

ウニ胚における DNA ポリメラーゼ α の核膜局在性

塩田正樹, 長野 弘* (東大・医・栄養, *現山之内製薬・中研)

Localization of DNA polymerase α on the nuclear membrane in sea urchin embryos

MASAKI SHIODA, HIROSHI NAGANO

ウニ未受精卵は DNA ポリメラーゼ α を ER に貯えており, この α が受精後核に移動すると考えられている。今回, 我々は移動した α がどのように DNA 複製に関与するかを調べるため, α の核内局在性を調べた。パフウニの後期胞胚から核を単離し, この単離核に 20mM EDTA を含むリン酸緩衝液を処理した。この処理で浮遊密度1.175と1.136の構造物が核より遊離し, この構造物に核内の90%以上の α が結合していた。この構造物は核由来であること, 浮遊密度, 電顕観察から核膜の一部分であると同定された。これらより核内の90%以上の α が核膜に局在していることが判明した。同様の結果が桑実胚, 初期胞胚でも得られた。これらのことはウニ胚では核膜で DNA 複製が起こることを支持する。また, 核膜はのう胚の ER の α より未受精卵の ER の α に高い親和性を示し, 核膜と未受精卵の ER の類似性が示された。このことは未受精卵の ER より核膜が作られるという考えを支持する。

tRNA およびテトラポリリン酸によるヒトデ卵の DNA ポリメラーゼ α の阻害効果

堀 ちよ (東大・医・栄養)

Inhibition of DNA polymerase α of starfish eggs by tRNA and tetrapolyphosphate

CHIYO HORI

ヒトデ卵の DNA ポリメラーゼ α (α) が tRNA およびテトラポリリン酸によって阻害される事を見いだしたので, その阻害機構の解析を行った。tRNA およびテトラポリリン酸はヒトデ卵の α を阻害し, β は阻害しない。両阻害剤は共に鋳型 DNA には競争阻害型式を, 基質 dGTP には非競争阻害型式を示した。阻害定数は rRNA では 0.8 μ M, テトラポリリン酸では 70~85 μ M であった。tRNA のアルカリフォスファターゼによる 5' 端の脱リン酸によっては阻害定数に変化がなく, フォスフォジエステラーゼによる 5' 端よりの分解により定数は高い方にずれる。即ちアミノ酸の受容能が低下するような消化によって, α に対する親和性が弱まる。tRNA の阻害定数は細胞における tRNA 増加時の 1/20 程度であり, DNA 合成酵素に対する親和性がアミノ酸受容能と関係するらしい事より, ある種の tRNA が卵内での DNA 合成の調節に一助している可能性が示唆されるかも知れない。

ジヒドロ葉酸レダクターゼ阻害剤メトトレキセート存在下におけるイトマキヒトデ胚の発生

池上 晋, 今吉純司, 伊藤典之, 檜垣知臣, 王 継揚, 佐々木悟 (広島大), 団まりな (大阪市大)

Development of *Asterina pectinifera* embryos in the presence of methotrexate

S. IKAGAMI, J. IMAYOSHI, N. ITOH, T. HIGAKI, K. WANG, S. SASAKI, M. DAN

イトマキヒトデ受精卵に, ジヒドロ葉酸レダクターゼの選択的阻害剤であるメトトレキセートを 20 μ M 与えて発生させたところ, 8回目の卵割に至るまでコントロール胚と全く同一の速度で発生し胞胚となった。各割球には核が明瞭に認められた。しかし, 9回目の細胞分裂はコントロール胚に比し著るしく遅延し, この分裂を終えたあと更に発生が進行することはなかった。デオキシチミジン 10 μ M をメトトレキセート 20 μ M に共存させると胚は原腸陥入した。したがって, 胞胚形成直後に生ずる細胞分裂の停止は DNA 合成基質である dTTP の欠如にもとづくものであると考えられる。ジヒドロ葉酸レダクターゼ活性が胞胚形成期に上昇することは, メトトレキセートによる発生阻害時期と呼応する。また, 解離させた原腸胚の再構築過程は 20 μ M のメトトレキセートによって阻害を受けず, この過程は DNA 合成に依存しない過程であることがあきらかとなった。