

## DNA 複製の機構

岡崎令治

(名古屋大学理学部分子生物学研究施設)

最近数年間にわれわれが行なった研究は、DNA の半保存的複製が不連続的機構—短い鎖の合成と連結—によっておきることを明らかにした。この結論の主な根拠は、不連続的機構から予測される次の3つの事実の確認である。

1. DNA の合成されたばかりの部分は、変性後短い鎖として分離される。
2. DNA 鎖を連結する酵素が存在し、この酵素の活性を抑制すると、細胞内に新生短鎖が蓄積する。
3. 細胞内での DNA 鎖の合成は、3'→5'方向にのみおきる。

DNA 複製の不連続性が生じる機構、すなわち短鎖の生成の機構については、ほとんど何もわかっていなかった。しかし最近、生成直後の DNA 短鎖の5'末端に RNA が共有結合でついており、この RNA は短鎖の連結にさきだって取り除かれることが明らかになった。このことは DNA の不連続性を規定する過程に転写が含まれており、DNA 複製は次のような過程を含むことを示唆している。

二重らせんの unwinding → ほどけた親鎖 DNA の特定部位への RNA polymerase の結合 → 短い RNA 鎖の合成 → RNA を primer とする DNA polymerase による鎖の延長 → RNA-DNA 分子の RNA 部分の除去 → RNA 除去部分の充てん → DNA 短鎖の連結。

## 高等生物の染色体の複製

黒岩常祥 (都立アイソトープ総合研究所)

被子植物 *Crepis capillari*, 粘菌 *Physarum polycephalum*, およびヒトの lymphocyte の染色体の複製過程を、染色体の弛緩、凝縮という観点から、高分解能電顕オートラジオグラフィを用いて研究した。

真核生物の染色体の複製過程は、染色体 DNA に注目するならば、弛緩、複製、凝縮の3過程に分けることができる。よく知られているように、真核生

物の凝縮染色体は DNA 以外に蛋白質や RNA を含んでいるため、複製をする際にはこれらの物質が遊離されるはずである。従って、凝縮染色体から DNA の複製に至る弛緩過程は、原核生物のそれに比較して極めて複雑である。弛緩は染色体の総ての部分で同時に進行するのではない。このことは、G<sub>1</sub>期、S期の核内に凝縮染色質と分散染色質が同時に観察されることから明らかである。このような弛緩過程にみられる染色体上の部分間における動態の、空間的および経時的な非同時性は、DNA の複製 (Kuroiwa and Tanaka, *Cytologia*, **35** 1970, 239) や凝縮過程においてもみられる。この染色体の複製の開始、継続時における非同時性にもかかわらず、複製完了寸前の分裂前期の晩期には、どの部分もきわめて同時に凝縮し、分裂中期染色体に組み込まれる (Kuroiwa and Tanaka, *Exptl. Cell Res.* **65** 1971, 177)。このことは染色体の弛緩、複製、凝縮の3過程を、同時に総括し支配する因子が存在することを示唆している。

最近、この染色体の部分間における弛緩、凝縮の早遅が各部分に含まれる DNA の複製時期の早遅と密接に関係していることがわかってきた。分裂終期染色体の凝縮染色質から分散染色質に変化し始め、G<sub>1</sub>期にほとんど分散染色質になる部分は、S期の早期に複製された DNA を含む一方、分裂終期、G<sub>1</sub>期を通じ凝縮している部分は、S期の晩期に複製された DNA を含んでいる (Kuroiwa and Tanaka, *Jour. Elect. Micro.* **19** 1970, 63)。DNA 合成が分散染色質内で行なわれることが知られていることから、(Hay and Revel, *Jour. Cell Biol.* **19** 1963, 29)。このことは、S期の早期に複製される部分のみが選択的に弛緩し、次のS期の複製に備えていることを示唆している。DNA の複製はこうして核内に分散したS期の早期に複製される染色体の部分 (特に核膜に関係しない) で開始され、核内全体に広がっていく。

一方染色体の凝縮過程については、凝縮の進んだG<sub>2</sub>期、分裂前期の染色体の解析から、S期の晩期に複製された DNA は、すでに凝縮した染色体、あるいは染色糸様構造の内部にたたみこまれているにもかかわらず、S期の早期に複製された DNA の多くは、分散染色質のままこれらの染色糸様構造の表面

に存在している。分裂中期の晩期になると、この分散染色質は数分間で染色糸様構造体の表面におりたたまれ、凝縮染色質となり、分裂中期染色体に組み込まれる (Kuroiwa, *Exptl. Cell Res.* **69** 1971, 97)。このように複製の済んだものから順次凝縮が開始されるのではなくて、早期に複製された DNA を含む染色体の部分が、最もおそい時期に染色体にたたみこまれるという様式は、次の弛緩、複製の際に再び早期に複製される DNA を含む染色体部分から順次に緩み、分散染色質に変化するという弛緩の様式を合理的に説明している。

では、DNA 合成後、染色体各部分における分散染色質から凝縮染色質への凝縮速度の違いは、いつから生じてくるのだろうか。DNA 合成期核の分類 (Kuroiwa and Tanaka *Cytologia*, **36** 1971, 143) と、<sup>3</sup>H-チミジンのオートラジオグラフィから、複製直後から凝縮速度の差が生じてくることが明らかとなった。S 期の晩期に分散染色質内で複製された DNA は、僅か数分間で染色糸様の構造体に形成されるが、(Kuroiwa and Tanaka, *Jour. Cell Biol.* **49** 1971, 939), 早期に複製された DNA の 50% 以上が、8 時間以上も分散染色質の状態であった (Kuroiwa, *Exptl. Cell Res.* **69** 1971, 97)。

今回は、このように弛緩、凝縮という観点からみた染色体の複製について述べる。

#### 動原体の機能

新津恆良 (慈恵医科大学細胞生物学教室)

Eukaryote の各染色体には、いくつかの例外を除いて、一次狂窄部位としての動原体がある。それが有糸分裂の前中期以後、とくに染色体の後期運動に先行的な行動をおこなっていることはよく知られている。

動原体部位と紡錘体極とを連結する構造は、従来染色体糸 (Chromosomal Fiber) といわれていたが、この用語は染色体自体の微細構造との混乱を避けるため、この構造を動原体糸 (Kinetochore Fiber) とすることを提案する (Bajer 1969, Niitsu *et al* 1972)。

動原体糸は中期前後に動原体部から紡錘体極に向かって発達し、完成する。このことは顕微鏡下で培養した胚乳細胞などで、各種の位相差法によって直

接観察することができる。偏光顕微鏡的には、動原体糸は紡錘体自体よりもいちじるしく強い複屈折性をもっている。また蛍光顕微鏡的には、紡錘体とは異なった二次蛍光を発する。また動原体部位に UV ミクロビームを照射すると、動原体糸の発達は阻害される。動原体糸は、紡錘体の基礎構造とともに、固定条件とくに固定液の pH 値の変動によって、光学顕微鏡的にも、電子顕微鏡的にもその構造はいちじるしく変化する。

*Ornithogalum virens* (n=3) の成熟花粉の生殖核は、第二花粉分裂の前中期ですべて停止しており、花粉を人工培地に移すと、同調的に分裂を再開する。

この同調分裂細胞——とくに前中期を critical point とする細胞群——を量的にもちいて、各種の代謝阻害剤で処理すると、タンパク質合成阻害剤、puromycine, cycloheximide, emetine HCl が、分裂中期以前に処理した場合に、特異的に分裂を遅延させ、動原体糸の形成を阻害する。同じ処理でも、細胞がすでに後期以降にはいり、すでに動原体糸の発達した細胞では、その効果は出現しない。また emetine などに長時間、中期以前の時期から処理すると micro-nuclei を形成する。

種々の分裂細胞から、colchicine 処理せずに染色体を単離する実験をおこなうと、中期以降の染色体は動原体糸をともなって分離される。

これらの結果から、動原体糸は、中期前後に動原体部位から発達し、その際特異タンパク質の動原体物質 (Kinetochore Substance) の生成が関与していると考えられる。

#### 紡錘体—その複屈折性構造の消長と染色体運動との関連—

佐藤英美

(Program in Biophysical Cytology,  
Department of Biology, University of  
Pennsylvania, Philadelphia, PA 19104)

有糸核分裂時に作られる紡錘体 (核分裂装置) を偏光顕微鏡で観察すると、明らかに正の複屈折を示すことがわかる。この光学的異方性は、もともと等方性を持つ紡錘体蛋白質の monomers が重合し、紡