The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	モルモット歯肉におけるRNA前駆物質のとりこみについて
Author(s)	根岸, 達郎
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29661
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

【9】

氏名・(本籍)	根岸達郎（ねぎしたつろう）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 1671 号
学位授与の日付	昭和44年3月28日
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**モルモット歯肉におけるRNA前駆物質のとりこみについて**
論文審査委員	(主査) 教授 松村 敏治 (副査) 教授 竹田 義朗 教授 山本 巌

論文内容の要旨

近年，歯周疾患の成因を追究する方向として，歯周組織の代謝が注目され，歯周組織における生化学的研究が数多く報告されている。しかし，細胞の代謝に基本的に重要な役割を果す核酸に関しては，歯周組織では，ラジオオートグラフィーによる歯肉のDNA代謝に関する研究がみられるのみであって，DNAの遺伝情報を介して蛋白合成に密接に関係しているRNAの代謝に関する研究は，これまでほとんどなされていない。

そこで著者は，歯周組織，特に歯肉での標識前駆物質のRNAへのとりこみの機序を明らかにする目的でモルモット歯肉ホモジネートを用いて ^{3}H-ウリジン，^{3}Hあるいは ^{32}Pで標識されたUTPおよびCTPのRNAへのとりこみについて検討を加えた。

本実験には体重250～300gの雄性モルモットを使用した。この動物を断頭瀉血後，下顎から歯肉をとり出し，NaCl, KClおよびトリス－塩酸緩衝液（pH 7.5）からなる冷等張液中で10%ホモジネートを調製し，この100×g, 15,000×gおよび105,000×g遠心上清をそれぞれ酵素標品とした。

^{3}H-ウリジン，^{3}H-UTP, ^{3}H-CTP, ^{32}P-UTPおよび^{32}P-CTPのRNAへのとりこみ活性の測定は，トリス－塩酸緩衝液，$MgCl_2$, ATP産生系，各標識前駆物質および上記酵素標品を含む反応液を37°Cで30分間インキュベートし，氷冷して反応をとめ，これに等量の10%三塩化酢酸を加えてRNAを沈澱させ，遠心して得られた沈渣を冷酸で十分洗い，この冷酸不溶画分中にとりこまれた放射能を測定した。

反応生成物の蛇毒ホスホジエステラーゼによる消化は，反応液中からDalgarnoらの方法（1966）にしたがって抽出した標識RNAを蛇毒ホスホジエステラーゼによって消化し，冷酸可溶画分に遊離した5′-モノヌクレオチドについて放射能と紫外部吸収を測定した。

反応生成物のアルカリ加水分解は，反応生成物を10%三塩化酢酸で沈澱させたのち，冷酸で十分洗

い，得られた沈渣を 0.3N KOH で16時間加水分解し，加水分解産物を Dowex 1（ギ酸型）カラムクロマトグラフィーにて分離同定し，各画分の放射能を測定した。

全 RNA は Ralph および Bellamy の方法（1964），r-RNA および t-RNA は Klemperer の方法（1963）にしたがって，モルモット肝臓からフェノール法により調製した。

^{3}H-UTP および ^{3}H-CTP は Canellakis らの方法（1960）により Escherichia coli strain B から得た酵素標品を用いて，^{3}H-ウリジンから合成した。

^{32}P-UTP および ^{32}P-CTP の合成は，まず $H_3{}^{32}PO_4$ でラベルした 5′-UMP^{32} および 5′-CMP^{32} を Hurwitz の方法（1959）により調製し，ついでこれらの 5′-モノヌクレオチドから Canellakis らの方法（1960）にしたがって ^{32}P-UTP および ^{32}P-CTP を合成した。

実験結果は次のとおりである。

1）モルモット歯肉における UTP, CTP などのピリミジンヌクレオチドの RNA へのとりこみには，ATP および Mg^{2+} の存在を必要とした。

2）ピリミジンヌクレオチドの RNA へのとりこみはアクチノマイシン S_3 によってほとんど影響をうけなかった。

3）ピリミジンヌクレオチドのとりこみは RNA 添加によって著しく増加したが，その添加する RNA の種類に特異性がみられた。

すなわち，UTP のとりこみは r-RNA によって著しく増加し，また CTP のとりこみは t-RNA によって特異的に促進された。

4）UTP および CTP の RNA へのとりこみには，関与する酵素に差異がみられた。すなわち，UTP は 15,000×g 遠心上清に存在する酵素によって，一方 CTP は 105,000×g 遠心上清に存在する酵素によって，RNA へとりこまれることが示された。

5）ピリミジンヌクレオチドの RNA へのとりこみは，RNase およびピロリン酸によって90%以上阻害されたが，DNA, DNase および ATP 以外のヌクレオシドトリリン酸の添加によって，ほとんど影響をうけなかった。

6）反応生成物の蛇毒ホスホジエステラーゼ消化およびアルカリ加水分解による分析から，RNA 中にとりこまれた UMP および CMP はそれぞれ，既存 RNA の 3′-OH 末端に 3′→5′ ホスホジエステル結合していることが明らかになった。またとりこまれた UMP および CMP の大部分はそれぞれ UU, AU および CC, AC 結合として存在した。

以上のことから，モルモット歯肉ホモジネートでは，ピリミジンヌクレオチドは主として DNA に依存しない酵素系によって RNA へとりこまれ，既存 RNA の 3′-OH 末端に附加されることが明らかとなった。なおウリジンヌクレオチドとシチジンヌクレオチドは異なる酵素（群）によって RNA へとりこまれることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は，モルモット歯肉における RNA 前駆物質のとりこみの機序を検討したものであるが，従来歯肉ではほとんど研究されていなかった RNA 代謝について重要な知見を得たものとして価値あるものと認める。

よって，本研究は歯学博士の学位を得る資格があると認める。