Osaka University Knowledge Archive

Title	組織培養によるマウスL系細胞における変異細胞の遺伝生化学的研究（英文）
Author(s)	堀川, 正克
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28269
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【10】

氏　名・(本籍)	堀　川　正　克（ほり かわ まさ かつ）
学位の種類	理　学　博　士
学位記番号	第　158　号
学位授与の日付	昭和36年3月23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	**組織培養によるマウスL系細胞における変異細胞の遺伝生化学的研究（英文）**
論文審査委員	(主　査) 教授 吉川　秀男 (副　査) 教授 本城市次郎　教授 佐藤　磐根

論文内容の要旨

主論文　Biochemical and genetical studies on variants of the mouse strain L cells in cell culture.

組織培養によるマウスL系細胞における変異細胞の遺伝生化学的研究

最近における微生物遺伝学の驚異的な進歩にともなって組織培養された哺乳類体細胞においても微生物遺伝学で用いられたと同様に，細胞のレベルでその栄養要求性や各種物理化学的要因による変異細胞の分離，さらにはこれらの蛋白，核酸合成の研究を行うことができるようになった。このような実験技術の進歩は同時に微生物において見出された形質転換（Transformation）や形質導入(Transduction)の現象が高等動物体細胞においてもみられるかどうかという興味ある問題にもふれることが可能となった。このような目的から本実験では1943年 Earle によってマウス皮下脂肪組織から分離されたL細胞を試験管内で培養し，以下のような実験結果を得た。

Ⅰ）L原株細胞の細胞増殖および蛋白核酸合成に対する各種物理化学的要因（Mitomycin C, 8-azaguanine，紫外線）の影響は第一義的には細胞分裂の抑制にあって，DNA，RNA，蛋白合成は比較的非感受性であることがわかった。とくに 0.1μg/ml. mitomycinC で処理した細胞当りの蛋白，核酸量がいちぢるしく増加するとともに巨大細胞が出現する。

Ⅱ）L原株細胞を Mitomycin C,8-azaguanine，紫外線で数十継代処理することにより L_{Mit} 細胞，$L_{8\text{-}AZ}$ 細胞，L_{UV} 細胞と名づけるそれぞれの耐性細胞を分離した。各種要因の細胞におよぼす作用機構の違いによって耐性細胞の出現様式は異り，これらの耐性細胞の出現過程が要因の mutagenic action によるものか単なる選抜，適応によるものか明白ではないが，現在までの知見では各種耐性細胞ともに要因に対する選抜，適応によって出現したと考える方が妥当のように思われる。

Ⅲ）分離，確立されたこれらの各種耐性細胞はL原株細胞に比して，(1) 細胞の蛋白，核酸含量，(2) 細胞の形態と大きさ，(3) 細胞の増殖率，(4) コロニー形成能力，(5) 染色体数，(6) 各種薬剤に対する

感受性，などの点でそれぞれ差異を示し，同時にこれらの遺伝的特性は比較的安定していることがわかった。ことにL原株細胞の染色体数のピークが68本であるに対して，MitomycinC の耐性細胞（L_{Mit} 細胞）では62と80本の2ケ所にピークがあることは興味深い現象である。

Ⅳ）MitomycinC および紫外線照射に対しては L_{Mit} 細胞と Luv 細胞が交叉耐性を示し，8-azaguanine に対しては $L8_{-AZ}$ 細胞のみが耐性であることがわかった。これらの結果は MitomycinC と紫外線の作用機作の類似性を暗示するものである。

Ⅴ）L_{Mit} 細胞および Luv 細胞の増殖率はL原株細胞と $L8_{-AZ}$ 細胞からの filterable substance（セロハン膜沪過物質）によって促進されるが，一方L原株細胞および $L8_{-AZ}$ 細胞はいずれの細胞の filterable substanceによっても影響されないことがわかった。

Ⅵ）最後に細胞ホモジェネートによる変異細胞間の形質転換（Transformation）を試みたが，一時的な Heteromorphic change であって遺伝的に安定したものは得られなかった。

論文の審査結果の要旨

最近組織培養法の急速な進歩にともなって哺乳類の体細胞も微生物同様に取扱うことができるようになった。そこで堀川君はマウスの皮下脂肪総織から分離されたL細胞を試験管内で培養し，次のような実験を行った。まずL原株細胞の細胞増殖および核験，蛋白合成に対するマイトマイシン C，8-アザグアニン，紫外線の影響を調べてみると，これらの要因の第一義的な作用は細胞分裂の抑制であって，核酸や蛋白合成には特に顕著な影響を与えないことを認めた。たとえば0.1μg/ml のマイトマイシンで処理した細胞は核験や蛋白の合成はあまり阻害されないが，分裂が抑制される為に非常に巨大な細胞になってしまう。

さてL原株細胞をマイトマイシン，8-アザグアニン，紫外線で数十代処理すると原株中から L_{Mit}，L_{8-AZ}，Luv とよばれるそれぞれの要因に対して耐性の細胞が分離された。これらの耐性細胞の出現機構はまだ充分明らかでないが，恐らく原株細胞中に存在していた稀少の耐性細胞が淘汰によって増殖してきたものと思われる。

次にこのようにして分離確立された各種耐性細胞の性状をL原株細胞と比較したところ，細胞の核酸，蛋白含有量，形態，増殖率，コロニーの形成力，薬剤耐性などの点でそれぞれ特異的な差異が認められ，しかもそれらの性質は強い遺伝性を有することがわかった。興味のあることはマイトマイシンおよび紫外線に対して耐性の L_{Mit} および Luv 細胞は相互に交叉耐性を示すが，8-アザグアニンに対して耐性の L_{8-AZ} 細胞は前二者とは交叉耐性を示さぬことであった。このことはマイトマイシンと紫外線の作用機作が類似性をもつという微生物での知見を支持している。

なお L_{Mit} 細胞および Luv 細胞の増殖率はL原株細胞や L_{8-AZ} 細胞からのセロファン膜沪過性物質によって促進されるが，L原株細胞や L_{8-AZ} 細胞の増殖率はどの細胞の沪過性物質によっても影響を受けない。又この実験と関連して近年問題になっている変異細胞間の形質転換（transformation）に類する実験も試みているが，これはまだ成功の域に達していない。

以上堀川君の研究は哺乳類の単一細胞を組織培養法によってあたかも微生物の如く取扱い，その中から各種要因に対する耐性細胞を取出し，相互の関係を種々の角度から検討したもので，高等動物の分子生物学，遺伝生化学，遺伝発生学の分野に寄与するところ多く，この論文は理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認める。