

綜 説

浅野進吾：核酸合成酵素をめぐる最近の諸問題

親 DNA を鋳型 (いがた) として子 DNA が合成され, さらにその DNA を鋳型として RNA が合成され, またその RNA から蛋白質が合成される (DNA→RNA→protein) という, いわゆる central dogma が F. Crick によって提唱されたのは 1958 年である. この提言は当時, かつてない分子生物学の根本原理として, この研究領域に明快な方向性を示した大胆な仮説であった.

ついで, A. Kornberg ら (1958) によって大腸菌から DNA を合成する酵素 DNA polymerase が精製された. この “Kornberg の酵素” は, 鋳型として加えた親 DNA の塩基配列を忠実に反映 (相補的複製) した新 DNA を生成する. このため, これが上述の central dogma を支持する最初の酵素レベルにおける実験的証拠として, 当時熱烈に高い評価をもって迎えられたことは有名である. Kornberg はこの業績によって 1959 年ノーベル賞を受けた. またそれに先だって, S. Ochoa (1955年) により RNA を合成する酵素——実は polynucleotide phosphorylase——が報告され, Kornberg の DNA polymerase とともに RNA polymerase の発見として迎えられた. しかし, これは真正でないことがのちに判明し否定された. 1959年, 前後して米国の 3 グループによって別々に, まちがいなく DNA を鋳型として要求し, RNA 鎖を合成する RNA polymerase が発見された. これは真正の DNA dependent RNA polymerase として確められ, 現在も受け入れられている. それ以後, DNA ligase, RNA dependent RNA polymerase (Q β replicase), さらに最近では RNA dependent DNA polymerase (reverse transcriptase) が発見され, 核酸合成酵素とそれらが司る複製機構についての論議や研究は一段と活発になった. またこれら酵素群の種類や機能についても, 従来の記述を訂正し, 追加しなければならぬ新知見が続々と報告され, その生物学的意義についても数多くの問題点が指摘されるにいたった. 本稿ではこれら核酸合成酵素を中心とする最近の諸問題について概説する.

I 核酸合成酵素と鋳型理論

1970年, Temin ら⁴⁹⁾によって報告された RNA dependent DNA polymerase の発見は, 当初 crick の “central dogma を逆転” させるものとして評価され, DNA→RNA→protein のごとく遺伝情報の伝達には “一定の方向性がある” という Crick の強調を否定しかねないものにした. この論評に対し, Crick (1970)¹⁾ は弁明して, 昔もいまでも私の central dogma は, 否定されてはいない. 当時, DNA, RNA, および蛋白質の間の遺伝情報の伝達の方向は, 原則的にあらゆる可能性 (9種類) が考えられた (図1). しかし, すくなくとも “蛋白質にまでゆきついた遺伝情報が, 再びそこから出てゆくことはできない” と述べたのが, すでに提唱当時の central dogma の考えであったのだと主張している.

しかし, 彼は同論文中さらに敷衍して, しかしこの旧説はあの当時では効果的な仮説であったとしても, 今日では明らかに古い分類であるとして, 新しく分類を再整理し, 新 central dogma ともいうべき図式を示した (図2).

現在のところ, その情報伝達論 (鋳型論) と酵素レベルとの相関は, この新しいカテゴリーに従って説明されてよいであろう. すなわち, 可能性として考えられる 9 種類の伝達形態は次のごとく 3 つに再分類される.

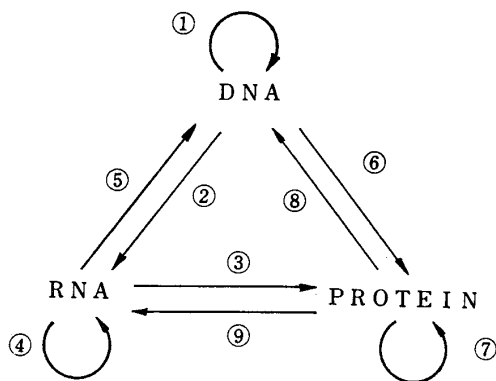


図1 DNA, RNA, 蛋白質3者間の情報伝達の方向として考えられるすべての可能性(9種類)を示す。¹⁾

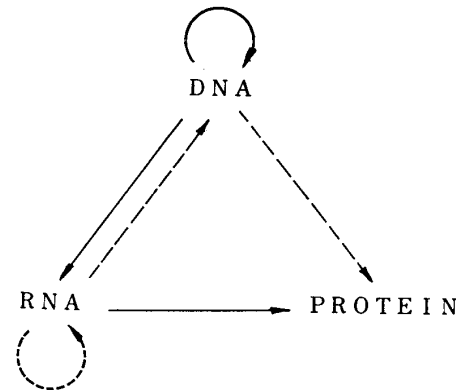


図2 現在 central dogma として可能な情報伝達の方向. 一般的伝達形は実線, 特殊伝達形は点線, 未知伝達形は除いて示す。¹⁾

1) 一般的伝達形 (general transfers)

すべての細胞中に存在する普遍的な伝達形態. ① DNA→DNA, ② DNA→RNA, ③ RNA→protein の場合である. この際関与する核酸合成酵素は①の場合が DNA dependent DNA polymerase*, ②が DNA dependent RNA polymerase である.

2) 特殊伝達形 (special transfers)

特殊な状況の細胞において存在する伝達形態. ④ RNA→RNA, ⑤ RNA→DNA, ⑥ DNA→protein の場合である. ④, ⑤の反応形態はウイルス感染細胞にみられる. しかし, ⑥は cell-free 系 neomycin 存在下にみられる特殊な形態である. 関与する酵素は④が RNA dependent RNA polymerase, ⑤が RNA dependent DNA polymerase である.

3) 未知伝達形 (unknown transfers)

⑦ protein→protein, ⑧ protein→DNA, ⑨ protein→RNA の場合である. Crick は論じて, central dogma としては絶対に存在不可と考えられる形態である. 蛋白質からこれに対応する蛋白質を合成することは, DNA→DNA の場合より非常に困難である. 立体化学的にも不可能である. protein→RNA という, translation の逆反応も簡単におこり得ない. 事実, この分類に従ういかなる伝達形態の細胞も現在みつかっていない. もしも, この形態をもつ細胞が見つかったとしたら, その時こそ, この基本原理がうちたおされるときである. またそのためにこそ, 今日 central dogma が存在する理由であると.

核酸合成の段階を含めて, 生体物質生成の段階経路は大別して共有結合系と非共有結合系に分けることができる. 前者は別にいえば鋳型合成系であるし, 後者は共有結合以外の結合(イオン結合, 水素結合, 疎水結合, クーロン力など)に支配される self-assembly 系といえる(図3).¹⁹⁾ 水野(1971)²⁰⁾はこの両者を“鋳型の化学”と“積木の化学”という概念でとらえて, オルガネラの生成と動態に言及し, さらには生体調節機構を統一論的に方向づけ説明しようとしているが, 新しい問題提起といえよう.

そして, 少なくとも現在の鋳型理論が, このうちの鋳型合成系(共有結合系)を十分に説明していることは明らかで, かつ核酸合成酵素のかかわる段階は“DNA の遺伝情報が確実に蛋白質のアミノ酸に発現する”範囲のうちに限定されている. DNA もしくは RNA を鋳型として, これの塩基配列を忠実に複製した新しい DNA もしくは RNA

* DNA を鋳型として(鋳型 DNA に依存して) DNA を重合させるという意味で, DNA dependent DNA polymerase, 同様に RNA を重合させるという意味で, DNA dependent RNA polymerase と名づける.

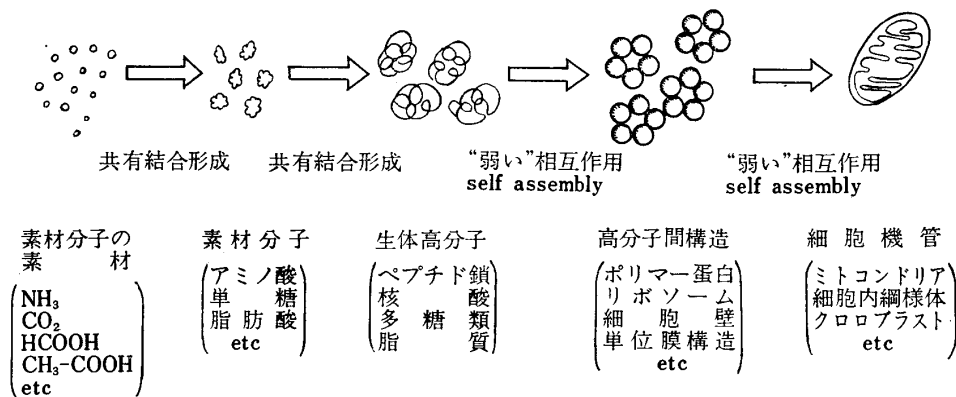
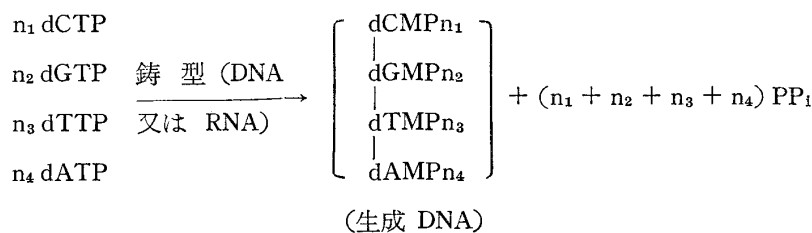


図3 生合成反応の諸段階¹⁹⁾

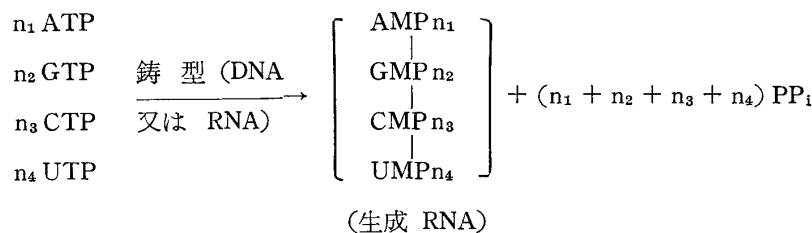
が共有結合によって合成されなければならない。必然的に DNA polymerase および RNA polymerase による合成反応にはいくつかの共通項が存在し、それらは同時に核酸複製機序の基本原則を表現しているといえる。一括して示すと次のごとくであるが、現在のところ、この基本則をやぶる事実はあらわれていない。

- 1) 鋳型 (template) を要求する。“DNA-dependent” の場合は DNA であり，“RNA-dependent” の場合は RNA である。
- 2) 4種の nucleoside 5'-triphosphate を基質として要求する。DNA polymerase の場合は dATP, TTP, dGTP, dCTP (dNTP) であり、RNA polymerase の場合 ATP, UTP, GTP, CTP (NTP) である。
- 3) 2価の金属イオン, Mg^{2+} , Mn^{2+} などを必要とする。
- 4) 反応生成重合体は鋳型 DNA または RNA と Watson-Crick モデルに従う相補的 (complement) な塩基配列を形成する。
- 5) 合成反応は極性を有し、鋳型の 3'→5' に対応して 5'→3' の方向へ進行する。
- 6) 反 応 式

i) DNA polymerase の場合



ii) RNA polymerase の場合



II DNA 合成酵素

1) DNA polymerase I (Kornberg の enzyme)²⁾²¹⁾²²⁾

大腸菌抽出液の上清分画から精製される。分子量 109,000, 球状で直径は約 65 Å, 約 1,000 個のアミノ酸残基よりなる単鎖の polypeptide で, N末端は methionine である。1 個の-S-S-基と SH 基を有する。この SH 基は Hg^{2+} を介して本酵素 2 分子を結合させ, dimer を形成させる。この dimer には酵素活性が存在する。電顕像によるとこの dimer の対になったうちの 1 個のみが DNA に結合し, 他方は結合しない。すなわち, この SH 基はどの活性中心にも位置していないと推定される。

DNA 重合反応には Mg^{2+} または Mn^{2+} を必要とし, 4 種類の deoxynucleoside 5'-triphosphate (dNTP) を要求するなどは, 上述の共通項の説明と同様であるが, 鋳型 DNA のほかに, これと相補的に結合している 3'-OH 末端を有する DNA 鎖, すなわちプライマー DNA (primer DNA) を必要とするのは特徴的である。反応速度は *in vitro* で 10~20 nucleotides/sec である。

DNA polymerase I には鋳型 DNA が結合する template site, プライマー DNA が結合する primer site および基質が結合する triphosphate site の活性中心が, それぞれ別個に, しかし近接して存在するとされている。そして 4 種の dNTP はすべて同一の triphosphate site を共有しているという (図 4)。また DNA 重合の際の正確な塩基配列の決定について, Kornberg は, おそらく鋳型と dNTP の間に Watson-Crick 塩基対が自然に形成されるのではなく, 正しい塩基対が活性中心に位置したとき, 酵素のコンホメーションが変化して, diester 結合形成への触媒作用が進行するのだろう, まちがった基質が酵素に結合したときは, 正しい塩基対は形成されず, またコンホメーション変化も起らないで, その triphosphate は酵素から拒否されてしまうであろうと推測している。

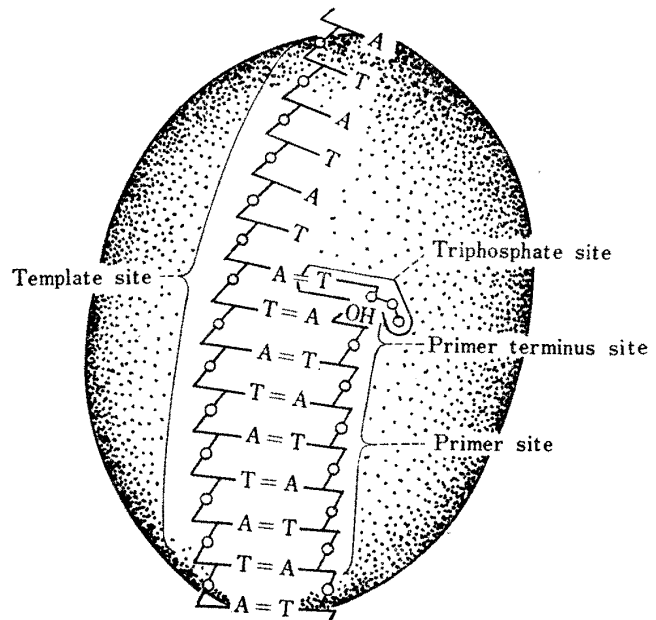


図 4 DNA polymerase の活性中心における各部位²⁾

そのほか, DNA polymerase I には, polymerase 活性とともに, 5'→3' exonuclease 活性と 3'→5' exonuclease 活性が存在することが知られているが, 最近 Brutlag (1969)³⁾ および Klenow (1970)⁴⁾ は別々に, DNA polymerase I を subtilisin または tripsin などで限定分解して, 分子量 75,000 と 36,000 の 2 つのフラグメントを得た。前者には-S-S-基, SH 基各 1 個および primer site, triphosphate site が存在し, また polymerase 活性と 3'→5' nuclease 活性が保有されている。後者の小フラグメントには polymerase 活性なく, 5'→3' nuclease 活性を有する。この両フラグメントは, 単なる混合では結合しないが, 切れ目 (nick) のある DNA を加えると DNA-酵素複合体を形成し, polymerase I の活性を復活するという。

なお, 従来 DNA polymerase I によって, *in vitro* で生物活性を有する DNA 生成物を得ることは各研究グループが目指した長年の目標であったが, これも Kornberg グループによって達成された(1967)。すなわち, 環状 1 重鎖 DNA (+鎖) をもつ ϕ X 174 ファージ, 大腸菌 DNA polymerase I, DNA ligase, 大腸菌煮沸抽出液および基質を加えて反応させると, (+)鎖に相補性を有する (-)鎖 DNA が合成され, 2 重鎖 DNA (replicative form) と

なる。これから、一度(-)鎖を単離して、これを鋳型として同様の方法で(+)鎖を合成させる。ここに得られた(+)鎖、(-)鎖、replicative form DNA はいずれも ϕ X 174 フェージとしての感染力を有することが明らかにされた。

では、DNA polymerase I は細胞の中でどのように利用されているのだろうか。その生物学的意義は何か。Kornberg の酵素は発見当初、この酵素が *in vitro* はもちろん *in vivo* でも、真正に DNA の複製を行っていると考えられていた。しかし、1969年、Lucia & Cairns⁵⁾ によって決定的ともいえる反証が報告された。彼らは DNA polymerase I を欠損する大腸菌変異株 *pol A-* を分離し、この酵素がなくても増殖し得る大腸菌が存在すること、すなわちこの酵素が大腸菌の増殖に不可欠のものでないことを示した。すでに、Kornberg 自身、この polymerase I によって合成された DNA が、電顕像で多くの枝分れをもったものであることを確めており、branching enzyme の名で疑問が残されていたのである。現在、DNA polymerase I の *in vivo* における意義はおそらく DNA の切れ目の修復にあずかるものと推定されている。すなわち、DNA polymerase I を欠く *poly A-* 株が紫外線や X 線による irradiation や種々の突然変異剤に感受性の高いこと、染色体欠損のおこり易いことなどから、逆に DNA polymerase I が DNA 障害の修復を行っていることが示唆される。

DNA polymerase I の反応形式は、2重鎖 DNA の一方の鎖の切れ目に結合し(切れ目のない完全な環状2重鎖 DNA には結合しない)、この切れ目に在る、部分 DNA をプライマーとして重合反応が進行する。また別に、Kornberg らはこのプライマーの 3' 末端が相手の鋳型 DNA と正しい塩基対を形成していないときは、この部分がとり除かれ、正しい塩基対のときはこの作用がみとめられないこと、そして、この加水分解による除去は、DNA polymerase I に存在する 3'→5' exonuclease 活性によることを明らかにした。また 5'→3' exonuclease 活性については2重鎖の DNA の切れ目にある 5' 末端に作用して、正しい塩基対を形成しない場合や、紫外線照射によって thymine dimer を形成した場合、これらを除去する作用のあることを実証した。⁶⁾ すなわち、現在、DNA polymerase I はその polymerase 活性と nuclease 活性によって DNA 鎖の障害部分 (mismatched region) をとり除き、欠損 DNA 鎖を正しい DNA 鎖と交換する校正機能 (editorial function) を果していると考えられている。では、*in vivo* において真正に DNA を複製している酵素は何か。

2) DNA polymerase II および III^{7)~9)}

DNA polymerase II および III は、1970年、T. Kornberg ら (T.K. は A. Kornberg の息子) や他の研究室において、大腸菌 *pol A-* 株の膜分画 (細胞膜-DNA 複合体) から分離された新しい DNA 合成酵素である。従来の酵素と区別して、A. Kornberg の酵素を DNA polymerase I、新しく膜分画より得られた2種の酵素は DNA polymerase II および III と名づけられた。

DNA polymerase II および III は I と異って、SH 阻害剤や高濃度 KCl によって阻害をうけ、鋳型として大腸菌 exonuclease III で nick 処理をした2重鎖 DNA を要求する。また II と I は、クロマト挙動、免疫的、熱安定性において区別される。II は polymerase 活性とともに、3'→5' exonuclease 活性を有する。分子量は約 120,000 で、4種の dNTP を基質とし、Mg²⁺、NH₄⁺ および鋳型 DNA とともに 3'-OH 末端を有するプライマー DNA を必要とする。反応速度は 40~60 nucleotides/sec で、5'→3' の方向に重合は進行する。

DNA polymerase III についてはまだ明らかでないが、T. Kornberg¹⁰⁾ らは最近、*pol A-* でかつ温度感受性の double mutant をいくつか使って、polymerase II は温度感受性でなく、III は感受性であることを示した。とくに変異株のうちの一つ、*dna E* は 42° で DNA を複製できないことがわかっているが、*dna E* 株より得られた DNA polymerase III は 45° において全く活性を示さなかった。これらの結果から、彼らは DNA polymerase III の構造遺伝子は大腸菌 *dna E* locus に位置し、かつ *in vivo* での DNA 複製に与る酵素であると結論した。しかし、こ

の Kornberg らの断定は重要であるにしても、十分に明確であるとはいえない。今後の解析を待ちたい。またⅡ、Ⅲにつづく、さらに新しい DNA polymerase の発見も期待される。

3) 動物細胞 DNA polymerase

動物細胞の DNA polymerase については、現在細胞質の可溶性の DNA polymerase が数多く分離されているが、臓器、オルガネラによって分子種が存在するらしく、必ずしもその性状、種類、機能などまだ整理できる段階になっていない。とくに DNA 合成の場といわれる核膜分画からの不溶性 DNA polymerase の分離精製が期待される。Bollum ら (1971)¹²⁾ はウサギの各種臓器から DNA polymerase を分離し、6~8S (分子量約 100,000) のほかに骨髄から 3.3S の DNA polymerase (分子量約 30,000~40,000) を分離し、これは Weissbach ら (後述) が HeLa 細胞から得た核 DNA polymerase I と一致したことを報告している。また山田ら (1971)¹⁴⁾ はとくに核膜分画の DNA polymerase 活性に注目し、HeLa 細胞の核から核質、核小体、核膜、クロマチン分画を得て DNA polymerase 活性をみた。その結果、核小体、核質分画にはほとんど活性がなく、核内の活性は大部分クロマチン分画および核膜分画にみとめられたという。そのほか、Yoshida ら (1971)¹⁷⁾ は仔ウソ胸腺細胞の核膜分画に DNA polymerase があることを報告し、浮田ら (1971)¹⁸⁾ はラット肝癌 AH 108 A 細胞の核膜分画から 2 種の DNA polymerase を分離精製している。

Weissbach ら (1970)¹³⁾ は HeLa 細胞の核分画から DEAE-セルローズ、P-セルローズカラムを使用して、核 DNA polymerase I および II を分離した。I は核のみに見出される新しい酵素で、II は細胞質 DNA polymerase に一致すると報告している。また細胞質 polymerase を含めて、ミトコンドリア、¹⁵⁾ リボゾーム、¹⁶⁾ 滑面小胞体、¹⁶⁾ chick embryo⁴²⁾⁴³⁾ などの DNA polymerase が報告されている。

4) DNA ligase^{21)~23)}

2 重鎖 DNA のうちの一方の 1 重鎖の切断部位 (nick) が *in vitro* で修復される現象を最初に見出したのは M. Gellert (1967) である。この酵素の発見によって、DNA が放射線や紫外線によって特異的な障害をうけ、これが修復される機構や、さらには DNA 複製の機構について、酵素レベルでの説明が可能になったといえよう。

現在、DNA ligase は大腸菌 ligase と T4 ファージ感染菌 ligase の 2 種が精製されている。両者とも 2 重鎖 DNA のうちの 1 重鎖 DNA にある刻め目の 5'-phosphate と 3'-OH の間の phosphodiester 結合を行う。補酵素として、大腸菌 ligase は NAD を、T4 ファージ感染菌 ligase は ATP を要求する点異なるが、反応機構 (図 5) として、両者とも酵素-ANP 複合体を中間体として経ると考えられている。そして、この DNA ligase に結合した AMP が、DNA の nick 5'-P 末端の phosphate と結合し、この結合によって活性化された 5'-P 末端が、隣接する 3'-OH 末端と反応して phosphodiester 結合を形成すると推定されている。²⁴⁾ なお哺乳動物の ligase は ATP 要求性である。

DNA ligase は大腸菌または T4 ファージ感染大腸菌の粗抽出液から、ストレプトマイシン処理、硫酸分画、DEAE-セルローズ、P-セルローズ、DEAE-セファディクスカラムなどで分画精製される。大腸菌 ligase は分子量 74,000、NAD、Mg⁺⁺ を要求する。0.1 M KCl によって活性化され、熱変性に高い感受性を示す。

DNA ligase の生理的機能としては、DNA の刻め目の修復や組換えに要求されると考えられている。たとえば、λ ファージ DNA は感染後、その cohesive end (末端 1 重鎖部分) は共有結合によって環状構造となるが、*in vitro* でこの反応は、DNA ligase で行なわれることがたしかめられた。また T5 ファージ DNA はその 2 重鎖構造のうち合計 4 個の nick をもっている。これらは感染後、大腸菌体内で速かに修復されるが、Jacquemin-Sablou & Richardson (1968)²⁹⁾ は、この T5 DNA の刻め目を T4 ligase によって *in vitro* で修復することに成功した。

現在、DNA 障害の修復についてよく研究されているのは紫外線障害に対する除去修復 (暗回復) 機構で、次の段

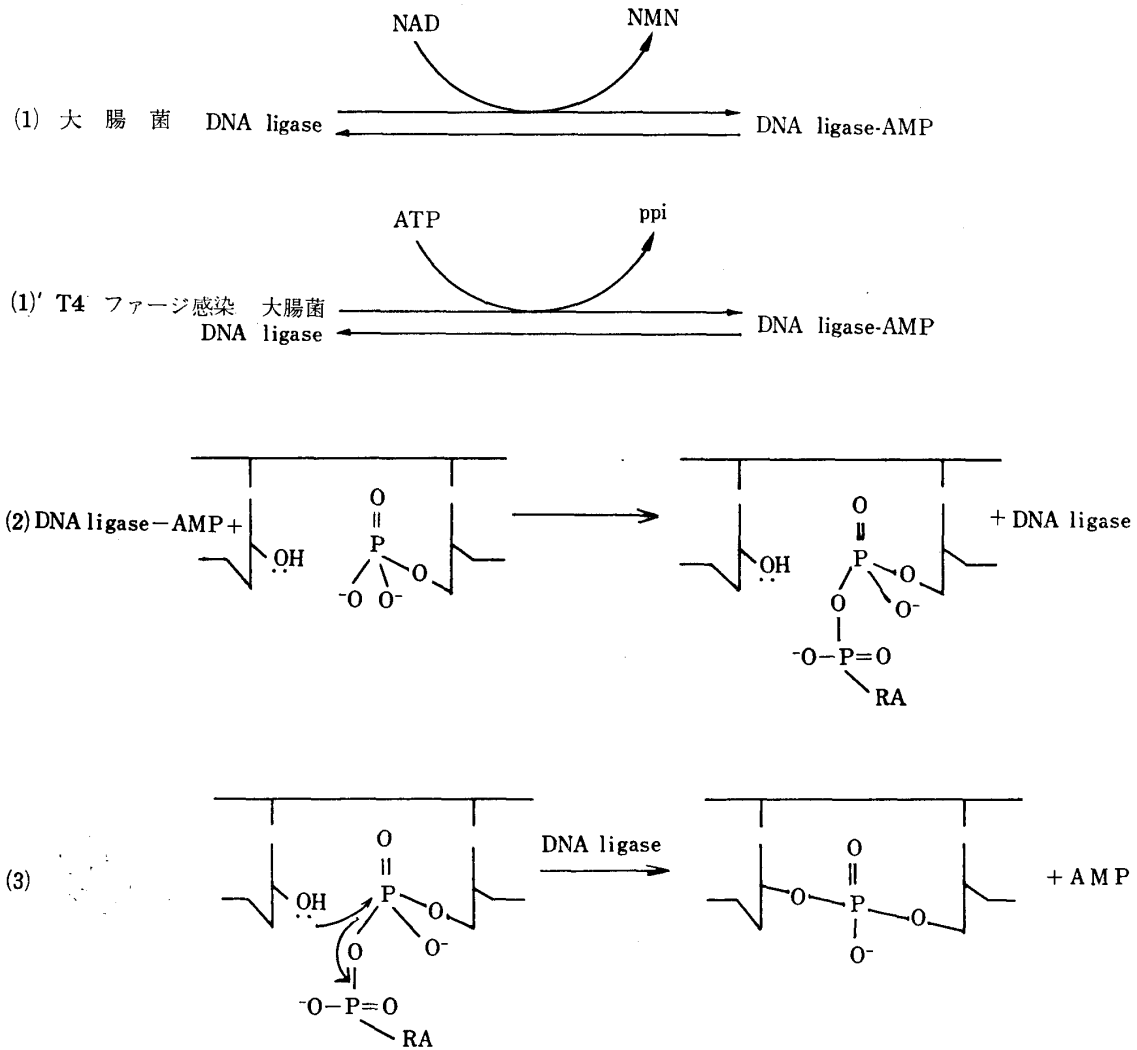


図5 DNA ligase の反応機構²⁴⁾

階を経て行なわれると考えられている (図6)⁴⁶⁾。① 2重鎖 DNA のうちの一方の DNA 鎖に生じた損傷部位が認識されて、刻め目が入り、② その部分が除去される (excision)。③ 除去部分にできた空隙には、反対側の無損傷の DNA 鎖を鋳型として相補的な deoxynucleotide がとりこまれ、新しい部分 DNA が合成される (repair replication)。④ 新しく合成された部分 DNA 末端とそれに隣接する元の DNA 鎖末端の刻め目が結合される (joining)。

これらの過程にはおそらく数種の酵素が働くと考えられる。①の段階で、第1の incision (障害部分に刻め目が入る) に働く酵素として UV 特異的な endonuclease、② 第2の incision (障害部分の除去) には 5'→3' exonuclease (または endonuclease) が働くと考えられる。③ の段階の部分 DNA 鎖の新合成には DNA polymerase I、最後の④の刻め目の結合修復には本項の DNA ligase が関与する可能性が考えられている。この DNA ligase の *in vivo* における機能の立証性としては、大腸菌でこの酵素支配の遺伝子変異株 (*lig*) のなかに紫外線感受性の高いものがあることから推定されている。²⁵⁾²⁶⁾ また、DNA polymerase I については、*in vitro* で除去や修復のよく行なわれることは既述のごとくであるが、*pol A*-変異株で *in vivo* の修復合成活性をみると、野性株に比しやや低い程度でその

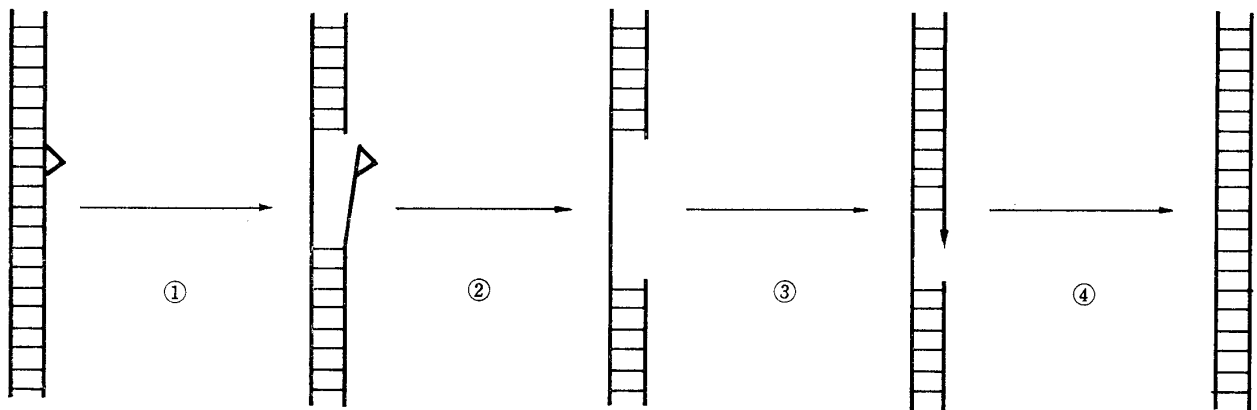


図6 損傷(紫外線照射) DNA の除去修復機構⁴⁶⁾

差異は明かでないという。²⁷⁾²⁸⁾ DNA polymerase I が修復酵素として *in vivo* で本当に働いているかどうかは、他の酵素の存在も考えられ、安易に断定はできない。

5) DNA 複製の機構

DNA 複製の機構については、すでに明らかにされた事実と、今後さらに明らかにされなければならぬ問題点を含めて、いくつかの基本的な特徴が指摘される。

(1) まず複製は半保存的に行なわれる(semi-conservative replication)という法則である。Meselson-Stahl(1958)の大腸菌による古典的実証は有名であるが、Sybalski ら(1960)の動物細胞、Sueoka(1960)のミトコンドリア DNA、その他数多くの実験によっても確認されている。親の DNA の2本鎖が開裂し、その1本鎖がそれぞれ鋳型となって、Watson-Crick モデルの相補性に従った新しい子 DNA 鎖が合成される。もとの親 DNA と対になった子 DNA 鎖ができるわけであるが、その新しい2本鎖 DNA の一方は親からきた DNA であり、他方は新合成の DNA であることを半保存性という。

(2) 複製は同一の複製開始点より両側へ2方向に(bidirectional)に行なわれる。Cairns(1963)が大腸菌で行った古典的実験は現在も支持されている(図7)。大腸菌、 λ 、T4、T2 フェージはすべて2方向に進行する。動物細胞(Huberman, 1968)³⁰⁾では1個の DNA 分子鎖に数ヶ所の複製開始点があるが、1個所の開始点から両側へ2方向に進行するのは細菌と同様である(図8)。ただし、枯草菌、P₂ フェージでは1方向性の複製形式であることがたしかめられており、動物細胞でも1方向性の存在が主張されているので、現在のところ1方向性形式の存在も無視できない。

(3) DNA の複製開始点は細胞膜に結合している。DNA が膜に結合しているであろうという仮説はすでに Jacob ら(1963)によって提出されていたが、ついで、Jacob & Ryter(1964)は電顕像によって枯草菌の DNA の一部分が細胞膜の mesosome に結合していることを示唆した。以来、Smith & Hanawalt(1967)³¹⁾による大腸菌(複製点が細胞膜に結合)、Sueoka & Quinn(1968)³²⁾による枯草菌(複製開始点、複製点および終了点が細胞膜に結合)、動物細胞では Comings & Kakefuda(1968)³³⁾によるヒト羊膜細胞(複製開始点が核膜に結合)の場合などが明らかにされた(図9)。とくに細菌において複製開始点、終了点および複製点が細胞膜上にあることは、不溶性の膜分画から得られた DNA polymerase II、とくに III の存在と符合して、DNA 合成が細胞膜と密接な関係のあることを示唆している。なお、動物細胞では複製点(成長点)は核膜と関係なく、開始点のみが核膜と結合しているという、Comings らの主張に対し、Yamada ら(1971)¹⁴⁾³⁴⁾は HeLa 細胞を用いた実験で、DNA は cell cycle を通じて核膜に結合しているが、複製点も核膜上にあり、複製が終るごとに漸次 DNA が核膜からはなれてゆくと反論している。

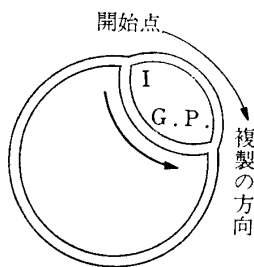


図7 細菌染色体の複製のモデル。大腸菌染色体の複製。染色体は部分的に複製されている。Iは開始点と終了点，G.P.は複製の生長点である。このような複製は細胞分裂中に起こり40分間で完了すると考えられている。
J. Cairns, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 28, 43 (1963).

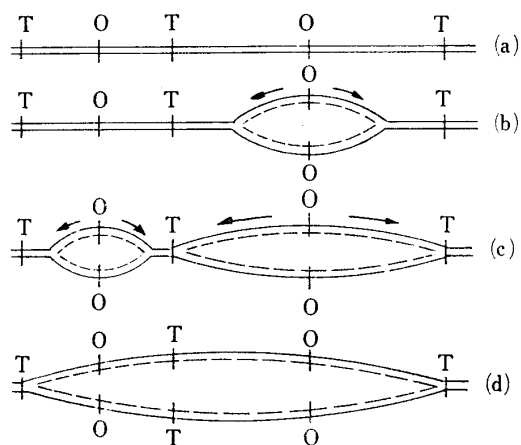


図8 染色体 DNA の2方向性複製モデル。³⁰⁾ O=複製起点，T=終点，TOT=複製単位，(a)複製前，(b)複製の初め，(c)1単位完了と第2の開始，(d)両単位完了。

(4) DNA 複製開始には膜蛋白質 (initiator protein) が関与する。DNA の複製開始には蛋白合成が必要である。そして DNA 合成がいったん開始されてしまうと、蛋白合成が阻害されても、複製は進行して終了までゆく。この蛋白質の種類や性質については現在明らかでないが、そのひとつとして、Alberts ら (1970)³⁵⁾ によって精製された gene 32 蛋白がある。この蛋白は T4 ファージ感染菌から分離され、分子量約 35,000 の酸性蛋白質である。DNA の複製の組換え (recombination) に働く。DNA 1本鎖に特異的に結合し、2重鎖 DNA の開裂の際の T_m (融解温度) を低下させ、常温で開裂が行なわれるようにする。また T4 DNA polymerase と特異的に結合する。in vitro 反応系にこの 32 蛋白を加えると、DNA polymerase の活性を促進するのはもちろん、RNA 合成系においても RNA 合成を促進する。おそらく、この蛋白の働きは、その DNA の局所的な denaturation (開裂)—renaturation によって複製や組換えをおこすものと考えられる。そのほか、Wang (1971)³⁶⁾ が大腸菌より精製した ω 蛋白は、 λ ファージの supercoiling DNA に働き、鎖を切断しないで解きほぐす (relax) 作用をもち、また Helinski ら (1970, 1971)³⁷⁾³⁸⁾ の relaxation complex (ColE1 DNA) も同様の作用をもつ蛋白と考えられる。今後この種の蛋白の分離精製とともに、その性格づけ、生物学的意義の解明が望まれる。

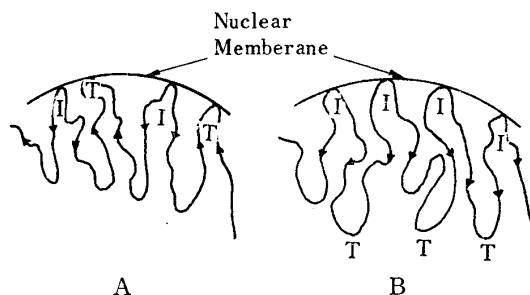
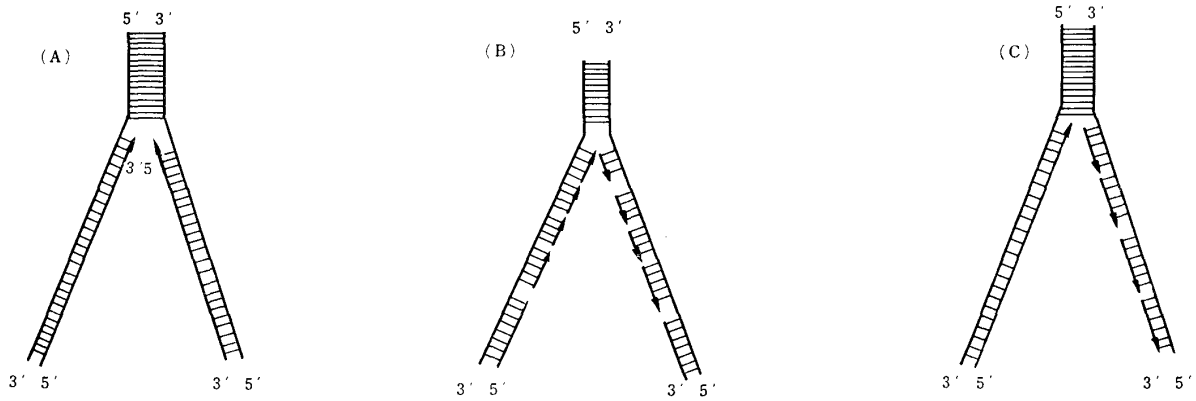


図9 真核細胞の間期染色体の核膜への付着と複製に関するモデル。IはDNA合成の開始部位を、Tはその終了部位(A、Bで異なる)を示す。J.E. Hearst, M. Botchan, *Ann. Rev. Biochem.*, 39, 151 (1970).

(5) DNA 複製は不連続的に行なわれる (Discontinuous replication, 岡崎モデル)³⁹⁾。多くの反論を否定して、現在では説得力ある実証をとめない強固なモデルとして受入れられるにいたった。詳細な説明はさけるが、岡崎らの研究の端緒は、Kornberg の DNA polymerase をはじめ、現在までに知られた DNA 合成酵素は、すべて DNA 鎖を 5'→3' の方向に合成を行い、3'→5' 方向へ行く能力をもっていないにもかかわらず、従来 DNA 2重鎖は片方の鎖が 5'→3' の方向に、もう一方の鎖は 3'→5' の方向へ連続的に伸長するであろう (図10—A) と、証拠もなく考えられていた矛盾にあった。岡崎らはこの疑問を解決して、DNA の複製は ① まず短かい segment の合成があり、② その間隙をうめる反応 (gap filling) がつづき、③ 最後にその刻め目を結合すること (joining) によって完了すると



(A) 両鎖とも連続で不可と考えられる

(B) 岡崎不連続モデル

(C) 片方が連続で、もう一方が不連続の複製のモデル

図10 DNA 複製のモデル

いう (図10-B), いわゆる不連続複製モデルを確立した. そして, この各段階に参与する合成酵素として, 現在①の段階で真正の DNA polymerase (あるいは DNA polymerase III か), ②では DNA polymerase I, ③では DNA ligase をあてはめて推定されているが, *in vivo* において真正に働く酵素についてはまだ明らかでなく, 今後の問題である. 詳細については岡崎のこんせつな綜説を参照していただきたい. 最近, Okazaki ら (1972)⁴⁰⁾ はさらにこのモデルに附加して, ①の段階の short segment 合成に先だて, DNA 鎖上でまづ RNA 鎖が合成され, これをプライマーにして DNA segment が合成されるという新しい機序を報告した. RNA 合成によって DNA 合成の読み始め (initiation) が決定されるとするものであるが, A. Kornberg ら (1971)⁴¹⁾ もすでに大腸菌を用いて, *in vivo* で RNA polymerase によって DNA 鎖鋳型上に合成された RNA が, DNA 合成のプライマーになっていることを示し, Chargaff (1971)⁴²⁾ も chick embryo で同様の結果を示している. そのほか, これを支持する報告が最近相ついで¹²⁾⁴³⁾⁴⁴⁾ いる. なお, 動物細胞においても DNA 合成が不連続に進行し, short segment 合成につづいてこれが連結されてゆくことが確かめられている.⁴⁷⁾⁴⁸⁾ ただし, P₂ フェージ系では, 一方の DNA 鎖 (L 鎖) は不連続であるが, 他方 (H 鎖)

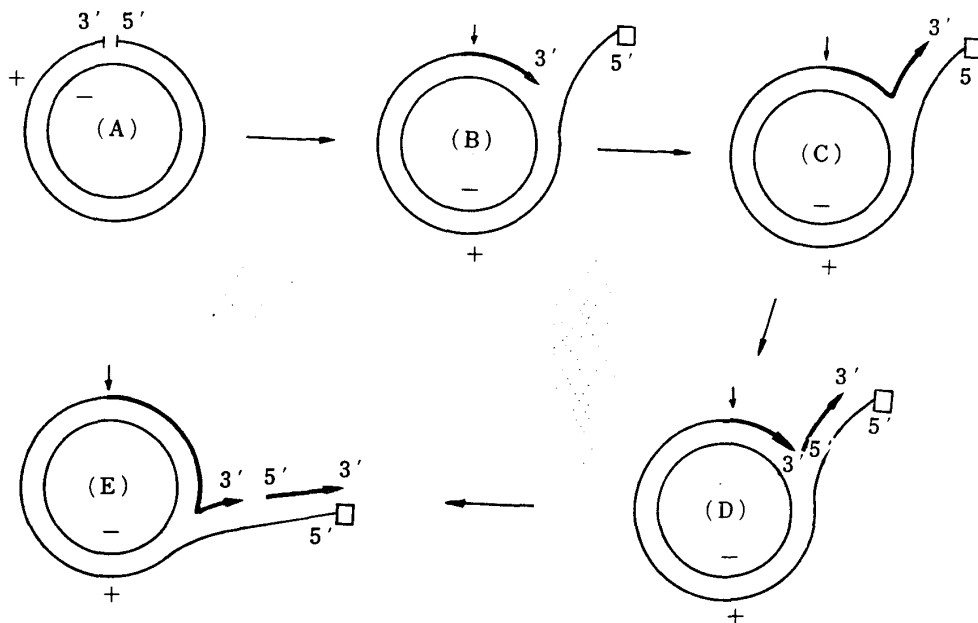


図11 Gilbert の rolling circle model. 太線は *de novo* に合成された新しい DNA 鎖, 細線は親 DNA 鎖を示す. □は 5' 末端結合部位 (細胞膜).²¹⁾

は連続的に行なわれる (図10—C).

また、この不連続性モデルに対し、輪ころがし (rolling circle)⁴⁵⁾モデルの提唱がある(図11). 環状2重鎖 DNA の片方の鎖に endonuclease によって nick が入る. 5'-P 末端は細胞膜に結合し, DNA 鎖は回転によって巻きもどしができる. 一方 3'-OH 末端に DNA polymerase による dNTP の付加につづき, DNA 合成が 5'→3' の方向へ進行する. 5'-P 末端につづく DNA 鎖を鋳型とする DNA 合成も, 5'→3' の方向へ短鎖が合成され, 最後に DNA ligase で連結される. どちらにしても, この両モデルは現在のところ重要な仮説で, 環状 DNA (ウイルス, 細菌に多い), 線状 DNA (動物細胞に多い) など DNA の存在様式とも関連して興味深い.

DNA 合成酵素に関連して, DNA の複製機構について現在までの知見を簡単にまとめた. しかし, 複製の機序についてはまだまだ不明の点が多い. まず *in vivo* における真正の DNA 合成にあずかる DNA polymerase が確認されなければならない. また DNA 複製と細胞膜 (動物細胞では核膜) の相互作用が明らかにされること, さらに DNA の複製が膜のみで起るのか, 膜以外の場所でも DNA 合成が行なわれているのかなど, 今後の課題であろう.

6) RNA dependent DNA polymerase (reverse transcriptase)¹²⁰⁾

1970年, Temin & Mizutani⁴⁹⁾ および Baltimore⁵⁰⁾ によって RNA 腫瘍ウイルスの virion 中に1重鎖 RNA を鋳型として DNA 合成を行う酵素が発見された. Temin らは Rous 肉腫ウイルス, Baltimore は Rauscher マウス白血病ウイルスと Rous 肉腫ウイルスを使用している. 彼らは超遠心処理などで分離精製したウイルス粒子を, nonionic detergent を加えてこわし, 4種類の dNTP, Mg²⁺ (または Mn²⁺) および鋳型 RNA を加えて反応させた. そして, その生成酸不溶部に ³H-TMP のとりこみがあること, またその生成物が DNase によって分解され, RNase やアルカリ処理で分解されないこと, またその反応が RNase 処理によって70~80%阻害されることなどから, RNA 依存の DNA polymerase であることを確証した. 現在, 精製酵素は分子量約70,000あるいは約110,000といわれている.

そのほか, 種々の腫瘍ウイルスからも同様に本酵素が見出されている. また, 腫瘍ウイルスばかりでなく, 腫瘍性がないと考えられているウイルスの virion^{60)~62)} や, 腫瘍細胞, 正常細胞からもこの酵素が抽出され, これが必ずしも腫瘍ウイルスに特異的でないことが明らかにされた. しかし, 腫瘍ウイルスの酵素と正常細胞の酵素の性質は両者明らかに異っていることが示されている. Scolnick ら (1971)⁵¹⁾⁵²⁾ は Rauscher マウス白血病ウイルス, マウス sarcoma ウイルスを transform させた細胞およびマウス正常細胞の3者から, 本酵素を分離精製して, それぞれを比較した. その結果, transform 細胞から得られた酵素分画はセフアデクス-100およびP-セルローズカラムで, 2つのピークを示し, 一方は正常細胞からの酵素, 他方はウイルスからの酵素と一致した. また正常細胞からの酵素はウイルスの virion から得られる抗血清で失活せず, ウイルスからの酵素は失活する. またこの抗血清はウイルスの gs 抗原とは無関係である. これらのことからウイルスと正常細胞から得られる酵素は互いに異なることが明らかになった. なお, 彼らが得たウイルス酵素の分子量は約70,000と報告されている.

そのほか, Duesberg ら (1971)⁶⁸⁾ も Rous 肉腫ウイルスから本酵素を分離精製しているが, この酵素は8S (分子量約170,000) で, RNase 処理により6S (分子量約110,000) になる. この酵素は RNA 依存と DNA 依存の DNA 合成活性の両者を有し, これが分離できないことから同一酵素に2つの活性があると述べている. Spiegelman ら (1971)⁶⁹⁾ の AMV (avian myeloblastis virus) から得た酵素も, RNA 鎖と DNA 鎖を鋳型とする両活性を有する. しかし, この酵素は分子量約110,000と69,000の2つの subunit からなるという. また本酵素による DNA 合成開始にはプライマー RNA が必要であり, 合成された DNA はプライマー RNA と共有結合していることが, Baltimore ら (1971)⁷⁰⁾ によってたしかめられている.

現在、この reverse transcriptase の生物学的意義については、ウイルスのゲノムが宿主細胞に組込まれる過程で、一度 RNA から DNA に転写される際に働くと思われている。これはすでに 1964 年 Temin によって提出された Provirus 説を支持するもので、RNA 型腫瘍ウイルスの増殖や発癌にも DNA が関与するという可能性を示唆している。現在まで、ヒトの癌とそのウイルス起因説の関係はなお明らかでない。しかし、Gallo ら (1970)⁶³⁾ によるヒト白血病細胞 (リンパ芽球) に本酵素が見出されたという報告、Spiegelman (1972)⁷¹⁾ のヒト乳癌細胞中にマウス乳癌ウイルス RNA と homology をもつ RNA が存在するという報告など、ヒト癌のウイルス起因説の可能性を無視することはできない。そのほか、最近 Varmus ら (1972)⁷²⁾ は、トリ腫瘍ウイルス RNA から合成した DNA と homology である DNA が、正常および transform されたニワトリとウズラの細胞中に存在することを報告した。

また別に、Ross ら (1972)⁷³⁾、および Verma ら (1972)⁷⁸⁾ はウサギの globin mRNA を鋳型として相補的な DNA を *in vitro* で合成したが、同種の実験はヒト赤血球 globin mRNA でも行なわれている。これらの手法は globin 蛋白合成の鋳型となる DNA, m-RNA の同定、定量などの解析を目指すものであり、今後の発展が期待される。

また、最近この reverse transcriptase が正常細胞において発生期 DNA の増幅合成に働いていることが報告された。*Xenopus laevis* (南アフリカ産ツメガエル) の卵細胞では減数分裂パキテン期に rDNA (rRNA 合成の鋳型) が選択的に合成増幅されて全 DNA の 70% となり、核内に cap として染色されることが知られている。Crippa ら (1971)⁷⁴⁾ は *Xenopus* の変態中のオタマジャクシの卵巣から DNA, RNA を分離して、r-DNA 増幅合成期に合成される RNA の中に、rDNA の鋳型となる RNA が存在することを見出した。そしてこの rDNA の増幅合成は reverse transcriptase によって行なわれていることを、その特異的阻害剤である 2',5'-dimethyl-N(4')-benzyl-N(4') [desmethyl] rifamycin によって rDNA の合成が阻害されることから立証した。また Ficq & Brachet (1971)⁷⁵⁾ も *Xenopus* の卵細胞における rDNA 合成をオートラジオグラフィによって調べ、cap に存在する rDNA への ³H-thymidine のとりこみが、やはり 2',5'-dimethyl-N(4')-benzyl-N(4') [desmethyl] rifamycin によって抑えられることから、reverse transcriptase が rDNA 増幅合成に関与していること示した。これとは別に、最近 Cavalieri (1970)⁷⁶⁾ は、大腸菌 DNA 依存 RNA polymerase に対して、5 SRNA や rRNA が鋳型として活性をもつことを報告している。

DNA 合成酵素のうち、とくに DNA polymerase II や III, あるいは reverse transcriptase などはやっと研究が始まったばかりである。これらの酵素が関与するであろう複製機構や修復機構、さらには reverse transcriptase と発癌機作のかかわり合いについても、それが明らかにされるにはまだ時日が必要である。しかし、上述の Crippa らの報告のごとく正常細胞中にも RNA→DNA の経路が存在する可能性が示唆されたことは、今後の分子生物学の方向に対し重要な課題が提出されたといえよう。

III RNA 合成酵素

1) 大腸菌 DNA dependent RNA polymerase^{79),80)}

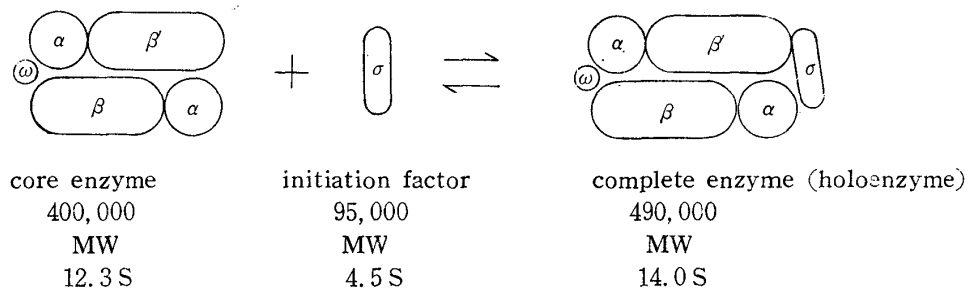
本酵素による RNA 合成反応は、基質として 4 種の NTP, 2 価イオン Mn^{2+} , Mg^{2+} および鋳型 DNA を要求する。RNA 鎖が 5'→3' の方向に合成されるのは DNA polymerase の場合と同様である。鋳型として native DNA (天然の損傷されていない DNA) を用いるときは非対称の RNA 合成が行なわれる。すなわち、2 重鎖 DNA の一方の鎖のみが鋳型として使われ、他方は使われない。RNA の合成速度は *in vitro* で、T7 DNA の場合 7 nucleotides/sec, 大腸菌 DNA で 14~15 nucleotides/sec の値が得られていたが、*in vivo* における基質濃度に換算して 40~

80 nucleotides/sec の値が得られ、これは *in vivo* に大体対応する速度 (40~100 nucleotides/sec) であるという。⁸¹⁾

大腸菌ばかりでなく、枯草菌, *M. lysodeikticus* などの細菌の磨砕上清液から分離精製される。多様な subunit 構成のため極めて不安定で、精製酵素は普通 50% グリセロール中低温で保存される。分子量は約 50 万 (470,000—49,000), 14.9 S。低塩濃度液 (0.1 M 以下) で dimer を形成するが、DNA の添加によって単量体となり、これが活性型と考えられている。

RNA polymerase の subunit 構成とその機能については、1969 年 Burgess らによって先駆的に明らかにされた。⁸²⁾ 酵素を P-セルローズカラムに通すと、 σ 因子が容易に解離し、この σ を欠いた酵素はコア酵素 (core enzyme) と呼ばれた。単量体を尿素あるいは SDS 処理すると 2 分子の α , 1 分子ずつの β , β' , σ , ω 各 subunit に解離することが明らかになっている。そして、尿素を除くと再び会合し、そのとき DNA を共存させると正しい立体配置を保つ完全酵素 (holoenzyme) に再構成される。これら各 subunit の分子量やその構成は図 12 の如く推定されている。⁸²⁾

また一方、RNA polymerase による *in vitro* の転写 (transcription) 反応は、次の 4 段階に整理して考えられている。(1) 鋳型 DNA と酵素の特異的結合 (template binding), (2) 第 1 番目, 第 2 番目の NTP の結合による DNA-酵素-基質複合体の形成 (initiation), (3) phosphodiester 結合反応が進行して RNA 鎖が伸長する (chain elongation), (4) 合成終了 (termination) (図 13)。



subunit	分子量 (dalton)
α	39,000—41,000
β	145,000—155,000
β'	150,000—165,000
ω	9,000—12,000
σ	85,000—95,000

図 12 RNA polymerase の subunit 構造⁸²⁾

そして、この RNA 合成反応過程とそれに働く RNA polymerase の各 subunit の分担機能は、現在次のように関係づけられ推定されている。すなわち、RNA polymerase の各 subunit のうち、 β' は鋳型 DNA に結合し、DNA-酵素複合体が形成させる (template binding)。 σ は DNA オペロンの promotor site (転写開始点) を認識し、* かつその部分の 2 重鎖 DNA の開裂させ活性化させる (initiation)。 β は基質 NTP を結合し、phosphodiester 結合によって RNA 鎖を重合してゆく反応を触媒する (initiation & chain elongation)。また RNA polymerase の構成成分でないが、DNA 鎖上の termination site (合成終了点) に結合して RNA 合成を終了させる ρ 因子が見出されている (termination)。

* コア酵素も promotor 部位に結合する能力があり、⁸⁶⁾ σ subunit に特異的な promotor 認識能力があるかどうかには疑問が残る。

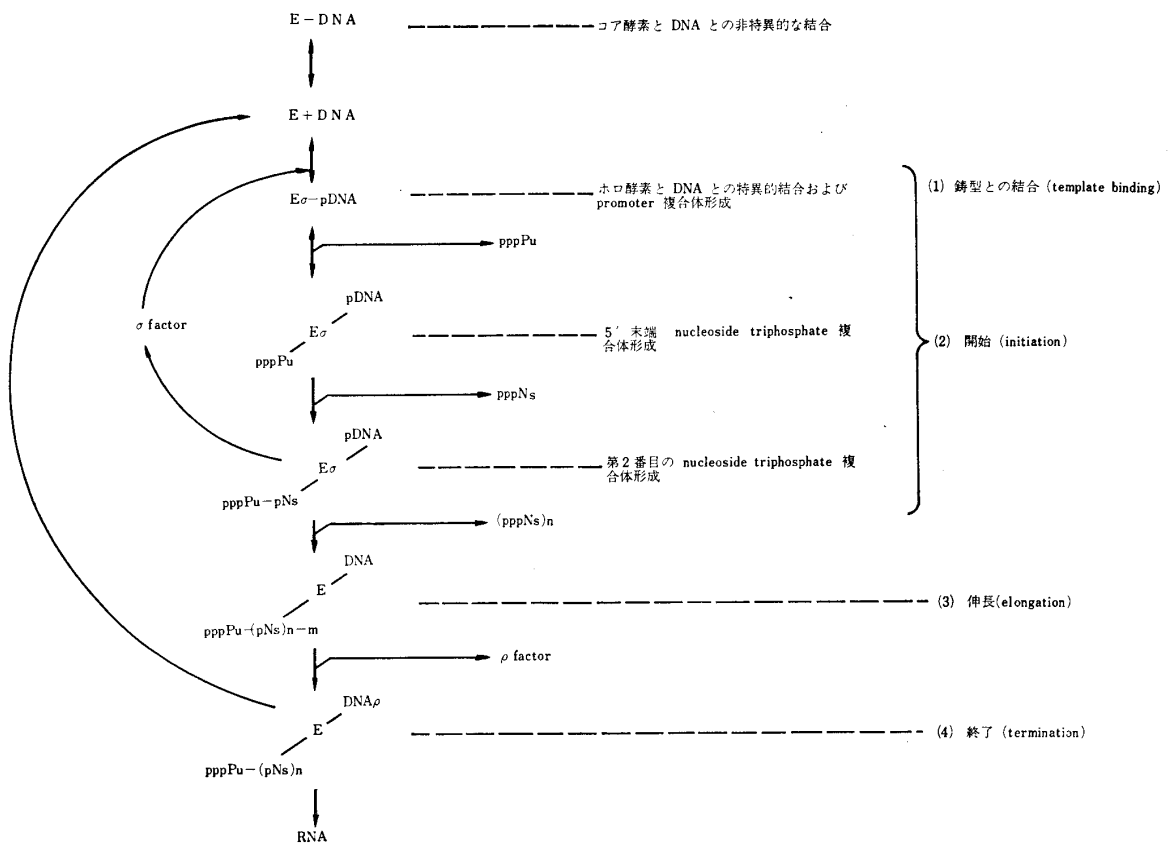


図13 RNA polymerase による転写反応の過程. Eは core enzyme, Eσは holoenzyme, pppPuは purine nucleoside triphosphate, pppNsは nucleoside triphosphate をそれぞれ表わす. 5'末端 pppPuは triphosphate のまま保持される.

σ subunit の機能については (1) コア酵素のみでは環状 2 重鎖の T4 DNA を鋳型とすることができない. しかし, これに σ を加えると活性は正常レベルに回復する. また合成が開始されてしまうと, σ によっても反応速度の促進効果はみられない. また RNA 合成が開始された σ は酵素複合体から遊離して, 次の反応開始に再利用される (σ cycle).⁸³⁾ これらの結果から, σ は RNA の合成開始にのみ必要であることが確められた. また (2) 上述のように T4 DNA はコア酵素の鋳型になりえないが, この DNA を DNase または機械的処理によって切断すると, コア酵素でもこれを鋳型とすることができる.⁸⁴⁾ すなわち, σ には環状 DNA を部分的に開裂させ, RNA 合成の開始を促す機能があると結論された.

しかし, 現在 DNA 鎖上の RNA 合成開始点(promotor)の nucleotide 構造はどのようであり, それが σ もしくは他のどのような因子によって, いかん認識されるのか—DNA の合成開始点もあるいは RNA polymerase 系によって認識されているという可能性は前述の DNA 複製機構の報告からも示唆される—など, initiation の機構はまだ明かでない. しかし, RNA polymerase によって合成された polynucleotide の 5'-末端部分の塩基には purine nucleotide が存在すること, また, 反応開始に先だつ酵素-DNA 複合体にはまず purine nucleoside triphosphate が結合することから, おそらく DNA の promoter 部位は pyrimidine 塩基であろう推定される. なお, この 5'-末端の nucleotide のみは pyrophosphate を遊離せず, triphosphate のまま保持される.

以上の知見などを要約して, 最近 Zillig ら (1970) は initiation 複合体の形成過程のモデルを提出しているが

(図14), state I はコア酵素と DNA の非特異的結合 (反応開始に移行しない), state II は完全酵素 (holoenzyme) と DNA の特異的結合 (反応開始に移行し得る), state III は反応温度 (20°以上) に至って複合体は反応型へ可変し, state IV において第1番目の基質 purine nucleoside triphosphate が結合して initiation (反応開始) の段階に到達したことを示す.

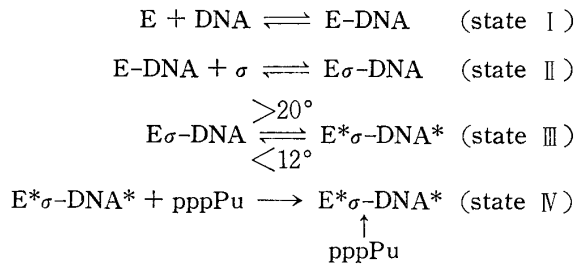


図14 RNA 合成開始 (initiation) における RNA polymerase と DNA の結合機序⁸⁶⁾

そのほか, β および β' subunit については, (1) まず, σ を欠くコア酵素 (β , β' , α , ω より成る) は RNA 合成を開始する機能はもたないが, RNA 鎖伸長反応はコア酵素のみで進行する. (2) コア酵素を 3.0~3.5M LiCl で処理すると β & β' 複合体を得るが, これには DNA 結合活性が存在する.⁸⁶⁾ 一方, PCMB 処理で得られた β & β' 複合体には DNA 結合性はなく, 基質結合活性を示す.⁸⁵⁾ 両者における全く逆の結果は処理方法の相違によって, 不活化される β & β' の site がそれぞれ異なるためと推定される. Zillig ら (1970) は上述の結果とあわせて, β' が最も高い等電点 (pH 8~9) を示すことから, この因子に DNA の結合中心が存在すると推定している. (3) 一方, rifamycin は DNA-酵素複合体に作用して RNA 合成を阻害する. また, streptolydigin は phosphodiester 結合反応の阻害, 基質の酵素への結合親和性の変換の作用があり, RNA 鎖伸長反応を阻害する.⁸⁷⁾ また, rifamycin, streptolydigin 耐性株より得られた RNA polymerase は両者とも β が変異して, これらの薬剤を結合しないことから, その作用点はともに β subunit であると結論されている. 以上の結果から, β subunit には基質結合活性が, β' subunit には DNA 結合活性が主として存在すると推定される.

この基質結合中心については, 著者ら (1971)⁸⁹⁾ の実験結果によると, 大腸菌 RNA polymerase には4種の異なる基質に対して, すくなくとも特異的に4ヶ所の異なる結合中心が存在することが示唆された. 基質の結合部位が, 上述のごとく β subunit にあるならば, その4ヶ所あるいはそれ以上の活性中心がどのようなかたちで, そこに存在するのだろうか. また, 基質の正確な選択のためには, もちろん鋳型 DNA との相互作用が必須であろうが, initiation 段階と elongation 段階とも基質とり込みに働く酵素の結合機序は同一であろうか. もしも, 異なるならば, β 以外の subunit にも基質に対する結合親和性の存在する可能性は残される. しかし, これらの点についてはすべて不明である. Ishihama ら (1969)⁹⁰⁾ は RNA polymerase には単量体当り複数 (2~8個) の基質結合中心が存在し, その4種の基質と酵素の結合親和性はすべて等しい ($K_s = 5 \times 10^{-5}M$) が, 酵素に DNA が結合すると pyrimidine nucleotide よりも purine nucleotide に対してより強く結合するように変換すると報告している.

いずれにしても各 subunit の機能については, 上記のように種々の実験法や推定でたしかめられつつあるが, まだ問題点や不明の点が多い. たとえば, DNA の結合活性は β' ばかりなく β にも存在する可能性があり, また逆に β' にも基質結合活性が存在する可能性が残されている. α , ω subunit の機能については, 現在まったく明らかでない.

RNA 合成を促進したり抑制したりする機序が *in vivo* に存在する必然性は生体調節の立場からみれば当然である

が、 σ 因子は RNA 合成の促進因子 (positive regulatory factor) として、 ρ 因子は抑制因子 (negative regulatory factor) として位置づけることができる。 ρ 因子は Roberts (1969)⁹¹⁾ によって発見された。分子量約 50,000 の subunit の 4 個からなる中性蛋白質である。DNA 鎖上の ρ site と呼ばれる termination site に結合して、RNA 合成を停止させる機能をもつ。mRNA の合成はその時間的経過から pre-early, early, late の 3 段階に区別されている。T4, T7, λ ファージ DNA では、 ρ 因子が存在すれば、pre-early mRNA のみが合成されるが、 ρ 因子を欠くと合成はオペロンをこえて early mRNA, または late mRNA まで合成が進行してしまう (read-through)。T7 DNA には σ subunit の働く initiation site が 1 ケ所、 ρ site は 3~4 ケ所存在する。なお、別に T7, T4 DNA には terminal signal と呼ばれる特定の塩基配列部位があって、RNA 合成がここまで進行すると終了してしまう。この終了に蛋白質因子は関与しない。terminal signal による場合は合成終了にともなって、合成 mRNA と RNA polymerase の両者が DNA 鎖より遊離して、再び合成の開始 (reinitiation) を行なう。しかし、 ρ site で終了の場合は mRNA のみ遊離して、酵素は遊離しない。 ρ 因子は 1 個では DNA に結合せず、4 個集合して結合力をもつらしい。また RNA polymerase には結合しない。^{91)~93)} しかし、その終了に働く機構はまったく判っていない。

現在、そのほかにも RNA polymerase の構成因子でなくて、RNA 合成を調節する蛋白質因子がいくつか見出されている。促進因子として、CAP 因子 (catabolite gene activator protein) は cyclic AMP と結合して活性化し、*lac* mRNA (ラクトーズ合成酵素群を合成する mRNA) の合成を促進する。作用点は DNA の promoter 部位である。⁹⁴⁾⁹⁵⁾ また、*psi* 因子は rRNA の合成開始を促進し、ppGpp (guanosine tetraphosphate) との相互作用によって抑制される。⁹⁶⁾ *ara C* 蛋白は大腸菌アラビノーズ・オペロンの発現に働くと推定される。⁹⁷⁾⁹⁸⁾ 抑制因子としては、リプレッサー *lac* (ラクトーズ合成酵素の合成制御)、リプレッサー *gal* (ガラクトース合成酵素の合成制御) などがあり、その作用点は DNA 鎖上の対応オペレーターで、それぞれの mRNA の転写を抑制すると推定されている。^{99)~101)}

in vivo における mRNA 合成は、合成された RNA が ribosome に結合し、polysome になってゆくことが電顕像でたしかめられている。¹⁰²⁾ *in vitro* の RNA 合成はおそらく DNA-RNA 複合体のまま進行すると考えられるが、同じ *in vitro* でも、ribosome 共存下では、反応が促進される。これらのことは mRNA 合成と同時にそれを鋳型として蛋白質合成が行なわれ、両者は互に協同して生体調節を担っていることを示唆する。

2) ファージ RNA polymerase

大腸菌に感染した T3, T7 ファージは感染後まったく新しい RNA polymerase を産生する。¹⁰³⁾¹⁰⁴⁾ この酵素は大腸菌 RNA polymerase のように、抗生物質 rifamycin や streptolydigin によって阻害作用をうけない。また大腸菌 RNA polymerase に対する抗体によって失活しないことなどから、全く異なる酵素と考えられる。T7 RNA polymerase の場合、7S で分子量約 110,000 の単一 polypeptide よりなる。T7 ファージでは *in vivo* で 4 種の pre-early mRNA, 8~9 種の late mRNA を合成するが、その転写反応は、pre-early mRNA がまず宿主大腸菌 RNA polymerase によって合成され、つづいて gene 1 によって作られた特異的な T7 RNA polymerase によって late mRNA が合成されると推定される。T7 RNA polymerase は T7 DNA を鋳型として要求するが、他の DNA に対しては活性を示さない。

また、T4 ファージの場合は、大腸菌 RNA polymerase の各 subunit に対し修飾が行なわれる。大腸菌に感染後の T4 ファージから得られた RNA polymerase の各 subunit は、 σ の消失と合成、 α の adenylation、 β に対するリン酸化、新 β' の合成など全面的な変換が行なわれると推定されている。¹⁰⁵⁾¹⁰⁶⁾ そして、この変換コア酵素は T4 DNA を鋳型として利用し得ないが、大腸菌 σ subunit を添加すると、T4 DNA 中の pre-early mRNA のみ転写合成するという。¹⁰⁷⁾ また最近、Stevens (1972)¹⁰⁸⁾ は T4 感染後のコア酵素に介在していると推定される新蛋白質因子を分離した。分子

量約 22,000, 14,000, 10,000, 12,000 の 4 種で, 22,000 蛋白は gene 55 蛋白, 12,000 蛋白は gene 33 蛋白と推定される. gene 55 蛋白は late mRNA 合成に必要と考えられている. また Mahadik ら (1972)¹⁰⁹⁾ は, T3 感染大腸菌から, σ 因子の作用を阻害すると推定される新しい抑制蛋白因子を分離している.

3) 動物細胞 RNA polymerase

動物細胞など真核細胞 (eukaryote) の RNA polymerase の抽出可溶性は従来困難とされてきたが, Roeder ら (1969)¹¹⁰⁾ および Chambon ら (1970)¹¹¹⁾ による硫酸-音波処理法で初めて成功したといえる. 細菌の場合 RNA polymerase は 1 種類であるが, eukaryote ではもっと複雑で, 現在数種類が知られている. しかし, まだ研究は始まったばかりの段階で, 十分に明らかとはいえない. Roeder & Rutter¹¹⁰⁾ はラット肝から核を集めて, 0.3 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -音波処理によって破碎後, 0.88 M sucrose 中で遠心して, 核質と核小体の分画に分け, RNA polymerase I (核小体 RNA polymerase), II および III (核質 RNA polymerase), IV (ミトコンドリア RNA polymerase) を分離精製した. いずれも不安定で 25% グリセロール中 -90° に保存する. I は分子量約 500,000~700,000, $\text{Mn}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ の活性比 1~2, II は分子量約 700,000, $\text{Mn}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ の活性比 5~14 である.¹¹²⁾ 最近, I と II はともに 2 種類の混合体であることが判明した.¹¹⁷⁾ II は 2 個の均一な蛋白質で, それぞれ, 分子量約 190,000, 150,000, 35,000, 25,000 の subunit および分子量約 170,000, 150,000, 35,000, 25,000 のともに 4 個の subunit からなる.¹¹⁸⁾ α -amanitin は核質 polymerase に強く作用して RNA 合成の伸長反応を阻害する.¹¹³⁾

真核細胞 RNA polymerase の調節因子としては, すでに子ウシ胸腺, ラット肝などから転写反応促進の蛋白因子が分離されているが, その性質についてはまだ明らかでない.^{114),115)} 最近, 名取らは *Drosophila* の imaginal disc から polymerase を分離精製したが, 分子量約 470,000, α -amanitin に阻害されることから polymerase II に相当すると予想している. そして, この酵素を P-セルローズカラムにかけ, その末吸着分画から鑄型非特異性の活性促進因子を, また吸着分画からとくに *Drosophila* の native DNA に特異的に作用する促進因子を分離している. 後者は反応初期のみに作用して, いったん反応開始の後では促進効果をみないことから, 細菌 RNA polymerase の σ 因子様の作用をもつと推定している.

4) RNA dependent RNA polymerase (RNA replicase)^{119),120)}

1965年, Haruna & Spiegelman によって初めて RNA ウイルスである Q β フェージの感染大腸菌から分離精製された. 反応には鑄型 RNA, 4 種の NTP, Mg^{2+} を必要とする. RNA replicase の特徴は他の polymerase と異って厳密な鑄型特異性を要求することである. Q β replicase は Q β RNA のみを鑄型とし, そのほかの RNA を鑄型としない. さらに Q β RNA でも完全構造をもたない S 値の小さい (21 S, 17 S, 7 S など) RNA の鑄型活性は, intact RNA (28 S) に比べ 10% 以下とはるかに低い. この鑄型特異性について, 現在いくつかのフェージがその血清学的性質から I~IV グループに分類されているが, 第 III グループに属する Q β , VK, ST フェージの replicase は互にその RNA を鑄型として活性化する. しかし, 他のグループに属するフェージ RNA に対しては活性を示さない.

Q β replicase は 4 個の subunit からなり, その 1 個はフェージ感染後に合成されたものであり (分子量 65,000), 他の 3 個は宿主大腸菌由来の subunit (分子量 70,000, 45,000, 35,000) である.^{121),122)} 最近, Blumenthal (1972)¹²³⁾ は, この 45,000 と 35,000 subunit が elongation factor Tu および Ts (aminoacyl-tRNA のリボゾーム結合に関与する結合酵素, 熱安定性の Ts と不安定な Tu の 2 成分に分かれる) と同一であることを証明した. 電気泳動値, N 末端アミノ酸配列, 抗原抗体反応, elongation factor (EF) 活性などで同定した. また, subunit 70,000, 65,000 と Tu, Ts の再構成によって Q β replicase 活性を再現した. 本酵素のごとく蛋白合成反応と RNA 合成というまったく異

った機能が同酵素中に内在するのは珍しく、これが生理的機能としてどのように働いているかは興味深い問題である。

なお、 $Q\beta$ replicase は $Q\beta$ RNA(+鎖)を鋳型として、鋳型と相補的な RNA(-鎖)を合成する。さらにその(-鎖)鎖から同様に(+鎖)鎖を合成することができ、この RNA は最初の鋳型 RNA と同等の感染力を有することが明らかにされた。また、 $Q\beta$ RNA replicase による合成は $5' \rightarrow 3'$ の方向に進行するが、その生成 RNA の $5'$ 末端が pppG であること、鋳型 RNA の $3'$ 末端は AC 配列であることから、鋳型 RNA の initiation site は第 2 番目の C であることが予想される。なお、 $Q\beta$ RNA の全 nucleotide 数は約 3,500 とされているが、現在 (+) 鎖は $5'$ 末端から 175 個 (pppG⁵GGCCCCCU¹⁰……¹²⁵)、(-) 鎖は $5'$ 末端から 52 個 (pppGGGAGGAGAGAG⁵……¹⁰¹²⁶) の nucleotide 配列が決定されている。(+)と(-)鎖の $5'$ 末端はともに pppGGG が一致する。また(+鎖)の $3'$ 末端は ……GCCUCUCUCCUCCC(A) OH と決定されていて、その相補性は末端の A を除いて(-鎖)の $5'$ 末端に完全に一致する。

そのほか、R 17 ファージ replicase は 2 成分よりなり、1 成分は DNA dependent RNA polymerase 活性をもち宿主由来であり、他方は R 17 感染後新しく合成された特異的な蛋白である。¹²⁴⁾

また、RNA ファージではないが、RNA 型動物ウイルスの virion から replicase がいくつか見出されている。インフルエンザウイルス、^{131), 132)} ニューカッスル病ウイルス、¹³³⁾ 仙台ウイルス、¹³⁴⁾ そのほかのウイルスの virion 中に存在し、これらは DNA dependent RNA polymerase の阻害剤によって失活しない。また RNase 感受性を示す。腫瘍細胞からも見出されていて、エールリッヒ腹水癌細胞、¹³⁵⁾ フレンドウイルス腫瘍、¹³⁶⁾ ヒト骨髄性白血病の骨髄芽細胞など¹³⁵⁾ から抽出分離されている。しかし、このように腫瘍細胞中に見出された replicase が、どのような生理的意義をもつのか、腫瘍ウイルスと発癌の相互作用は重要な課題であるが、前述の reverse transcriptase と発癌機作の問題と同様に、この酵素と発癌の相関については現在のところ明らかでない。

あ と が き

なぜ、DNA には uracil に methyl 基の結合した thymine 塩基が存在し、RNA には uracil のみでこれを欠くのか。なぜ、RNA の糖には 2 個の OH 基が存在し、DNA はそのうちの 1 個を欠くのか。なぜ、これだけの差異のみで、DNA と RNA の機能にあれほどの距離が存在するのか。という素朴な設問は現在も解かれていないなどである。この設問を幼稚だといって笑うことはできない。「核酸がさきにつくられるのか、それとも蛋白質がさきか」の問題は長い間の疑問であった。それが解決されたのは 1950 年前後である。いうまでもなく Avery (1944) や、Hershey-Chase (1952) の実証が先駆となった。まだこの間のことである。

「分子生物学は終わった」と最近よくいわれる。このいささかアイロニーを含んだ総括は反面また真実も伝えているといえる。遺伝情報伝達に関する鋳型理論は、ウイルス、細菌のみならず、高等動植物を通じて、立証こそされ反証されるどんな事実もそれ以後出現していない。その意味においてこの鋳型理論は完成された。しかし、それは言うならば、「分子生物学第 1 期の終えん」を指すものではあっても、なおかつ「生命の不思議の森」は少しも明らかにされてはいないのである。発生とは何か。分化とは何か。成熟とは何か。老化とは何か。寿命とは何か。いや、それよりも何よりも死とは何か。そして知能とは何か。これらの問題はあいかわらず茫漠の彼方にある。癌とは何か。「永久に死ぬことがないというのなら、その癌細胞とは一体生命とってよいのかね」有機化学専攻の先生から、たとえば、ある日こう反問されたとしても、われわれは現在何も答えられないのである。

つまり、ありようは、いまここで述べてきた鋳型理論というようなもので象徴される化学や物理学の法則、さらに

は science という名であらわされるわれわれが現在もっている、また将来もつであろう諸法則によってしても、はたして生命の神秘なるものが裁断し得るのか、その究極にいたるまで人間の手によって、それは自在になし得るものなのか、つねに古くて新しい問題に、いままたわれわれは逢着しているといえる。野田が述べる“DNA の保有するという遺伝の情報が核酸の構造を基礎にしているといいながら、情報そのものは物質の化学構造と無関係に自由に塩基を選んで組み立てられるという現在の考え方では、この点は理解できない”にしても、それでは化学や物理学の法則にもうひとつ“何かを加えればよい”のか。それでひとまずは解決したとして安心してすむものなのか。でなければ、その“もうひとつの何か”とはなになのか。それゆえに“生命現象を物理学や化学の法則で説明し得るかといえ、それはほとんど不可能であろう。何となれば、生体高分子の集合でオルガネラや細胞がつけられるとき、その安定状態の可能性が、予測不能なほど、その数が多くなるからである”として、水野は“²⁰⁾鑄型の化学”を超えるものとして“積木の化学”という概念を提出する。一方、“人間は、その肉体ばかりでなく、意識・行動・知能までが、すべて物理学や化学によって説明できるのだ”とする論ももちろんある。¹³⁸⁾最近はその啓蒙書まで現われた。¹³⁹⁾

生命現象が科学によって解けるかの設問は一見愚論である。解けても、解けなくても科学的手段によって解くよりほかに、どんな方法があるかというのが本音であろう。われわれはつねに科学という名の枠組から、一步もぬけでることはできはしない。しかし、それであるならば、それを解く鍵ともなるべき新しい視点なり思想の発見が要請されるわけである。野田のいう“もうひとつの何か”というのも、水野がそれに対応させた“積木の化学”の概念も、もちろんそれに答えようとしたものであり、そしてそれらといえども、現在の物理学や化学に矛盾するものではない筈である。^{*}つまりは、ライフ・サイエンスとしての生物学の、未来への展望としてみはるかすわれわれ自身の目が、いま問い直されているわけである。

鑄型反応系の中心を占める核酸合成酵素とそれに付随するいくつかの問題点について全般的な解説を試みた。ぼう大におよぶ過去の文献の詳細は既出の成書や綜説にゆずり、最近の知見のみを主として引用説明した。またこの際、それぞれの分野におけるいくつかのすぐれた綜説を参考とした。付記して各著者に謝意を表したい。(1972年8月稿)

文 献

- 1) F. Crick, *Nature*, **227**, 561 (1970)
- 2) A. Kornberg, *Science*, **163**, 1410 (1969); 蛋白質核酸酵素, **16**, 580 (1971)
- 3) D. Brutlag, M.R. Atkinson, P. Setlow & A. Kornberg, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **37**, 982 (1969)
- 4) H. Klenow & I. Henningsen, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **65**, 168 (1970)
- 5) P. DeLucia & J. Cairns, *Nature*, **224**, 1164 (1969)
- 6) R.B. Kelly, M.R. Atkinson, J.A. Huberman & A. Kornberg, *Nature*, **224**, 495 (1969)
- 7) R. Knippers, *Nature*, **228**, 1050 (1970)
- 8) R. Moses & C.C. Richardson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 1565 (1970); *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 674 (1970)
- 9) T. Kornberg & M.L. Gefter, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **40**, 1348 (1970); *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 761 (1971)
- 10) M.L. Gefter, Y. Hirota, T. Kornberg, J.A. Wechsler & C. Barnoux, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 3150 (1971)

* 追記——これらの論議に関連して、最近、J. Monod が仮説的に述べているアロステリック蛋白質機能論は示唆に富み、興味深い。¹⁴⁰⁾

- 11) R.B. Wickner, B. Ginsberg, I. Berkower & J. Hurwitz, *J. Biol. Chem.*, **247**, 489, 498 (1972)
- 12) L.M.S. Chang & F.J. Bollum, *J. Biol. Chem.*, **246**, 5835 (1971); *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 1354 (1972)
- 13) A. Weissbach, A. Schlabach, B. Fridlender & A. Bolden, *Nature New Biol.*, **231**, 167 (1970); *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **44**, 1879 (1971)
- 14) 山田正篤, 医学のあゆみ, **80**, 253 (1972)
- 15) G.F. Kalf & J. Chin, *J. Biol. Chem.*, **243**, 4904 (1968)
- 16) E.F. Baril, O.E. Brown, M.D. Jenkins & J. Laszlo, *Biochemistry*, **10**, 1981 (1971)
- 17) S. Yoshida, M.J. Modak & K. Yagi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **43**, 1408 (1971)
- 18) 三本杉容子, 鶴尾 隆, 佐藤 博, 浮田忠之進, 第44回生化学大会 (1971)
- 19) 石川晋次, 細胞生物学 (石川, 太田, 丸尾編), p.152, 朝倉書店 (1967)
- 20) 水野伝一, 蛋白質核酸酵素, **16**, 852 (1971)
- 21) C.C. Richardson, *Ann. Rev. Biochem.*, **38**, 795 (1969)
- 22) M. Goulian, *Ann. Rev. Biochem.*, **40**, 855 (1971)
- 23) 安楽直代, 安楽泰宏, 蛋白質核酸酵素, **14**, 89 (1969)
- 24) B.M. Olivera, Z.W. Hall, Y. Anraku, J. R. Chien & I. L. Lehman, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **33**, 27 (1968); *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **61**, 237 (1968)
- 25) M. Gellert & M.L. Bullock, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 1580 (1970)
- 26) C. Pauling & L. Hamm, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **60**, 1495 (1968); **64**, 1195 (1969)
- 27) J.M. Boyle, M.C. Paterson & R.B. Setlow, *Nature*, **226**, 708 (1970)
- 28) L. Kanner & P. Hanawalt, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **39**, 149 (1970)
- 29) A. Jacquemin-Sablon, C.C. Richardson, *Federation Proc.*, **27**, 396 (1968)
- 30) J.A. Huberman & A.D. Riggs, *J. Mol. Biol.*, **32**, 327 (1968); J. A. Huberman, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **33**, 509 (1968)
- 31) D.W. Smith & P.C. Hanawalt, *Biochem. Biophys. Acta*, **149**, 519 (1967)
- 32) N. Sueoka & W.G. Quinn, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **33**, 695 (1968)
- 33) D.E. Comings, & T. Takefuda, *J. Mol. Biol.*, **33**, 225 (1968)
- 34) F. Hanaoka & M. Yamada, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **42**, 647 (1971)
- 35) B.M. Alberts & L. Frey, *Nature*, **227**, 1313 (1970); J.A. Huberman, A. Kornberg & B.M. Alberts, *J. Mol. Biol.*, **62**, 39 (1971)
- 36) J.C. Wang, *J. Mol. Biol.*, **55**, 523 (1971)
- 37) D.B. Clewell & D.R. Helinski, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **62**, 1159 (1969); *Biochemistry*, **9**, 4428 (1971)
- 38) D.G. Blair, D.B. Clewell, D.J. Sheratt & D.R. Helinski, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 210 (1971)
- 39) R. Okazaki, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **59**, 598 (1968); *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **33**, 129 (1968); *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 2954 (1971); 岡崎令治, 医学のあゆみ, **80**, 232 (1972)
- 40) A. Sugino, S. Hirose, & R. Okazaki, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 1863 (1972)
- 41) D. Brutlag, R. Schekman & A. Kornberg, *Proc. Natl. Acad. Acad. Sci.*, **68**, 2826 (1971)
- 42) J.G. Stavrianopoulos, J.D. Karkas & E. Chargaff, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **68**, 2207 (1971); J.D. Karkas, J.G. Stavrianopoulos & E. Chargaff. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 398 (1972)
- 43) W. Killer, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 1560 (1972)
- 44) K.G. Lark, *J. Mol. Biol.* **64**, 47 (1972)
- 45) W. Gilbert & D. Dressler, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **33**, 473 (1968)
- 46) 関口睦夫, 医学のあゆみ, **80**, 244 (1972)

- 47) J. H. Taylor, *J. Mol. Biol.*, **31**, 579 (1968); E. K. Schandl & J. H. Taylor, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **34**, 291 (1969)
- 48) M. Hyodo, H. Koyama & T. Ono, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **38**, 513 (1970); *Exp. Cell Res.*, **67**, 461 (1971)
- 49) H. M. Temin & S. Mizutani, *Nature*, **226**, 1211 (1970)
- 50) D. Baltimore, *Nature*, **226**, 1209 (1970)
- 51) J. Ross, E. M. Scolnik, G. J. Todaro & S. A. Aaronson, *Nature New Biol.*, **231**, 163 (1971); S. A. Aaronson, W. P. Parks, E. M. Scolnik, & G. J. Todaro, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 920 (1971)
- 52) W. P. Parks, E. M. Scolnik, J. Ross, G. J. Todaro & S. A. Aaronson, *J. Virol.*, **9**, 110 (1972)
- 53) S. Spiegelman, A. Burny, M. R. Das, J. Keyder, J. Schlom, M. Travnicek & K. Watson, *Nature*, **227**, 563 (1970)
- 54) A. C. Garapin, J. P. McDonnell, W. Levinson, N. Quintrell, L. Fanshier & J. M. Bishop, *J. Virol.*, **6**, 589 (1970)
- 55) M. Hatanaka, R. J. Huedner & R. V. Gilden, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 143 (1970)
- 56) R. C. Nowinski, N. H. Sarkar & D. H. Moore, *Virology*, **42**, 1152 (1970)
- 57) M. Green, M. Rokutanda, K. Fujinaga, R. K. Ray, H. Rokutanda & C. Gurgo, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 385 (1970)
- 58) E. M. Scolnik, S. A. Aaronson & G. J. Todaro, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **67**, 1034 (1970)
- 59) J. Schlom & S. Spiegelman, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 1613 (1971)
- 60) E. M. Scolnik, E. Rands, S. A. Aaronson & G. J. Todaro, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 1789 (1970)
- 61) F. H. Lin, & H. Thormar, *J. Virol.*, **6**, 702 (1970)
- 62) J. Schlom, D. H. Harter, A. Burny & S. Spiegelman. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 182 (1971)
- 63) R. C. Gallo, S. S. Yang & R. C. Ting, *Nature*, **228**, 927 (1970)
- 64) G. H. Weber, A. A. Kiessling & G. S. Beaudreau, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **42**, 993 (1971)
- 65) W. W. Ackermann, W. H. Murphy, B. A. Miller, H. Kurtz & S. T. Barker, *Boichem. Biophys. Res. Commun.*, **42**, 723 (1971)
- 66) E. M. Scolnik, S. A. Aaronson, G. J. Todaro & W. P. Parks, *Nature*, **229**, 318 (1971)
- 67) P. E. Penner, L. H. Cohen & L. A. Loeb, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **42**, 1228 (1971); *Nature New Biol.*, **232**, 58 (1971)
- 68) P. Duesberg, K. v. d. Helm & E. Canaani, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 747, 2505 (1971)
- 69) D. L. Kacian, K. F. Watson, A. Burny & S. Spiegelman, *Biochem. Biophys. Acta*, **246**, 365 (1971); S. Spiegelman, K. F. Watson & D. L. Kacian, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 2843 (1971)
- 70) D. Baltimore & D. Smoler, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 1507 (1971); *Neture New Biol.*, **233**, 131 (1971)
- 71) R. Axel, J. Schlom & S. Spiegelman, *Nature*, **235**, 32 (1972)
- 72) H. E. Varmus, R. A. Weiss, R. R. Friis, W. Levinson & J. M. Bishop, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 20 (1972)
- 73) J. Ross, H. Aviv, E. Scolnik & P. Leder, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 264 (1972)
- 74) M. Crippa & G. P. Tocchini-Valentini, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 2769 (1971)
- 75) A. Ficq & J. Brachet, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 2774 (1971)
- 76) L. F. Cavalieri & E. Carroll, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 1055 (1970); *Nature*, **232**, 254 (1971)
- 77) D. L. Kacian, S. Spiegelman, A. Bank, M. Terada, S. Metafora, L. Dow & P. A. Marks, *Nature New Biol.*, **235**, 167 (1972)

- 78) I. M. Verma, G. F. Temple, H. Fan & D. Baltimore, *Nature New Biol.*, **235**, 163 (1972)
- 79) R. R. Burgess, *Ann. Rev. Biochem.*, **40**, 711 (1971)
- 80) 石浜 明, 由良 隆, 生物物理, **11**, 211 (1971); 石浜 明, 伊藤維昭, 代謝, **9**, 363 (1972)
- 81) R. W. Davis & R. W. Hyman, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 269 (1970)
- 82) R. R. Burgess, A. A. Travers, J. J. Dunn, E. K. F. Bautz, *Nature*, **211**, 43 (1969); R. R. Bruggess, *J. Biol. Chem.*, **244**, 6168 (1969)
- 83) A. A. Travers & R. R. Bruggess, *Nature*, **222**, 537 (1969)
- 84) A. Ishihama, S. Murakami, R. Fukuda, A. Matsukage & T. Kameyama, *Mol. Gen. Genet.*, **111**, 66 (1971)
- 85) A. Ishihama, *Biochemistry*, **11**, 1250 (1972)
- 86) W. Zillig, K. Zechel, D. Rabussay, M. Schachner, V. S. Sethi, P. Palm, A. Heil, & W. Seifert, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 47 (1970)
- 87) G. Cassani, R. R. Burgess & H. M. Goodman, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 59 (1970)
- 88) A. Heil & W. Zillig, *FEBS Letter*, **11**, 165 (1970)
- 89) S. Asano, Y. Anraku & D. Mizuno, *J. Biochem*, **70**, 21 (1971)
- 90) A. Ishihama & J. Hurwitz, *J. Biol. Chem.*, **224**, 6680 (1969)
- 91) J. W. Roberts, *Nature*, **224**, 1168 (1969); *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 121 (1970)
- 92) J. P. Richardson, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 127 (1970)
- 93) 高波 満, 岡本利雄, 杉浦昌弘, 蛋白質核酸酵素, **16**, 1075 (1971)
- 94) G. Zubay, D. Schwartz & J. Beckwith, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **66**, 104 (1970)
- 95) I. Pastan & R. Perlman, *Science*, **169**, 339 (1970); B. de Crombrughe, B. Chen, W. B. Anderson, M. E. Gottesman, R. L. Perlman & I. Pastan, *J. Biol. Chem.*, **246**, 7343 (1971)
- 96) A. A. Travers, R. I. Kamen & R. F. Schleif., *Nature*, **228**, 748 (1970); A. Travers, R. Kamen & M. Cashel, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 415 (1970)
- 97) J. Greenblatt & R. F. Schleif, *Nature New Biol.*, **233**, 166 (1971)
- 98) G. Wilcox, K. J. Clemetson, D. V. Santi & E. Englesberg, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 2145 (1971)
- 99) W. Gilbert & B. Muller-Hill, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **56**, 1891 (1966)
- 100) J. S. Parks, M. Gottesman, K. Shimada, R. A. Weisberg, R. L. Perlman, I. Pastan, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 1891 (1971)
- 101) B. Chen, B. de Crombrughe, W. Anderson, M. E. Gottesman, I. Pastan & R. L. Perlman, *Nature New Biol.*, **233**, 67 (1971)
- 102) O. L. Miller, B. R. Beatty, B. A. Hamkalo, & C. A. Thomas, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 505 (1970)
- 103) M. Chamberlin, M. McGrath & L. Waskell, *Nature*, **228**, 227 (1970)
- 104) J. J. Dunn, F. A. Bautz & E. K. F. Bautz, *Nature New Biol.*, **230**, 227 (1970)
- 105) A. Travers, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 241 (1970)
- 106) M. Schachner & W. Zillig, *Eur. J. Biochem.* **22**, 513 (1971)
- 107) E. K. F. Bautz, F. A. Bautz & J. J. Dunn, *Nature*, **223**, 1022 (1969)
- 108) A. Stevens, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 367 (1970); *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 603 (1972)
- 109) S. P. Mahadik, B. Dharmgrongartama & R. P. Spinivasan, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 162 (1972)
- 110) R. G. Roeder & W. J. Rutter, *Nature*, **224**, 234 (1969); *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **65**, 675 (1970); *Biochemistry*, **9**, 2543 (1970)
- 111) P. Chambon, F. Gissinger, L. Mandel, C. Keding, M. Gniazdowski, & M. Mehlac, *Cold Spr.*

- Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 693 (1970)
- 112) S.P. Blatti, C.J. Ingles, T.J. Lindell, P.W. Morris, R.F. Weaver, F. Weinberg & W.J. Rutter, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 649 (1970)
- 113) F. Stirpe & L. Fium, *Biochem. J.*, **105**, 779 (1967); L. Fium & T. Wieland, *FEBS Letter*, **8**, 1 (1970)
- 114) H. Stein & P. Hausen, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 709 (1970)
- 115) K.H. Seifart, *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **35**, 719 (1970)
- 116) 名取俊二, 蛋白質核酸酵素, **17**, 245 (1972); (私信)
- 117) C.J. Chesterton & P.H.W. Butterworth, *FEBS Letters*, **13**, 275; **15**, 181 (1971)
- 118) R.F. Weaver, S.P. Blatti & W.J. Rutter, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 2994 (1971)
- 119) S. Spiegelman, N.R. Pase, D.R. Mills, R. Levisohm, T.S. Eikhom, M.M. Taylor, R.L. Peterson & B.H.L. Bishop. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **33**, 101 (1968)
- 120) 春名一郎, 生合成, pp.88, 朝倉書店, 東京 (1971); 代謝, **9**, 373 (1972)
- 121) R. Kamen, *Nature*, **228**, 527 (1970)
- 122) M. Kondo, R. Gallerani & C. Weissmann. *Nature*, **228**, 525 (1970)
- 123) T. Blumenthal, T.A. Lander, & K. Weber, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 1313 (1972)
- 124) S.J. Igarashi & R.P. Bissonnette, *J. Biochem.*, **70**, 835, 845 (1971)
- 125) M.A. Billeter, J.E. Dahlberg, H.M. Goodman, J.H. Hindley & C. Weissman, *Nature*, **224**, 1083 (1969)
- 126) H.M. Goodman, M.A. Billeter, J. Hindley & C. Weissmann, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 921 (1970)
- 127) A.J. Shatkin & J.D. Sipe, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **61**, 1462 (1968)
- 128) L.J. Lewandowski, J. Kalmakoff & Y. Tanada, *J. Virol.*, **4**, 857 (1969)
- 129) D. Baltimore, A.S. Huang & M. Stampfer, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **66**, 572 (1970)
- 130) D.H.L. Bishop, *J. Virol.*, **7**, 486 (1971)
- 131) N. Chow & R.W. Simpson, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**, 752 (1971)
- 132) D.H.L. Bishop, J.F. Obijeski & R.W. Simpson, *J. Virol.*, **8**, 66, 74 (1971)
- 133) A.S. Huang, D. Baltimore & M.A. Bratt, *J. Virol.*, **7**, 389 (1971)
- 134) W.S. Robinson, *J. Virol.*, **8**, 81 (1971)
- 135) I. Haruna, T. Ohno, N. Nozumi & I. Watanabe, *GANN Monograph on Cancer Reserch*, **12**, 203 (1972)
- 136) I. Haruna, T. Ohno, I. Watanabe & Y. Ikawa, *Proc. Japan Acad.*, **46**, 1016 (1970)
- 137) 野田春彦, 分子生物学入門 (野田, 和田, 丸山編), p.202, 朝倉書店 (1971)
- 138) F. Crick, "Of molecules and Men", Univ. Washington Press (1966); 分子と人間(玉木英彦訳), みすず書房 (1970)
- 139) D.E. Wooldridge (田宮信雄訳), メカニカル・マン, 東京化学同人 (1972)
- 140) J. Monod, 偶然と必然 (渡辺格, 村上光彦訳), p. 89, みすず書房 (1972)