



Title	パン酵母DNAポリメラーゼAおよびその賦活因子：精製と性質
Author(s)	滝沢，徳正
Citation	大阪大学，1988，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36713
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	滝	沢	徳	正
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8338	号	
学位授与の日付	昭和63年9月26日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	パン酵母DNAポリメラーゼAおよびその賦活因子：精製と性質			
論文審査委員	(主査)			
	教授 堀尾 武一			
	(副査)			
	教授 中川 八郎 教授 松原 央			

論文内容の要旨

パン酵母からDNAポリメラーゼA (Iあるいはメジャー) を異なる方法で精製した。1) 高濃度 (10mM) 蛋白質阻害剤 (phenylmethylsulfonyl fluoride: PMSF) 存在下および低濃度 (3 mM) のPMSFの存在下; 2) DEAE-セファロースを用いる精製の初期段階の所要時間の短縮 (バッチワイズ法) および通常 (カラムクロマトグラフィ法), であった。上記のすべての精製過程による精製標品も, ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) では単一の蛋白質ピークをしめした。精製標品をメルカプトエタノールで処理した後にSDS-PAGEによって分析すると, 高濃度のPMSF存在下および所要時間の短縮の両方を含む精製法では, 145Kに単一のバンドをしめした。しかし, それ以外の精製法では, 145Kの蛋白質バンドの他に75Kの主バンドおよび65Kと60Kに副バンドをしめした。それにもかかわらず, すべての精製標品はほぼ同じ比活性をしめした。上記は, パン酵母中では, DNAポリメラーゼAは分子量145Kの一本鎖のペプチドとして存在すること, そのペプチドは精製過程に分子量60K-75Kの二本のペプチドに限定分解をされるが, それらのペプチドはジスルフィド結合によって互いに結合していること, および限定分解生成物も限定分解前とほぼおなじ活性をもつことをしめす。同時に, パン酵母DNAポリメラーゼAの活性を賦活する20Kの蛋白質を均一に精製した (DNAポリメラーゼA賦活因子)。この因子には, 上記の精製法のいずれもが有効であった。

DNAポリメラーゼA精製標品はプライマーゼ活性はしめさなかった。非変性サケ精子DNAを鋳型DNAとして用いたときの活性を100%とすると, DNAポリメラーゼ活性は変性サケDNAでは123%, 非変性および変性仔ウシ胸線DNAではそれぞれ21%および37%, poly (dA・dT) では196%, poly (dA)・olygo (dT)₁₀では38%の活性をしめした。賦活因子の存在により, 加えないときの活性に対して173%

～230%に上昇した。鋳型DNAとして poly (dA) や poly (dT) を用いるときには活性はしめさなかった。賦活因子は、パン酵母DNAポリメラーゼA (すべての精製標品) に加えて、仔ウシ胸線DNAポリメラーゼ α の活性を120%～150%増加させるが、大腸菌DNAポリメラーゼIや *Micrococcus luteus* のDNAポリメラーゼの活性にはほとんど影響をあたえなかった。

論文審査の結果の要旨

DNAポリメラーゼは染色体の複製などに関わる重要な酵素であり、細胞増殖の調節にも関与していると考えられている。大腸菌のような原核生物のDNAポリメラーゼについては既に多くの知見が得られているのに対して、真核生物のDNAポリメラーゼについては不明な点が多く残されている。パン酵母は真核生物の一種でありながら単細胞であり、培養も容易であるため、動物よりも酵素の調製が容易であるという利点がある。

滝沢君は上記の点に着目して、アフィニティクロマトグラフィを駆使するなど独自の精製法を確立し、プロテアーゼの作用を受けていない純品を得ることに成功した。これにより、従来法で精製されたDNAポリメラーゼはプロテアーゼによって様々に限定分解を受けている可能性が示唆された。

さらに、DNAポリメラーゼ活性を賦活する蛋白質を見い出し、精製した。この賦活因子は真核生物由来のDNAポリメラーゼには有効であるけれど、原核生物由来のものには効果を示さなかった。

滝沢君のこれらの研究は真核生物におけるDNAの複製およびその調節機構の研究に貢献する優れた成果と考えられ、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。