



Title	細胞周期と核小体の複製
Author(s)	下村, 英二
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35021
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

氏名・(本籍)	しも 下	むら 村	えい 英	じ 二
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6 9 7 2	号	
学位授与の日付	昭和 60 年 8 月 2 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学位論文題目	細胞周期と核小体の複製			
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞			
	(副査) 教授 坂本 幸哉 教授 近藤 宗平			

論文内容の要旨

(目 的)

癌細胞を始めとする増殖の盛んな細胞では、核小体の機能が亢進し、そのサイズも大きい。静止期の細胞と比較して核小体の数がすくないことが多い。周期的に細胞分裂を繰返している細胞では、核小体数の変動がDNA合成の時期と密接な関係があるので、核小体が細胞周期を通じて、どの様に形成され、複製されるかを解明する事を目的とした。

(方法及び成績)

I 細胞周期に於ける核小体数の変動

マウス L-929 細胞を、10% 仔牛胎児血清を含む MEM 培地で 37°C で単層培養した。同調培養は、ダブル・チミジン・ブロック法で行なった。チミジン・ブロックを解除すると、すべての L 細胞は S 期に入る。此の同調細胞で、DNA 合成の最初のピークは 4 時間目、第 2 のピークは 20 時間目にみられた。分裂指数の第 1 回目のピークは 12 時間目、第 2 のピークは、そのあと 16 時間後にみられた。

このような同調培養細胞から経時的に核を単離精製し、その核小体数をみると、S 期にはむしろ核小体数は増加し、G₂ 期になるにしたがい核小体数は減少し、第 2 回目の S 期になると再び核小体数が増加してくるという周期的変動がみられた。

II 核小体 DNA の細胞周期における複製

同調培養した L 細胞を経時的に [³H]-チミジンで、30 分間ラベルし、DNA にとり込まれた放射活性を、核および核小体を分離した後に測定した。核および核小体の分離は、村松らの低張緩衝液-マグネシウム-Nonidet P-40 を用いる方法にしたがった。核および核小体 DNA への [³H]-チミジンの取り込

みの経時的なパターンの間に顕著な差がみられなかったので、核小体に存在するクロマチンのDNAの大部分は、核DNAと同じくS期に合成されることがわかった。したがって、S期に核小体DNAの複製が行なわれているにもかかわらず、同調培養L細胞では、このS期に平均核小体数は最高値を示したので、核小体DNAの複製が直接、核小体数の減少に関連しないことを示唆した。

なお、S期の核小体でも、 $[^{14}\text{C}]$ -ウリジンのRNAへの取り込みがみられた。

Ⅲ マウス腹水癌細胞核小体に存在するDNAポリメラーゼ

エールリッヒ腹水癌細胞から、村松らの低張緩衝液—マグネシウム法とLynchらの蔗糖—カルシウム法で、各々核、核小体および核小体クロマチンを調整し、DNAポリメラーゼ α 、 β 、および γ の活性分布の定量化を試みた。DEAE—セルロースカラムによるDNAポリメラーゼの部分精製、および、三つの分子種の分別的活性測定は平野らの方法によった。

核、核小体、および核小体クロマチンに存在するDNAポリメラーゼ、特にDNAの複製と関係があるといわれている α 型の核の各細分画中に存在するDNA当りの相対的な値を比較すると、核小体および核小体クロマチンにも、核DNAの場合に匹敵するレベルのDNAポリメラーゼ α の活性が存在した。

以上の諸結果は、細胞周期において核小体の形態を解消する事がなくとも、核小体クロマチンDNAは複製できることを示唆している。

(総括)

- ① 細胞周期において、細胞核中の核小体数は周期的に変動し、S期に多く、 G_2 期の終りから、 G_1 期の早期では最も少なかった。
- ② 核小体DNAの複製は、核DNAと同じくS期に行なわれた。したがって、細胞分裂の盛んな細胞で核小体数が減少するのは核小体に存在するDNAの複製の為に核小体の形態が解消するためではない。
- ③ 核小体には、そのDNAの複製のためのDNAポリメラーゼも存在し、核小体という構造を維持したまま、核小体に存在するクロマチンの複製は行なわれる可能性が高い。

論文の審査結果の要旨

本研究は、細胞周期にともなう核小体数の変化と核小体におけるDNA合成との関連をL細胞を用いて検討したものである。

その結果、核小体DNAの合成は核質DNAと同様にS期におこなわれるが、核小体数の減少は G_2 期の後半から G_1 期の前半にかけてみられ、核小体DNAの複製には核小体の形態を解消する必要のないことが示された。この所見は、核小体にDNAポリメラーゼが存在することからも裏づけられた。以上の研究成果は十分に学位に価するものと考えらる。