

Title	POTENTIALITIES OF DNA REPLICATION AND REPAIR IN PROLIFERATING AND DIFFERENTIATING CHICK CELLS
Author(s)	Kitani, Hiroshi
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24328
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	木 谷 裕
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 6 7 7 5 号
学位授与の日付	昭 和 6 0 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	増殖中および分化中のニワトリ細胞における DNA 複製能と修復能 について
論文審査委員	(主査) 教 授 越 田 豊 (副査) 教 授 原 富之 教 授 小 川 英 行

論 文 内 要 の 要 旨

動物胚の組織分化に際して、増殖と分化にともなうニワトリ細胞の DNA の複製能および修復能に注目し、以下の研究をおこなった。

(1) 無殻培養したニワトリ 2 日胚に発癌剤である $[^3\text{H}]-4 \text{ HAQO}$ を投与したところ、投与 1 時間のうちに $[^3\text{H}]-4 \text{ HAQO}$ は無害な化合物へと代謝され、また、 $[^3\text{H}]-4 \text{ HAQO}$ と DNA との結合比は投与 2 時間後に最大 ($18.2 \mu\text{mol/mol P of nucleotide}$) となったのち減少した。すなわちニワトリ胚においても 4 HAQO の代謝経路は哺乳類と同様であり、 4 HAQO による DNA 損傷に対する修復系の存在すること、また発生過程において分化をはじめようとする組織が 4 HAQO に高い感受性を示し、形態異常を生じやすいことが示唆された。(2) 松影らの作製したニワトリ胚 DNA ポリメラーゼ α および β に対する抗体を用いた間接蛍光抗体法により、ニワトリ胚のレンズ、網膜、脊髄における両酵素の分布と変遷をしらべた。DNA ポリメラーゼ α は増殖能を保持している細胞の核内に見出されたが、増殖能を失なって分化しつつある細胞では検出されず、この酵素の消失は DNA 複製能の消失ときわめてよく一致した。一方、DNA の修復に関与していると考えられている DNA ポリメラーゼ β はしらべた限りのいずれの発生段階、組織においても、ほぼすべての細胞核に見出された。DNA ポリメラーゼ α に対する抗体を用いた今回の方法によってニワトリの胚について細胞を個々に、分化を開始しはじめているか否かを検出することが可能となった。(3) そこで次に細胞再生系の例として、小腸上皮と雄の生殖細胞をとりあげ、両酵素の分布をしらべることとした。ニワトリ胚十二指腸において、DNA ポリメラーゼ α は、① 8 日胚ではほぼすべての腸上皮細胞に見出されたが、胚発生とともにその存在が検出される細胞は、② 12 日胚では前絨毛隆起の基部側の細胞、③ 18 日胚からふ化直前の胚では絨毛の基部側の約半分の細胞、

④ふ化後2週令のひなでは腺窩の細胞に限られ、この酵素の消失はDNA複製能の消失ときわめてよく一致していた。またこの研究によって長年論議されてきたニワトリの腺窩におけるパネス細胞の存否について、これが見出されないことを示すことができたと思われる。一方、DNAポリメラーゼ β は、しらべたすべての段階のほぼすべての細胞核に見出された。9か月令の成鶏の精巣では、DNAポリメラーゼ α は精原細胞と第1次精母細胞に見出されたが、それより分化段階の進んだ諸細胞には見出されず、一方、DNAポリメラーゼ β は精子核をのぞくほぼすべての精巣の細胞核に見出された。

論文の審査結果の要旨

本論文は3部よりなるが、第1部においてはニワトリ胚を卵殻からとり出し、サランラップで包んで紙コップ中において発生させるという無殻培養法を適用し、ニワトリ胚に発癌剤の $^3\text{H}-4\text{HAQO}$ を投与したとき、きわめて短時間のうちに発癌性のない化合物へ代謝されその代謝経路が哺乳類と同様であること、 4HAQO によるDNA損傷に対する修復系の存在することをあきらかにし、また分化しつつある組織は 4HAQO に対する高い感受性を示して形態異常を生じやすいことを示唆する結果を得た。第2部はニワトリ胚の器官発生に際して増殖能をもつ細胞と増殖を終了して機能細胞として分化へ向かいつつある細胞の識別を目指した研究で、ニワトリ胚から得られたDNAポリメラーゼ α および β に対する抗体を用いた間接蛍光抗体法を発生中のレンズ・網膜・脊髄に適用したが、その際従来のものとは異なる包埋剤であるポリエステル・ワックスを使用して切片を作成し、これらの抗体をはじめ組織切片に適用することに成功した。その結果DNA複製能をもつ細胞はDNAポリメラーゼ α をもつが、増殖を終了して分化に向かいつつある細胞はこの酵素を消失しており、 β はいずれの細胞にも存在することを示した。第3部ではこのDNAポリメラーゼ α および β 抗体法を ^3H チミジン摂取をARG法によって追跡する従来の方法とたくみに組合せ、小腸絨毛形態形成をあきらかにし、あわせてながく論議されてきたニワトリ腸絨毛の腺窩におけるパネス細胞の有無についてその存在を否定するきわめて有力な証拠を呈示し、また成体の精巣生殖上皮の両酵素の所在について注目すべき知見を得た。

これらの結果は発生生物学に新しい方法を導入し、細胞の増殖と分化への方向づけの決定および形態形成機構を解明するに当たって重要な知見を与えており、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。