

# アミノ酸欠如合成培地で培養したテトラヒメナにおける DNA polymerase の存在状態について

秋山豊子, 渡辺良雄 (筑波大・生物科学)

Mode of presence of DNA polymerase in amino acid-starved *Tetrahymena pyriformis*

TOYOKO TSUBAKI, YOSHIO WATANABE

*in vivo* での DNA 合成の制御機構を解析する目的で、繊毛虫テトラヒメナをアミノ酸欠如合成培地で培養し、その際の DNA polymerase の存在状態を検討した。増殖培地からアミノ酸欠如合成培地に移されたテトラヒメナは、homogenate 中の DNA polymerase 活性が失われる事が、既に知られているが、前回の報告で、homogenate 中にも、DNA polymerase がわずかに存在し、Triton X-100 により活性化される事を報告した。今回は更に、この不活性型から活性型へ転換する機構について検討を加えた。この不活性型 DNA polymerase は、homogenate 中の不溶性分画に含まれていた為、不活性型のままでの可溶化を試みた。可溶化には、Lithium diode salicylate, Deoxycholate (DOC), Brij 58, Digitonin, Phospholipase C を用いたが、1%DOCで最も良い結果が得られた。そこで、homogenate を DOC で処理した遠心上清を不活性型 DNA polymerase 分画として用いた。本実験では、不活性型と活性型の沈降パターンを知る為に DOC処理の上清と、それを Triton X-100 で活性化したものを蔗糖密度勾配遠心で分析した。その結果、不活性型では、明確な活性のピークはないが、Triton 処理をしたものでは、増殖培地で培養したテトラヒメナの2種の DNA polymerase とほぼ一致する S 値の分画に活性のピークが得られた。又、不活性型のままで分画した後 Triton 処理をした場合は、それよりも重い分画の活性が上昇した。つまり、*in vivo* で DNA 合成が行われていない状態では不活性型で、活性型より重い S 値を持って存在していると推察された。

# ウニ精子の DNA ポリメラーゼ

嶋田 拓, 寺山 宏 (東大・理・動物)

DNA polymerase of sea urchin sperm

HIRAKU SHIMADA, HIROSHI TERAYAMA

ウニ卵を受精させると卵内に入った精子核は卵核と融合する前にすでに DNA 複製を開始することがオートラジオグラフィを用いた実験から報告されている。精子核の DNA 複製を司る DNA ポリメラーゼが精子由来のものである可能性を検討するため演者らはウニ精子における DNA polymerase の存在を調べてみた。ムラサキウニ精子から 1M-NaCl 抽出により得られた蛋白分画は、鋳型 DNA 及び他の3種の dxTP の存在下に [<sup>3</sup>H]TTP を DNA にとりこむ活性を有する。しかし、反応系から3種の dxTP を除いても完全系と同程度に [<sup>3</sup>H] TTP が DNA へとりこまれるので、この酵素は他の細胞に認められる DNA polymerase でなく、DNA terminal nucleotidyl transferase であろうと思われる。この酵素活性は ATP 依存性であり、ATP 不在下では低い活性しか認められない。1 M NaCl 抽出液を硫酸塩析法で分画すると、活性の大部分は、60~90% 飽和画分 (II) に回収されたが、40~60% 飽和画分 (I) にもわずかながら酵素活性がみられた。両画分を 5~20% 蔗糖密度勾配遠心法で分析すると、両画分に含まれる酵素の大きさが異なり、画分 I の酵素の方が画分 II のものより大きいことが判った、画分 I の酵素活性は  $10^{-6} \sim 10^{-3} \text{M}$  の N-エチルマレイミド (NEM) ではほとんど阻害されないが画分 II の酵素は  $10^{-3} \text{M}$  NEM で強く阻害される。また画分 I の酵素は 200 mM KCl 添加により活性が約 4 倍増大するが、画分 II の酵素は KCl により影響されない。以上の結果から、ムラサキウニ精子には少なくとも2種の DNA terminal nucleotidyl transferase が存在すると考えられる。なお4種の dxTP を必要とする DNA polymelase 活性も見出せなかった。