

## 방사선에 의한 EL4 마우스 백혈병세포 및 정상 마우스 비장 임파구 DNA strand breaks의 측정\*

김성호 · 김태환 · 정인용 · 류성렬 · 조철구 · 진수일  
원자력병원 방사선의학연구소  
(1991. 3. 25 접수)

### Radiation-induced DNA strand breaks in EL4 cells and mouse spleen lymphocytes

Sung-ho Kim, Tae-hwan Kim, In-yong Chung, Seong-yul Yoo,  
Chul-koo Cho, Soo-yil Chin

Laboratory of Radiation Medicine, Korea Cancer Center Hospital

(Received Mar 25, 1991)

**Abstract:** The filter elution technique was used to assay  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  ray-induced DNA strand breaks(SB) in EL4 mouse leukemia cell and mouse spleen lymphocyte.

The lymphocytes were stimulated with lipopolysaccharide (LPS,  $20\mu\text{g/ml}$ ) to label [ $^3\text{H}$ ]thymidine. EL4 cells and lymphocytes in suspension were exposed at  $0^\circ\text{C}$  to 0Gy, 1Gy, 5Gy, 10Gy or 15Gy for DNA single strand breaks(SSB) assay and 0Gy, 25Gy, 50Gy, 75Gy or 100Gy for DNA double strand breaks(DSB) assay of  $^{60}\text{Co}$  radiation and elution procedure was performed at pH12.1 and 9.6.

The number of DNA strand breaks increased with increasing doses of  $\gamma$  rays. The strand scission factor(SSF) was estimated in each experiment (eluted volume 21ml). The slope of SSB EL4 cells was  $0.01301 \pm 0.00096\text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ ), the slope of SSB for lymphocytes was  $0.01097 \pm 0.00091\text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ ) and the slope of DSB for lymphocytes was  $0.001707 \pm 0.0000573\text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ ). Thus EL4 cells were more sensitive to induction of DNA SSB by ionizing radiation than lymphocytes ( $p < 0.005$ ). The ratio of slope of dose-response relationship (SSF versus dose) of lymphocytes DNA SSB as compared with the slope of DNA DSB was 6.4.

**Key words:** Radiation, EL4, lymphocyte, DNA strand breaks, filter elution.

### 서 론

방사선 생물학의 발달에 따라 방사선에 의한 특이적인 생물학적 특징의 기전을 설명할 수 있는 실험방법들이 고안되었으며 최근들어 세포사 또는 염색체 이상 등 다양한 생물학적 효과를 밝히기 위한 연구가 수행되고 있으나 직접적 관계를 설명하기는 어려운 실정이

다. 나아가 선질이 다른 방사선의 조사, 선량율의 변화, 산소함량의 차이, 방호제(protector)와 증감제(sensitizer) 투여등의 경우 동일한 세포내에서도 다양한 반응이 나타날 수 있다.<sup>1-6</sup>

DNA는 살아있는 세포에 있어서 방사선장해의 중요한 표적부위로 간주되고 있으며 그 장해의 결과 세포 증식능의 불활성화, 돌연변이, 염색체이상이 나타난

\* 본 연구는 1989~1990년도 과학기술처 특정연구개발사업 "방사선장해의 의료대책에 관한 연구"의 일부임.

Nucleotide strand break는 DNA의 고분자 구조에 있어서 방사선에 의한 가장 심각한 장애의 하나이며 이러한 strand breaks는 double helix중의 하나(single strand breaks, SSB) 또는 양쪽(Double strand breaks, DSB)의 절단이 일어난다. 이온화 방사선에 의한 strand breaks는 DNA의 기능장애 즉, RNA 합성을 위한 DNA의 활성화도 저하 또는 DNA의 전하능의 소실 등을 유발한다.<sup>7</sup> 생존세포에 있어서 방사선에 의한 strand breaks는 신속하게 회복되는 것으로 보고되고 있으며<sup>10, 11</sup> 따라서 방사선에 의한 DNA strand breaks의 본태를 파악하는 것은 장애의 회복에 관하여는 효소의 반응과 함께 방사선의 효과를 이해하는데 필수적이라 하겠다.

본 연구에서는 C57BL/6마우스 유래의 EL4 백혈병 세포와 동종의 마우스 비장임파구에 대한 <sup>60</sup>Cr  $\gamma$  ray의 DNA strand breaks 효과를 파악함과 동시에 지금까지 시행된 방법을 개선하고 간소화하며 나아가 본 실험모델의 보다 다양한 적용을 위한 자료를 얻고자 하였다.

### 재료 및 방법

**정상 임파구의 분리 및 동위원소 표지 :** 6주령 Sprague-Dawley(SD) 랫트와 6주령 C57BL/6마우스의 비장을 채취하여 Hank's balanced salt solution(HBSS)에 세척한 후 10ml의 HBSS가 담긴 petri-dish에서 세분 절편하여 세포를 부유시켰다. 부유시킨 세포를 Ficoll-hypaque 용액위에 중첩하여 400g에서 30분간 원심분리 하였다. 분리된 세포는 ml당  $5 \times 10^5$  cell에 20 $\mu$ g/ml의 lipopolysaccharide(LPS) (Sigma Chemical Co.)를 첨가하고 각각 24, 48, 72시간 동안 micro culture assay로 세포증식을 측정하였다. [<sup>3</sup>H] thymidine (3.0TBq/mmol, 81.9Ci/mmol)은 2 $\mu$ Ci/ml의 용량으로 배양 종료 4시간 전에 첨가 하였다.

**실험세포 :** EL4 마우스 백혈병 세포 및 LPS첨가시 세포증식이 용이한 C57BL/6 마우스 유래의 비장 임파구를 사용하였다. 각 세포의 배양은 10% fetal bovine serum(FBS), 100 unit penicillin, 10 $\mu$ g streptomycin, 2mM L-glutamine이 첨가된 RPMI 1640 배지를 사용하였다. [<sup>3</sup>H] thymidine의 표지를 위하여 EL4세포는 ml당  $1 \times 10^6$  세포에 0.2 $\mu$ Ci의 양으로 2회 doubling time인 16시간 배양하였으며 마우스 임파구는  $5 \times 10^5$  세포에 LPS첨가 44시간후 2 $\mu$ Ci의 양으로 4시간 배양하였다. 각 표지 세포는 [<sup>3</sup>H] thymidine이 첨가되지 않는 배지에 2시간 배양 후 실험에 적용하였다.

**방사선 조사 :** [<sup>3</sup>H] thymidine이 표지된 EL4세포 및 임파구를 trypan blue 염색 후 hemocytometer에서 세포의 생존율을 측정한 후  $1 \times 10^6$  세포씩 24 well bottom culture plate(Flow Lab. Inc.)의 각각 4 well에 분주한 후 언음위에서 방사선을 조사 하였다. 방사선은 DNA SSB의 경우 0, 1, 5, 10 또는 15Gy를, DNA DSB의 경우 0, 25, 50, 75 또는 100Gy의 <sup>60</sup>Co  $\gamma$  ray(Theratron-780)를 96 rad/minutes의 선량율로 1회 조사 하였으며 방사선 조사 후 즉시 세포 부유액은 냉각된 phosphate buffered saline(PBS)으로 10배 희석하였다.

**Filter elution :** filter elution은 Kohn등<sup>12</sup>의 방법을 참고로 하였다. 25mm지름(1.2 $\mu$ m pore size)의 polyvinyl chloride filter(Gelman Sciences Inc.)를 끼운 filter holder(Gelman Sciences Inc.)에  $1 \times 10^6$  세포를 분주하고 냉각된 PBS 3회 세척한 후 Koval 및 Kazmar의 방법<sup>13</sup>에 따라 pH9.6의 lysing용액 [0.05M Tris(base), 0.05M glycine, 0.025M EDTA(disodium salt), 2% w/v SDS, 0.5mg/ml proteinase iK]을 5ml씩 통과 시켜 세포를 용해 시켰다. Lysing 용액이 약 1ml 남았을 때 용액의 통과를 정지시킨 후 30분간 incubation하였고 lysing solution에 연속하여 SSB측정의 경우 pH12.1의 elution용액[0.05M Tris (base), 0.05M glycine, 0.025M EDTA(disodium salt), 2% w/v SDS]을 통과 시켰으며 DSB측정은 pH9.6의 elution용액을 사용하였다. lysing 및 elution 용액의 통과는 multi channel pump(Manostat cassette pump)를 사용하여 0.1ml/minutes의 속도로 하였으며 elution 용액은 매 30분 동안 1회씩 총 10회 회수 하였고 각 용액의 통과는 암실에서 실시하였다. Filter holder 내의 filter는 제거하고 holder는 0.4M NaOH로 세척한 후 scintillation counting을 실시 하였다.

**Liquid scintillation counting :** lysing용액, 회수된 각 시간별 elution용액, 및 filter holder를 세척한 용액에서 각각 1ml씩을 채취하였다. Filter 또는 채취한 재료에 10ml의 scintillation cocktail(Lumagel, Lumac, Netherlands)을 첨가한 후 radioactivity를 liquid scintillation counter(Packard Co.)로 측정하였다.

**Strand scission factor(SSF) 산출 :** SSF는 Alati 등<sup>14</sup>의 보고에 따라 filter상의 DNA 잔존량 백분율로써 각 방사선조사군의 수치에 대조군의 수치를 나누고 그 값의 log<sub>10</sub> 절대치로 산출하였다. 이때 각 군의 elution량은 21ml을 기준으로 하였다.

## 결 과

정상 임파구의 증식 : LPS에 의한 세포증식효과는 표 1에서 보는 바와 같이 랫트 비장 임파구에서는 경미하였으며 C57BL/6 마우스에서는 배양 48시간에 최고치를 나타냈다. 따라서 본 실험에서는 C57BL/6마우

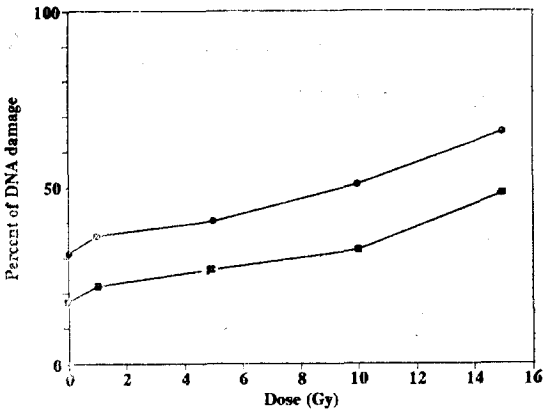
스 유래의 비장 임파구를 적용하였다.

**Single strand breaks** : EL4세포 및 임파구에서의 방사선에 의한 SSB는 elution초기 높은 수치로 수확되었으며 EL4세포 실험군에서는 15ml의 elution까지 15Gy 조사군을 제외한 전조사군에서 경미한 수치의 변화를 나타냈다(Fig 1, Table 2). 임파구에서의 변화

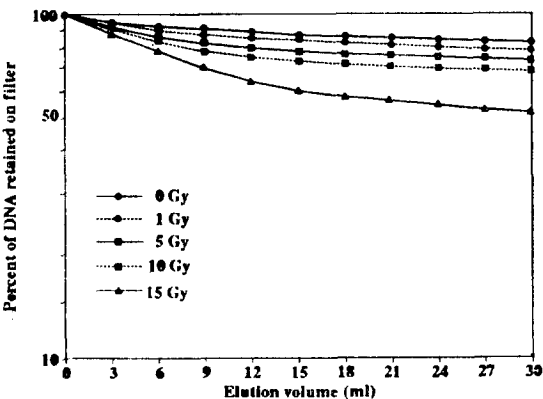
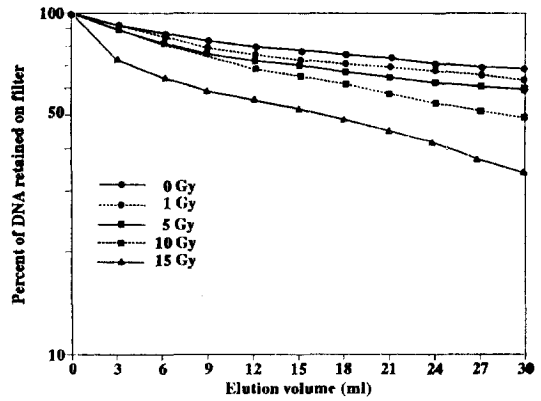
**Table 1.** Lymphoproliferative responses by lipopolysaccharide

Incubation time(hours)	C57BL/6 mouse		Sprague-Dawley rat	
	None	20 $\mu$ g/ml	None	20 $\mu$ g/ml
24	2218.6 $\pm$ 159.5*	82301.2 $\pm$ 2531.8	763.1 $\pm$ 41.7	11511.5 $\pm$ 100.9
48	4414.1 $\pm$ 962.0	340087.3 $\pm$ 28776.1	1817.0 $\pm$ 128.3	32667.1 $\pm$ 744.8
72	4190.2 $\pm$ 657.7	135918.8 $\pm$ 10813.4	486.8 $\pm$ 78.0	4600.2 $\pm$ 536.5

\* Mean $\pm$ S.D. of the counts per minute of tritiated thymidine incorporation by triplicate microcultures of  $1 \times 10^5$  normal lymphocytes.

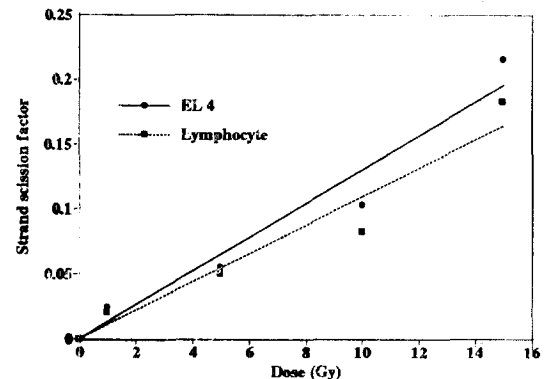


**Fig 1.** Percent of EL4 leukemia cell DNA retained on the filter versus elution volume in DNA single strand breaks assay.



**Fig 2.** Percent of mouse spleen lymphocyte DNA retained on the filter versus elution volume in DNA single strand breaks assay.

**Fig 3.** Percent of DNA single strand breaks for EL4 (●) and mouse lymphocyte (■) (eluted volume 30ml)



**Fig 4.** Strand scission factor of DNA single strand breaks versus radiation dose for EL4 leukemia cell and mouse lymphocyte,

**Table 2.** Percentage of DNA single strand break formation in each fraction to total amount of DNA from  $\gamma$  ray irradiated EL4 cell

Groups	Number of fraction*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	7.75 $\pm 1.06^{**}$	4.64 $\pm 1.1$	4.82 $\pm 1.58$	2.89 $\pm 0.52$	1.94 $\pm 0.92$	2.44 $\pm 1.39$	1.5 $\pm 0.74$	2.52 $\pm 2.29$	1.62 $\pm 1.08$	1.16 $\pm 0.63$
1Gy	7.78 $\pm 5.07$	6.72 $\pm 1.58$	6.42 $\pm 2.36$	3.39 $\pm 1.79$	2.61 $\pm 1.47$	1.95 $\pm 0.86$	1.24 $\pm 0.89$	2.14 $\pm 0.61$	1.57 $\pm 0.55$	2.55 $\pm 2.02$
5Gy	10.38 $\pm 4.8$	8.03 $\pm 0.68$	5.53 $\pm 4.32$	3.29 $\pm 1.98$	2.22 $\pm 1.35$	3.18 $\pm 1.59$	2.25 $\pm 1.1$	2.69 $\pm 2.08$	1.48 $\pm 0.78$	1.21 $\pm 0.5$
10Gy	10.05 $\pm 3.75$	8.81 $\pm 3.45$	6.56 $\pm 2.89$	5.78 $\pm 1.69$	3.44 $\pm 0.29$	3.33 $\pm 0.65$	3.8 $\pm 2.62$	3.53 $\pm 1.07$	2.96 $\pm 2.22$	2.58 $\pm 1.57$
15Gy	26.99 $\pm 2.43$	8.1 $\pm 2.03$	5.91 $\pm 1.19$	3.29 $\pm 1.07$	3.37 $\pm 0.83$	3.68 $\pm 1.18$	3.56 $\pm 0.45$	3.03 $\pm 0.45$	4.58 $\pm 0.72$	3.23 $\pm 0.32$

\* Fractions were collected every 30 minutes at a flow rate of 0.1ml/minute.

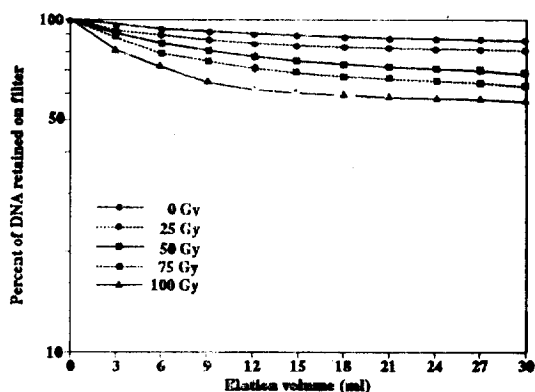
\*\* Mean  $\pm$  S.D.

**Table 3.** Percentage of DNA single strand break formation in each fraction to total amount of DNA from  $\gamma$  ray irradiated mouse lymphocyte

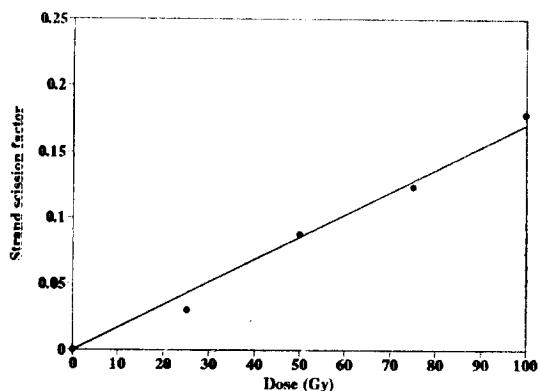
Groups	Number of fraction*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	5.04 $\pm 0.29^{**}$	2.95 $\pm 1.0$	1.79 $\pm 0.3$	1.34 $\pm 0.37$	2.03 $\pm 1.24$	1.14 $\pm 0.21$	0.77 $\pm 0.26$	0.75 $\pm 0.12$	0.99 $\pm 0.63$	0.8 $\pm 0.5$
1Gy	5.68 $\pm 0.42$	4.98 $\pm 1.05$	2.42 $\pm 0.21$	1.76 $\pm 0.06$	1.47 $\pm 0.14$	1.5 $\pm 0.57$	1.23 $\pm 0.51$	0.85 $\pm 0.1$	1.09 $\pm 0.44$	0.87 $\pm 0.29$
5Gy	8.35 $\pm 0.52$	6.01 $\pm 0.69$	3.61 $\pm 0.47$	2.46 $\pm 0.43$	1.8 $\pm 0.17$	1.29 $\pm 0.08$	0.96 $\pm 0.1$	0.74 $\pm 0.09$	0.8 $\pm 0.24$	0.76 $\pm 0.29$
10Gy	9.47 $\pm 0.93$	7.49 $\pm 0.4$	5.13 $\pm 0.49$	3.08 $\pm 0.1$	2.12 $\pm 0.23$	1.51 $\pm 0.17$	1.01 $\pm 0.12$	1.09 $\pm 0.2$	0.63 $\pm 0.06$	0.63 $\pm 0.06$
15Gy	12.62 $\pm 1.55$	9.12 $\pm 1.63$	8.78 $\pm 2.4$	6.03 $\pm 1.75$	4.0 $\pm 1.5$	2.26 $\pm 0.52$	1.42 $\pm 0.31$	1.62 $\pm 1.03$	1.82 $\pm 1.59$	0.88 $\pm 0.13$

\* Fractions were collected every 30 minutes at flow rate of 0.1ml/minute.

\*\* Mean  $\pm$  S.D.



**Fig 5.** Percent of mouse spleen lymphocyte DNA retained on the filter versus elution volume in DNA double strand breaks assay.



**Fig 6.** Strand scission factor of DNA double strand breaks versus radiation dose for mouse lymphocyte.

**Table 4.** Percentage of DNA double strand break formation in each fraction to total amount of DNA from  $\gamma$  ray irradiated mouse lymphocyte

Groups	Number of fraction*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	2.92 $\pm 0.33^{**}$	3.19 $\pm 0.47$	1.68 $\pm 0.21$	1.28 $\pm 0.31$	1.07 $\pm 0.29$	1.01 $\pm 0.58$	0.78 $\pm 0.38$	0.63 $\pm 0.28$	0.61 $\pm 0.11$	0.58 $\pm 0.29$
25Gy	7.20 $\pm 2.32$	3.17 $\pm 0.68$	3.01 $\pm 0.93$	1.63 $\pm 0.07$	1.31 $\pm 0.50$	0.73 $\pm 0.25$	0.68 $\pm 0.10$	0.61 $\pm 0.17$	0.50 $\pm 0.06$	0.43 $\pm 0.08$
50Gy	8.89 $\pm 0.62$	6.22 $\pm 0.85$	3.90 $\pm 0.40$	3.42 $\pm 0.38$	2.31 $\pm 0.48$	1.60 $\pm 0.31$	1.46 $\pm 0.17$	1.20 $\pm 0.10$	1.07 $\pm 0.15$	1.29 $\pm 0.29$
75Gy	11.83 $\pm 2.13$	8.93 $\pm 1.26$	4.00 $\pm 1.83$	3.75 $\pm 0.48$	2.36 $\pm 0.11$	1.49 $\pm 0.26$	1.27 $\pm 0.39$	0.91 $\pm 0.47$	0.97 $\pm 0.28$	1.43 $\pm 0.06$
100Gy	18.88 $\pm 5.05$	9.00 $\pm 1.60$	7.34 $\pm 2.40$	3.19 $\pm 0.83$	1.31 $\pm 0.41$	1.00 $\pm 0.42$	0.75 $\pm 0.26$	0.50 $\pm 0.14$	0.45 $\pm 0.13$	0.83 $\pm 0.33$

\* Fractions were collected every 30 minutes at flow rate of 0.1ml/minute.

\*\* Mean  $\pm$  S.D.

는 15ml elution이 후 부터는 비슷한 경향의 감소를 보였다(Eig 2, Table 3). EL4 실험군은 정상임파구 실험군에 비하여 방사선 비조사 대조군 에서도 높은 수치의 SSB를 관찰 할 수 있었으며(Fig 3) SSF는 21 ml elution양을 기준으로 방사선량의 효과로서 표시하여 용량-반응선을 얻었다(Fig 4). 직선의 slope는 EL4 세포에서  $0.01301 \pm 0.00096 \text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ )이었고 임파구는  $0.01097 \pm 0.00091 \text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ )를 나타내므로써 본 실험에서 방사선에 의한 DNA SSB는 정상임파구에 비하여 EL4 세포에서 민감하였다( $p < 0.005$ ).

**Double strand breaks:** 임파구에 대한 방사선의 DSB효과에서 elution에 따른 각 분획의 수치 변화는 SSB와 비슷한 경향을 나타냈으며(Fig 5, Table 4) 21 ml의 elution양을 기준으로 산출한 SSF의 용량-반응선은 그림 6과 같고 직선의 slope는  $0.001707 \pm 0.0000573 \text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ )를 나타냈다.

## 고 찰

이온화 방사선 피폭에 의한 세포사는 DNA장해의 결과로 간주되고 filter elution 방법을 사용한 DNA strand breaks의 정도를 측정하는 것은 이러한 장해의 일면을 알 수 있으며 따라서 DNA strand breaks의 측정은 방사선에 의한 DNA 장해의 유발 및 회복을 파악할 수 있다는 관점에서 가치있는 실험 방법이다.<sup>15</sup> DNA strand break를 측정하는 방법은 alkaline unwinding,<sup>16</sup> filter elution,<sup>17</sup> nucleoid sedimentation,<sup>15</sup> viscoelastrometry,<sup>18</sup> single cell의 microelectrophoresis,<sup>19</sup> DNA precipitation,<sup>15</sup> pulse field gel electrophoresis,<sup>20</sup> fluctuation spectroscopy,<sup>21</sup> 및 nick translati-

on,<sup>22</sup> 등의 다양한 방법이 있으나 특히 filter elution 방법은 감도가 높을 뿐만 아니라 다량의 재료를 동시에 실험할 수 있다는 이점을 가지고 있으며<sup>4</sup> SSB, DSB, alkali-labile sites, DNA-protein crosslinks 및 DNA interstrand crosslinks 등을 측정할 수 있다.<sup>15</sup>

본 실험에서 사용한 perfusion 용액은 Koval 및 Kazmar의 보고<sup>13</sup>에 따라 proteinase K의 혼합을 제외 하면 lysing용액 및 eluting 용액의 조성이 동일하므로 실험준비단계가 간편하고 용액의 pH변화에 따른 elution율의 차이가 경미한 Tris-buffered lysing 및 elution 용액을 사용하였으며 perfusion은 0.1ml/minutes의 속도를 시행하여 실험시간을 단축하였다. 한편 filter holder내의 filter는 대부분의 보고자들이 holder에서 제거된 filter를 1M HCl 및 0.4M NaOH 용액에 incubation을 실시하는 방법을 사용하였으나 본 실험에서는 scintillation vial에 직접 filter를 넣고 cocktail을 첨가하여 radio activity를 측정해 본 결과 두 방법간에 수치의 차이가 거의 없었으며 filter holder를 세척한 용액의 radio activity는 경미하였다.

본 실험에 사용된 실험동물 유래의 비장 임파구의 LPS 첨가시 [<sup>3</sup>H] thymidine표지율이 C57BL/6 마우스에 비하여 SD랫트에서 낮은 수치를 나타내었으며 SD 랫트는 LPS의 세포증식 효과가 경미하여 본 실험에 방법의 적용은 부적절 하였다. C57BL/6 마우스 유래의 임파구에 비하여 EL4 세포는 방사선을 조사하지 않은 대조군에서도 약 2배의 높은 SSB가 관찰되어 암세포의 DNA 활성이 활발함을 간접적으로 시사하였다. 대조군의 SSB를 환산한 각 방사선조사군의 SSB 효과에서도 elution 양 21ml을 기준으로할 때 SSF가

유의성있게 증가하는 것으로 나타나 정상임파구에 비하여 EL4 백혈병 세포의 방사선에 의한 SSB 민감도가 높음을 알 수 있었다. 한편  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  ray에 의한 임파구의 SSB 및 DSB의 용량-반응을 비교한 결과 SSF의 slope를 기준으로 산출한 방사선감수성은 DNA SSB가 DNA DSB의 6.4배였다.

본 연구의 결과 DNA strand breaks의 측정법을 이용하여 방사선의 특성 및 생물학적 효과의 파악은 물론 나아가 기지의 방호제 및 새로운 약제의 DNA에 대한 효과를 판별할 수 있을 것이다.

## 결 론

Filter elution 방법으로 EL4 마우스 백혈병 세포 및 C57BL/6 마우스의 비장임파구에 대한  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  ray의 DNA single strand breaks(SSB)효과 및 C57BL/6 마우스의 비장 임파구에 대한 DNA double strand breaks (DSB) 효과를 측정하였다.

임파구는 [ $^3\text{H}$ ] thymidine을 표지하기 위하여 lipopolysaccharide (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 첨가하여 자극하고 부유상태의 EL4 세포 및 임파구를 0°C에서 SSB의 측정을 위하여 0Gy, 1Gy, 5Gy, 10Gy 또는 15Gy, DSB의 측정을 위하여 0Gy, 25Gy, 50Gy, 75Gy 또는 100Gy를 조사하였으며 elution 용액의 pH는 12.1 및 9.6로 하였다.

$\gamma$  ray 조사에 따른 SSB 및 DSB의 수는 방사선 조사량에 따라 증가하였으며 21ml의 elution양을 기준으로 한 SSB의 strand scission factor(SSF)는 EL4 세포에서  $0.01301 \pm 0.00096 \text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ )이었고 임파구는  $0.01097 \pm 0.00091 \text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ )이 있으며 임파구의 DSB의 SSF는  $0.001707 \pm 0.0000573 \text{Gy}^{-1}$  ( $n=5$ )를 나타내므로써 EL4 세포가 정상임파구에 비하여 방사선에 의한 DNA SSB이 민감함을 알 수 있었으며 ( $p < 0.005$ ) SSF를 기준으로 산출한 임파구의 DNA SSB와 DNA DSB의  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  ray에 대한 감수성은 DNA SSB이 DNA DSB의 6.4배였다.

본 연구의 결과 DNA strand breaks의 측정법을 이용하여 방사선의 특성 및 생물학적 효과의 파악은 물론 나아가 기지의 방호제 및 새로운 약제의 DNA에 대한 효과를 판별할 수 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

1. Leenhouts HP, Chadwick KH: The crucial role of DNA double-strand breaks in cellular radiobiological effects. *Adv Radiat Res* 1978;7:55-101.
2. Hanson WR, Grdina DJ. Radiation-induced DNA

- single-strand breaks in the intestinal mucosal cells of mice treated with the radioprotectors WR-2721 or 16-16 dimethyl prostaglandin E<sub>2</sub>. *Int J Radiat Biol* 1987;52:67-76.
3. Blocher D. DNA double-strand break repair determines the RBE of  $\alpha$ -particles. *Int J Radiat Biol* 1988;54:761-771.
4. Meyn RE, Jenkins WT. Variation in normal and tumor tissue sensitivity of mice to ionizing radiation-induced DNA strand breaks in vivo. *Cancer Res* 1983;43:5668-5673.
5. Ostashevsky JY. A model relating cell survival to DNA fragment loss and unrepaired double-strand breaks. *Radiat Res* 1989;118:437-446.
6. Tobias CA. The repair-misrepair model in radiobiology. Comparison to other models. *Radiat Res* 1985;104:s77-s95.
7. Murray D, vanAnkeren SC, Milas L, et al. Radioprotective action of WR-1065 on radiation-induced DNA strand breaks in cultured Chinese hamster ovary cells. *Radiat Res* 1988;113:155-170.
8. Sonntag CV, Hagen U, Schon-bopp A, et al. Radiation-induced strand breaks in DNA: chemical and enzymatic analysis of end groups and mechanistic aspects. *Adv Radiat Res* 1981;9:109-142.
9. Strauss BS. Molecular biology of the response of cells to radiation and to radiomimetic chemicals. *Cancer* 1979;40:471-480.
10. Chen A, Schwartz JL. Inhibition and recovery of DNA synthesis in human tumor cell lines following radiation exposure. *Radiat Res* 1989;118:375-380.
11. Rowley R, Kort L. The effect of modulators of radiation-induced G<sub>2</sub> arrest on the repair of radiation-induced DNA damage detectable by neutral filter elution. *Int J Radiat Biol* 1988;54:749-759.
12. Kohn KW, Erickson LC, Ewig RAG, et al. Fractionation of DNA from mammalian cells by alkaline elution. *Biochem* 1976;15:4629-4637.
13. Koval TM, Kazmar ER. Eluting solution composition affects DNA double-strand break analysis by filter elution. *Int J Radiat Res* 1988;54:739-

14. Alati T, Van Cleeff M, Strom SC, et al. Radiation sensitivity of adult human parenchymal hepatocytes. *Radiat Res* 1988;115:152-160.
15. Ahnstrom G. Techniques to measure DNA single-strand breaks in cells: A review. *Int J Radiat Biol* 1988;54:695-707.
16. Walles SAS, Erixon K. Single-strand breaks in DNA of various organs of mice induced by methyl methanesulfonate and dimethylsulfoxide determined by the alkaline unwinding technique. *Carcinogenesis* 1984;5:319-323.
17. Bradley MO, Kohn KW. X-ray induced DNA double-strand break production and repair in mammalian cells as measured by neutral filter elution. *Nucleic Acids Res* 1979;7:793-804.
18. Cook PR, Brazell IA. Spectrofluorometric measurement of the binding of ethidium to superhelical DNA from cell nuclei. *Eur J Biochem* 1978;84:465-477.
19. Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;123:291-298.
20. Carle GF, Frank M, Olson MV. Electrophoretic separation of large DNA molecules by periodic inversion of the electric field. *Science* 1986;232:65-68.
21. Weissman M, Schinder H, Feher G. Determination of molecular weights by fluctuation spectroscopy: application to DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:2776-2780.
22. Snyder RD, Matheson DW. Nick translation—a new assay for monitoring DNA damage and repair in cultured human fibroblasts. *Environ Mutagen* 1985;7:267-279.