

단세포 전기영동법을 이용한 인체, 마우스 및 랫드 림프구의 방사선에 의해 유발된 DNA 손상 측정

오 현 · 정우희 · 박혜란 · 김성호¹ · 조성기*

한국원자력연구소 방사선식품·생명공학팀

¹전남대학교 수의과대학

(게재승인: 2004년 2월 25일)

Analysis of gamma-ray-induced DNA damage in human, mouse and rat peripheral blood lymphocytes using single-cell gel electrophoresis

Heon Oh, Uhee Jung, Hae-Ran Park, Sung-Ho Kim¹, and Sung-Kee Jo*

Radiation Food Technology and Bioscience Team, Korea Atomic Energy Research Institute,
Daejeon 305-600, Korea

¹College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

(Accepted: February 25, 2004)

Abstract : The alkaline single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay, called the comet assay, has been applied to detect DNA damage induced by a number of chemicals and biological factors *in vivo* and *in vitro*. The DNA damage was analysed by tail moment (TM) and tail length (TL), which were markers of DNA strand breaks in SCGE. Human, mouse and rat peripheral blood lymphocytes (PBLs) were irradiated with different doses of ⁶⁰Co γ -rays, e.g. 1, 2, 4, and 8 Gy at a dose rate of 1 Gy/min. A dose-dependent increase in TM ($p < 0.01$) and TL ($p < 0.01$) was obtained at all the radiation doses (1-8 Gy) in human, mouse and rat PBLs. Mouse PBLs were more sensitive than human PBLs which were in turn more sensitive than rat PBLs when the treated dosages were 1 and 2 Gy. However, human PBLs were more sensitive than mouse PBLs which were in turn more sensitive than rat PBLs when the irradiation dosages were 4 and 8 Gy. Data from all three species could be fitted to a linear-quadratic model. These results indicated that there may be inherent differences in the radio-sensitivity among PBLs of mammalian species.

Key words : single-cell gel electrophoresis (SCGE), comet assay, lymphocyte, human, mouse, rat, radiation

서 론

이온화 방사선은 직·간접적으로 DNA 손상과 염색체 이상을 초래하며 간접적 영향이 더 많은 손상을 일으킨다. 간접적 영향은 물의 radiolysis를 통해 이차적으로 발생된 free radical에 의해 손상을 받는 것으로서, 생성된 radical들은 DNA의 외가닥절단(single strand breaks), 양가닥 절단(double strand breaks), 염기손상 그리고 DNA-protein cross-links 등과 같은 DNA 변형을 일으키며, 이

러한 DNA 변형은 변이유발, 발암 그리고 노화 등에 밀접한 영향을 미친다 [1, 2].

따라서 방사선을 비롯한 화학물질 또는 유해물질에의 노출을 감지하고 정량화 하는 것은 외부물질에 대한 생물학적 반응과 화학물질의 특성을 이해하는데 중요한 일이라 할 수 있다. 이러한 면에서 독성, 암발생과 노화 등을 연구하는데 있어서 alkaline sucrose gradients [3], alkaline elution [4], alkaline unwinding [5], alkaline gel electrophoresis [6] 그리고 단세포전기영동법(single-cell

이 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 지원에 의하여 수행되었음.

*Corresponding author: Sung-Kee Jo

Radiation Food Technology and Bioscience Team, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-600, Korea
[Tel: +82-42-868-8063, Fax: +82-42-868-8043, E-mail: skjo@kaeri.re.kr]

gel electrophoresis, SCGE) [7] 등과 같이 세포의 DNA 손상을 민감하게 감지해 낼 수 있는 기술들이 개발되어져 왔다.

단세포전기영동법은 방사선을 포함한 암유발원이나 돌연변이 유발원에 의한 DNA 손상을 평가하기 위해 개발되었으며 일명 comet assay라고 불린다. 이 방법은 1984년 Ostling과 Johanson [8]에 의해 개발되었으며 Singh 등 [7]에 의해 DNA 손상을 보다 민감하게 평가하는 방법으로 개량되었다. 단세포전기영동법은 실험조건에 따라 DNA 양가닥절단(neutral) 및 외가닥절단(alkali)을 측정할 수 있는데 외가닥절단은 양가닥절단보다 훨씬 많이 생성되기 때문에 이온화 방사선을 포함하여 산화적 손상을 유발하는 유해물질에 노출되었을 때 민감한 측정방법으로 이용될 수 있다. 특히, alkali 조건의 단세포전기영동법은 DNA 외가닥절단과 alkali-labile damage를 측정할 수 있기 때문에 방사선을 포함한 암유발원이나 돌연변이 유발원을 감지하기 위한 생체지표(bio-marker)로 각광을 받고 있다 [9, 10].

인체에 대한 유전독성 평가는 기타 생물학적 실험법을 이용하여 투여용량, 투여경로, 세포의 유형 등을 근거로 수행되며 최종적으로 인체에 대한 결과 도출의 가능성을 확인하는 것이다. 세포유전학적 분석에 있어서 림프구는 주로 사용되는 세포로 비교적 수명이 길고, 정상상태에서는 분열하지 않으며 표본의 채취가 용이하여 특히 방사선 피폭에 대한 생물학적 선량측정 및 반응물질 검색 방법에 많이 사용된다 [11-13].

변이 유발물질 검색의 최종목표가 인체에 대한 직접적 효과 검사 또는 결국 인체에 대한 외삽 가능성이라는 관점에서 본 연구는 단세포전기영동법을 이용하여 사람, 마우스, 랫드 유래 림프구의 방사선에 의한 DNA 손상 정도를 파악하고 결과를 비교하여 상호 반응의 차이 및 감수성 등을 조사하고 반응조절 물질 검색을 위한 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

혈액채취

건강한 3명의 비흡연 남성(22세, 28세, 35세)의 말초혈액을 채취하였으며, 마우스(ICR)는 안와정맥총에서, 랫드(Sprague Dawley)는 꼬리정맥에서 말초혈액을 채취하였다. 마우스 및 랫드는 (주)대한바이오링크에서 구입하였으며, 실험동물 사육 기준에 의거하여 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 실내온도와 12시간 주기의 조명을 유지하였고 실험동물용 펠렛사료(삼양사료)와 물은 자유로이 섭취하도록 하여 사육하였다. 채취한 혈액은 Ficoll-Histopaque gradient 방법으로 림프구를 분리하고 HBSS에 수세 후 10% fetal

bovine serum, L-glutamine, 2-mercaptoethanol이 첨가된 RPMI 1640 배지에 부유시켰다.

방사선 조사

분리된 림프구의 방사선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 감마선 저준위 조사시설(Panoramic Irradiation, Nordion International Co. Ltd., Canada)을 이용하여 ^{60}Co - γ 선(선량율 : 1 Gy/min)을 1, 2, 4, 8 Gy의 선량으로 1회 조사하였다. 림프구는 방사선 조사 후 DNA 수복을 차단하기 위하여 전기영동을 시행하기 전까지 4°C 를 유지하였다.

단세포 전기영동

Singh 등 [7, 14]의 방법에 준하여 시행하였다.

(1) 슬라이드 준비

Frosted slide에 0.6% normal melting agarose(GIBCO BRL; Grand Island Co., NY., USA) 130 μl 를 처리 후 cover glass로 덮고 4°C 에서 10분간 방치하여 agarose를 굳힌 후 cover glass를 제거하였다. 방사선 조사 림프구를 0.5% low melting agarose(GIBCO BRL) 75 μl 와 혼합하고 이를 slide에 점적 후 coverglass로 덮고 4°C 에서 10분간 굳힌 다음 lysis buffer(2.5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA , 10 mM Tris base, 1% N-lauryl sarcosinate, 1% Triton X-100, pH 10)에서 4°C 로 1시간 동안 용해시켰다.

(2) 전기영동

Electrophoretic buffer(300 mM NaOH, 0.1% 8-hydroxyquinoline, 2% dimethyl sulfoxide, 10 mM Na_4EDTA , pH>12.3)를 이용 25 V, 300 mA에서 20분간 전기영동을 시행하였다. 이후 Tris buffer(0.4 M Tris, pH7.4)로 10분씩 3회 세척하여 슬라이드를 중화시키고 DNA가 슬라이드에 침착될 수 있도록 ethanol에 1시간 이상 침적하였다.

(3) 염색 및 관찰

슬라이드를 공기 중에서 건조시킨 후 60 μl 의 ethidium bromide(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 염색하였다. CCD 카메라가 부착된 형광현미경을 사용하여 이미지분석 프로그램(Komet 4.0, Kinetic imaging, Ltd., Great Britain)을 통해 각 시료마다 준비된 2개의 슬라이드에서 60개의 세포를 무작위로 선택하여 측정하였다. DNA 손상정도는 절단된 DNA 가닥이 이동하여 형성된 tail의 길이인 tail length(TL; μm) 또는 tail 길이와 tail 내 DNA 파편(fragment)의 양을 수치화시킨 다음과 같은 식으로 정의되는 tail moment(TM)로 나타내었으며, TL 및 TM 값이 증가할수록 DNA가 손상을 많이 받은 것을 의미한다.

Tail moment

$$= (\text{tail mean} - \text{head mean}) \times \text{tail \%DNA} / 100$$

Tail mean과 head mean은 각 부위의 염색강도의 평균값

Tail%DNA는 전체 염색강도에 대한 tail 부분의 비율

결 과

방사선에 의해 절단된 DNA 가닥은 음전하를 띠며 절단된 크기에 따라 전기영동 상에서 양극(+) 방향으로 이동하여 head와 tail로 구성된 혜성(comet) 모양으로 관찰되고 손상을 받지 않은 정상적인 세포는 핵체로 생각되는 원형의 양상을 나타낸다(Fig 1).

1, 2, 4 및 8 Gy의 감마선을 조사 후 단세포전기영동을 통해 사람, 마우스, 랫드 말초혈액 림프구의 DNA 손상 정도를 살펴 본 결과 TM과 TL의 값은 Table 1-Table 3과 같이 사람, 마우스, 랫드 림프구 공히 선량이 증가함에 따라 DNA 손상이 증가하는 결과를 관찰할 수 있었다.

사람, 마우스, 랫드 림프구의 평균 TM 및 TL 값은 Fig. 2에 나타내었다. 각 개체의 방사선 조사에 따른 TM 및 TL 값을 선량-반응곡선식에 대입한 결과, 사람, 마우스, 랫드 모두 liner-quadratic model($y=aD+bD^2+c$)에 잘

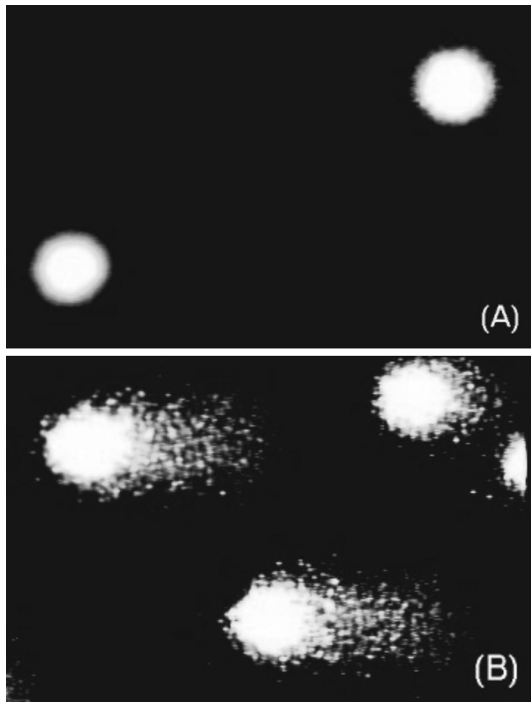


Fig. 1. DNA comet images of lymphocytes: (A) typical control cells with no induced DNA damage; (B) cells with γ -irradiation(2 Gy).

Table 1. The tail moment(TM) and tail length(TL) of DNA from human peripheral blood lymphocytes after exposure 0, 1, 2, 4 and 8 Gy of gamma-ray

Exp. group	Tail moment (TM) Mean \pm S.E. ¹		
	donor 1	donor 2	donor 3
0 Gy	2.25 \pm 0.17	2.11 \pm 0.16	1.89 \pm 0.17
1 Gy	4.42 \pm 0.24	3.98 \pm 0.22	2.29 \pm 0.19
2 Gy	4.78 \pm 0.27	4.91 \pm 0.31	4.21 \pm 0.26
4 Gy	11.87 \pm 0.40	9.97 \pm 0.38	8.95 \pm 0.40
8 Gy	26.83 \pm 0.97	21.82 \pm 0.71	15.01 \pm 0.90

Exp. group	Tail length (TL) Mean \pm S.E. ¹		
	donor 1	donor 2	donor 3
0 Gy	31.95 \pm 1.32	36.63 \pm 1.36	30.63 \pm 1.54
1 Gy	51.63 \pm 2.49	41.27 \pm 1.53	27.02 \pm 1.28
2 Gy	54.68 \pm 1.29	44.91 \pm 1.17	37.20 \pm 1.55
4 Gy	70.62 \pm 1.81	66.14 \pm 2.36	59.65 \pm 2.12
8 Gy	91.60 \pm 4.77	75.87 \pm 1.49	62.07 \pm 2.45

¹Standard error of the mean of 60 cells(30 cells per each slide)

Table 2. The tail moment(TM) and tail length(TL) of DNA from mouse peripheral blood lymphocytes after exposure 0, 1, 2, 4 and 8 Gy of gamma-ray

Exp. group	Tail moment (TM) Mean \pm S.E. ¹		
	donor 1	donor 2	donor 3
0 Gy	2.52 \pm 0.19	1.51 \pm 0.18	2.07 \pm 0.17
1 Gy	5.11 \pm 0.30	5.57 \pm 0.34	5.95 \pm 0.28
2 Gy	6.19 \pm 0.33	6.94 \pm 0.30	6.56 \pm 0.38
4 Gy	10.01 \pm 0.37	7.38 \pm 0.38	8.21 \pm 0.37
8 Gy	19.01 \pm 0.82	12.80 \pm 0.73	15.86 \pm 0.56

Exp. group	Tail length (TL) Mean \pm S.E. ¹		
	donor 1	donor 2	donor 3
0 Gy	39.27 \pm 1.56	22.36 \pm 1.43	36.20 \pm 1.51
1 Gy	41.97 \pm 2.06	48.14 \pm 1.54	47.75 \pm 1.70
2 Gy	59.23 \pm 1.55	59.44 \pm 1.92	56.16 \pm 1.52
4 Gy	65.87 \pm 1.16	59.91 \pm 3.63	58.21 \pm 1.80
8 Gy	79.72 \pm 1.53	61.96 \pm 3.69	67.89 \pm 1.31

¹Standard error of the mean of 60 cells(30 cells per each slide)

Table 3. The tail moment(TM) and tail length(TL) of DNA from rat peripheral blood lymphocytes after exposure 0, 1, 2, 4 and 8 Gy of gamma-ray

Exp. group	Tail moment (TM) Mean±S.E. ¹		
	donor 1	donor 2	donor 3
0 Gy	1.60±0.17	1.91±0.14	1.91±0.44
1 Gy	1.90±0.16	2.67±0.19	2.28±0.27
2 Gy	2.73±0.21	5.11±0.28	4.44±0.30
4 Gy	4.52±0.20	6.28±0.39	5.63±0.47
8 Gy	13.98±0.78	20.59±1.34	19.35±0.76

Exp. group	Tail length (TL) Mean±S.E. ¹		
	donor 1	donor 2	donor 3
0 Gy	20.40±1.17	34.48±1.16	31.13±1.99
1 Gy	25.97±1.53	40.39±1.20	39.88±1.65
2 Gy	32.19±1.47	49.58±0.98	43.56±1.63
4 Gy	32.70±1.74	59.00±0.97	48.54±2.04
8 Gy	55.02±4.09	80.29±7.57	74.57±2.78

¹Standard error of the mean of 60 cells(30 cells per each slide)**Table 4.** Dose response effect of gamma rays on mean comet TM and TL in human, mouse and rat peripheral blood lymphocytes

Exp. group	Tail moment (TM) Mean±S.E. ¹		
	Human	Mouse	Rat
0 Gy	2.09±0.17	2.03±0.18	1.81±0.25
1 Gy	3.56±0.22a ²	5.54±0.31b	2.28±0.21a
2 Gy	4.97±0.28a	6.56±0.33b	4.09±0.26a
4 Gy	10.26±0.39a	8.53±0.37a	5.48±0.35b
8 Gy	21.22±0.86a	15.89±0.70b	17.97±0.96b

Exp. group	Tail length (TL) Mean±S.E. ¹		
	Human	Mouse	Rat
0 Gy	33.07±1.41	32.61±1.50	28.67±1.44
1 Gy	42.98±1.77a	45.95±1.77b	35.41±1.46a
2 Gy	48.93±1.34a	55.96±1.76b	41.78±1.36a
4 Gy	68.80±2.10a	60.65±2.10a	46.75±1.58b
8 Gy	76.51±2.90a	69.86±2.18a	69.96±4.82a

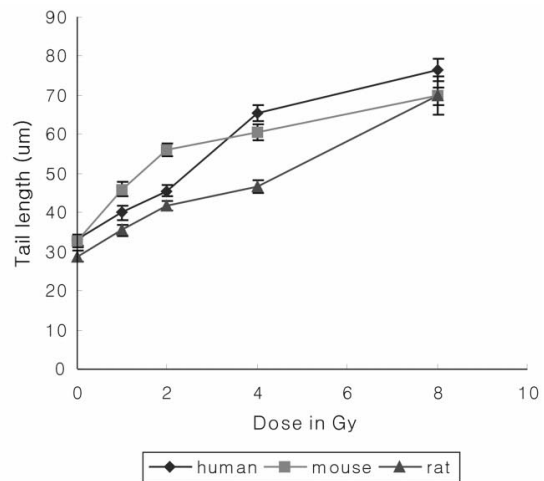
¹Standard error of the mean of three independent experiments.²Different letters (a, b) within a same row differ significantly (p<0.05).

적용되었으며 그 곡선식은

○ 사람 말초혈액 림프구

TM:y=1.4687D+0.1166D²+2.0853, R²=0.998TL:y=8.9629D-0.432D²+33.069, R²=0.979

○ 마우스 말초혈액 림프구

TM:y=2.0119D-0.0378D²+2.0332, R²=0.978TL:y=11.487D-0.8654D²+32.612, R²=0.952**Fig. 2.** Dose response effect of gamma rays on mean comet TM and TL in human, mouse and rat peripheral blood lymphocytes. Bars indicate standard error of the mean of three independent experiments. 60 individual cells on each duplicated slide were calculated(30 cells per each slide).

○ 랫드 말초혈액 림프구

$$TM: y = 0.2041D + 0.2251D^2 + 1.8088, R^2 = 0.9914$$

$$TL: y = 5.2647D - 0.0203D^2 + 28.669, R^2 = 0.9833$$

(y=TM or TL, D=방사선 조사량 Gy) 이었다.

TM 값을 비교해 보면 1, 2 Gy 조사시 사람 림프구의 TM 값은 각각 3.56 ± 0.22 , 4.97 ± 0.28 이며, 마우스 림프구는 5.04 ± 0.31 , 6.56 ± 0.33 그리고 랫드 림프구는 2.28 ± 0.21 , 4.09 ± 0.26 으로 마우스 림프구가 사람 및 랫드 림프구에 비하여 상대적으로 방사선에 대한 감수성이 높음을 알 수 있었다. 그러나 4 Gy와 8 Gy 조사시에는 사람 림프구의 TM 값이 각각 10.26 ± 0.39 , 21.22 ± 0.86 으로 마우스 림프구 8.53 ± 0.37 , 15.89 ± 0.70 , 랫드 림프구 5.48 ± 0.35 , 17.97 ± 0.96 에 비해 더 높은 방사선 감수성을 보였다. 8 Gy 미만의 선량에서 랫드 림프구가 방사선 감수성이 가장 낮았다. TL 역시 4 Gy 미만의 선량에서는 마우스 림프구가 가장 높은 방사선 감수성을 보였으며, 4 Gy 이상의 선량에서는 사람 림프구가 상대적으로 가장 높은 감수성을 나타내었다(Table 4, Fig. 2).

고 찰

단세포 전기영동법은 빠른 시간 내에 간편하게 세포 수준에서 결과를 얻을 수 있어 DNA 손상을 유발할 수 있는 물질에 대해 저항성이나 민감도를 측정해 볼 수 있고 적은 수의 세포에서도 실험가능하고 DNA 손상을 감지하는데 민감하여 10^9 dalton 당 1 DNA breakage를 감지할 수 있다. 또한 세포주기에 영향을 받지 않는 것으로 보고 되어 asynchronous로 배양된 세포에 적용가능하고 초대배양 세포에서도 적용 가능하여 [15] 최근 단세포 전기영동법을 통해 DNA 손상을 살펴 본 논문들이 증가하고 있다 [9, 16, 17].

일반적으로 alkali 조건의 단세포 전기영동분석으로 DNA 외가닥 절단만을 관찰할 수 있다고 알려져 있지만 Collins 등 [9]의 보고에 의하면 많은 유전독성물질들은 DNA 가닥을 직접 절단하지 않고 alkali-labile site 인 purin 또는 pyrimidine 결손부위(AP, Apurinic or Apyrimidinic site)를 생성하게 되는데, 이 site는 alkali에 민감하여 높은 pH 조건에서 전기영동하는 동안 파편으로 전환되게 된다. 또한 세포가 손상부위를 회복하는 과정 중 base excision 또는 nucleotide excision을 통해 손상이 순간적으로 존재하게 되어 comet 분석에서 파편으로 나타나게 된다. 따라서 분석시 나타나는 파편은 DNA 상해 혹은 회복정도의 두 가지 현상으로 판단된다는 것이다. 이러한 회복정도는 세포의 종류 및 노출물질에 따라 상이하게 나타나기 때문에 관찰되는 comet은 DNA 외가닥 절

단만을 의미하지는 않는다. 그렇지만 유해물질에 의해 DNA 파편이 생성되는 한편 세포수준의 회복이 일어난다는 점을 고려할 때 comet 분석에서 나타나는 파편은 유해 물질의 영향을 반영하여 준다고 볼 수 있다. 이러한 점은 생물학적 표지자로서 comet 분석의 활용성을 크게 증대시킬 수 있다고 판단된다.

Chaubey 등 [18]은 사람과 마우스의 혈액에 2, 4, 8 Gy의 ^{60}Co 감마선을 조사한 후 단세포전기영동을 시행하여 DNA 손상을 살펴본 바 사람의 백혈구는 선량이 증가함에 따라 직선형태의 선량반응 곡선을 나타낸 반면, 마우스의 경우 4 Gy 이상의 선량 조사시 더 이상 직선상태로 증가하지 않고 sigmoid 타입의 선량반응 곡선을 나타내었으며, 사람의 백혈구에 비해 방사선에 감수성이 크다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 사람, 마우스, 랫드 림프구 모두 선량반응곡선은 liner-quadratic model에 잘 적용되었으며, 4 Gy 미만의 선량에서는 마우스 림프구가 사람 및 랫드 림프구에 비하여 상대적으로 높은 감수성을 보였으나 4 Gy 이상의 선량에서는 사람 림프구가 방사선에 감수성이 더 큰 것을 알 수 있었다. 이는 미소핵을 생물학적 지표로 사용하여 사람, 토끼, 염소 및 마우스에서 반응을 비교한 Kim 등 [19]의 결과와 유사하였으며, Chaubey 등 [18] 또한 4 Gy 미만의 선량에서는 마우스 림프구가 사람 림프구에 비하여 방사선에 민감하다는 본 실험의 결과와 일치하였다.

백혈구는 세포 타입에 따라 방사선을 비롯한 여러 변이유발물질에 대해 다양한 민감성을 보인다. Cyclophosphamide에 대한 B 림프구와 T 림프구의 반응을 딸염색체교환(sister chromatid exchange)을 통해 살펴본 Miller 등 [20]의 보고에 의하면 T 림프구가 B 림프구보다 민감하였으며, 방사선에 유도된 미소핵을 생물학적 지표로 이용한 Wuttke 등 [21]은 B 림프구가 방사선에 대해 더욱 민감하다고 보고하였다. Holz 등 [22]은 단세포 전기영동법을 수행하여 림프구와 단핵구의 H_2O_2 에 대한 DNA 손상을 시험한 결과 단핵구에 비하여 림프구의 외가닥절단이 높게 측정되었음을 보고하였으며 Kundsen 등 [23]은 림프구보다 단핵구의 회복능이 더 빠르다고 보고하였다. 그리고 마우스의 림프구의 경우 비장 림프구가 말초혈액 림프구에 비하여 방사선에 더 민감하다고 보고 [24] 되었다.

1, 2, 4, 8 Gy의 방사선 조사 후 단세포 전기영동법을 통해 DNA 손상정도를 살펴본 결과 사람, 마우스 및 랫드 림프구 모두 선량이 증가할수록 DNA 손상이 증가하는 결과를 얻어 단세포 전기영동법이 생물학적 손상 평가 또는 특정물질의 방사선 방어 효능 평가에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료되었다. 방사선 민감도는 4 Gy 미만의 선량에서는 마우스 림프구가, 4 Gy 이상

의 선량에서는 사람 림프구가 상대적으로 컸으며, 랫드 림프구는 방사선 감수성이 가장 낮아 사람, 마우스, 랫드의 방사선 민감도가 서로 상이함을 알 수 있었다.

결 론

사람, 마우스, 랫드 유래의 림프구에서 단세포전기영동법을 이용하여 방사선에 의한 DNA 손상 정도를 파악하고 결과를 비교하여 상호 반응의 차이 및 감수성 등을 조사하고 반응조절 물질 검색을 위한 자료를 제공하고자 하였다. 사람($r^2 > 0.998$), 마우스($r^2 > 0.980$), 랫드($r^2 > 0.992$) 림프구 모두 선량반응곡선은 liner-quadratic model에 잘 적용되었으며, 선량이 증가할수록 DNA 손상이 증가하는 결과를 얻어 단세포 전기영동법이 생물학적 손상평가 또는 특정물질의 방사선 방어 효능 평가에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료되었다. 방사선 민감도는 4 Gy 미만의 선량에서는 마우스 림프구가, 4 Gy 이상의 선량에서는 사람 림프구가 상대적으로 컸으며, 랫드 림프구는 방사선 감수성이 가장 낮아 사람, 마우스, 랫드의 방사선 민감도가 서로 상이함을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Sakai, K. and Okada, S. Radiation-induced DNA damage and cellular lethality in cultured mammalian cells. *Radiat. Res.* 1984, **98**, 479-490.
2. Hagen, U. Current aspects on the radiation induced base damage in DNA. *Radiat Environ. Biophys.* 1986, **25**, 261-271.
3. Lett, J. T., Klucis, E. S. and Sun, C. On the size of the DNA in the mammalian chromosome. Structural subunits. *Biophys. J.* 1970, **10**, 277-292.
4. Kohn, K. W., Erickson, L. C., Ewig, R. A. and Friedman, C. A. Fractionation of DNA from mammalian cells by alkaline elution. *Biochemistry.* 1976, **15**, 4629-4637.
5. Rydberg, B. Detection of induced DNA strand breaks with improved sensitivity in human cells. *Radiat. Res.* 1980, **81**, 492-495.
6. Freeman, S. E., Blackett, A. D., Monteleone, D. C., Setlow, R. B., Sutherland, B. M. and Sutherland, J. C. Quantitation of radiation-, chemical-, or enzyme-induced single strand breaks in nonradioactive DNA by alkaline gel electrophoresis: application to pyrimidine dimers. *Anal. Biochem.* 1986, **158**, 119-129.
7. Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R. and Schneider, E. L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell. Res.* 1988, **175**, 184-191.
8. Ostling, O. and Johanson, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984, **123**, 291-298.
9. Collins, A. R., Dobson, V. L., Dusinska, M., Kennedy, G. and Stetina, R. The comet assay: What can it really tell us? *Mutat. Res.* 1997, **375**, 183-193.
10. He, J. L., Chen, W. L., Jin, L. F. and Jin, H. Y. Comparative evaluation of the vitro micronucleus test and the comet assay for the detection of genotoxic effects of X-ray radiation. *Mutat. Res.* 2000, **469**, 223-231.
11. Brewen, J. G., Preston, R. J. and Littlefield, L. G. Radiation-induced human chromosome aberration yields following an accidental whole-body exposure to ^{60}Co -rays. *Radiat. Res.* 1972, **49**, 647-656.
12. Stephan, G., Hadnagy, W., Hammermaier, C. and Imhof, U. Biologically and physically recorded doses after an accidental exposure to ^{60}Co -gamma rays. *Health. Phys.* 1983, **44**, 409-411.
13. Muller, W. U. and Streffer, C. Biological indicators for radiation damage. *Int. J. Radiat. Biol.* 1991, **59**, 863-873.
14. Singh, N. P., Stephens, R. E. and Schneider, E. L. Induction of DNA single-strand breaks in human lymphocytes by low doses of γ -ray. *Int. J. Radiat. Biol.* 1995, **66**, 563-569.
15. McKelvey-Martin, V. J., Green, M. H., Schmezer, P., Pool-Zobel, B. L., De Meo, M. P. and Collins, A. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. *Mutat. Res.* 1993, **288**, 47-633.
16. Brammer, I., Zoller, M. and Dikomey, E. Relationship between cellular radiosensitivity and DNA damage measured by comet assay in human normal, NBS and AT fibroblasts. *Int. J. Radiat. Biol.* 2001, **77**, 929-938.
17. Muller, W. U., Bauch, T., Stuben, G., Sack, H. and Streffer, C. Radiation sensitivity of lymphocytes from healthy individuals and cancer patients as measured by the comet assay. *Radiat. Environ. Biophys.* 2001, **40**, 83-89.
18. Chaubey, R. C., Bhilwade, H. N., Rajagopalan, R. and Bannur, S. V. Gamma ray induced DNA damage in human and mouse leucocytes measured by SCGE-

- Pro: a software developed for automated image analysis and data processing for Comet assay. *Mutat. Res.* 2001, **490**, 187-197.
19. **Kim, S. H., Han, D. U., Lim, J. T., Jo, S. K. and Kim, T. H.** Induction of micronuclei in human, goat, rabbit peripheral blood lymphocytes and mouse splenic lymphocytes irradiated in vitro with gamma radiation. *Mutat. Res.* 1997, **393**, 207-214.
 20. **Miller, K.** Sister-chromatid exchange in human B- and T-lymphocytes exposed to bleomycin, cyclophosphamide, and ethyl methanesulfonate. *Mutat. Res.* 1991, **247**, 175-182.
 21. **Wuttke, K., Streffer, C. and Muller, W. U.** Radiation induced micronuclei in subpopulations of human lymphocytes. *Mutat. Res.* 1993, **286**, 181-188.
 22. **Holz, O., Jorres, R., Kastner, A. and Magnussen, H.** Differences in basal and induced DNA single-strand breaks between human peripheral monocytes and lymphocytes. *Mutat. Res.* 1995, **332**, 55-62.
 23. **Knudsen, L. E., Ryder, L. P. and Wassermann, K.** Induction of DNA repair synthesis in human monocytes/B-lymphocytes compared with T-lymphocytes after exposure to N-acetoxy-N-acetylaminofluorene and dimethylsulfate *in vitro*. *Carcinogenesis*. 1992, **13**, 1285-1287.
 24. **Fenech, M. F., Dunaiski, V., Osborne, Y. and Morley, A. A.** The cytokinesis-block micronucleus assay as a biological dosimeter in spleen and peripheral blood lymphocytes of the mouse following acute whole-body irradiation. *Mutat. Res.* 1991, **263**, 119-126.