

対数増殖期にある Hela S₃ 細胞の高 pH 処理による部分的同調化について

木村 博, 青山 喬 (滋賀医大・放基)

Effect of high pH on cell progression through cell cycle

HIROSHI KIMURA, TAKASHI, AOYAMA

培養細胞において saturation density は培地の pH の変化の影響を強く受け, optimal な pH の範囲は正常細胞とがん細胞で異なることが知られている。また近年ウニ卵や真性粘菌において細胞周期と細胞内 pH との関連が示唆されている。我々は培地の pH を高くすることによる細胞周期への影響を Hela 細胞を用いて調べた。対数増殖期にある細胞を高 pH 培地 (pH8.8) に移すと移したのち12~16時間の増殖は対照にくらべて少し落ちるが, その後の増殖はほとんど起こらない。オートラジオグラフィで labelling index を調べると (³H-チミジンでラベル) 対数増殖期の細胞では, index は50%であったが高 pH 処理16時間の細胞では80%程度であった。このことは細胞が DNA 合成期で block を受けるか retard していることを示すものと思われる。高 pH 処理を16~24時間施した細胞を pH7.3 の培地にもどして培養すると10時間後に mitotic burst (mitotic index はピークで10%前後) が起こり, 細胞が処理で部分的に同調していたことが示唆された。一方 3mM のチミジンを含む培地で24時間処理し, のち含まない培地 (pH7.3) で培養すると同様に10時間で mitotic index のピーク(15%程度)が起った。以上の結果を総合すると高 pH 処理で16~24時間処理すると G₁ から Sあるいは Sそのものの進行が他の時期よりもより強く抑えられる結果, G₁/S あるいは S期に細胞がたまると考えられる。高 pH 下においた場合の growth inhibition は処理が少なくとも24時間以内であれば reversible であるが, 同調化の方法のひとつとして用いうるかどうかは今後の検討が必要である。

培養細胞株を用いたマウス乳がんウィルスの大量生産法

榎並淳平, 榎並園子, 古閑睦好 (独協医大・生理)

Large scale production of mouse mammary tumor virus by an established cell line

JUMPEI ENAMI, SONOKO ENAMI, MUTUYOSI KOGA

マウス乳がんウィルス (MTV) を得る系として, SHN 系マウスの乳汁, マウス乳がん初代培養細胞および我々の樹立したマウス乳がん細胞株 (MTD株) を選び, MTV の純度, 量産の可否, コストの3点について, 比較検討した結果, MTD株を用い, 細胞培養法により MTV を採取する方法が, 最も効果的であると結論された。MTD 細胞は, 10%牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培地中で, 13~15時間の倍加時間で増殖し, confluency に達した後, インスリン, デキサメサゾンを加えると, MTV を培地中へ放出するようになる。この条件下で, MTV の生産は, 2カ月以上にわたって続けられ, 血清濃度を, 2.5%に下げても, 1カ月間生産が, 観察された。同様のことは, 馬血清を用いても観察された。MTV は, このようにして集められた培地より, ultrafiltration 法により濃縮され, sucrose gradient 遠心法により, 精製される。精製された MTV には, CsCl gradient 遠心法, reverse transcriptase 活性, その他よりみて, C型粒子の混在は, 認められなかった。MTV yield は, 培地 1Lあたり約 1mg であった。さらに省力の観点から, microcarrier beads を用いて, 細胞を培養することを試み, この方法で, MTV 生産が可能となったが細胞増殖能, MTV yield および, 長期培養の可能性のいずれの点においても, 単層培養法に劣っておりさらに検討を要する。