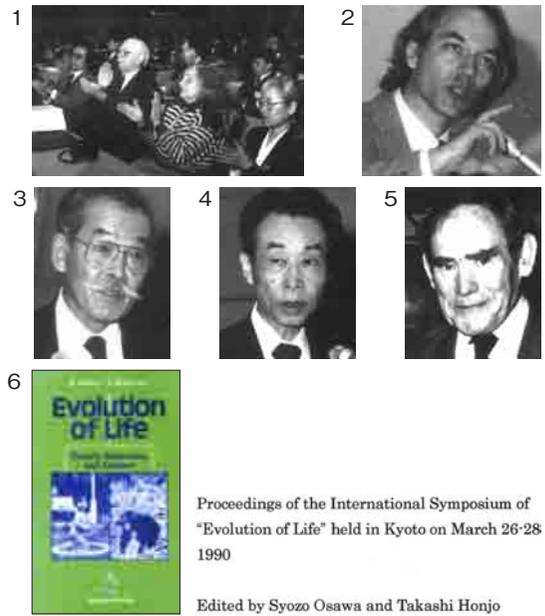


図21 Symposium「Evolution of Life」, March 26～28, 1990, 京都国際会議場. 18の招待講演とそのProceedings



図22. 大澤の分子遺伝・進化学の過程で直接、間接にお世話になった方々 その1(順不同・敬称略、*故人)
 1. 高木康敬*、2. 関口睦夫、3. 江上信雄*、4. 岡田善雄*、5. 茅野春雄、6. 岡田益吉、7. 山本正幸、8. 米田正彦*、9. 富澤純一、10. 吉川寛+大澤+末岡登、11. 岡崎令治、12. 飯野徹雄*、13. 渡辺格*、14. 杉村隆、15. 緒方規矩雄*、16. 長谷川政美、17. 平賀壮太、18. 五條堀孝、19. 田代裕、20. 大西英爾、21. 斎藤成也、22. 高田健三



図23 大澤の分子遺伝・進化学の過程で直接、間接にお世話になった方々 その2(順不同・敬称略、*故人)
 1. 志村令郎、2. 杉浦昌弘、3. 大山超、4. 堀田康雄、5. 熊澤正夫*、6. 内田久雄*、7. 横山茂之+渡辺公綱、8. 郷通子+小関治男*、9. 斉藤日向+三井宏美*、10. 森脇和郎、11. 高橋泰常*、12. 由良隆、13. 石崎宏矩、14. 宮田隆、15. 太田朋子、16. 竹村彰祐、17. 三浦謹一郎*、18. 岩淵雅樹、19. 本庶佑、20. 岡田典弘、21. 池村淑道、22. 岡崎恒子+磯野克己、23. 高浪満、24. 磯野克己、25. 松原謙一、26. 高畑尚之、27. 石浜明+岡部昭彦、28. 江口吾朗、29. 大石道夫、30. J.R.Warner、31. Paul Sypherd、32. Knud Nirehaus、33. 大澤+Norman Pace、34. David Schlessinger、35. Dai Nakada(中田大輔)*、36. C.Kurland

みにでた(図24)。この研究は残念ながら未完成で、結論は出ていないが、事実だけを記録しておく。プランナリアは寒冷地では主として有性生殖(夏には分裂による無性生殖もする)で殖えるが、暖地では生殖器官を欠き、分裂による無性生殖だけで増殖する。三重県藤原岳のある溪流では同所的に無性

のもの、有性のもが生息する。有性系だけと無性系だけが生息するちょうど中間の水温(13C)の溪流である。有性系と無性系はCOI遺伝子で見ると、かなり古く画然とした別系統に属し、それぞれの系統内でのDNA配列には差がない。無性系のほうは、有性系とわかれてすぐに無性になったとしたら、

DNAの配列は多型であってしかるべきである(図24の上左)。現在の有性系と無性系が古く何らかの原因でともに有性のまま隔離され、現在の無性系が、無性系統として確立したのが極めて最近であったと解釈すべきであろうか?それにしても、有性系、無性系が別系統として、完全に同所的に生息しているのだから不思議と言う他ない。なお、染色体分析では、有性系は2n、無性系統は3nだから、無性になった原因は3n化と見なされる(図24の上右)。

台湾でも事情はおなじで、阿里山の水系(8C)ではすべて有性系で2n、墾丁(25C)ではすべて無性系で3nである。墾丁のものは個体ごとに多少のCOI遺伝子の配列に差がある(図24の上



図24 プランナリアの有性生殖と無性生殖



図25 台湾におけるプランナリアと昆虫の採集
 1. 台湾における調査地点(赤丸)、2. 左よりプランナリア調査で活躍した川勝正治, 高井正幸, 堀 寛、3. 知本におけるプランナリアの採集、4. 墾丁牧場での昆虫採集、5. 知本の林での甲虫採集、6, 7. 台湾で集めた甲虫の新種 *Micrencaustes michioi* Osawa et M.T.Chujo (オオキノコムシ科; 6) と *Ambrostoma chinkinyui* Kimoto et Osawa (ハムシ科; 7)、8. 阿里山小学校の進化の掛図。近代が空飛ぶ飛行機になっているのが面白い。図1の左上(堀寛博士撮影)

左)。無性系統のものはすべて生殖器官を欠除していることから、不要な器官の遺伝子として偽遺伝子化しているか、欠落しているのかもしれない。

JT生命誌研究館における

オサムシの分子系統の研究と甲虫の分化の仮説

大学定年退職後、1年の準備期間をおいて、新設のJT生命誌研究館(高槻)へ常勤顧問として就職、住居も大半茨木へ移した。正直に言えば、未完の遺伝暗号の研究を継続したかった。しかし、この研究館の方針に合わないの、館長、副館長とも相談のうえ、オサムシの分子系統をやることに決めた。当時は、世界的に見ても、昆虫でDNAを使って系統関係をしらべることはほとんどやられておらず、勿論、日本では皆無だったと思う。館長は岡田節人博士(図26-2)、副館長は中村桂子博士(図26-3)。生命誌(Biohisotry)というユニークな雑誌をだし、現在もつづいている。当時の編集長(サイエンス・ディレクター)で、この雑誌の基礎を作ったのが茂木和行さん(図26-4)である。オサムシの研究開始早々に蘇智慧博士(現、主任研究員; 図27-1左中央の写真で実験中)が奨励研究員として中心的に研究を推進した。私達のグループは、研究結果の中間報告的な「おさむしニュースレター」のNo.1を1995年7月に発行、このプロジェクトが一応終結するまでにNo.20までだした(1999; 図27-2)。この刊行物は約200名に配布したが、多くの方は貴重な材料を提供して下さったし、種々のアドバイスを頂いたりした。研究の開始と終結にさいしては、科学朝日(後のサイアス)編集長の柏原精一氏が健筆をふるって研究の紹介をしてくださった(図27-3)。私どもの研究グループには日ならずして、オサムシ研究に深い知識をもつ富永修氏、岡本宗祐博士、柏井伸夫氏、C-G Kim博士、世界のオサムシ研究の第一人者、井



図26-1 生命誌研究館(BRH)の機関誌「生命誌」10号(1992)



図26-2 岡田節人館長(現、名誉顧問)



図26-3 中村桂子副館長(現、館長)



図26-4 茂木和行サイエンス・ディレクター(現、聖徳大学教授)

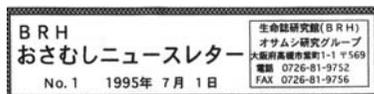


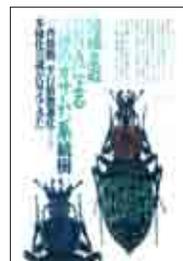
図27-1 BRHで世界のオサムシの分子系統の研究を開始。1995「おさむしニュースレター」の発行を開始。写真はオサムシ研究室の情景



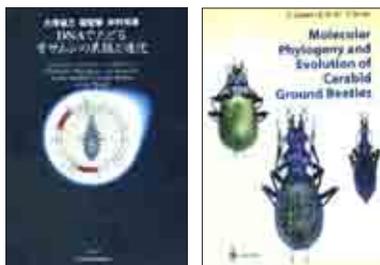
図27-2 1999年3月に終刊(20号)



図27-3 写真の柏原精一編集長により科学朝日とサイアスに研究開始と集結が執筆され掲載された



村有希博士の参加という幸運に恵まれ、彼らの努力によって、アフリカを除く世界のオサムシのほとんど全ての分布域(約35カ国、500~600地点)から約2,500頭のオサムシ(オサムシ全体の約8割の種)を集め、形態面からの解析とともに、ミトコンドリア(主としてND5遺伝子)と核28S rDNAとrDNA領域のITS I(スペーサー)とを分析し系統樹を作成した。そのためには、必要な材料の蒐集が不可欠だが、政情不安定な国や、ほとんど人跡未踏の中国奥地などがオサムシの宝庫なので、個人では何十年年かかっても材料が集まらない。その上、乾燥標本は使えない場合が多いので、採集してすぐアルコール漬けにしてDNAの分解を防ぐ必要がある。そこで、世界中の同好者に依頼したり、われわれのグループでも中国奥地や韓国、カナダ、チリなどへ採集にでかけたりして、やっと目的のオサムシを集めることができたのである。



左から Su, Osawa, Imura

Proc. Jpn. Acad., Ser. B 82 (2006)

[Vol. 82,

Establishment of hybrid-derived offspring populations in the *Omohopterus* ground beetles through unidirectional hybridization

By Zhi-Hui Su,^{*1),†)} Munehiro OKAMOTO,^{*2)} Osamu TOMINAGA,^{*3)} Katsumi AKITA,^{*4)} Noboru KASHIWAI,^{*5)} Yuki IMURA,^{*6)} Tooru OJIKI,^{*7)} Yoshiyuki NAGAHATA,^{*8)} and Syozo OSAWA^{*1),†)}

(Communicated by Takashi SUGIMURA, M.J.S.A.)

Abstract: An approach to deduce the mechanism of stabilization of the hybrid-derived populations in the *Omohopterus* ground beetles has been made by comparative studies on the phylogenetic trees of the mitochondrial and nuclear DNA. A phylogenetic tree based on the internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal gene roughly reflects the relations of morphological species group, while mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 5 (ND5) gene shows a considerable different topology on the tree: there exist several geographically-linked lineages, most of which consist of more than one species. These results suggest that the replacement of mitochondria has occurred widely in the *Omohopterus* species. In most cases, hybridization is unidirectional, i.e., the species A (♂) hybridized with another species B (♀) and not vice versa, with accompanied replacement of mitochondria of A by those of B. The results also suggest that partial or complete occupation of the distribution territory by a hybrid-derived morphological species. The morphological appearance of the resultant hybrid-derivatives are recognized as that of the original species A. Emergence of a morphological new species from a hybrid-derived population has been exemplified.

図28 オサムシ研究グループの研究結果は単行本(和文2002, 266 pp.; 英文(2004: 191 pp.))で総括。下の英文は本発行後の新知見を報告した論文のabstract

その結果のすべてを記述する余裕がないので、興味のある方は図28の日本語版か、英語版を参照されたい。これらの本は私たちのグループの研究結果だけの纏めである。出版後、新メンバーの参加もあって研究を続け、新しい結果は、図28の下のReviewに纏めたり、図29のような研究会をしばしば開いて議論を重ねた、研究開始当時は四面楚歌だったが、今や昆虫全体にDNA系統解析が使われるようになり、私たちの研究が多少なりとも役立ったのではないかと考えている。

これらはオサムシの研究終了後、私が、数人の方(安藤清志博士、益本仁雄博士、柏原精一氏、鈴木邦雄博士、斉藤秀生・明子博士、大場裕一博士、新美輝幸博士)から資料を提供や、ご教示をいただいていることを明記しておきたい。

甲虫(昆虫)の種分化の様式の基本は下記の3つに要約される。この議論の主要部分は、柏原精一氏との共同作業であり、同氏との共著の単行本として遠からず出版予定の単行本で詳述する。

(1) 静の進化: 形態・生態に影響を及ぼすゲノムの変化がなく(分子時計のみ動く)表現型の進化は起こらない。以下の例はSu, Imura & Osawa (2001)による。

例1(図30の上)3種のダルマオサムシは、それぞれ地理的隔離により系統樹上では古くいくつかに分岐しているが、形態の変化はほとんどない。

例2(図30の下)日本特産のマイマイカブリは形態的に幾つかの亜種に分けられているが、分子系統とは一致しない。それはさておき、近畿以西のものは形態的に差がなく、同一亜種として扱われていたが、実は日本列島が大陸から分離した直後にすでに



図29 オサムシの分子系統の研究終了後もしばしば集まって議論をした。倉敷日航ホテルにて(2007)

西南部のゴミムシダマシはすべて特産種で、その放散は次の”動の進化”のカテゴリーに入る。

(3) 動の進化：形態・生態に顕著な影響を与えるゲノムの変化(特定の遺伝子の重複と、その新機能の獲得;遺伝子(群)のコントロール・メカニズムなど;EVODEVO) 進化速度は早く“断続的”(日浦, 1970; Gould & Eldredge, 1977; Su, Imura & Osawa, 2001)。言い換えれば新しい系統の形成・放散分化のかなりの部分は漸進的なものではなく、新環境への適応がもっとも重要な原因と推定される



図33 漸進的進化 2

(動の進化)。環境変化により、これまでの安定的淘汰圧から解放され、環境変化に対応したゲノムの大きな変異が顕著な昆虫の進化をもたらす重要な条件となる。動の変化の環境変化に基づく証拠としては、砂漠のゴミムシダマシの放散があげられる。(図31の黒部分; 図34の世界の砂漠のゴミムシダマシを参照) ほとんどの砂漠の起源は新しく、砂漠形成後、急激に各砂漠特異的昆虫放散が起きたと考えられる。ハワイの昆虫の放散も動の進化の好例である。ハワイ諸島は火山島で、そこに新しく漂着した昆虫は、新天地でこれまでの淘汰圧から解放され、急激且つ独自に放散した。図35は多種に放散したハワイトラカミキリであるが、祖先型は右下のアメリカ大陸のトラカミキリだと推測されている。この外、印度亜大陸とユーラシア大陸の衝突によるオサムシの放散などがあげられる。また、熱帯の昆虫の多様性の少なくともその一部は頻繁におきる環境変化が原因と考えられるが、漸進進化と動の進化の中間的なものもあり、今後の検討が必要である。

木村資生博士の中立進化と表現型の進化との関係については、種々の議論があるが、この点については、木村博士自身が明確な意見を述べている(図

世界の各砂漠のゴミムシダマシ相はそれぞれ特異的である

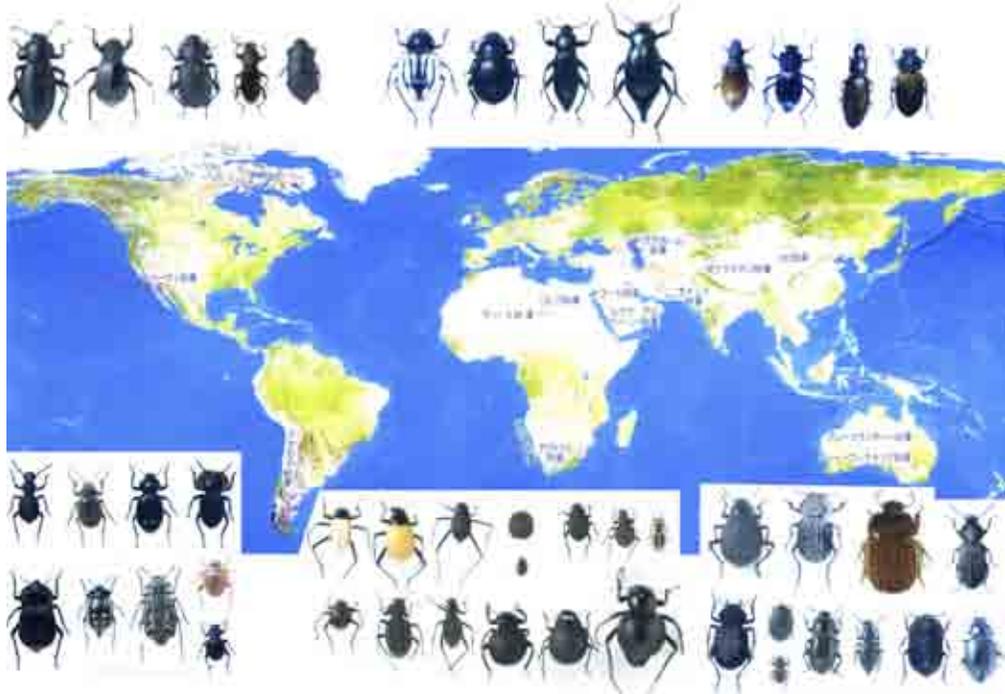


図34 世界の砂漠のゴミムシダマシ

36)。木村の中立説がピタリとあてはまるのは、いうまでもなく、「自然淘汰など全然働かないでチャンスによる偶然だけで変化が種内に蓄積していく」という表現型が変化しない「静の進化」である（もっとも分かりやすいのは同義語コドンの置換）。

漸進的進化については、環境の変化とは無関係に表現型をわずかに変える偶然のほぼ中立的遺伝子変

化のランダムドリフトによる場合と、多少の環境変化に起因した自然淘汰が働く場合もありうる。

砂漠形成や、ハワイ島形成における特異的種の放散（動の進化）では、当然その祖先種が、これまでの淘汰圧から解放され、その環境に適応可能であることが必要条件である。したがって、大きな環境変化にともない独特の種形成・放散がおきるが、祖先種は、新環境に適応できない場合には淘汰される。したがって、自然淘汰の存在なしに大きな表現型の進化はほとんど期待できない。いずれにせよ、表現型の進化は、漸進的進化と動の進化は二者択一的なものではなく、両者の複合したプロセスである。ただし、漸進進化では、近似種の形成はありえても、大きな変化（例えば新しい系統の生成）は期待できないので、進化の度合い（新しい系統の生成など）は動の進化がはるかに漸進的進化にまさる。漸進進化は動の進化を補完するものと考えなければ、とくに今日の生物のmajorityをしめる昆虫の多様性を説明することは困難である。これらのメカニズムは今後のEVODEVO分野の進展により解明されることが期待される。

上の議論と多少重複するが、ほかにも幾つかの生物学での重要問題があり、ある程度の考察をしておく。例えば、ゴミムシダマシ科の甲虫は、系統性はもちろん、地域性を超越する形で、同科のみならず、他の科の甲虫全体と並行性を持っているかのようにみえる。シジミタテハでも似た現象がみられるのは周知である。このように現象はゴミムシダマシ類のみならずその外の昆虫でも多かれ少なかれ見られる。さらに興味があるのは異系統同所的並行関係で、似た環境の影響の役割を示唆している。図37-1はアメリカの砂漠のカミキリムシとゴミムシダマシ 図37-2は内蒙古のゴミムシとオサムシ、図37-3は中国天山山脈系統のオサムシ（テンシャンチビオサムシ [●]）を除くほとんどの種 [●] は巨頭化)の同所的並行進化の例。図38-1はアメリカの砂漠のゴミムシダマシと別属のユーラシアの砂漠のゴミムシダマシの、図38-2は日本のキユウシュウクロガオサムシと中国のクロガオサムシの異所的並行現象を示す。いずれにせよ、異所的並行進化と同所的並行進化は昆虫の形態的進化を考える上で見逃せない。これらの並行現象を、収斂、並行進化、相同などの概念で分けたり、類似の形態の形成を偶然か必然かという議論が盛んだが、確実な形態形成のメカニズム（遺伝子構



図35 ハワイトラカミキリとその祖先と推定されるトラカミキリ

「先ほどのお話をなかに立止るよう
で恐縮なのですが、分子レベルでのいわ
ゆる中立説の基礎づけというのはすに
もう一つのゲルントができたと思
うんですが、一方これが表現型のレベ
ルの段階でどんなふうになりまし
ようか。」

「これはまあ、きりわからないですよ。」

「いわゆる高次形質の進化について
それには、その理路構成はさうなついで
のたしに、さうか。」

「それが人にとっては、すぐに分子レベルと
結びつけるようなことを言う人がおられるけれど
も、それはそれは疑っているんです。とにかく
分子進化をやってみると、いままでの進化
遺伝学の頭ではうまくなかないんです。ほかに
言わせても、要するに、表現型のレベルの
進化を説明するには、やっぱりダーウィンの
自然淘汰説じゃないとだと思わんです。
ダーウィンの自然淘汰説を軽蔑して批判して
も、いままでのヨーロッパの科学者の百年に
わたる血みどろの努力を無視して勝手なことで

を言ってもだめだと思わんです。もっとも、
自然淘汰で進化のありとあらゆることを説明
できると思ったのは行きすぎですね。新しく
分子レベルでの遺伝子の内部構造の表現型な
んかにほとんど現れない変化がわかってきて
、ダーウィンの自然淘汰説だけでは都合の
悪いことがわかってきた。むしろ自然淘汰な
んか全然働かないでチャンスによる偶然だけ
で変化が種内に蓄積していくという理論でか
なりよく観察的に合うんです。勿論、おそ
反対も多いけども、反対派の陣中では一人
として定説に合う者なんか出せないんで
す。中立説だとびくつきりするほど各々が出
る場合があるんです。勿論、うまくいかん
面もあるんですけどね。常識から考えても、
自然淘汰に有利な遺伝子の蓄積がなければ、
われわれヒトが下等生物から進化によって出
てきたというふうに考えられんやないしよ。だか
ら、そういうのをまったく無視した計算の
仕方が、厳密に言っていないはずないし。
それでも、いまの段階では、それより裏返し
合うものはないんですね。いまもう世界中
でいろいろな自然淘汰を仮定して計算してい
ければ、どれもためですね。だけど一方、

「ほくの中立説の計算というのは、要するに、
ダーウィンの有利な突然変異が種内に蓄積
するといいういまままでの説をまったく無視して
計算しているんですからね、どう考えてもお
かしいわけですよ。人による、簡単に表現
型レベルと結びつけることができないこと
を言うのがあるんですよ。しかし、ほくは
全部それは知っているんです。勿論、おそ
そういふことも思いませんけど、おそ
くそういふときがきたら、いまみんなが考
えているように、全然ないと思わ
ない。だから、いっぺんはさういふ中立説
いもないのを導かんためじやないかと思
います。」

「物理学のアナロジーはいかにかもせよ
せんが、物理学でもうしよ。かえってわ
けのわからんものをいっぺん思っついていかな
やね、だれでもいいと思うようなことじや
ない。」

図36 木村資生博士の自然淘汰と中立説に関する意見。「中立説」形成への道程、Life Science No.130: 21-40, 1978, see p.34(インタビューの記事)



アメリカ中西部の砂漠ではEodesに似たカミキリをがいて、ヤボタンは存、やはり直立らの姿勢による
図37-1 甲虫の同所的並行進化1



図37-2 甲虫の同所的並行進化2

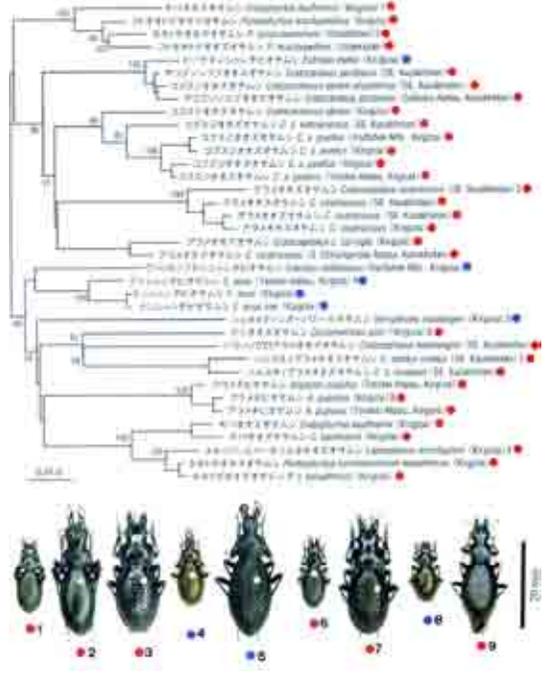


図37-3 甲虫の同所的並行進化3



図38-1 甲虫の異所的並行進化1

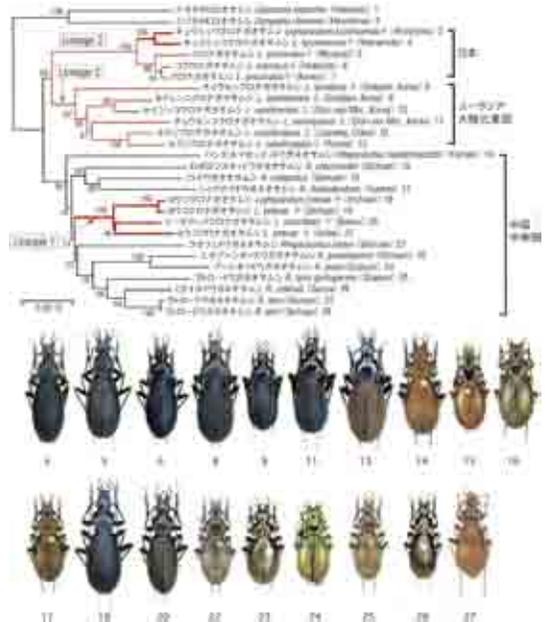


図38-2 甲虫の異所的並行進化2

成と複雑な発現—そのトリガーをふくむ) についての証拠を欠く。これらはEVODEVOの進展で解明される部分が多いであろうが、現状では、個人の想像でありこれらを細分して概念化するのはかえって混乱の元となる。

話しは少し前後するが、おさむしニュース・レターを引き継ぐかたちで、毛利秀雄博士を中心に蝶類DNA研究会が結成され、ニュースレターが22号まで発行された。オサムシの場合は経過報告的であったが、蝶のニュースレターは重要な論文として通用する記事が満載された。これを更に引き継ぐかたちで、昆虫DNA研究会が発足、八木孝司、伊藤健夫、大場裕一各氏が回り持ちで事務局をうけもたれ、昆虫DNA研究会ニュースレターの発行(現在13号)、研究集会の開催(現在8回)など、活発に活動している。図40-1は平賀壯太博士の特別講演(第6回の集会:堺の大阪府立大) 図40-2は富永修氏と斉藤明子博士、図40-3は蘇智慧博士と大場裕一博士。図40は大阪府立大学、図41は名古屋大学での集会、私は3回特別講演を依頼されたが、その題目は(1) 昆虫少年からの旅立ち、(2) 昆虫の進化をめぐる諸問題、(3) ゴミムシダマシの多様性—特に砂

漠性種の分化からみた種形成、であった。なお、第8回はJT生命誌研究館5月末に開催された(図42)。

江上不二夫先生の教え

最後に故江上不二夫先生の教えをもって結びとする(図43)。

ある分野が発展の途上にあると、しばしば同じような研究が独立に複数の研究室で行なわれることが珍しくない。その中でよほどの天才でない限り、他人が思い付かないような卓抜なideaをだし、それを実験に移して発展させることは夢のまた夢である。しかし、このところ、夢を実現したかのごとき実験データの捏造がしばしば報道されている。このようなことは、昔もしばしばあり、あるノーベル賞受賞者の研究室でも、捏造事件がおきた。論文がであ

1



2



3



図40 堺の大阪府立大学における昆虫DNA研究会とその情景(2009)

図40a 堺の大阪府立大学における昆虫DNA研究会とその情景(2009)



図41 名古屋大学における昆虫DNA研究会(2010)

とで、取り消しの文が出たことはかなり有名な話である。研究者は多かれ少なかれ、名誉欲もあるだろうし、より上のポストにつきたいという願望があるが、このような行為はある意味では犯罪であり、サイエンティストとしてだけではなく、人間失格である。もう一つは、他人の研究結果、あるいはideaの盗用で、これも本質的には研究者としてはあるまじき行為である。私自身、2度ほど被害を受けたことがあるが、相手が日本の研究者なので、敢えて実名も具体的な内容も伏せておく。

以上のような行為は論外であるが、江上先生は講義の中で「日本の有名大学の研究室(名称は伏す)の連中は、PNAS、Natureなど一流雑誌を航空便でとりよせ(あのころはPCもFAXさえなかった時代)、その中のめぼしい(多少とも自分に関係ある)論文の続きのstepを争ってやっている。論文がでた時期には当然発表した研究室で、次のstepはすでに終わっているか、その先までいっていることくらいに分かろうなものだ。そんなoriginalityに欠けた連中が大成するはずがない。たとえ自分が多くの人が研究している分野の中にあっても、人まねをせず、自分のできる範囲でoriginalityを発揮してほしい。さらにいえば、現在の分野をこえた重要分野を開発してほしい。そしてそれを面白くしてほしい」という意味の事をしばしば述べられた。例えば、核酸研究の全盛期に江上先生は、敢えてあまり人が目を

1



2



3



図42 JT生命誌研究館における昆虫DNA研究会(2011)
1. 集合写真(71名参加)、2. 講演中の大澤、3. 2の講演のタイトル

つけないリボヌクレアーゼの研究を推進、核酸構造の研究に不可欠なT1リボヌクレアーゼを発見されたし、岡崎令治さんは、DNA合成研究の激烈な競争の中にあって、どの教科書にもでてくる不滅の業績(Okazaki Fragmentを主体とするDNA replication機構の解明)をのこした。木村資生さんは、生物学に数学は不要と教授から疎まれたにもかかわらず、「分子進化の中立説」で一世を風靡した。これらの3つは、例外の天才研究者の話と思われるかもしれない。しかし、凡人でもoriginalityがなによりも大切だということを頭において研究をしてほしい。そして出来れば新しい分野を切り開き、それを重要分野に育てあげてほしい」というのが、江上先生の教えであったと思う。私も凡人だが、それを片時もわすれることなく研究に打ち込んできた。たいして大きなことは出来なかったにしても、全体としては充実した研究生活を満喫したのは、江上先生の教えのおかげであった。



江上不二夫先生の教え

今、面白いと言われていることはやるな
自分で考えたテーマを面白くせよ。

図43 江上不二夫先生(故)の教え

(Osawasyozo@nifty.com)