

# 新しい RNA 合成阻害剤 Illudin S の 作用機作の解析

岡山大学医学部第一生理学教室 (主任: 西田 勇教授)

板 野 俊 文

(昭和53年12月23日受稿)

**Key words:** Illudin S, RNA 合成, DNA 合成, 細胞増殖,  
線維芽細胞

## 緒 言

正常線維芽細胞 (マウス L-929 細胞) を血清無添加培養液で培養すると, 各細胞は細胞周期の G<sub>1</sub> 期で休止する (G<sub>1</sub>-arrest)<sup>1,2)</sup>. この後, 血清含有培養液に置換 ("turn-on")<sup>3)</sup>すると, 準同調的に細胞は回転をおこし, G<sub>1</sub>-S 変換期を経て, DNA 合成期 (S期) へと誘導される. この G<sub>1</sub>-S 変換期中に種々の反応が連続して起こることが知られているが<sup>4)</sup>, その中でも uridine の取込みが増大し, RNA 合成が促進するという事実は, 蛋白質合成の促進とともに DNA 合成と密接に関連しており, 細胞周期解析上, 研究の対象になっている<sup>5,6)</sup>. この反応解析のために, この期に合成された RNA 種の解析と<sup>7)</sup>, RNA 合成阻害剤 Actinomycin D 等を用いた研究が行なわれて来た<sup>8)</sup>. しかし, Actinomycin D は DNA と直接結合し, RNA 合成を阻害するため<sup>9)</sup>, 非特異的な RNA 合成阻害がおこり, 細胞増殖を導く血清情報の細胞内への伝達機構のより詳細な研究には不適當である. もし, 無傷細胞においてのみ RNA 合成を阻害するような物質が存在すれば, 血清情報に回答する細胞内反応機構の解析に重要な知見が得られよう.

著者が本論で報告する Illudin S はこのような可能性を有した物質である. Illudin S は Anchel ら<sup>10)</sup>によって Clitocybe Illudens より抽出・単離されたセスキュ・テルペン類のキノコ毒で, 化学的には大いに研究されたが<sup>11,12)</sup>, 毒性が強く, 生物学的研究はほとんどなされていない<sup>12)</sup>. 著者はまず Illudin S の細胞増殖に及ぼす効果を検索し, 超微量で細胞増殖を抑制することを確認した. 更に無傷細胞系においてのみ RNA 合成を抑制することを認めた. 以上の実験事実から細胞周期解析の手段として Illudin S を

用いて知見を得たので併わせ報告する.

## 材料及び実験方法

### I. Illudin S

Illudin S は Nakanishi<sup>12)</sup>らの方法により, *Lampteromyces japonicus* (KAWAMURA) Sing. より抽出・精製した標品を用いた.

### II. 放射性同位元素

(Methyl-<sup>3</sup>H) thymidine, (5, 6-<sup>3</sup>H) uridine, dl-leucine-1-<sup>14</sup>C, thymidine-(methyl-<sup>3</sup>H)-5'-triphosphate は, 全て Radiochemical Centre, Amersham (England) より購入したものを使用した.

### III. 細胞

鶏胚線維芽細胞 (CEF) は, Vogt<sup>13)</sup>らの方法によりホワイトレグホン種の10日鶏卵を初代培養し, 継代2代の CEF を用いた.

マウス由来線維芽細胞 L929 株 [岡山大学医学部癌源研究施設病理部門 (佐藤二郎教授) より恵与された] を用いた. 全て細胞は二酸化炭素培養恒温器 (池本理器) 中で培養した.

### IV. 細胞増殖の測定

増殖培養液 (GM; 2% triptose phosphate broth (TPB, DIFCO), 10% 牛血清 (L-929 株用) 又は 5% 仔牛血清 (CEF 用) 含有 Eagle's minimum essential medium (MEM, 日水)) で培養した細胞をトリプシン処理 (0.05% trypsin, 0.02% ethylene diamine tetra acetate (EDTA), phosphate buffered saline (PBS (-))) し, 休止培養液 (RM; 2% TPB 含有 MEM) で一度洗浄後, 附着培養液 (SM; 0.1% 牛血清含有 RM) に浮遊させ, 7.55cm<sup>2</sup> プラスチック・シャーレ (豊島製作所) に植込む (2 万個/シャーレ). 24 時間後, 細胞のプラスチック壁に附着を確

認し、RMに培養液交換、72時間培養し休止状態にする。その後、GMに培養液交換(“turn-on”)を行ない、48時間後にトリブシン処理、Coulter counterで細胞数を計数した。増殖率はGM中で培養した細胞数を100%として表示し、1試料3シャーレでその平均値を求めた。

#### V. 核酸・蛋白質合成の測定

付着培養液に浮遊させた細胞を18.1cm<sup>2</sup>プラスチック・シャーレ(豊島製作所)にまきこみ(80万個/シャーレ)、48時間後、休止培養液に交換、72時間培養し休止状態にする。その後、“turn-on”を行ない、種々の放射性前駆物質を添加し標識する。“turn-on”12時間後より、<sup>3</sup>H-thymidineのDNAへの取込みが急速に上昇し、16~18時間で最高(休止細胞系に比して10倍以上)となり、22時間でほぼ元のレベルにまで下降することを確認し、“turn-on”より12時間までをG<sub>1</sub>-S変換期とし、12時間から22時間までをS期とする。DNA合成は(methyl-<sup>3</sup>H)thymidineを用いRudlandらの方法で<sup>14)</sup>、RNA合成は(5,6-<sup>3</sup>H)uridineを用いSchaeferの方法で<sup>15)</sup>、蛋白質合成はdl-leucin-1-<sup>14</sup>Cを用いRudlandの方法で<sup>14)</sup>測定を行なった。放射性同位元素はトルエンベース液体シンチレーターを用い<sup>16)</sup>、Packard Scintillation Counterで測定した。蛋白質定量はLowryらの方法<sup>17)</sup>によった。

#### VI. ヌクレオチド酸可溶画分の測定

通常のtrichloroacetate(TCA)法により、放射性前駆物質のTCA抽出物を、Triton X-100液体シンチレーターにより<sup>16)</sup>、Packard Scintillation counterで測定した。thymidine triphosphate(TTP)、uridine triphosphate(UTP)等のヌクレオチドの測定はPaladiniらの方法<sup>19)</sup>により口紙クロマトグラフ法を用いて行なった。

### 結 果

鶏胚線維芽細胞の増殖は、培養液中1ng/mlのIlludin Sにより完全に抑制される(48時間培養)。2ng/mlでは既にtoxicであり、細胞融解をおこす(Fig. 1)。L-929株も同様に強く抑制され、Illudin Sの抑制効果に種特異性はない。しかし、単離ミトコンドリアを用いての酸化的リン酸化抑制や脱共役効果は5万倍量以上用いても認められない。Table 1にS期DNA合成、RNA合成の抑制効果を示す。“turn-on”後、16時間から4時間Illudin S存在下で、<sup>3</sup>H-thymidine(DNA合成)或いは、<sup>3</sup>H-uridine(RNA合成)で標識を行なった。DNA合成、RNA

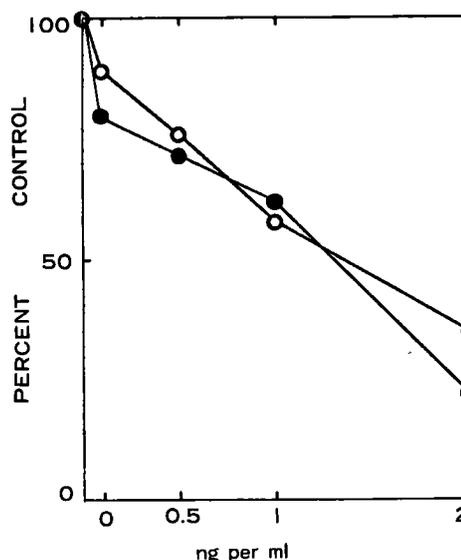


Fig. 1. Inhibitory effect of illudin S on cell proliferation. The effect of illudin S on cell proliferation was assayed for 48 h after changing RM with fresh RM or GM in the presence or absence of illudin S. The percent control was calculated by the following formula: [cell number in GM—cell number in GM + Illudin S] ÷ cell number in GM × 100. In the chick embryo cell (CEF) system (○—○) 100% was  $8.96 \times 10^4$ , and in the L929 cell system (●—●) 100% was  $18.7 \times 10^4$ . Triplicate identical plastic dishes (7.55 cm<sup>2</sup>) were used for one assay point to calculate the mean value of the cell number. The standard deviation did not exceed 10% of mean value.

合成ともに濃度依存性の抑制を受ける。同様の系における蛋白質合成は全く抑制を受けない。細胞増殖抑制効果を示す量(1~2 ng/ml)より高濃度(20ng/ml)を要求するのは処理時間が短いためである。DNA合成RNA合成ともに阻害を受けるため、S期における経時的な抑制効果を検索した(Fig. 2)。“turn-on”後16時間より放射性前駆物質による標識化(DNA合成及びRNA合成測定)をIlludin S存在下で行ない、30分間、1時間、2時間、4時間と、その抑制効果を測定した。DNA合成、RNA合成とも

Table 1. Concentration-dependent effect of illudin S on DNA and RNA synthesis in S phase of chick embryo cells

Systems	DNA synthesis <sup>a)</sup>	RNA synthesis <sup>a)</sup>
Growing (GM)	100 % <sup>b)</sup>	100 % <sup>c)</sup>
GM + Illudin S (ng/ml) 1	58.4	50.9
GM + Illudin S 2	48.0	31.0
GM + Illudin S 10	44.5	30.1
GM + Illudin S 20	38.4	21.5

a) The assay was started at 16 h after turning-on by addition of radioactive precursors: <sup>3</sup>H-thymidine (2.5 μCi/ml) for DNA, <sup>3</sup>H-uridine (5 μCi/ml) for RNA, and a known amount of illudin S. The reaction lasted for 4 h in a CO<sub>2</sub> incubator.

b) The growing system incorporated 52,600 ± 3,400 (standard deviation, S.D.) c.p.m. per mg protein. Percent control was calculated by the following formula; [c.p.m./mg protein in GM - c.p.m./mg protein in (GM + Illudin S)] ÷ [c.p.m./mg protein in GM] × 100. The standard deviations in the experimental systems were within 8.5 % of averaged mean value.

c) The GM system incorporated 21,200 ± 950 (S.D.) c.p.m. per mg protein. Percent control was calculated by the formula described in b). Standard deviations were within 8.7 % of mean value.

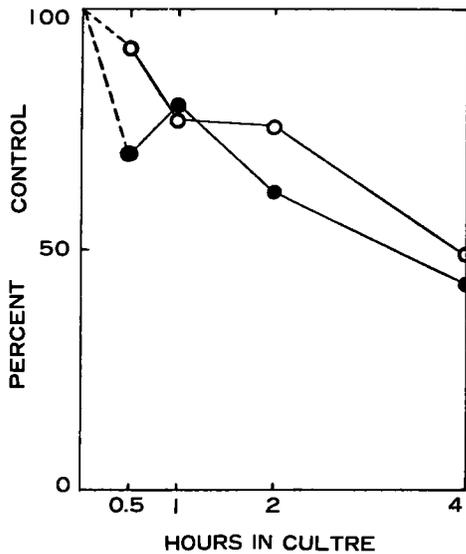


Fig. 2 Effect of illudin S on DNA and RNA synthesis in S phase. The kinetical assay of illudin S effect on DNA and RNA synthesis in CEF was started at 0 h by addition of (methyl-<sup>3</sup>H) thymidine (2 μCi/ml) and cold thymidine (3.3 μM) for the assay of DNA and (5,6-<sup>3</sup>H) uridine (5 μCi/ml) and

cold uridine (10 μM) for RNA. This was 16 h after changing RM with fresh GM for growing cell control, and GM + illudin S (20 ng/ml) for the experimental system. Incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine was expressed in the percent control (○—○, DNA; ●—●, RNA) that was calculated by the formula described in the legend to Table 1, b). Each experimental point was calculated from c.p.m. × 10<sup>-2</sup> per mg protein of 4 identical dishes. Cell numbers used were 4 × 10<sup>5</sup> per plate for GM control and illudin experiment.

に同様の抑制曲線を得る。Illudin S の核酸合成抑制の機序を明確にするため、G<sub>1</sub>-S 変換期を 5 時間ごとに区切り、この間のみ Illudin S 前処理を行ない、“turn-on” 後 16 時間の DNA 合成に及ぼす効果を検索した (Table. 2)。初期 0 ~ 5 時間前処理が最っとも強く DNA 合成を阻害し (65% 減少), 中期 (39% 減少), 後期 (17% 減少) と阻害効果が漸減する。また、これらの期における RNA 合成を検索したが、その抑制率は G<sub>1</sub>-S 変換期の初期 2 時間が最大であり、休止系細胞より増殖系細胞の方がより強い抑制をう

Table 2. Effect of illudin S on the initiation of DNA synthesis by early phase treatment in G<sub>1</sub>-S phase transition<sup>a)</sup>

Systems	Experiment	Percent control <sup>b)</sup>	
		A	B
Growing (GM)	38,340 ± 4,840 <sup>c)</sup>	100	100
System I	(0 to 5 h)	35.2	60.8
System II	(5 to 10 h)	45.4	80.4
System III	(10 to 15 h)	82.8	121
System IV	(5 to 15h)	60.6	80.7

a) Chick embryo cells were treated with illudin S according to the schedule described in the text.

b) Percent control was calculated by the formula described in the legend to Table 1, b). In Experiment A the cells were pre-treated with 1 ng of illudin S per ml and in Experiment B with 0.75 ng per ml.

c) The assay of DNA synthesis in S phase was described in the Methods. The numbers represent the mean value ± standard deviation (S.D.) in c.p.m. which was calculated from 4 identical plates.

Table 3. Effect of illudin S on RNA synthesis in early transitional period of G<sub>1</sub>-S phase

Systems	Assay time after turning-on <sup>a)</sup>		
	0 - 2 h	2 - 4 h	4 - 6 h
Resting system (RM)	6740 ± 550	6290 ± 552	6570 ± 162
RM + Illudin S <sup>b)</sup>	5180 ± 820	4560 ± 910	6520 ± 502
Growing system (GM)	6520 ± 552	12600 ± 975	10700 ± 567
GM + Illudin S <sup>b)</sup>	2680 ± 275	7380 ± 430	6310 ± 640
% Inhibition in RM <sup>c)</sup>	-23 %	-27 %	-0.7 %
% Inhibition in GM <sup>c)</sup>	-59 %	-42 %	-41 %

a) The incorporated amount of <sup>3</sup>H-uridine was represented mean value ± S.D. in c.p.m. per 0.2 ml of an identical system. This was calculated from 4 identical experimental dishes in each system.

b) The illudin S used was 1.25 ng per ml.

c) Percent inhibition was calculated by the next formula; [(RM + Illudin S) - RM] ÷ RM × 100, or [(GM + Illudin S) - GM] ÷ GM × 100, respectively in each column.

ける (Table 3). これらより, G<sub>1</sub>-S 変換期初期が Illudin S に最っとも感受性があり, また DNA 合成はこれら RNA 合成の阻害による第二義的なものといえる. Illudin S の第一義的作用機序解析のため, 標識と処理時間を20分間に短縮し, "turn-on" 後, 12, 14, 16, 18時間の DNA 合成と thymidine triphosphate (TTP) pool を測定した. TTP pool の増大には全く効果がなく (Fig. 3b), DNA はS期初期の DNA 合成には無効であるが, 中期 (16~18時間) 以後は抑制を受ける (Fig. 4). また G<sub>1</sub>-S 変換

期における Uridine triphosphate (UTP) pool の増大は Illudin S 添加により顕著な抑制を受ける (Fig. 3a), しかし, RNA polymerase<sup>20)</sup>や DNA replicase<sup>21)</sup>は1万倍量以上用いても抑制はみられない。(不掲載) 以上より, Illudin S は細胞周期において uridine の取込みを抑制, RNA 合成を抑制, その結果として DNA 合成を抑制するといえる.

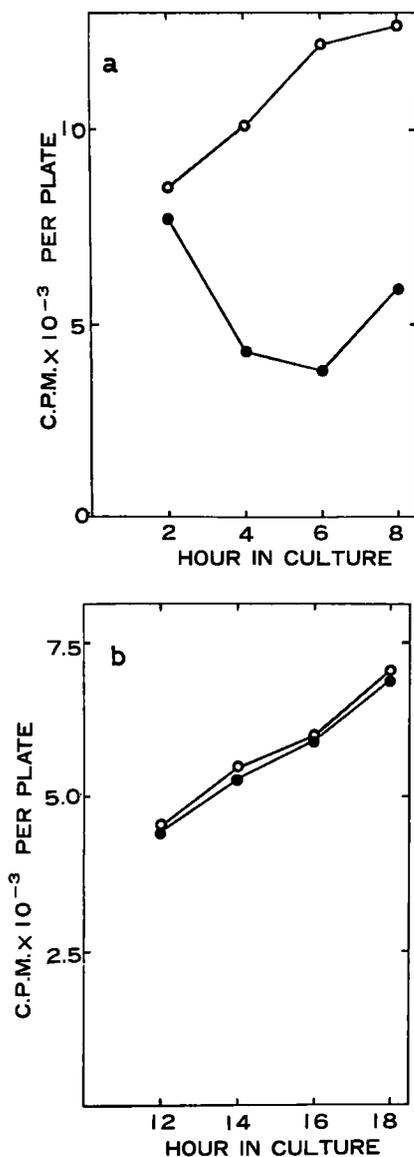


Fig. 3 Effect of illudin S on increase of the pool size of UTP and TTP. The increase of the UTP pool in the  $G_1$ -S transitional phase assayed by the method of Haushka modified as follows: Resting L-cells were "turned-on", and the incorporation of the  $^3\text{H}$ -uridine (NEN,  $0.3 \text{ Ci mmol}^{-1}$ ,  $1 \text{ uCi ml}^{-1}$ ) into UTP pool was assayed for 20 min. at 2, 4, 6, and 8 h after "turn-on" in the presence of illudin S ( $20 \text{ ng/ml}$ ). The TTP pool assay was performed in S-phase for 20 min. at 12, 14, 16, and 18 h after "turning-

on" by the addition of  $^3\text{H}$ -thymidine (NEN,  $0.33 \text{ Ci mmol}^{-1}$ ,  $1 \text{ uCi ml}^{-1}$ ) in the presence or absence of illudin S ( $20 \text{ ng/ml}$ ). Radioactivity incorporated into the UTP or TTP pool was counted with a Triton X-100 based scintillator after paper chromatography. Two identical dishes ( $18.1 \text{ cm}^2$ ) in which  $10^6$  cells had been seeded were used for each experimental point. The ordinate indicates averaged c.p.m. per plate in UTP pool (GM,  $\bigcirc$ — $\bigcirc$ , GM + illudin,  $\bullet$ — $\bullet$ ; a) and in TTP pool (GM,  $\bigcirc$ — $\bigcirc$ , GM + illudin,  $\bullet$ — $\bullet$ ; b), and the abscissa indicates hours in culture.

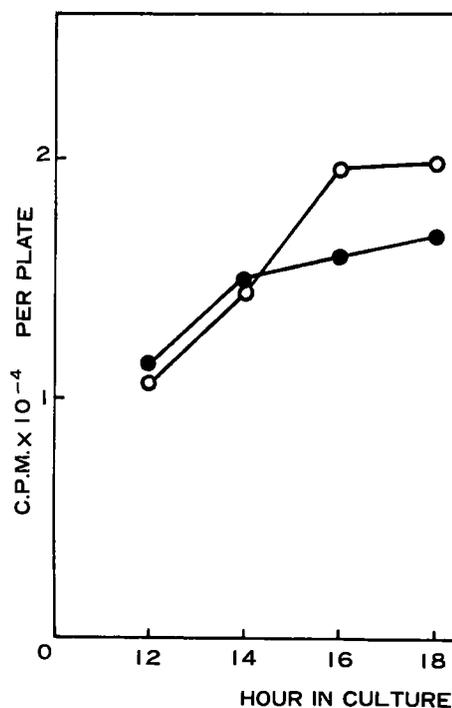


Fig. 4 Kinetic effect of illudin S on DNA synthesis in S-phase. Resting L-cells were "turned-on", and the incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine to DNA was assayed for 20 min. at 12, 14, 16, and 18 h after "turning-on" in the presence of illudin S ( $20 \text{ ng/ml}$ ). Radioactivity incorporated into DNA was counted by the material and method. The ordinate indicates averaged c.p.m. per plate in DNA (GM,  $\bigcirc$ — $\bigcirc$ , GM + illudin S,  $\bullet$ — $\bullet$ ) and the abscissa indicates hours in culture.

## 考 察

新しい RNA 合成阻害剤である Illudin S について報告を行なった。まず、Illudin S の正常線維芽細胞増殖阻害濃度が ng/ml であることは Actinomycin D の RNA 合成阻害濃度より低く、有効下限濃度とほぼ匹敵する<sup>22)</sup>。又、細胞増殖阻害濃度を決定し、その作用機序は RNA 合成阻害が第一義的であることを確認した。

まず、Illudin S の特異性を考察するため既に報告された RNA 合成阻害剤と比較する。RNA 合成阻害は 4 つのグループに大別され<sup>23)</sup> (1) RNA polymerase に働く； $\alpha$ -Amanitine, (2) template DNA に働く；Actinomycin D, (3) 基質アナログとして働く；Cordycepin, (4) Nucleotides 合成を阻害する；6-mercaptopurine, 5-fluorouracil 等である。しかし、Illudin S は無傷細胞系においてのみ有効で、無細胞系ではいずれも無効であり、広義に解釈すれば第 4 のグループに入れることができるが、構造上の類似性は有していない。

Illudin S は uridine の酸可溶画分への取込みのみを抑制し、thymidine や cytidine の取込みは阻害しない。更にその効果は休止細胞系よりも、血清因子に应答した増殖細胞系での効果が顕著であり、特に“turn-on”直後の G<sub>1</sub>-S 変換期初期の RNA 合成、S 期中期の DNA 合成を他の期よりもよく阻害する。細胞周期中 G<sub>1</sub>-S 変換期初期が最っとも DNA 合成に関与しているという知見は、既に MacCarthy らが<sup>7)</sup> 再生肝系を用いて手術後 2 時間内に新しい RNA が合成されることを報告しているが、その後この研究は進展をみせていない。今回報告した結果は、この

MacCarthy らのある種の RNA 合成が DNA 合成開始に関係があることを示しており、in vitro の系でも同様の解析が望まれる。

S 期 DNA 合成阻害の機序は primer RNA<sup>24)</sup> もしくは、全く性格づけのされていない RNA 種で DNA 合成と密接に関連する RNA 合成阻害を介していると考えられる。これら RNA 種の解析により DNA 合成に関する新しい知見が得られると推測される。

総合すると、Illudin S の作用機序の完全な解析は未だしではあるが、Illudin S は、G<sub>1</sub>-S 変換期機構説明のみならず、S 期 DNA 合成解明にも有用な手段たりうる可能性を示している。

## 結 語

Illudin S は 1 ~ 10 ng/ml の濃度で、細胞増殖を抑制する。この作用は無傷細胞においてのみ有効であり、G<sub>1</sub>-S 変換期 RNA 合成を抑制し、第二義的に S 期の DNA 合成を抑制する。その作用機序は Uridine 取込みの抑制である。

Illudin S は、G<sub>1</sub>-S 変換期の RNA 合成解析、S 期の DNA 合成の解析の有効な手段になりうる。

## 謝 辞

稿を終るに当り、御指導、御校閲下された恩師西田勇教授に深く感謝致しますと共に、終始御指導、御校閲下された島瀬修構師に深謝致します。また共同研究者高橋史生先生、倉光誠先生、並びに種々御協力を頂いた第一生理学教室教室員各位に感謝致します。

本論文の要旨は、第 49, 50, 51 回日本生化学会大会において発表した。

## 文 献

1. Temin, H.M.: Stimulation by serum of multiplication of stationary chicken cells. *J. cell Physiol.* **78**, 161-170, 1971.
2. Todaro, G.J., Matsuija, Y., Bloom, S., Robbins, A. and Green, H.: *Growth Regulating Substances for Animal Cells in Culture*, V. Defendi, and M.G.P. Stocker, ed. Wister Institute Press, 1967.
3. Rubin, H.: Nonspecific nature of the Stimulus to DNA synthesis in cultures of chick embryo cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **72**, 1676-1680, 1975.
4. 塚田欣司: 再生肝における DNA 合成の制御。蛋白質・核酸・酵素, **18**(4), 249-258, 1973.
5. Rubin, H.: Central role for magnesium in coordinate control of metabolism and growth in animal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **72**, 3551-3555, 1975.
6. Rozengurt, E. and Stein, W.D.: Regulation of uridine uptake by serum and insulin in density-inhibited 3T3 cells. *Biochim. Biophys. Acta* **464**, 417-432, 1977.

7. Church, R.B. and McCarthy, P.J.: Ribonucleic acid synthesis in regenerating and embryonic liver; I, Synthesis of new species of RNA during regeneration of mouse liver after partial hepatectomy. *J. Mol. Biol.* **23**, 459—475, 1967.
8. Lieberman, I., Abrams, R., Hunt, N. and Ove, P.: Levels of enzyme activity and deoxyribonucleic acid synthesis in mammalian cells cultured from the animal. *J. Biol. Chem.* **238**, 3955—3962, 1963.
9. Hamilton, L., Fuller, W. and Reich, E.: X-ray diffraction and molecular model building studies of the interaction of Actinomycin with nucleic acid. *Nature* **198**, 538—540, 1963.
10. Anchel, M., Hervey, A. and Robbins, W.J.: Production of Illudin M and of a fourth crystalline compound by clitocybe Illudens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **38**, 927—928, 1952.
11. McMorris, T.C. and Anchel, M.: Fungal metabolites. The structure of the novel sesqui terpenoids Illudin-S and -M. *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 1594—1600, 1965.
12. Nakanishi, K., Tada, M., Yamada, Y., Ohashi, M., Komatsu, H. and Terakawa, H.: Isolation of Lampterol, an Antitumour substances from Lampteromyces Japonicus. *Nature* **197**, 292, 1963.
13. Vogt, P.K.: *Fundamental Techniques in Virology*: ed. K. Habel and N.P. Salzman, Academic Press, N.Y., pp. 198—211, 1969.
14. Rudland, P.S.: Control of translation in cultured cells; Continued synthesis and accumulation of messenger RNA in nondividing cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **71**, 750—754, 1974.
15. Schaefer, K.: The RNA synthesizing capacity of nuclei isolated from cultured mouse cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **68**, 219—226, 1976.
16. Kobayashi, Y. and Maudsley, D.V.: Practical Aspects of liquid scintillation counting. *Methods in Biochem. Analysis* **17**, 55—133, 1969.
17. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **93**, 265, 1951.
18. Haushka, P.V.: Analysis of nucleotides pools in animal cells. In *Methods in Cell Biol.* **VII**, ed. Prescott, Academic Press. N.Y. and London, pp. 361—462, 1973.
19. Paladini, A.C. and Leloir, L.F.: Studies on uridinediphosphate-glucose. *Biochem. J.* **51**, 426—430, 1952.
20. Weaver, R.F., Blatti, S.P. and Rutter, W.J.: Molecular structures of DNA-dependent RNA polymerase (II) from calf thymus and rat liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **68**, 2994—2999, 1971.
21. Seki, S., Lemahien, M. and Mueller, G.G.: A permeable cell system for studying DNA replication in synchronized HeLa cells. *Biochim. Biophys. Acta* **378**, 333—343, 1975.
22. Baserga, R., Estensen, R.D. and Petersen, R.O.: Inhibition of DNA synthesis in Ehrlich ascites cells by Actinomycin D, II. The presynthetic block in the cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **54**, 1141—1148, 1965.
23. 田中信男: 抗生物質の作用メカニズム, 東京大学出版会, 1972.
24. Okazaki, R., Okazaki, T., Sakake, K., Sugimoto, K. and Sugino, A.: Mechanism of DNA chain growth, I. Possible discontinuity and unusual secondary structure of newly synthesized chains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **59**, 598—605, 1968.

**Illudin S ; a possible new type inhibitor of RNA synthesis,  
and analysis of its action mechanism**

**Toshifumi ITANO**

The First Department of Physiology, Okayama University Medical School

(Director : Prof. I. Nisida)

Illudin S primarily and specifically inhibited RNA synthesis at a concentration of 1–10 ng/ml of culture medium in the early period of G<sub>1</sub>–S phase transition as well as in S phase in a growing medium. DNA synthesis in S phase and cell proliferation were inhibited as secondary events. The inhibitory effects on RNA synthesis were only manifested in intact cell systems, not in cell-free ones. DNA replication in a nucleotide-permeable cell system was completely insensitive to Illudin S. Protein synthesis in intact cell systems was not inhibited by Illudin S. Illudin S should prove useful in the analysis of the mechanism of G<sub>1</sub>–S phase transition in the cell cycle; especially in the elucidation of specific kinds of RNA required for initiation of DNA replication.