

金魚培養細胞における放射線感受性の比較検討

三谷 啓志 (東大・理・動物)

Radiosensitivity of cultured goldfish (*Carassius auratus*) cells

HIROSHI MITANI

魚類は、電離放射線に対して半数致死線量を指標として感受性を哺乳類と比較すると約2倍以上の抵抗性を示すことが知られている。近年、魚類の培養技術が進み、従来哺乳類培養細胞で研究されてきたように放射線照射後に単一細胞のコロニー形成能に基づく生存を調べることが可能となった。今回は、CAF-MM1, RBCF-1 (金魚尾ヒレ由来), GEM-199 (金魚赤色腫由来), 及びマウスL細胞の放射線感受性を同一培養条件 (20% FBS, HEPES buffered TC 199 培地で26°C又は、37°C下で培養)で比較した。その結果、電離放射線の場合生存曲線のパラメーター、 D_0 , D_q の値は、どの金魚培養細胞でも従来報告された哺乳類培養細胞での値に比べて大きく、これらの細胞が電離放射線耐性であることが確認された。これは、個体としての魚類の電離放射線耐性が細胞レベルでの耐性の反映であることを示している。一方紫外線の場合、金魚培養細胞では、 D_0 が小さい傾向があったが哺乳類培養細胞群と比較しての明確な差は認められなかった。金魚培養細胞間では、電離放射線と紫外線の両方の場合ともGEM-199 が最も抵抗性でRBCF-1 が最も感受性であった。電離放射線によって生じたDNA鎖切断をアルカリ分離法を用いて各細胞について比較した。その結果、コロニー形成能による生存では、各細胞間に大きな感受性の差が認められるのに対して照射直後のDNA鎖切断形成率では、マウスL細胞及びすべての金魚培養細胞の間に顕著な差は認められなかった。

魚類培養細胞における紫外線誘発チミンダイマーの光回復と除去修復について

加藤邦彦, 岡本美恵子, 三谷啓志(東大・理・動物)
真野幸子 (防医大), 江上信雄 (東大・理・動物)Photoreactivation and excision repair of UV-induced thymine dimers in fish culture cells
KUNIIHIKO KATOR, MIEKO OKAMOTO, HIROSHI MITANI, YUKIKO MANO, NOBO EGAMI

魚類におけるDNA修復機構と哺乳動物のそれとを比較する目的で、3種の魚類の魚類培養細胞、金魚由来正常培養細胞(CAF-MM1), 金魚赤色腫細胞, メダカ肝ガン由来細胞, を紫外線照射し、チミンダイマーの生成、その光回復及び除去修復をしらべた。魚類細胞では核酸前駆体の代謝経路が哺乳動物と同一ではないので、チミンダイマーの正確な定量には、DNAをMet- 3 H-TdRで標識し(6- 3 H-TdRは不適当)、二次元ペーパークロマトグラフィーを用いている。

CAF-MM1細胞は紫外線高感受性であるが、紫外線照射直後に白色蛍光灯で可視光処理すると、細胞の生存率は著しく高まる。チミンダイマーの定量から、生存率の上昇は、可視光処理による同ダイマーの減少に関連していることを確認した。同じ金魚由来でも、赤色腫細胞は光回復能が弱く、CAF-MM1細胞と同一条件で可視光処理しても生存率の上昇は小さく、チミンダイマーの減少もほとんど見られなかった。一方、腫瘍細胞由来でも、メダカ肝ガン細胞では、金魚正常培養細胞と同じく、可視光処理によりチミンダイマーが顕著に減少した。自然状態で多発する金魚赤色腫の成因として太陽紫外光の可能性を考えると、赤色腫細胞の低い光回復能に興味を持たれる。次に、紫外線照射後、細胞を暗黒下に長時間保持し、その間のチミンダイマー量の変動を調べたところ、チミンダイマーの減少はまったく見られなかった。魚類細胞はチミンダイマーの除去修復能に欠けることを始めて直接・明確に示すことが出来た。