

氏名	花 川 志 郎
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 授 与 番 号	乙 第 1309 号
学 位 授 与 の 日 付	昭和57年 9 月30日
学 位 授 与 の 要 件	博士の学位論文提出者（学位規則第 5 条第 2 項該当）
学 位 論 文 題 目	ジギトニン処理透過性細胞内における SV40 クロマチン DNA 複製の解析
論 文 審 査 委 員	教授 矢部芳郎 教授 折田薫三 教授 小川勝士

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

SV 40 クロマチンの *in vitro* DNA 複製は、従来 SV 40 感染細胞の分離核またはその抽出物などで研究されてきたが、これらの実験系では細胞質抽出液の添加を必要とし、効率のよい複製が認められない。著者らは、真核細胞におけるクロマチン DNA の複製と発癌機構を研究するために、なるべく *in vivo* の状態に近くて、しかも種々な基質、阻害剤、蛋白質などの影響を調べ得る *in vitro* DNA 複製系として、低濃度のジギトニン処理で基質透過性とした細胞（permeable cell）の DNA 複製系を開発した。本研究においては、ジギトニン処理透過性細胞の超微構造と同細胞内における SV 40 クロマチン DNA 複製の基礎的諸条件を検討し、基質要求性と阻害剤およびアドリアマイシンなどの制癌剤の影響を解析した。

その結果、①透過性細胞の調整および DNA 合成反応に至適なジギトニン、塩、蔗糖、 Mg^{2+} などの濃度、pH 温度などの基礎的諸条件を決定した。②ジギトニン処理透過性細胞は超微構造的に細胞膜が障害されているが、他の内膜系や核クロマチンは比較的よく保たれていることを明らかにした。③この透過性細胞系では、細胞質抽出液を加えなくても、基質（dATP, dCTP, dGTP, dTTP）の他、ATP（2 ～ 5 mM）と Mg^{2+} （5 mM）の添加で効率よい DNA 合成が行われる。④この系での DNA 合成は、EDTA, N-ethylmaleimide, アフィディコリン, araCTP などではほとんど完全に阻害され、ddTTP では全く阻害されないで、複製的 DNA 合成であることを証明した。⑤アドリアマイシンなどの制癌剤で DNA 複製が直ちに強く阻害されることを見出した。

したがって、本実験系は真核細胞におけるクロマチン DNA の *in vitro* 複製の研究のみならず、アドリアマイシンなどの DNA 合成阻害制癌剤の作用を調べる上に

極めて有力な実験系として役立つものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、細胞の基質透過性を増強するのに適したジギトニンの濃度を決定し、得られた透過性細胞の細胞膜の障害度を電顕的に確認し、この透過性細胞においてSV40DNA合成が効率よく行われるための条件を検討し、またこのDNA合成に対する制癌剤等の阻害効果を検討したもので、医学博士の学位に値する業績であると認める。