Path. Microbiol. 1974;40:139

Replikase, eine i-RNS-abhängige RNS-Polymerase und ihr Reaktionsprodukt

D.	Cramer
----	--------

Sonderdruckbestellungen an: Dr. D. Cramer, Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität Bern, CH-3000 Bern (Schweiz)

D. Das pH-Optimum der Replikase liegt im pH-Bereich 7,8–8,1. Enthält der Reaktionsansatz 10 mM Magnesiumionen und 2 mM Manganionen

so wird optimale Synthese beobachtet. Zur Synthese braucht die Replikase einen Kofaktor weiter sind alle vier Ribose-Triphosphate notwendig. Die Michaelis-Konstante der Replikase für das Substrat UTP wird mit $1,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ermittelt. Die replizierte 3H-markierte i-RNS erweist sich zu 30% als RNase-resistent. Die Dichte der 3H-markierten i-RNS wird im Caesium-sulphat-Gradienten mit 1,652–1,676 g/ml bestimmt. Die elektronenmikro-skopische Untersuchung dieser Gradientenfraktion lässt fädige Strukturen erkennen. Die replizierte i-RNS induziert im zellfreien System die Bildung von 19S-Antikörpern

die im Phagenneutralisationstest nachgewiesen werden.

Replikase wird aus dem S-130-System von Meerschweinchenmilzen durch Adsorption an DEAE-Cellulose und nachfolgender Sephadex-G-200-Fraktionierung gewonnen. Diese Replikase zeigt eine ausgeprägte Spezifität; sie ist abhängig von i-RNS; mit Q $\hat{I}$ -RNS und RNS-Protein-Komplex wird keine Aktivität gefunden. Als optimale Menge an Matrizen-i-RNS findet man 10^{-5} bis $10^{-6} \mu\text{g}$ pro Syntheseansatz.

Die als Matrice benutzte i-RNS ist in der Lage, in einem zellfreien System Antikörperbildung zu induzieren. Weiter führt die Inokulation von i-RNS im Tier zur Antikörperbildung und Immunität.

Die Replikasepräparation zeigt neben der synthetisierenden Aktivität auch eine RNS-degradierende Aktivität – ribosomale RNS wird abgebaut. Die Menge von 0,1 μg Replikasepräparation pro Ansatz ergibt optimale Syntheseaktivität, die sich durch Erhöhung der Replikasekonzentration nicht steigern lässt.