

【P-8】

마우스 골수세포와 말초혈액을 이용한 Giemsa와 Acridine orange를 이용한 염색법 비교

박지은, 이성학, 최재목, 김일환, 김택로, 노현정, 김영훈
CJ주식회사 제약연구소

Acridine orange를 이용한 염색법은 OECD guideline 474에 채택되어 널리 사용되고 있는 염색법으로 Giemsa를 이용하였을 때 보다 artifact를 구별하기 쉬우며 숙련되지 않는 관찰자도 쉽게 소핵을 구별할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 본 시험에서는 신약의 초기 screening 단계에서 유전독성 여부를 알아보기 위한 방법으로 마우스 골수세포와 말초혈액을 이용하여 Giemsa와 Acridine orange 염색법을 비교하였다. 마우스에 Mytomycin C(MMC)를 2mg/kg을 복강투여하고 24시간 후에 골수세포를 분리하여 두 가지 염색법으로 염색하고 48시간 후에는 말초혈액을 채취하여 Acridine orange를 도말한 slide를 이용하여 염색한 후 2000개의 다염성 적혈구중 소핵을 가진 적혈구의 수를 비교하였다. 마우스의 골수세포에서 소핵출현 빈도는 Giemsa 염색법의 경우 음성대조군은 0.28 ± 0.58 %, MMC투여군은 4.65 ± 27.73 %였으며, Acridine orange 염색법의 음성대조군은 0.13 ± 1.53 %, MMC투여군은 4.37 ± 29.9 %였다. 말초혈액의 경우 Giemsa로 염색하였을 때 소핵의 구별이 어려움으로 Acridine orange를 도말한 slide를 이용하여 소핵유발여부를 관찰하였다. 그 결과 음성대조군은 0.12 ± 1.53 %, MMC투여군이 3.82 ± 5.03 %였다. 염색법에 의한 소핵빈도의 차이는 나타나지 않았으며 소핵출현 빈도는 기존에 발표된 논문의 결과와 거의 일치하였다. 이러한 결과로 유추하여 볼 때 Acridine orange 염색법은 Giemsa 염색법의 단점을 보완할 수 있는 방법으로 활용할 수 있으며, 말초혈액을 이용한 소핵시험은 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 보완할 수 있는 alternative method로 활용할 수 있음을 알 수 있었다.