

generation time から S, G<sub>2</sub> および M 時間の和を減じた値をもっている場合が多い。Puck らは *in vitro* で分裂阻害剤と <sup>3</sup>H-TαR との連続処理で G<sub>1</sub> 時間の直接測定を試みている。われわれは *in vivo* で分裂阻害剤として colcemid を連続的に投与し, G<sub>1</sub>, S および G<sub>2</sub> 時間を直接測定する方法を考案したので報告する。

① S および G<sub>2</sub> 時間の測定法: <sup>3</sup>H-TαR および colcemid を同時投与後, colcemid のみ連続的に作用させて, 分裂間期細胞について標識細胞と非標識細胞の比率を経時的に追跡した。なお colcemid は体重 1kg 当り 1mg の割合で 4 時間ごとに投与した。その比率は pulse labeling 時には (S 期の細胞数 / (G<sub>1</sub> + G<sub>2</sub>)) 期および dormant stage の細胞数) となり, ana-telophase の時間後いったん下降した比率は上昇して peak となり, 以後直線的に減少し零となる。上昇の peak までの時間が平均 G<sub>2</sub> 時間, peak より零になるまでの時間が S 時間と考えられる。

② G<sub>1</sub> 時間の測定法: <sup>3</sup>H-TαR を 1 時間ごとに投与すると共に, colcemid を連続的に作用させ, 非標識細胞比率の経時的変動を追求した。その比率は時間の経過とともに略々直線的に減少し plateau に達する。一定値に達するまでの時間は G<sub>1</sub> 時間と ana-telophase に要する時間の和となるが, 後者は短時間であるので G<sub>1</sub> 時間とみなしうる。なお①②の方法が成立するためには増殖サイクルが, G<sub>1</sub> → S → G<sub>2</sub> → M を通じて常に一定の rate ですすむことおよび観察期間中構成細胞の比率が不変であるという仮定が必要である。

\*

## 54. 細胞内への Labeled Pyrimidine の転入

菱田豊彦 気賀正己  
(昭和大学放射線科)

DNA-thymidine の生合成の過程には 2 種類ある。いずれも thymidilic acid (TMP) の合成をへて行なわれる。一方は外因性の thymidine (TdR) の磷酸化により, 他方は deoxycytidilic acid (dCMP) が脱アミノされ dUMP になり, さらにそれがメチル化されて TMP になる過程である (endogenous)。

TdR は DNA-T に特異的に転入されるので, この放射性物質は DNA 合成の効果をみるのに都合よいとされ, たくさんの実験者により試みられている。

しかし外因性のチミジンの DNA への転入は, TMP の他の道の変動によって影響されるであろう。dUMP から TMP への供給が減少すれば, 外からの TdR の転入が

増加する可能性が考えられる。

これらの点を考慮に入れて, 外部からのチミジンおよびその類似物質 (analogues) のとり込みの状態をみた。

放射線前駆物質 (TdR-<sup>14</sup>C, BUdR-<sup>14</sup>C, <sup>131</sup>I-UdR) を酵母の細胞懸濁液の中に入れ, その一定量を経時的にとりだし, 細胞または DNA を抽出して, 細胞または DNA の放射能を測定した。

アミノプテリン (または 5FU) は dUMP のメチル化を抑制するとされているので, これらのもので核酸合成を抑制した細胞についても, 同様に実験した。

aminopterin (または 5FU) で抑制されている細胞では TdR-<sup>14</sup>C の細胞内 DNA への転入は control より増大している。ほかの標識 TdR 類似物質の細胞内転入も同様に対照群より増大する。また X 線照射の場合もまったく同じ傾向を示した。

これらの結果から, aminopterin (または 5-FU) 抑制または X 線照射によって, TMP の生合成過程が抑えられたためかえって, 外部からのとり込みが増大したものと考えられる。したがって標識されたチミジンの取り込みがそのまま DNA 合成の指標にならないだろう。

\*

## 55. <sup>3</sup>H-葉酸を用いての葉酸代謝の研究

外林秀紀 吉野俊昭 石原象二郎  
本多靖夫 城戸久隆 脇坂行一  
(京都大学脇坂内科)

投与された葉酸 (FA) の生体における代謝を追求する目的で <sup>3</sup>H-FA 注射後の白鼠の肝臓あるいは人尿から葉酸誘導体を DEAE, セルローズカラムで分離し, おのおの誘導体における L. casei および P. cerevisiae による微生物学的活性と放射性を測定し, 投与された <sup>3</sup>H-FA の活性型への転入, 排泄等を観察した。

正常食飼育白鼠肝における FA 誘導体の分布は <sup>3</sup>N-methyl tetrahydrofolic acid (<sup>3</sup>N-CH<sub>3</sub> THF) が大部分を占め, 小部分の <sup>10</sup>N-CHO THF, 1 部 <sup>3</sup>N-CHO THF, および微量の THF であるが, FA 欠乏食飼育白鼠に <sup>3</sup>H-FA 1mg/kg b.w. 腹腔内に投与し, 24 時間後の肝では, 微生物学的活性は正常食飼育白鼠の場合と同様であり, 投与 FA そのものの活性はほとんど認められなかった。放射活性は主として <sup>3</sup>N-CH<sub>3</sub> THF, <sup>10</sup>N-CHO THF, 1 部 <sup>3</sup>N-CHO THF, THF, <sup>5,10</sup>N-CH<sub>2</sub> THF に認められた。なお, 微生物学的活性のない分解産物と思われる 2 個の放射活性が認められた。