

Cycloheximide가 白鼠舌下腺의 蛋白合成에 미치는 影響에 關한 自記放射法的研究

서울대학교 齒科大學 口腔解剖學敎室

(指導 劉 鍾 德 敎授)

金 善 裕

.....> Abstract <.....

AN AUTORADIOGRAPHIC STUDY OF EFFECTS OF CYCLOHEXIMIDE ON PROTEIN SYNTHESIS OF SUBLINGUAL GLAND OF MICE

Yu Sun Kim, D.D.S.

Dept. of Oral Anatomy, College of Dentistry, Seoul National University

<Director: Chong Duck Yoo, D.D.S., Ph.D.>

Male Balb C/Strain mice weighing approximately 20gm. were utilized in this study.

The cycloheximide in a concentration of 0.4 mg. per ml., freshly prepared in 0.9% saline, was administered intraperitoneally as a single 0.2mg./100g body weight of cycloheximide.

The control animals received a corresponding volume of saline by same route.

Following the cycloheximide injection, 3 pairs each were sacrificed on days 1, 3, 5, 7 and 10.

Thirty minutes prior to sacrifice 4μ /gm. body weight of leucine- C^{14} (Specific Activity 278mc/mM) were injected.

Piece of sublingual gland from each animal were fixed in paraformaldehyde in cacodylate buffer and double embedded in parlodion paraffin and sectioned of 4μ and stained with toluidine blue O.

The present study was undertaken to determine the specific effects of cycloheximide on the components of the pathways of protein synthesis in rat sublingual gland and relative dosage of drug to its relative effect on protein synthesis, RNA synthesis, and DNA synthesis.

The following changes were seen:

1. After administration of cycloheximide, the weight of sublingual gland were increased compared with control.

2. Following injection of the cycloheximide to mice for 5 days cytologically, many of the acinar cells are enlarged, lack the normal basophilia and show a marked accumulation of zymogen granules which becomes dispersed throughout the cell.
3. The cycloheximide markedly affected the incorporation of leucine—C¹⁴ into mice sublingual gland protein through day 5 after which recovery was noted as shown by the return of incorporation rates to approach that of control

4. These studies indicate as follows;

First, protein synthesis is rapidly inhibited, as evidenced by decreased incorporation of leucine—C¹⁴ into sublingual gland protein.

This primary effect is probably due to an interference with the formation of the peptide chain.

Secondly, the DNA-polymerase content is markedly affected in the sublingual gland cells of drug treated mice.

I. 緒 論

Cycloheximide는 抗生劑의 하나이고, 蛋白質合成의 過程에 있어서 Peptide Elongation Inhibitors이다.

酵母에 있어서는 蛋白質과 DNA合成의 抑制 및 RNA合成을 刺戟하고, Neurospora Crassa에 있어서는 RNA合成 및 Methylation의 障碍를 갖어오고, 白鼠에 있어서는 蛋白質合成과 DNA合成을 妨害한다.

그동안 Cycloheximide에 關하여 研究한 業績을 보면 Baliga(1969)¹⁾, Bennett(1965)²⁾, Colombo(1965)³⁾, Ennis(1964)⁵⁾, Elorza(1969)⁶⁾, Feldman(1969)⁷⁾, Hogan(1969)⁸⁾, Hill(1967)¹⁰⁾, Hendricks(1969)¹¹⁾, Korner(1966)¹³⁾, Loeb(1968)¹⁴⁾, Mckeeham(1969)¹⁵⁾, Necas(1968)¹⁷⁾, Ross(1968)¹⁸⁾, Trakatellis(1965)¹⁹⁾, Tornheim(1969)²⁰⁾, Taber(1969)²¹⁾, Verbin(1969)²³⁾,²⁴⁾ 및 Yeh(1959)^{25,26)} 등이 있다.

本 實驗은 自記放射法을 利用하여 Cycloheximide가 白鼠舌下腺의 蛋白質合成에 어떠한 影響을 미치는가를 試圖한 것이고, 아울러 Cycloheximide가 Protein Synthesis, RNA Synthesis, DNA Synthesis에 影響이 될수 있는 用量도 窺明할 目的으로 研究한 것이다.

II. 實驗材料 및 方法

1) 實驗動物 :

體重 20gm 內외의 Balb C/Strain 雄性白鼠 54頭를 使用하였고, 54頭中 24頭는 豫備實驗에, 나머지 30頭는

本 實驗에 各各 配當하였다.

(a) 豫備實驗 : 24頭中 對照群에 12頭, Cycloheximide의 濃度(0.1mg/100g, 0.2mg/100g, 0.4mg/100g)에 따라서 各各 4頭式 配定하였다.

(b) 本實驗 : 本 實驗에는 30頭中 對照群 15頭, 實驗群에 15頭式 配定하고, 各群은 다시 犧牲時間(1日, 3日, 5日, 7日 및 10日)에 따라서 各各 3頭式 配定하였다.

2) 放射性同位元素 :

Leucine—C¹⁴을 追跡子로 使用하였고, Specific Activity는 278mc/mM이다.

3) 研究方法 :

(a) 豫備實驗 : Cycloheximide의 濃度에 따라서 3群으로 區分하고, 即 體重 100g當 0.1mg, 0.2mg, 0.4mg을 腹腔內注射하고, 다음날을 第1日로 하여 第10日까지, 體重, 腺의 重量의 測定 및 副作用을 觀察하였다.

(b) 本實驗 : Cycloheximide를 體重 0.2mg/100g을 腹腔內注射하고, 注射完了後 다음날을 第1日로 하고, 犧牲時間은 第1日, 3日, 5日, 7日 10日로 區分하고, 犧牲 30分前에 Leucine—C¹⁴을 體重 g當 4 μ C를 腹腔內注射하고, 體重을 測定한後 Ether로 麻醉하여 顎下腺을 떼어 냈고, 顎下腺의 重量도 測定하였다.

(c) 組織標本製作 및 自記放射法 : 組織標本製作은 떼어낸 舌下腺을 2% Paraformaldehyde in Cacodylate Buffer에 3時間 固定하고, 固定된 組織은 1%, 3% Parlodion in Benzoate 및 Paraffin 二重包埋를 眞空包埋法으로하였다. Rotary Microtome을 使用하여

4%의 切片을 만들고, 1×3 Micro Slide를 Subbing Solution(Distilled Water 300ml, Pure Gelatin 1.5 mg, Chromium Potassium 0.15gm)에 處理하여 完全히 乾燥시킨 後 여기에 組織切片을 올려 놓았다. 自記放射法에 있어서 露出時間의 差異에 依하여 必要되는 組織을 考慮하여 4組를 만들었다. 이것을 Xylene, Serial Grade Alcohol을 通過시켜 蒸溜水에 保管하였다.

Radioautography는 標本을 Staining Dish에 넣어 完全 暗室로 옮기고 Kodak NTB-3 Nuclear Track Emulsion을 45°C의 Oven에 넣어 溶解되도록 하고 이를 Oven에서 부터 꺼내 400ml의 Beaker에 넣는다. 이 Beaker를 45°C의 Water Bath에 담그고, 標本을 核乳液에 3~4秒間 沈積시킨後 約 60度 傾斜의 木溝板(Drying Rack)에 꽂아 約 15~30分間 45°C의 Drying Oven에서 完全히 乾燥시킨다. 이를 25枚入 플라스틱製 標本箱子에 防濕劑인 Drierite의 少量을 Gauge에 넣어 이를 附着시키고, 19枚의 標本을 집어 넣고서 箱子주변 과의 틈사이를 Black Electric Tape로 감고 鉛板으로 縱橫 二重으로 包封後, Light-tight Paper로 다시 감는다. 또 이를 Plastic Bag에 넣고, 最終으로 a Sheet of Plain Wrapping Paper로 싸서 4°C의 冷藏庫에 保管하였다가 露出時間에 따라서 即 2週, 1個月, 1個月半 및 2個月이 經過한 標本을 冷藏庫에서 꺼내어 暗室內에서 現像 및 固定을 한다.

現像液은 Dolmi液(2, 4-Diaminophenol Dihydrochloride 0.9gm, Sodium Sulfito-10.0gm, Potassium Bromide-0.2gm, Water-200ml)이고, 固定液은 Kodak Rapid Fixer을 使用하였다. 그리고 標本은 Toluidine Blue O로 染色하여 檢鏡하였다. Radioautograph에서 還元된 銀粒子의 判讀에는 20個의 Acinar Cells을 選擇 하였으며, 여기에서 얻은 數值의 統計的處理로는 算術 平均(M), 標準偏差(S.D.), 有意性檢査(P) 및 百分比(%)를 各各 算出하였다.

III. 實驗成績

1) 用量에 對한 反應 :

Cycloheximide의 濃度에 依한 白鼠體重에 影響은 第 1表 및 第1圖에서 보는바와 같이 0.1mg을 注射한 例는 第 3日까지 體重減少를 보이다가, 其以後부터 다시 回復하기 始作하며, 第10日은 實驗初日의 數值보다 높은 值를 보였고, 0.2mg을 注射한 例는 第 5日까지 繼續 減少하다가 其以後부터 回復하였고, 0.4mg을 注射한 例는 實驗 初日부터 實驗 마즈막 날까지 繼續 體重

減少가 나타났다.

Table 1 The Effects of Various Dosages of Cycloheximide on the Body Weight(g) of Mice.

Day	0.1mg/100g		0.2mg/100g		0.4mg/100g	
	Mean±(S.D.)	% of Control	Mean±(S.D.)	% of Control	Mean±(S.D.)	% of Control
1	21.3(1.4)	97.7	22.7(1.6)	97.4	21.8(1.9)	96.0
3	20.1(1.8)	92.2	21.2(1.8)	90.9	20.1(1.6)	83.5
5	21.9(1.6)	100.4	19.8(2.1)	84.9	18.4(1.5)	81.0
7	22.4(1.2)	102.7	20.7(1.4)	88.8	17.9(1.7)	78.8
10	23.8(1.9)	109.1	21.9(1.7)	93.9	16.4(1.9)	72.2

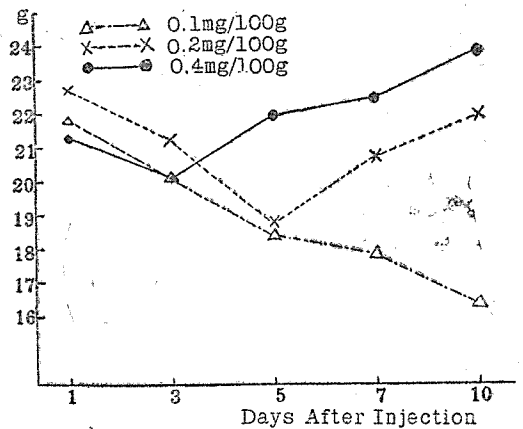


Fig. 1. Body Weights (g.) of Mice Receiving Various Dosages of Cycloheximide

2) 舌下腺重量의 變動 :

Cycloheximide가 舌下腺의 重量에 미치는 影響은 第 2表, 第 2圖에서 보는 바와같이 第 5日까지 重量의 增加를 보이다가, 其以後부터는 回復하기 始作하였고, 實驗終日인 第10日에는 第 1日의 數值에 가까워져가고 있었다.

Table 2 Effect of Cycloheximide on Weight(mg) of Sublingual Gland of Mice.

Day	Mean±(S.D.)	Probability	% of Control
1	21.3(2.3)	> 0.08	97.2
2	22.1(1.8)	< 0.05	100.9
5	24.4(1.6)	< 0.001	111.4
7	22.3(1.9)	< 0.01	101.8
10	20.4(1.5)	> 0.09	93.6

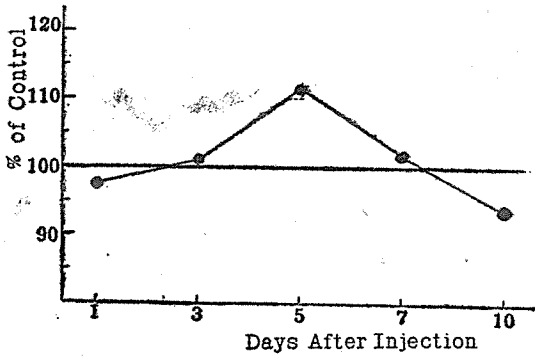


Fig. 2 Percent Change in Glandular Weight of Mice Following an Injection of Cycloheximide

3) 舌下腺의 細胞學的所見 :

Cycloheximide가 舌下腺細胞에 미치는 影響은 第1日에는 腺의 크기가 長大하고, 核의 濃縮變性을 볼 수 있고, 第3日에는 核의 濃縮變性의 程度가 第1日의 것보다 甚하여졌고, 第5日에는 細胞들의 核은 對照群의 것보다 적어졌으며, 不規則한 주름진 外形을 하고, 核形質의 胞狀性은 消失되었고, 漸次的으로 濃縮되어 갔고, 核小體의 크기와 數도 減少되었으며, 細胞內의 分泌顆粒의 量도 增加하였고, 細胞質內의 監基性染色性이 減少되었다.

第10日에는 大部分의 核들은 回復하기 始作하고, 腺細胞의 監基性染色度도 높아졌고, 細胞內의 分泌顆粒의 數도 많이 減少되고, 對照群의 例에 가까운 程度로 回復되었다.

4) 自記放射法的定量分析 :

Cycloheximide가 舌下腺蛋白質合成에 어떠한 影響을 미치는가를 放射線炭素 即 Leucine-C¹⁴에 依하여 自記放射法的定量分析을 하였고, 第3表 및 第3,4圖에서 보듯이와 같이 對照群이 있어서 銀粒子의 平均値는 第1日에는 9.7이고, 第3日에는 9.3, 第5日에는 9.5, 第7日에는 10.4, 第10日에는 10.1로서, 全期間을 通하여 큰 變化가 없었고. 實驗群에 있어서 平均 銀粒子數는 第1日에는 8.3이고, 第3日에는 6.6, 第5日에는 5.4, 第7日에는 7.7, 第10日에는 8.7로서 第1日부터 低下되기 始作하여 第5日이 가장 낮은 數値를 보이고, 其以後부터는 다시 增加되어 간다.

實驗群 對 對照群과의 百分率은 實驗群은 注射後 第1日에는 對照群보다 13.5% 減少되고, 第3日에는 32.0%, 第5日에는 44.4%, 第7日에는 20.7%, 第10日에는 20.3%로 各各 減少를 보였다.

Table 3 Incorporation of Leucine-C¹⁴ by Sublingual Gland Cells of Mice Receiving Cycloheximide (0.2mg/100g)

Day	Experiment		Control		% of Control	Probability
	Mean Grain NO.	S. D.	Mean Grain No.	S. D.		
1	8.3	1.6	9.7	2.1	86.5	<0.05
3	6.6	2.1	9.3	1.9	68.0	<0.001
5	5.4	1.8	9.5	1.7	55.6	<0.001
7	7.7	1.4	10.0	1.9	79.3	<0.001
10	8.7	1.7	10.1	2.2	89.7	<0.05

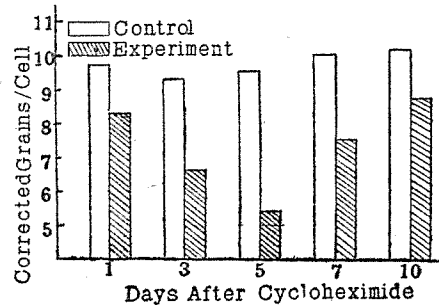


Fig. 3 Protein Synthesis in Mice Receiving Cycloheximide (0.2mg/100g)

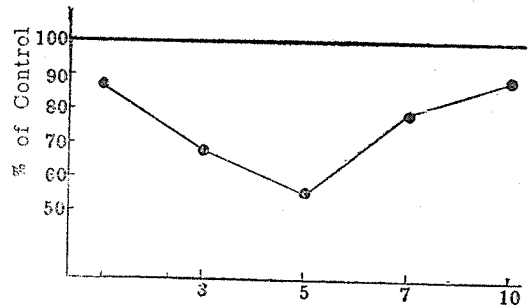


Fig. 4 Percent Change in Protein Synthesis in Mice Receiving Cycloheximide

對照群과 實驗群과의 有意性關係는 第1日에는 <0.05 第3日에는 <0.001, 第5日에는 <0.001, 第7日에는 <0.001, 第10日에는 <0.005로서 全期間을 通하여 有意性하였다.

即 實驗群에 있어서는 第1日부터 對照群보다 減少하

고, 第5일이 가장 極甚하고, 實驗 最終日인 第10일에
는 아직 對照群의 數値에 未及되었다.

IV. 總括 및 考察

Cycloheximide는 蛋白合成의 抑制에 強한 作用을 하
고, 一次의 影響은 Peptide Chain의 形成을 妨害하고,
二次의 으로는 DNA-polymerase의 量이 增加된다는 것
은 이미 알려진 事實이다.

本 實驗의 成績을 要約하면 實驗 動物의 體重은 減少
되나, 오히려 腺重量은 增加되는 傾向이었고, 其程度는
注射後 第5일이 가장 極甚하고, 組織學的 및 細胞學的
의 所見은 核의 濃縮變性, 細胞質內의 分泌顆粒의 蓄積은
程度의 差界는 있겠으나 比較의 全時期를 通하여 나타
나고, 特히 第5일에는 細胞들의 核은 對照群의 것보다
적어졌고, 不規則하고, 주름진 外形을 하고, 核形質의
胞狀性은 消失되고, 漸次的으로 濃縮되어 갔고, 核小體
의 크기와 數가 減少되었고, 細胞質內의 分泌顆粒의 量
이 增加하고, 細胞質內의 監基性染色度가 減少되었다.
蛋白의 合成關係를 보기 爲하여 Leucine-C¹⁴에 依한 自
記放射法的인 定量分析에 있어서 銀顆粒의 平均値는 注
射後 第1일부터 減少하고(86.5%), 第5일에 제일 甚
하고(55.6%) 其以後부터는 徐徐히 回復되나, 實驗 마
지막날인 第10일에도 89.7%로서 對照群의 平均値보다
若干 높은 値를 보이고 있었다.

Yeh(1969)²⁵外 1人은 Cycloheximide에 依하여 胃
의 蛋白合成을 妨害하고, 酸 Pepsin生産을 低下케 한다
고 하였고,

Verbin(1969)²³外 2人은 Cycloheximide는 再生되
는 白鼠肝에 있어서 細胞分裂의 障礙를 갖어온다고 하
였고,

Elorza(1969)⁶, Hendricks(1969)¹¹, Necas(1968)¹⁷,
Taber(1969)²¹等은 酵母는 Cycloheximide에 依하여
蛋白과 DNA合成을 抑制하고, 아울러 RNA合成을 刺
戟한다고 하였고, Baliga(1969)¹, Colombo(1965)³,
Harris(1969)⁹, Hill(1967)¹⁰, Kuehl(1969)¹², Tra-
katellis(1965)¹⁹, Tornheim(1969)²⁰等은 Cyclohexi-
mide는 家兔나 白鼠에 있어서 蛋白合成을 妨害한다고
하였고,

조용호 外 2人(1970)⁴은 Cycloheximide가 白鼠肝臟
의 NAD合成에 미치는 影響에 關하여 研究하였고,
Cycloheximide를 體重 100 μ g/100g을 注射한 例는 肝
內의 NAD合成의 抑制가 없었으나 Cycloheximide와
Nicotinamide를 同時에 投與한 例는 NAD合成이 35
% 以上の 低害를 가져왔다고 하였다.

Hill(1967)¹⁰은 Cycloheximide가 蛋白合成을 抑制
시키는 機轉은 Amino酸의 移動 妨害 即 Amino酸이
Peptide Linkage되는 것을 妨害하기 때문이라 하였다.

V. 結 論

體重 20gm. 內外의 Balb C/Strain雄性白鼠 54頭를
使用하였고, 54頭中 24頭는 Cycloheximide의 用量에
對한 反應을 보기 爲하여 豫備實驗에 使用하였고, 남어
지 30頭는 本實驗에 使用하였다.

本 實驗은 實驗群과 對照群으로 區分하고 實驗群에는
Cycloheximide를 體重 0.2mg/100g을 腹腔內 注射하
였다. Cycloheximide注射後 1, 3, 5, 7 및 10日間隔으로
犧牲시켰고, 犧牲 1時間前에 leucine-C¹⁴을 體重 4 μ c/
gm.을 腹腔內 注射를 하였다. 이 研究는 Cyclohexi-
mide가 白鼠舌下腺細胞의 蛋白合成에 어떠한 影響을
미치는가를 自記放射法的으로 調査한 것이고, 其 結果
는 다음과 같다.

1. Cycloheximide의 濃度는 體重 0.2mg/100g가 適
當하였다.
2. Cycloheximide에 依한 舌下腺의 重量은 增加되나
오히려 體重은 減少되었다.
3. 細胞學的의 所見으로는 Cycloheximide를 注射한 後
第5일에 變化가 많았는데 核의 濃縮性變性, 細胞의 肥
大, 細胞質內의 分泌顆粒의 蓄積을 볼 수 있었다.
4. Leucine-C¹⁴에 依한 Cycloheximide가 舌下腺細
胞의 蛋白合成에 미치는 影響은 注射後 第1일부터 銀顆
粒의 數가 減少되고, 第5일이 가장 甚하고, 其以後부
터는 回復하였다.
5. 本 實驗을 通하여 Cycloheximide는 첫째로 白鼠
舌下腺細胞의 蛋白合成을 抑制하는데, 이는 Peptide
chain의 形成을 妨害하므로써 惹起되는 것이라 하겠고
둘째로 Cycloheximide는 DNA Polymerase의 增加를
갖어오므로써, DNA合成에도 影響을 주는 것으로 思料
된다.

REFERENCES

- 1) Baliga, B.S. et al: Mechanism of Cyclohexi-
mide Inhibition of Protein Synthesis in a Cell-
Free System Prepared from Rat Liver. J. Biol.
Chem. 244:4480~4489, 1969.
- 2) Bennett, L.L., Jr., Ward, V.A., & Brockman,
R.W.: Inhibition of Protein Synthesis in Vitro
by Cycloheximide and Related Glutarimide

- Antibiotics. *Bioch. Biophys. Acta.* 103:478-483, 1965.
- 3) Colombo, B., Feblicetti, L., & Baglioni, C.: Inhibition of Protein Synthesis by Cycloheximide in Rabbit Reticulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 18:389, 1965.
 - 4) 조용호 · 박소영 · 이근배 : Cycloheximide가 Nicotinamide Adenine Dinucleotide 생합성에 미치는 영향. *한국 생화학회지 제 3권 제 2 호*: 8, 1970.
 - 5) Ennis, H.L., & Lubin, M.: Cycloheximide, Aspects of Inhibition of Protein Synthesis in Mammalian Cells. *Science* 146:474-486, 1964.
 - 6) Elorza, M. V. et al.: Effect of Cycloheximide on Yeast Cell Wall Synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 36: 741-747, 1969.
 - 7) Feldman, M. et. al.: Does Cycloheximide Interfere with Protein Degradation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 37: 198-203, 1969.
 - 8) Hogan, B.L.: The Effect of Inhibitors of Protein Synthesis on the Level of Ribosomal Subunits in Ascites Cells. *Bioch. Biophys. Acta* 182-266, 1969.
 - 9) Harris, C. et al.: The Effect of Cycloheximide on Ribonucleic Acid and Protein Synthesis in Rat Liver. *Biochem. Pharmacol.* 18:951-954, 1969.
 - 10) Hill, M.F.: Actions of Cycloheximide on the Submandibular Glands in Normal and Castrate Mice. *Europ. J. Pharmacol.* 1:434-437, 1967.
 - 11) Hendricks, D.V. et al.: Effects of Cycloheximide and 5-Fluorouracil on Formation of Low-Molecular-Weight Ribonucleic Acid in Yeast. *J. Bact.* 97:743-748, 1969.
 - 12) Kuehl, L.: Effect of Various Inhibitors on Nuclear Protein Synthesis in Rat Liver, *J. Cell Biol.* 41:660-668, 1969.
 - 13) Korner, A.: Effect of Cycloheximide on Protein Biosynthesis in Rat Liver. *Biochem. J.* 101:627-634, 1966.
 - 14) Loeb, J.N. et. al.: Amino Acid Incorporation by Isolated Mitochondria in the Presence of Cycloheximide. *Biochim. Biophys. Acta* 166: 745-748, 1968.
 - 15) Mckeehan, W. et. al.: The Mechanism of Cycloheximide Inhibition of Protein Synthesis in Rabbit Reticulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 36:625-630, 1959.
 - 16) Mayo, V.S. et al.: Effect of Cycloheximide and 5-Fluorouracil on the Synthesis of Ribonucleic Acid in Yeast. *Biochim. Biophys. Acta* 169:297-305, 1968.
 - 17) Necas, D. et al.: The Effect of Cycloheximide (Actidione) on Cell Wall Synthesis in Yeast Protoblasts. *Exp. Cell. Res.* 53:291-293, 1968.
 - 18) Ross, C.: Influence of Cycloheximide (Actidione) Upon Pyrimidine Nucleotide Metabolism and R.N.A Synthesis in Cocklebur Leaf Disc. *Biochim. Biophys. Acta* 166:40-47, 1968.
 - 19) Trakatellis, A.C., Montjar, M., & Axelrod, A.E.: Effect of Cycloheximide on Polysomes and Protein Synthesis in the Mouse Liver. *Biochem.* 4:2065-2071, 1965.
 - 20) Tornheim, K., O'Dell, R.G., & Prosky, L.: Effect of Cycloheximide on DNA and Protein Synthesis in Rat Liver, *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 131:605-611, 1969.
 - 21) Taber, R.L. Jr. et al.: Effects of Cycloheximide on Ribosomal RNA Synthesis in Yeast. *Bioch. Biophys. Res. Commun.* 34:488-494, 1959.
 - 22) Valadares, J. R. et al.: Influence of Actinomycin, Cycloheximide in the Rat Uterus. *Arch. Biochem.* 123:417-9, 1968.
 - 23) Verbin, R.S., Sullivan, R.J., & Farber, E.: The Effects of Cycloheximide on the Cell Cycle of the Regeneration Rat Liver. *Laboratory Investigation*, 21:179-182, 1969.
 - 24) Verbin, A.S., & Farber, E.: Effect of Cycloheximide on the Cell Cycle of the Small Intestine of the Rat. *J. Cell Biol.* 35:649-655, 1967.
 - 25) Yeh, S.D.J. & Shils, M.E.: Cycloheximide Inhibition of Gastric Secretion in the Rat. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 130:807-810, 1969.
 - 26) Yeh, S.D. J. et al.: Quantitative Aspects of Cycloheximide Inhibition of Amino Acid Incorporation. *Biochem. Pharmacol.* 18:1919-1926, 1969.
 - 27) Baserga, R., & Malamud, D.: Autoradiograph, Techniques and Application: 203-220, Haeber, 1969.
 - 28) Gude, W.D.: Autoradiographic Techniques. Localization of Radioisotopes in Biological Material. 15-38, Prentice-Hall Inc., 1968.

29) Kim, M.K., & Han, S.S.: An Improved Method for Double-Isotope and Double-Emulsion Radioautography Using 1μ Thick Epoxy Resin Sections. The Korean Journal of Anatomy. 3: 43-47, 1970.

30) Leblond, C.P., & Warren, K.B.: The Use of Radioautography in Investigating Protein Synthesis. Symposia of the International Society for Cell Biology. 4:261-272, Academic Press, 1965.

EXPLANATION OF FIGURES

Autoradiographs of the sublingual gland cells from normal and cycloheximide-treated animals injected $4\mu\text{C/gm}$ body weight of leucine- C^{14} . All figures magnified $750\times$.

Fig. 1. Control animal sacrificed on day 5 after cycloheximide injection. The number of grains is larger than that of the experimental animals.

Fig. 2. Experimental animals sacrificed on day 5. only a few grains are seen.

Fig. 3. Experimental sublingual gland cells on day 7.

Fig. 4. Experimental sublingual gland on day 10. There is no decrease in the number of grains as compared to the control mice on day 5.

金裕善 論文 写真附图

