

同時分裂促進된 사람의 培養細胞에 있어서 染色體의 DNA 合成에 미치는 Steroids 의 영향

姜 永 善·朴 相 大·俞 貞 姬
(서울大·文理大·動物學科)

Studies on the Effects of Steroids on DNA Synthesis of Chromosomes in Synchronized Human Cells

Yung Sun Kang, Sang Dai Park and Chung Hee Ryu
(Dept. of Zoology, Seoul National University)

(1969. 10. 18 수리)

SUMMARY

The frequencies of chromosomal aberrations, numerical variations at various time intervals and DNA synthetic patterns after the treatment with steroids in synchronized human kidney cells treated with 5-AU were investigated in the present experiment.

1. In 5-AU treated group, the frequency of chromosomal aberrations per cell was 0.131, 3 times of control group. In 5-AU+progesterone and 5-AU +testosterone groups, the frequency of chromosomal aberrations per cell was 0.340 and 0.452 respectively.

2. In 5-AU treated group, the frequency of cells with abnormal chromosome number was 0.8%, which was distributed throughout the time regardless of time interval. In 5-AU+progesterone and 5-AU+testosterone groups, the frequencies of cells with abnormal chromosome number were 2.2% and 4.3% respectively and they increased with the time. In 5-AU+progesterone group, the frequency of chromosomal aberrations exhibited the peaks at 12 and 18 hour stage after the treatment with steroids and, in 5-AU+testosterone group, it decreased with the time and in 5-AU treated group no significant difference was observed

3. The increase of labeled metaphases and labelling intensities in 5-AU treated cells are the result of the accumulation of cells at S stage by 5-AU. The decrease of labeled metaphases, labelling intensities and the delay of DNA synthetic time were observed in steroid groups. DNA synthetic pattern of sex chromosomes differs according to the step of cell cycle and DNA synthetic time is irregular because of double treatments with 5-AU and steroids.

緒 論

染色體研究에 있어서 많은 數의 分裂像을 얻는다는 것은 극히 중요한 일로 Smith 등(1963)이 5-AU에 의해 核分裂의 部分的인 同時化促進에 성공한 것은 이 方面의 획기적인 공헌이다. 그 후 thymidine 과 colcemid 의 2重處理에 의한 細胞分裂의 同時化方法이 報告되었으며(Doida 및 Okada, 1967, Stubblefield 및 Murphree, 1967), Priest 등(1967)은 細胞毒素處理에 의한 方法을

考案하였다. 또한 Kates 등(1968)은 同時分裂 促進된 *Chlamydomonas reinhardtii* 를 材料로 染色體의 DNA 複製樣相을 研究하였다.

한편 細胞分裂의 抑制 및 染色體異常 誘發物質로 알려져 있는 steroid 物質을 培養細胞에 處理하여 染色體의 數 및 形態에 미치는 이들 物質의 効果와 染色體의 DNA 合成樣相에 미치는 영향을 추구하고는 研究가 여러 學者들에 의해 추진되고 있다.(Stone, 1962; Stone 및 Kang, 1962; Kang 1963). 최근에 와서 Amaral (1967), Fran-

Table 1. Frequencies of chromosomal aberrations in synchronized human normal cells after the treatment with steroids

Type of cell	Experimental group	No. of cells examined	Type of chromosomal aberration								Total breaks (%)	Break per cell
			Chromatid-type				Chromosome-type					
			chromat. del.	isochromat. del.	chromat. exch.	total	chromosome del.	dicent.	ring	total		
Normal kidney	Control	200	2.0	1.0	0.5	3.5	0.5	—	—	0.5	4.0	0.040
	5-AU	206	6.8	1.5	3.4	11.6	0.5	1.0	—	1.5	13.1	0.131
	5-AU+Pro.	200	11.5	1.5	3.0	16.0	4.5	13.5	—	18.0	34.0	0.340
	5-AU+Test.	259	20.0	0.8	3.1	23.9	6.2	14.3	0.8	21.3	45.2	0.452

kfurt (1968), Beato 등 (1968)은 steroid 물질이 染色體의 DNA 합성을 저해 할 뿐 아니라 DNA 합성時期를 不規則하게 함을 밝힌 바 있다. 著者(Kang 등, 1968)은 progesterone 과 testosterone 이 사람의 培養細胞 染色體의 DNA 합성을 抑制하며, 특히 性染色體의 DNA 複製樣相을 不規則하게 함을 보았다.

本 研究은 5-AU 에 의해 同時分裂 促進된 사람의 培養細胞를 材料로 steroid 물질이 이들 細胞의 分裂活動과 染色體의 數 및 構造의인 變化에 미치는 영향을 추구함은 물론 染色體의 DNA 합성樣相 및 時期에 미치는 영향을 究明함으로써 同時分裂의 機作과 이들 物質處理에 의한 染色體의 DNA 複製와의 連關性을 究明하고자 추진한 것이다.

材料 및 方法

本 研究에 사용된 材料는 妊娠 5~6 개월에 人工流産한 胎兒중 男女 각각 2 個體의 腎臟을 사용하였다. 研究方法 중 同時分裂 促進은 Chu (1965)의 方法에 따라 24 時間 培養한 腎臟細胞에 5-AU ($3 \times 10^{-8}M$)가 함유된 培養液으로 24 時間 處理했다. Steroid 物質處理는 progesterone(Progenin suspension, Sanjen, Japan)과 testosterone(Enarmon, Deigoku, Japan)을 각각 0.1 μ g/ml 되게 加한 培養液에 12~24 時間 細胞를 處理했다. 그 밖에 細胞培養, 放射性同位元素標識處理, 染色體標本作成, 自記放射法 등은 이전 方法에 따랐다. (Kang 및 Park, 1969)

結 果

(1) 染色體異常

Table 1 은 同時分裂 促進된 正常人의 腎臟細胞를 材料로 steroid 處理에 의한 染色體異常率을 나타낸 것으로서, steroid 處理후 2~22 時間까지의 結果를 綜合하였다.

對照區에 있어서는 觀察한 200 개의 細胞에서 染色體 分體 異常型이 3.5% 나타나는데, 그중에 染色體 缺失이 2.0%, 同位染色體 缺失이 1.0%, 染色體 交換이 0.5%로 구분되며, 染色體 異常型은 다만 染色體 缺失이 0.5% 나타난다. 따라서 自然狀態에서의 腎臟細胞가 보여주는 細胞當 染色體 異常率은 0.040 이 된다. 다음 5-AU 處理區에서는 206 개의 細胞에서 細胞當 染色體 異常率이 0.131 로 높아지는데, 이 속에는 11.6%의 染色體 異常型과 1.5%의 染色體 異常型이 포함되어 있다. 染色體 異常型에는 染色體 缺失, 同位染色體 缺失, 染色體 交換이 각각 6.8%, 1.5%, 3.4% 차지하며 染色體 異常型에는 染色體 缺失과 dicentric 이 각각 0.5%, 1.0% 포함된다. 한편 5-AU+progesterone 과 5-AU+testosterone 處理區에 있어서는 細胞當 異常率이 0.340 과 0.452 가 되며, 染色體 異常型과 染色體 異常型의 頻度는 양 實驗區에서 각각 16.0%, 18.0%와 23.9%, 21.3% 가 된다. 여기서 染色體 異常型으로 染色體 缺失이 각각 11.5%와 20%, 同位染色體 缺失은 1.5% 와 0.8%, 그리고 染色體 交換이 3.0%와 3.1% 차지하고 있다. 染色體 異常型은 染色體 缺失이 4.5%와 6.2% 나타나며, dicentric 이 13.5%, 14.3% 그리고 ring 은 5-AU+testosterone 에서만 0.8% 나타나고 있다.

(2) 時間經過에 따른 正常細胞 染色體의 異常가) 染色體의 數의인 變異

Fig. 1 은 同時分裂 促進된 正常人의 腎臟細胞에 있어서 steroid 處理에 의한 染色體의 數의인 變異를 나타낸 것으로서, 處理 후 2~22 時間까지 調査한 結果를 종합했다. 對照區에서 觀察된 500 개 細胞중에 diplochromosome 은 1 개, 倍數體는 3 개의 細胞에서 發見되고 있다. 따라서 異常染色體를 지니는 細胞는 전체의 0.8%이다. 이것이 은 實驗區間에 分布하고 있는 것을 보면 時間變化에 어떤 유의한 傾向성을 나타내지 않고

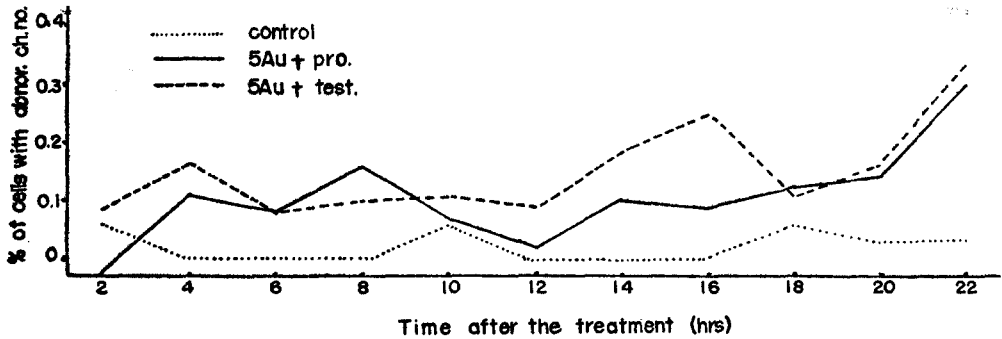


Fig. 1. Distribution of numerical variations of chromosomes in synchronized human kidney cells at various time intervals after the treatment with steroids.

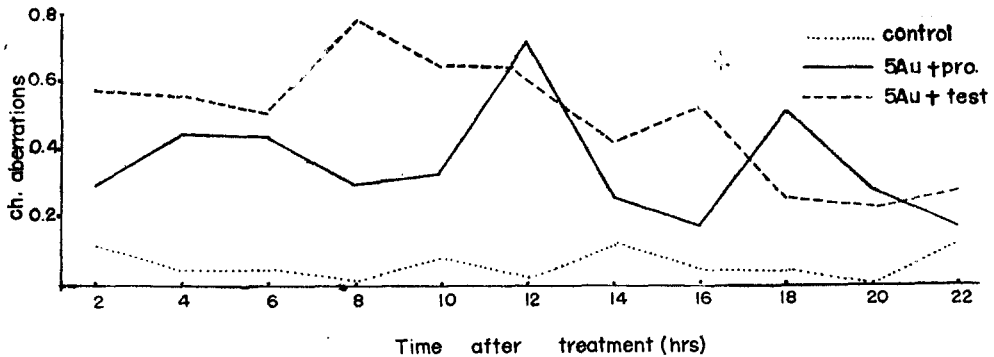


Fig. 2. Distribution of chromosomal aberrations in synchronized human kidney cells at various time intervals after the treatment with steroids.

전체 期間에 걸쳐 존재한다. 한편 5-AU+progesterone 處理區에서는 824 개의 細胞에서 2.2%의 異常染色體數를 지니는 細胞가 나타나는데, 여기서는 diplochromosome 과 倍數體를 각각 8개와 10개 細胞에서 보여주고 있다. 다음 5-AU+testosterone 處理區에서는 948 개의 細胞에서 4.3%가 異常染色體數를 지니며, diplochromosome 과 倍數體가 각각 16개와 23개 細胞에서 觀察된다. 그러나 steroid 處理區에서는 Fig. 1 에서 보는 바와 같이 전체적으로 時間이 지남에 따라 異常染色體數를 갖는 細胞가 增加하는 경향을 나타내고 있다. 여기에서 diplochromosome 은 대체로 감소하고, 倍數體는 增加하여 서로 反對現象을 보인다. 이러한 것은 長期培養 細胞가 일반적으로 染色體數의 增加現象을 나타내는 것에다가 steroid 處理로 인한 2차적인 영향이 겹친 때문이라고 생각되며, diplochromosome 이 감소하는 것은 核內 有絲分裂의 出現과 같은 steroid 의 效果가 處理후에 곧 促進됨을 의미하는 것 같다.

나) 染色體의 形態의 變異

Fig. 2 는 時間變化에 대한 正常細胞 染色體의 形態의 變異를 表示한 것이다. 먼저 對照區에서는 이 圖表에서 보는 바와 같이 時間變化에 따라 染色體 異常率의 유의한 差異를 찾아볼 수 없다. 그러나 5-AU+progesterone 處理區에 있어서는 處理후 時間이 經過함에 따라 染色體異常의 出現頻도가 감소하지 않고, 12時間과 18時間에 높은 染色體 異常率을 나타낸다. 한편 5-AU+testosterone 處理區에서는 대체로 時間變化에 따라 감소하는 경향을 보이고 있다. 따라서 染色體異常을 誘發시키는 데 있어서 같은 steroid 物質이라고 해도 progesterone 은 꺾이나 持續的인 영향을 나타내며, 한편 testosterone 은 별로 그렇지 못함을 알 수 있다.

(3) DNA 合成

Fig. 3 은 steroid 處理받은 同時分裂 促進된 正常人的 腎臟細胞를 材料로 標識處理후 時間經過에 따른 標識分裂像의 出現頻도와 標識強度를 비교한 것이다. 여기

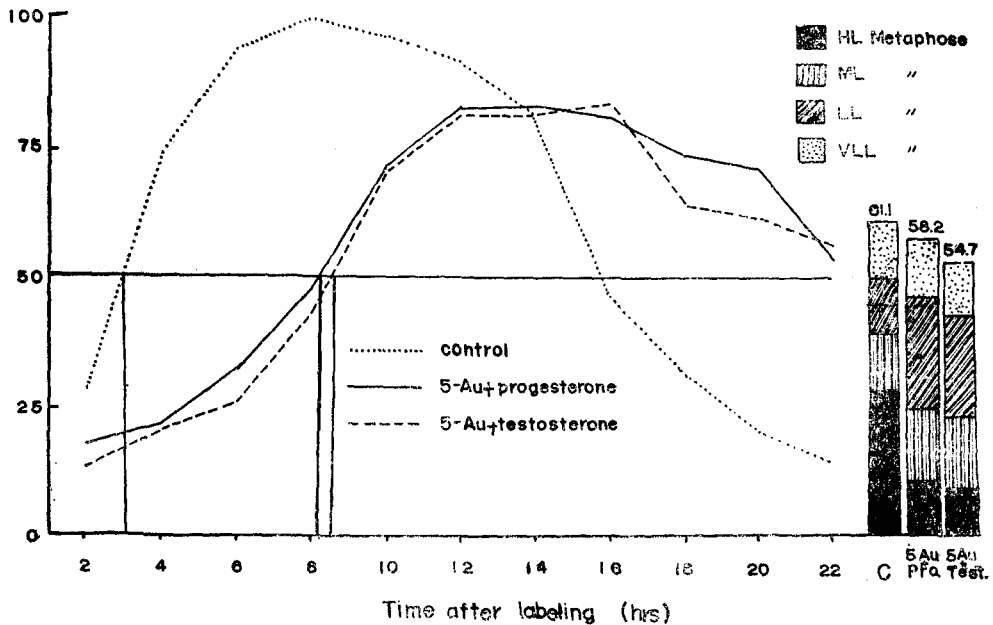


Fig. 3. Distribution of labeled metaphase in synchronized human kidney cells at various periods after the treatment with steroids.

서는 標識處理 후 2~22時間까지 調査하였다. 對照區에 있어서는 處理后 2時間에 28%의 分裂像이 標識되어 있으며, 이것이 4時間에 가서는 74%로 급격이 增加한다. 6時間에서 12時間까지는 90% 이상의 細胞가 標識된다. 14時間부터는 점차 감소하는 경향을 보이며, 여기서는 81%만이 標識되고 있다. 16時間에서 22時間까지는 標識된 分裂像이 각 實驗區에서 50% 이하로 감소된다. 한편 5-AU+progesterone, 5-AU+testosterone 處理區에서는 標識處理后 2時間에 標識分裂像의 出現頻도가 각각 18%와 13%가 된다. 그 후 8時間까지는 완만한 上昇曲線을 보이나, 標識分裂像의 頻도가 전체의 50%에 달하지 못한다. 標識分裂像의 出現頻도가 최고의 범위를 나타내는 10~16時間의 각 實驗區間에 있어서도 70~80%만이 標識되고 있다. 18時間부터는 점차 감소하여 22時間에서는 각각 56%와 59%의 分裂像이 標識된다. 온 實驗期間에 걸쳐 對照區에서는 標識分裂像의 出現頻도가 61.1%인데 그중 半數가 強하게 標識된 것이며, 보통인 것, 弱한 것, 아주 弱한 것이 각각 비슷한 比率를 차지하고 있다. 한편 5-AU+progesterone 處理區에서는 58.2%가 標識된 分裂像이며, 여기서 強하게 標識된 것은 불과 12%에 불과하다. 다음 보통인 것은 14%이고, 나머지는 弱하게 標識된 것과 아주 弱하게 標識된 것으로 이것

은 標識된 細胞 전체의 半이상이다. 5-AU+testosterone 處理區에서는 54.7%가 標識되어 있고, 標識強度는 5-AU+progesterone 處理區와 비슷하나 그 정도는 다소 낮아지고 있다.

위에서 본 바와 같이 steroid는 同時分裂促進細胞의 標識된 分裂像의 出現頻도를 감소시키고 標識強度를 저하시킬뿐 아니라 DNA合成時期를 지연시키고 있음을 알 수 있다. 위에서 얻은 結果에서 G₂-stage의 持續時間을 算해 보면 對照區에서는 3時間내의인데 5-AU+progesterone 處理區에서는 8時間 15分내의, 5-AU+testosterone 處理區에서는 8時間 40分 내의가 된다. 따라서 5-AU와 steroid의 二重處理는 細胞週期の G₂-stage의 심한 지연을 초래하며, S-stage는 별다른 영향을 받지않고 각 實驗區間에서 13時間 내의가 됨을 본다.

Table 2는 同時分裂 促進된 正常女子의 腎臟細胞를 材料로 각 實驗區의 細胞週期和 각 段階의 標識強度 및 性染色體의 DNA合成樣相을 나타낸 것이다. 이것은 Fig. 3의 結果를 토대로 하였으며, 標識 處理后 2時間부터 22時間까지를 다음 4區間으로 구분하여 觀察하였다. 즉 제 1區間은 標識處理后 2~4時間, 제 2區間은 6~12時間, 제 3區間은 14~16時間, 그리고 제 4區間은 18~22時間이다.

Table 2. Cell cycle and DNA synthesis of sex chromosomes in synchronized human female kidney cells after the treatment with steroids.

No.	Time after labeling	Experimental group	Stages of cell cycle	No. of cells exam.	Labeling intensity				DNA synthetic pattern of sex chromosomes	
					VLL	LL	ML	HL	Hot-X	Cold-X
1	2-4	Control	G+L-S	100	17	43	33	7	+	—
		5-AU+pro.	G ₂	75	83	17	—	—	—	—
		5-AU+test.	G ₂	80	80	20	—	—	—	—
2	6-12	Control	Mid-S	150	2	10	59	29	—	—
		5-AU+pro.	G ₂ +L-S+Mid-S	193	58	32	10	—	+	+
		5-AU+test.	"	185	54	27	12	7	+	+
3	14-16	Control	E-S	95	4	28	51	17	—	+
		5-AU+pro.	M-S	97	47	45	7	1	—	+
		5-AU+test.	"	102	49	42	9	—	—	+
4	18-22	Control	E-S+G ₁	170	18	62	15	5	—	+
		5-AU+pro.	E-S	180	85	15	—	—	—	+
		5-AU+test.	"	151	82	18	—	—	—	+

우선 對照區에서는 제 1 區間이 G₂ 와 late S-stage 가 되며, 여기에는 弱하게 標識된 分裂像이 43%, 다음 보통인 것이 33%, 아주 弱한 標識는 17%, 그리고 가장 낮은 것은 強한 標識強度를 나타내는 것으로 7% 이다. 다음 제 2 區間에서는 mid S-stage 가 되며, 여기서는 보통인 標識強度를 보이는 것이 가장 많아 59% 를 차지하며, 다음이 強한 것으로 29%, 그다음이 弱한 것으로 10%, 아주 弱한 것은 2% 이다. 제 3 區間은 early S-stage 에 해당하는데, 여기 標識된 分裂像의 標識強度는 51% 의 보통으로 標識된 것, 28% 의 弱한 것 17% 의 強한 것, 그리고 4% 의 아주 弱한 標識인 것 등을 포함한다. 끝으로 제 4 區間은 early S 와 G₁-stage 를 간직하는 時期로서 弱한 것이 62%, 아주 弱한 것이 18%, 보통인 것이 15%, 그리고 強한 標識強度를 나타내는 것은 5% 이다.

다음 5-AU+progesterone, 5-AU+testosterone 處理區에서는 제 1 區間은 두 實驗區 다 G₂-stage 에 속한다. 여기에서 標識된 細胞는 대부분이 아주 弱한 標識強度를 나타내는 것으로 각각 83%, 80% 이며, 다음이 弱하게 標識된 것으로 각각 17% 와 20% 를 나타내고, 보통인 것 이상은 觀察할 수 없다. 제 2 區間은 G₂, late S, mid S-stage 가 포함되는 時期이다. 두 實驗區에서 아주 弱한 標識인 것이 각각 58% 와 54%, 다음이 弱한 것으로 32% 와 27%, 보통인 것은 10% 와 12% 로 나타나며, 5-AU+testosterone 處理區에서는 7% 의 強하게 標識된 것이 觀察된다. 제 3 區間은 mid S-stage 의

時期로서 아주 弱한 것이 각각 47% 와 49% 를 차지하며, 다음이 弱한 것으로 45% 와 42% 觀察된다. 다음 보통인 것이 7% 와 9% 나타나며, 5-AU+progesterone 處理區에서는 1% 의 強한 標識強度를 보이는 것이 發見된다. 끝으로 제 4 區間은 early S-stage 에 해당하며, 여기서 아주 弱하게 標識된 것이 대부분이고, 두 實驗區에서 각각 85%, 82% 를 보여주고 있다. 다음 弱한 標識가 15% 와 18% 觀察되며, 보통인 것과 強한 標識強度를 나타내는 것은 볼 수 없다.

性染色體의 DNA 合成樣相을 보면 두 X-染色體 중 한개가 強한 標識를 나타내는 소위 hot-X 로 對照區의 경우 제 1 區間에서만 發見된다. 그러나 5-AU+progesterone 과 5-AU+testosterone 處理區에서는 hot-X 는 제 2 區間에서 나타난다. 다음 한개의 標識가 안된 X-染色體인 cold-X 가 觀察되는 것은 對照區에 있어서는 제 3, 제 4 區間에서 보이는데, 處理區에서는 제 2 區間부터 제 4 區間에 걸쳐 나타난다. 그래서 제 2 區間에는 hot-X 와 cold-X 가 동시에 觀察되고 있다.

위의 實驗結果로서 비록 標識處理후 같은 期間이라 해도 각 處理區에서 보여주는 細胞週期の 各段階는 對照區와 서로 다르며, 標識強度도 저하되고 있음을 알 수 있다. 또한 性染色體의 DNA 合成樣相이 細胞週期の 各段階에 따라 일관성있게 나타나지 않는 것은 5-AU 와 steroid 의 二重處理로 DNA 合成時期를 不規則하게 만든 때문이라고 생각된다.



Fig. 4. Metaphase plate of hyperdiploid cell ($2n=48$) with an achromatic lesion from normal human kidney cells treated with progesterone.

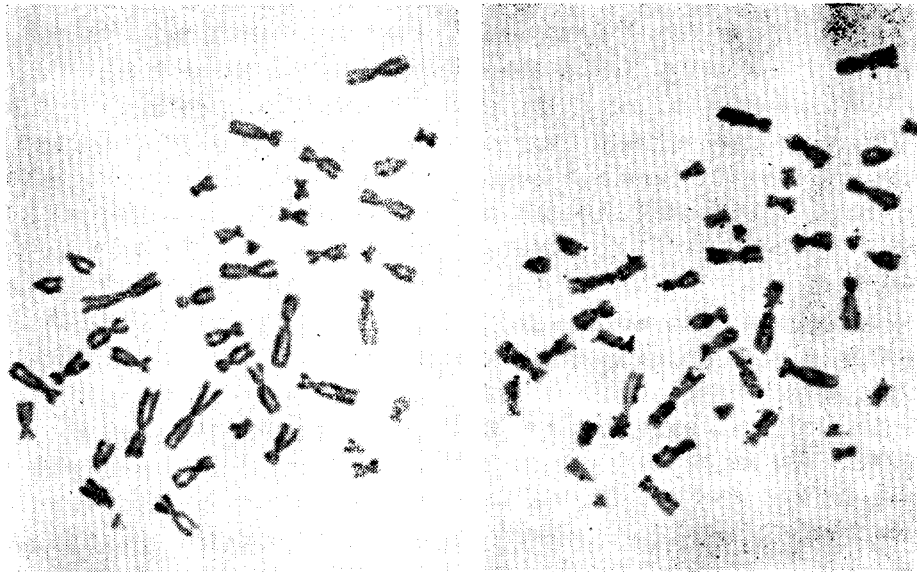


Fig. 5. Metaphase plates of pre- and post- autoradiographed normal human male cell. Thymidine- H^3 was added 16 hours before fixation.

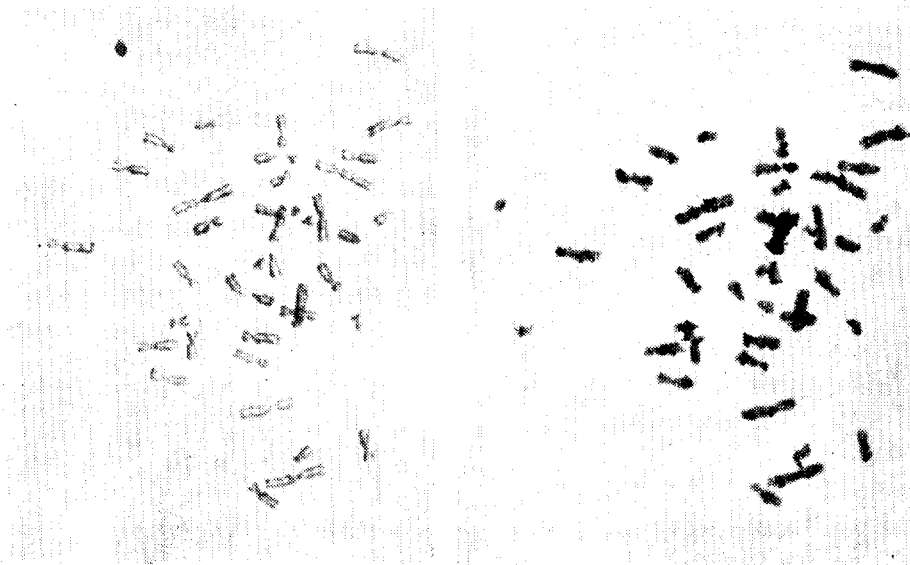


Fig. 6. Metaphase plates of pre- and post-autoradiographed human female kidney cell treated with 5-AU+testosterone. Thymidine- H^3 was added 10 hours before fixation. Note that one of X-chromosomes (hot-X) is heavily labeled than any other chromosomes in the complement.

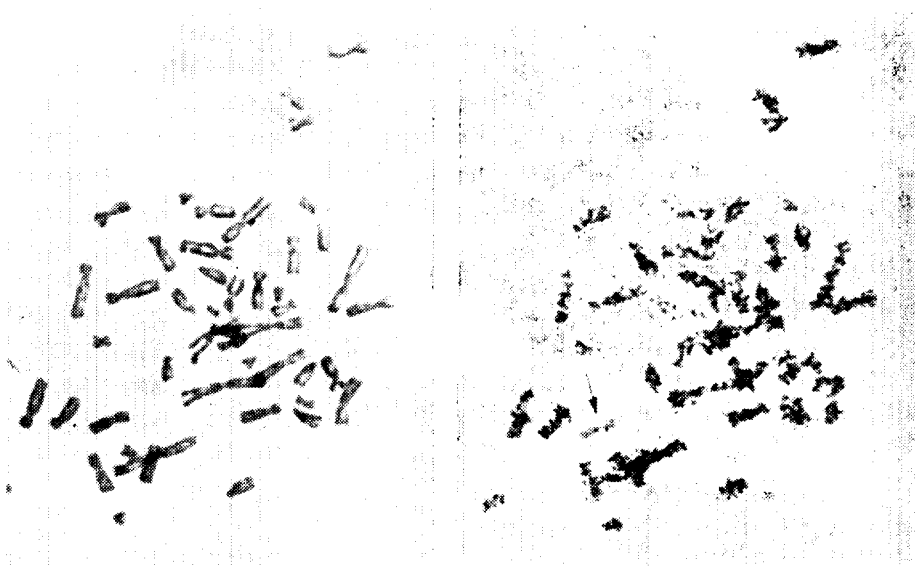


Fig. 7. Metaphase plates of pre- and post-autoradiographed human female kidney cells treated with 5-AU+progesterone. Thymidine- H^3 was added 10 hours before fixation. Note that one of X-chromosomes (cold-X) is unlabeled in the heavily labeled metaphase.

論 議

Lester 등(1958)은 steroid가 微生物의 生長에 抑制作用을 나타냄을 最初로 報告하였다. 이어 Kawada(1959)와 Cox 및 MacLeod(1961)는 哺乳動物의 培養細胞에도 이와같은 효과가 있음을 알았고, Stone(1962), Stone 및 Kang(1962), Kang(1963) 등은 HeLa와 Chinese hamster의 cell line에서 progesterone, testosterone, 및 DOC(Deoxycorticosterone) 등의 steroid物質이 이들細胞의 生長抑制作用은 물론 染色體의 數 및 構造의 變化도 일으킴을 보았다.

本實驗의 結果중 steroid處理에 의한 染色體의 數 및 構造의 異常率은 著者들의 이전 研究의 結果와 一致하며, X-線의 영향과 유사한 效果를 나타낸다는 著者들의 의견에 부합되고 있다.

培養細胞 染色體의 DNA合成에 미치는 steroid物質의 影響을 研究한 것은 Amaral(1967)의 報告가 처음이다. 그는 생쥐의 肝細胞에 cortisone를 處理했을 경우 染色體의 DNA合成이 抑制될 뿐 아니라 倍數體가 多數 나타남을 보았다. 著者들은 사람의 腎臟細胞를 材料로 한 研究에서 progesterone과 testosterone은 染色體의 DNA合成과 分裂活動을 抑制시킨다고 報告하였다. 이밖에 생쥐를 材料로 한 *in vivo*의 實驗으로 estrogen과 hydrocortisone이 染色體의 DNA合成樣相과 時期에 미치는 影響도 報告되고 있다(Beato 등, 1968; Frankfurt, 1968).

5-AU處理에 의한 同時分裂 機作에 대해서 Smith 등(1963)과 Prensky 및 Smith(1965) 등은 5-AU가 DNA合成을 中斷시키며, DNA合成에 이르지 못한 細胞週期の 다른 段階의 細胞들은 影響을 받지 않고 그대로 分裂을 계속하여 S-stage까지 감으로 해서 S-stage의 細胞가 축적되고, 다음 5-AU를 제거하면 이 切斷이 해제됨으로써 부분적인 同時分裂細胞群을 이룬다고 하였다. 그러나 Jacob 및 Trosko(1965)는 5-AU가 DNA合成을 中斷시키는 것보다 다만 지연시킬 뿐이며, 同時分裂誘發機作은 G_2 의 細胞가 分裂을 더 계속하지 못하고 中斷되는 때문이라고 하였다.

本實驗에 있어 5-AU處理받은 細胞에서 標識된 分裂像의 頻도가 增加하는 것은 5-AU에 의해 S-stage의 細胞가 축적되는 結果로 해석되며, steroid를 받은 細胞에서 그 率이 감소하는 것은 이같은 處理物質 때문에 DNA合成이 지연되는 結果에서 온다고 본다.

사람의 培養細胞의 generation time과 각 段階別 持續時間에 대해 Bender 및 Prescott(1962)는 白血球細胞

에서 $G_1=최하 24$ 時間, $S=최하 12$ 時間, $G_2=최고 6$ 時間이라 했으며, Terakih(1965)는 羊膜細胞에서 $S=16$ 時間 내의, $G_2=5-9$ 時間, $G_1=24$ 時間 이상이라 報告하였다. 그러나 Gave(1966)는 白血球細胞의 G, S 그리고 G_2 의 平均 持續時間은 각각 4.6, 9.6, 2.5時間이라 하였다.

本實驗에 있어 對照區의 結果는 대체로 위와 일치하나 steroid處理한 細胞에서는 G_2 -stage가 훨씬 연장되고 있으며, S-stage는 별차 없음을 알 수 있다. 이것은 處理物質이 DNA合成 持續時間에는 크게 影響을 끼치지 않고, 다만 抑制作用만 나타내는 때문이라고 생각된다.

要 約

5-AU에 의해 同時分裂 促進된 사람의 胎兒 腎臟細胞를 材料로 steroid에 의한 染色體 異常率, 時間經過에 따른 染色體異常率, DNA合成樣相을 調査한 結果는 다음과 같다.

1. 5-AU處理區에서 細胞當 染色體 異常率은 0.131로 對照區에 비해 3배이상이나 된다. 또한 5-AU+progesterone과 5-AU+testosterone處理區에서는 細胞當 染色體異常率이 각각 0.340과 0.452이다.

2. 5-AU處理區에서 異常染色體를 지니는 細胞는 0.8%로 時間變化에 무관하게 전체 期間에 걸쳐 존재한다. 5-AU+progesterone과 5-AU+testosterone處理區에서는 2.2%, 4.3%의 異常染色體數가 觀察되고, 時間이 지남에 따라 增加한다. 또한 染色體 異常率은 5-AU+progesterone處理區에서는 12時間과 18時間에 가장 높았고, 5-AU+testosterone處理區에서는 時間變化에 따라 감소하고 5-AU處理區에서는 유의한 차이가 없다.

3. 5-AU는 標識分裂像의 出現頻도와 標識強度를 增加시키는데, 이는 5-AU에 의해 S-stage의 細胞가 축적되는 結果로 생각된다. 그러나 steroid는 標識分裂像의 出現頻도를 감소시키고 DNA合成時期를 지연시키고 있다. 또한 性染色體의 DNA合成樣相이 細胞週期の 각 段階에 따라 다르며, 이는 5-AU와 steroid의 二重處理로 DNA合成時期를 不規則하게 만든 때문이다.

REFERENCES

- Amaral, L., 1967. The effect of cortisone on the synthesis of DNA in mouse liver parenchyma cells. *J. Cell Biol.* 3, 159.

- Beato, M., B. Lederer, E. Boquoi and W. Sandritter, 1968. Effect of estrogens and gestagens on the initiation of DNA synthesis in the genital tract of ovariectomized mice. *Exp. Cell Res.* **52**, 128.
- Bender, M. A. and D. M. Prescott, 1962. DNA synthesis and mitosis in cultures of human peripheral leukocytes. *Exp. Cell Res.* **27**, 221-230.
- Cave, MacDonald, 1966. Incorporation of tritium labeled thymidine and lysine into chromosomes of cultured human leukocytes. *J. Cell Biology* **29**, 209.
- Chu, E. H. Y., 1965. Effects of ultraviolet radiation on mammalian cells. II. Differential UV and X-ray sensitivity of chromosomes to breakage in 5-aminouracil synchronized cell populations. *Genetics* **52**, 1279-1294.
- Cox, R. P. and C. M. MacLeod, 1961. Hormonal induction of alkaline phosphatase in human cells in tissue culture. *Nature* **190**, 85.
- Doida, Y. and Okada, S., 1967. Synchronization of L5178Y cells by successive treatment with excess thymidine and colcemid. *Exp. Cell Res.* **48**, 540-548.
- Frankfurt, O. S., Effect of hydrocortisone, adrenalin and actinomycin D on transition of cells to the DNA synthesis phase. *Exp. Cell Res.* **52**, 222.
- Jacobs, K. M. and J. E. Trosko, 1965. The relation between 5-aminouracil induced synchronization and DNA synthesis. *Exp. Cell Res.* **40**, 56.
- Kang, Y. S., 1963. Some chromosome alterations in the cultured Chinese hamster cells treated by steroids. *Kor. Jour. Zool.* **6**, 21-27.
- Kang, Y. S., H. S. Kang, and S. D. Park, 1968. Studies on the effects of steroids on DNA synthesis of human chromosomes *in vitro*. *Canadian J. Genetics Cytol.* **10**, 299-310.
- Kang, Y. S., Kang, and S. D. Park, 1969. Studies on stage radiosensitivity and DNA synthesis of chromosomes in cultured human cells. *Rad. Res.* **37**, 371-380.
- Kates, J. R., K. S. Chiang, and R. F. Jones, 1968. Studies on DNA replication during synchronized vegetative growth and gametic differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Exp. Cell Res.* **40**, 121-135.
- Kawada, I., 1959. Effects of progesterone and estrogens on the multiplication of chick embryo fibroblast rat ascites hepatoma cells, and strain HeLa cells (Cervical carcinoma of human uterus) in tissue culture. *Jap. J. Exp. Medicine* **29**, 615.
- Lester, G., D. Stone, and O. Hechter, 1958. *Arch. Biochem. Biophys.* **75**, 196.
- Prensky, W., and H. H. Smith, 1965. The mechanism of 5-aminouracil induced synchrony of cell division in *Vicia faba* root meristems. *J. Cell Biol.* **24**, 491-414.
- Priest, J.H., J. E. Heady, and R. E. Priest, 1967. Synchronization of human diploid cells by fluorodeoxyuridine. *J. Nat. Cancer Inst.* **38**, 61.
- Smith, H. H., C. P. Fussell and B. H. Kugelman, 1963. Partial synchronization of nuclear division in root meristems with 5-aminouracil. *Science* **142**, 575.
- Stone, D., 1962. Selection of HeLa cell sub-lines resistant to steroids from a HeLa cell strain sensitive to the growth inhibitory influences of desoxycorticosterone, progesterone and testosterone. *Endocrinol.* **71**, 233-237.
- Stone, D. and Y. S. Kang, 1962. Differences in chromosome stem-lines of a strain of HeLa cells inhibited in growth by certain steroids, and steroid resistant sublines selected from the sensitive strain. *Endocrinol.* **71**, 238-243.
- Stubblefield, E. and Murphree, S., 1967. Synchronized mammalian cell cultures. II. Thymidine kinase activity in colcemid synchronized fibroblasts. *Exp. Cell Res.* **48**, 652-656.
- Teraskih, V.V., 1965. Duration of individual phases of the mitotic cycle in human amnion cell *in vitro*. *Izv. Akad. Nank SSSR Ser. Biol.* **5**, 776-779.