

培養Rat Kangaroo cell line(Ptk1 cell line)における核型変動について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8905

培養 Rat kangaroo cell line (Ptk₁ cell line) における核型変動について

富山医科薬科大学医学部解剖学第1講座

松 田 健 史
森 沢 佐 歳
武 田 公 男

(昭和56年3月13日受付)

Key words Ptk₁ cell line, Karyological changes, Chromosome

Rat kangaroo (*Potorous tridactylis*) はタスマニア島に生息する小動物で、その体細胞の染色体は図1に示すように雄では $2n = 13$ 、雌では $2n = 12$ である。Shaw ら¹⁾によって5対の常染色体は大きさの順に No. 1, 2, 3, 4, 5, と命名され、2本の Y 染色体も大きさから Y₁ と Y₂ と命名された。しかし Hayman ら²⁾や Moore³⁾のように Y₁ と Y₂ を逆に記載しているものもある。

Rat kangaroo の細胞においては、染色体数が少なく、個々の染色体そのものが大きく、また各染色体が特徴ある形態をしていて、染色体の同定が容易であることから Sharman ら⁴⁾、Walen ら⁵⁾によって早くから細胞遺伝学的研究に適していることが指摘されてきた。また Rat kangaroo の培養 cell line では自然発生的に染色体の数的異常や dicentric chromosome, ring chromosome 等の染色体の構造異常を伴うことが報告されてきた。⁶⁾⁻¹¹⁾

著者らは Rat kangaroo の培養 cell line では自然発生的に染色体の数的異常を伴うことに注目し、継代 24 代～31 代にわたる培養細胞から毎世代約 200 細胞を任意に抽出し、総計 1609 細胞の核型分析を行い、主として数的な変動について検討した。

材料および方法

Rat kangaroo cell line については雌の腎皮質より確立され、継代第 22 代目の線維芽細胞を米国

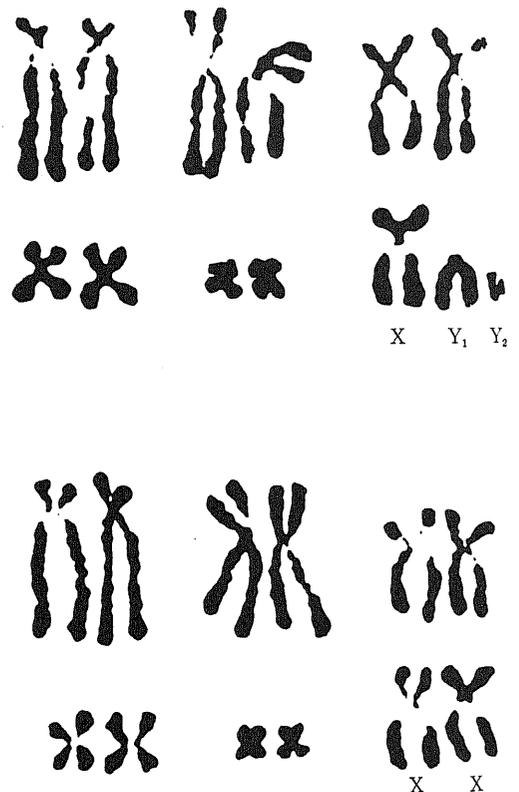


Fig. 1. Normal karyotype of the rat kangaroo cell

Karyological Changes in a Cell Line of the Rat Kangaroo (Ptk₁), Cultured *in Vitro*.
Takeshi Matsuda, Satoshi Morisawa & Kimio Takeda, Department of Anatomy (I),
School of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University.

Roswell Park Memorial Institute より分与されたものを使用した。この cell line の第 24 代から 31 代の 8 代にわたって細胞遺伝学的検索を行なった。細胞は RPMI 1640¹²⁾ と 15% fetal calf serum を加えた Medium で 37℃ 恒温器内で密封培養された。なお Medium 中には抗生物質等は一切加えなかった。細胞は培養 7 日目ごとに継代され、培養 6 日目に細胞遺伝学的検索を行なった。すなわち培養 6 日目にコルヒチン(最終濃度 0.2 μ /ml) に 4 時間暴露したのち、Hank's Balanced Salt Solution (HBSS)¹³⁾ で一度細胞を洗浄したのち、トリプシンで細胞を剥離し、0.075 Mol 塩化カリ溶液あるいは蒸留水と HBSS が 3:1 の割合の溶液で低張処理をおこない、3:1 methanol-glacial acetic acid で固定した。空気乾燥法で標本を作製し、染色体分析を行なった。なお染色体分析にあたっての細胞培養法や染色体分析技術の詳細は、教室でおこなわれているヒトの染色体の分析技術¹⁴⁾ によった。染色体分析は 8 代にわたって、各継代時の 200 個、総計 1609 個の細胞を任意に選んで行なった。

dicentric chromosome を含む核板については、

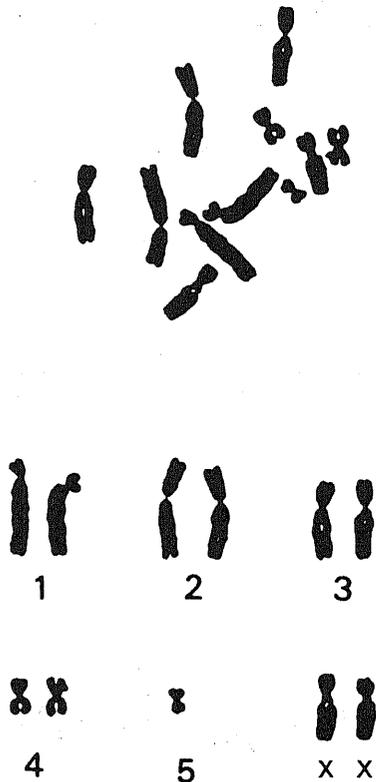


Fig. 2. Karyotype of the main stemline

Quinacrine mustard (以下 QM と省略する) による蛍光染色による Banding pattern で dicentric chromosome を構成している 2 本の染色体の同定を行なった。すなわち xylen で油浸液を洗い落したのち、methanol と glacial acetic acid 液を用いて脱色し、QM 染色を行なった。QM 染色は Brown ら¹¹⁾ の方法によった。染色した核板は蛍光顕微鏡で HBO 200 mercury burner, 470 barrier, BG3, BG12, BG38 exciter filter で鏡検し、写真撮影を行なった。なお染色体の算定には dicentric chromosome, ring chromosome, exchange chromosome はおのおの 2 本として計算した。

成 績

検索を行なった cell line は第 24 代から 31 代にわたって、細胞増殖速度はほぼ一定し、この期間中にはいわゆる "a period of growth retardation" (Todaro ら¹⁵⁾) あるいは "crisis" (Katz ら¹⁶⁾) は認められなかった。また染色体検索を行なった cell line は分与された当時から、すでに No. 5 の染色体が 1 本欠失した図 2 のような核型をもった細胞が main stemline となっていた。

A)

24 代から 31 代までの 8 代にわたる総計 1609 細胞において 21547 本の染色体を観察し、各染色体の同定を行なった。図 3 には 1 細胞当たりの総染色体数別の細胞の出現頻度を示したが、1 細胞当たりの総染色体数は 7 本から 29 本にわたっていた。

1) 表 1 には各継代時における 1 細胞当たりの染色体の平均本数を示した。いずれの継代時とも基本数の $2n = 11$ より多く、とくに 26 代目で最も多く 14.45 本であった。

2) 図 4 には 24 代から 31 代までの各継代時での 1

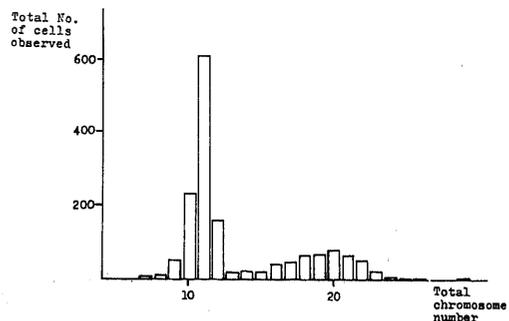


Fig. 3. Number of cells classified with total chromosome numbers

細胞あたりの総染色体数の出現頻度を示した。横軸は細胞あたりの総染色体数を縦軸は細胞の出現頻度を示している。継代24代においては1細胞当たり8本を有するものから24本を有する細胞が観察され、11本を有するものは200細胞中55%を占めている。

継代25代においては9本有するものから、26本有する細胞まで観察され、継代24代とほぼ同じく11本前後の染色体を有する細胞群について、20本前後の染色体を有する細胞群の出現頻度が高い。継代26代においては7本有するものから23本有する細胞と

Table 1. Average chromosome numbers at each passage

Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u^2
24	200	2550	12.75	14.6709
25	200	2554	12.77	15.0327
26	200	2890	14.45	22.0377
27	200	2650	13.25	14.7513
28	200	2535	12.68	14.4014
29	200	2675	13.38	15.9843
30	200	2734	13.67	17.5790
31	209	2959	14.16	19.3932
Total	1609	21547	13.39	17.0643

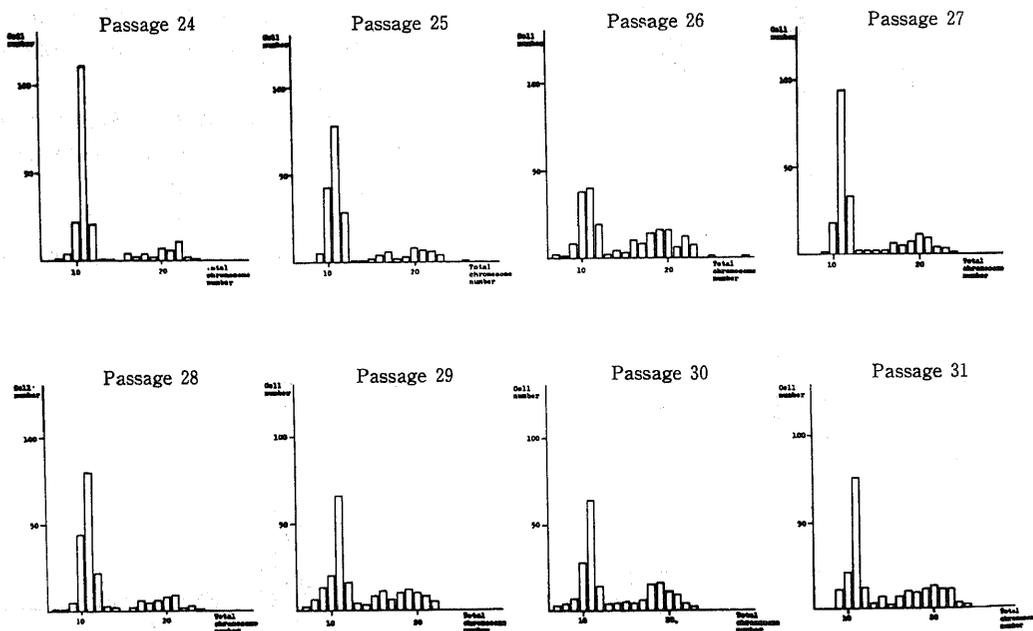


Fig. 4. Number of cells classified with total chromosome numbers at each passage

Table 2. Chromosome numbers per cell of each chromosome

chromosomes I					chromosome IV				
Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u ²	Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u ²
24	200	471	2.3550	0.6522	24	200	443	2.2150	0.8932
25	200	477	2.3850	0.9917	25	200	446	2.2300	1.0021
26	200	561	2.8050	1.4040	26	200	524	2.6200	1.6036
27	200	487	2.4350	0.7897	27	200	473	2.3650	0.9767
28	200	477	2.3850	0.9214	28	200	438	2.1900	0.9687
29	200	536	2.6800	1.3343	29	200	450	2.2500	0.9020
30	200	540	2.7000	1.2161	30	200	484	2.4200	0.9383
31	209	593	2.8373	1.3580	31	209	554	2.6507	1.2703
Total	1609	4142	2.5743	1.1165	Total	1609	3812	2.3692	1.0962
chromosomes II					chromosome V				
Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u ²	Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u ²
24	200	557	2.7850	1.2450	24	200	245	1.2250	0.2959
25	200	559	2.7950	1.5105	25	200	250	1.2500	0.4799
26	200	620	3.1000	1.7789	26	200	274	1.3700	0.6162
27	200	582	2.9100	1.7004	27	200	266	1.3300	0.4433
28	200	570	2.8500	1.3844	28	200	242	1.2100	0.3577
29	200	591	2.9550	1.1085	29	200	243	1.2150	0.4783
30	200	560	2.8000	1.5075	30	200	270	1.3500	0.4799
31	209	630	3.0144	1.1803	31	209	282	1.3493	0.5072
Total	1609	4669	2.9018	1.4717	Total	1609	2071	1.2871	0.4598
chromosomes III					chromosomes X				
Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u ²	Passage number	Total No. of cells observed	Total chromosome number	M	u ²
24	200	432	2.1600	1.5823	24	200	402	2.0100	0.9245
25	200	479	2.3950	1.1648	25	200	343	1.7170	0.8681
26	200	532	2.6600	1.4919	26	200	379	1.8950	1.0995
27	200	472	2.3600	1.4275	27	200	370	1.8500	0.7814
28	200	453	2.2650	1.1606	28	200	355	1.7750	0.7783
29	200	479	2.3950	1.1346	29	200	376	1.8800	0.8058
30	200	466	2.3300	0.9659	30	200	414	2.0700	0.8895
31	209	474	2.2679	1.2548	31	209	426	2.0383	0.7389
Total	1609	3787	2.3536	1.2859	Total	1609	3066	1.9055	0.8692

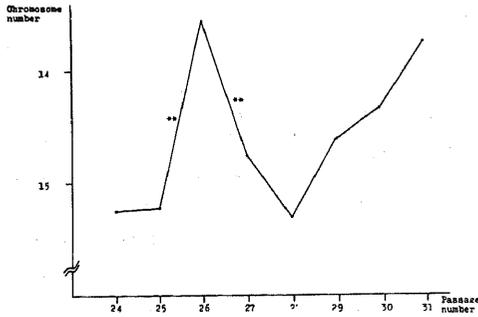


Fig. 5. Chromosome numbers per cell at each passage

頻度は低いが 25 本または 29 本の染色体を有する細胞もみられる。また継代 24 代や 25 代目の細胞群と比較して 11 本の染色体を有する細胞の出現頻度はやや低く、20 本前後の染色体を有する細胞の頻度がやや高い。このように 24 代から 31 代のいずれの継代時においても、各世代毎に総染色体数の変動が認められるが、おおむね基本染色体数 11 本を中心とする高い peak を示す細胞群と、20 本を中心とする低い peak を示す細胞群との 2 群に分類される。

3) 表 2 には各継代時における 1 細胞あたりの総染色体数の平均値を示した。

4) 図 5 には 24 代から 31 代にいたるまでの 1 細胞あたりの総染色体数の変動を示した。なお各継代時

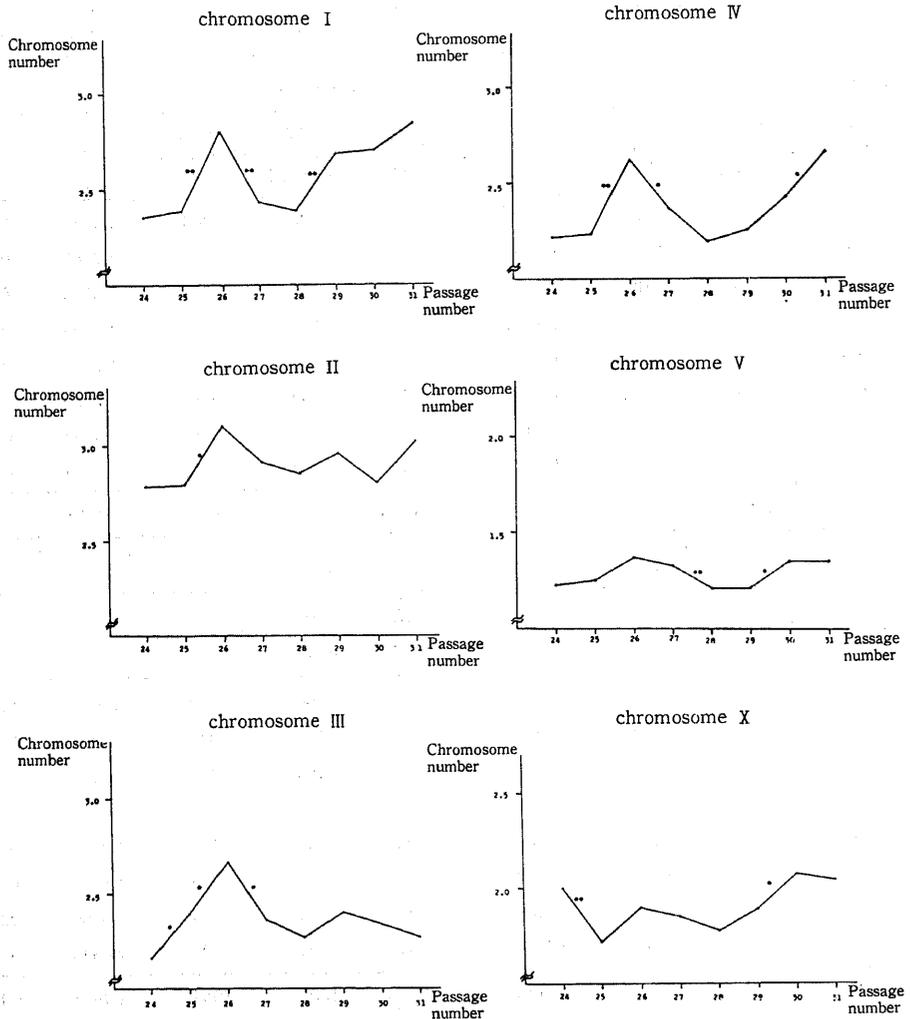


Fig. 6. Chromosome numbers per cell of each chromosome

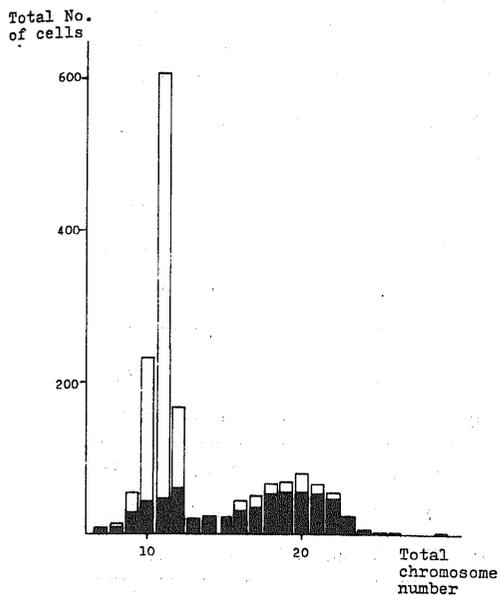


Fig. 7. Number of cells classified with total chromosome numbers. (Black portion shows the number of cells with karyotypes observed only once.)

間の平均値について有意差の検討を行ない、1%の水準で有意差があると認められるものには星印を2個、5%の水準で有意差があると認められるものには星印を1個を印した。1細胞当たりの総染色体数の平均値の変動を継代を追ってみると、25代時より26代時にかけて急増し、27代時には再び急減する。

5) 図6には各継代時における1細胞当たりの各染色体別の平均値の変動を示した。4)の場合と同様に有意差の検討を行ない星印を印した。No.1の染色体数の平均値の変動を継代を追ってみると、総染色体数の平均値の変動にみられるとほぼ同じく25代時より26代時にかけて急増し、27代時には再び急減している。また28代時より29代時にかけて急増している。No.2の染色体については、25代より26代にかけて急増している。No.3の染色体については、24代から25代、さらに26代にかけて急増し、27代にかけて急減している。No.4の染色体数の平均値については、25代から26代にかけての急増と、26代から27代にかけての急減の他に、30代から31代にかけての急増が認められる。No.5の染色体の平均値については、27代から28代にかけての急減と、29代から30代にかけての急増が認められる。X染色体の平均値については、24代時にはX染色体数の平均値は高いが、25代にかけて急減し、また29代から30

Karyotype (2n=11)

(222212)		(231212)(232211)		(223211)																									
219		53		46		28		21		12		11		9		8		6		5		4		3		2		1	
35.96%		8.7%		7.6%		4.6%		3.4%		3.9%		3.0%		3.0%		5.0%		5.9%		7.7%									
1 x 219 / 609		1 x 53		1 x 46		1 x 28						1.8%		1.3%		3.3%		2.0%											

Karyotype (2n=10)

(222211)		(221212)		(222112)		(231211)		2		2		2		1		1		9		17		43	
24		19		15		9		7		6		5		4		3				2		1	
10.3%		16.2%		6.4%		7.6%		6.0%		5.1%		2.1%		1.7%		11.5%		14.5%		18.4%			
1 x 24 / 234		2 x 19		1 x 15																			

Karyotype (2n=12)

1		1		1		2		1		4		5		13		60	
11		10		9		7		5		4		3		2		1	
6.6%		6.0%		5.4%		8.4%		3.0%		9.6%		9.0%		15.7%		36.1%	
1 x 11 / 166																	

Fig. 8. Distribution of the karyotypes through the present period of observation

Table 3. The frequency of the main karyotypes at each passage

Karyotype	Passage number										Total		
	I	II	III	IV	V	X	24	25	26	27		28	29
2 2 2 2 1 2 (11)	45	18	10	19	19	39	39	30	219 (13.61%)				
2 3 1 2 1 2 (11)	17	5	1	7	5	3	3	12	53 (3.29%)				
2 3 2 2 1 1 (11)	6	5	3	11	9	7	1	4	46 (2.86%)				
2 2 3 2 1 1 (11)	3	4	3	9	6	0	1	2	28 (1.74%)				
2 2 2 2 1 1 (10)	3	5	5	4	3	1	2	1	24 (1.49%)				
3 2 1 2 1 2 (11)	2	5	1	5	3	0	3	2	21 (1.31%)				
2 2 1 2 1 2 (10)	1	1	4	2	5	4	0	2	19 (1.18%)				
2 2 2 1 1 2 (10)	0	6	5	1	2	0	5	0	19 (1.18%)				
2 3 1 2 1 1 (10)	3	2	3	0	3	1	2	1	15 (0.93%)				
Main karyotype (9 types)	80	51	35	58	55	55	56	54	444 (27.59%)				
Submain karyotype (166 types)	74	83	62	78	88	57	64	55	561 (34.87%)				
Varied karyotype (604 types)	46	66	103	64	57	88	80	100	604 (37.54%)				
Total (779 types)	200	200	200	200	200	200	200	209	1609 (100.00%)				

代にかけて急増が認められる。以上のように各々の染色体別に1細胞当たりの平均本数の変動を24代から31代にかけてみると、各染色体によって異なる傾向もみられるが、おおむね総染色体数の平均値の変動とはほぼ同様に、26代と30代前後で高い平均値を示す傾向がみられる。

B)

次に1細胞当たりの染色体No.1からNo.5およびX染色体の組み合わせの出現頻度について検討を加えた。

1) 図7には1細胞当たりの総染色体別にみた異った核型群の出現頻度を示した。黒く塗った部分は個々に異なる核型の頻度である。個々に異なる核型は604種類、604細胞あり、細胞当たりの染色体を12本または20本前後有する細胞で多く見られる。

2) 図8は1細胞当たりの総染色体数の出現頻度が高い11本、10本、12本の染色体を有する細胞について分析したものである。

(222212)とあるのは1番染色体が2本、2番染色体が2本、3番染色体が2本、4番染色体が2本、5番染色体が1本、X染色体が2本の核型を示している。以下も同様の表記法を採用している。

3) 表3には全継代時における主要な核型の出現頻

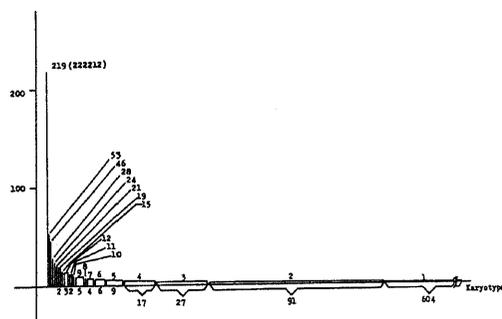


Fig. 9. The frequency of the karyotypes

度を示した。

4) 図9にはこれらの核型の出現頻度を示した。

考 察

ヒトの培養細胞は長期間にわたって正常な染色体核型を保持するが、他の多くの動・植物材料からの培養細胞は新しい別の核型をもった stemline を形成するものが多い。それゆえ Hayflick ら¹⁷⁾は長期培養細胞を、次のように2種類に区別する必要があると述べている。すなわち一つは限定された生存期間を有し、取

り出された元の組織と、染色体核型の上で変化の認められない cell strains と、他は無限の生存期間をもち、元の組織と異った染色体核型の上での特徴をもった cell lines を区別している。cell strains から cell lines への転換は常時起りうるが、転換には染色体核型の上での変化を伴っており、元の組織の正常染色体核型の特徴を解析するのに適当ではない。しかし cell lines は有糸分裂における染色体の行動の解析や、X線照射、突然変異誘発性化学物質、ウイルス感染に対する染色体核型にみられる変化を検索するのに適している。cell line は main の stemline の核型を中心にして、別の stemline の核型を形成するといった染色体核型上の変動を示すのが特徴である。すなわちある範囲内で、main の stemline の核型と異なる染色体数をもつ別の stemline を形成する。stemline は動力学的平衡のもとで増殖し、たえずある種の淘汰の影響のもとで変化する。それゆえ cell line を使用する研究に際しては、注意深くその cell line の染色体核型の上での特徴をみきわめなければならない。すなわち main の stemline の核型とこの核型からの変動の範囲を決定する必要がある。

Rat kangaroo cell line は先に述べたように、細胞遺伝学的研究に好適な条件を所持しているが、Rat kangaroo cell line を使用して、X線照射、突然変異誘発性化学物質、ウイルス感染等の染色体に対する影響の解析に先だって、この cell line の染色体核型の上での変化の特徴を明らかにする必要がある。

そこで今回著者らは第24代から31代の8代にわたって観察した Rat kangaroo cell line の染色体核型の上での変動を、主として数的変動を中心にして検討を加えた。

A)

表1には各継代時における1細胞あたりの染色体の平均本数を示したが、いずれの継代時とも基本数の $2n = 11$ より多く、とくに26代目で最も多く14.45本であった。著者の一人である武田¹⁰⁾は前回の検索で、この cell line について、モードは一貫して2倍体領域に認められるが、3倍体領域が次第に増加することを報告しているが、今回の検索の結果は、この事実にはほぼ合致するものと思われる。

図4には各継代時での1細胞当たりの総染色体数の出現頻度を示しているが、この24代から31代のいずれの継代時においても、各世代毎に総染色体数の変動が認められるが、おおむね基本染色体数11本を中心とする高い peak を示す細胞群と、20本を中心とする低い peak を示す細胞群との2群に分類される。著者ら

はこの cell line の染色体検索にあたって、しばしば chromatid end fusion (染色分体端部結合) を観察し、その形態学的意義として、橋形成から遅滞現象をおこすことにつながる一種の修復機構と考え報告しているが、今回の24代から31代にわたってみられる総染色体数の出現頻度の変動はこの現象の表われかもしれない。

図5には24代から31代にいたるまでの、1細胞当たりの総染色体数の変動を示したが、25代時より26代時にかけて急増し、27代時には再び急減している。

表2及び図6は各染色体別の各継代時における総染色体数の平均およびその変動を示しているが、各染色体によって異なる傾向もみられるが、おおむね総染色体数の平均値の変動とはほぼ同様に、26代と30代前後で高い平均値を示す傾向がみられる。

B)

次に1細胞当たりの染色体 No.1 から No.5 および X 染色体の組み合わせの出現頻度について考察する。

図8は1細胞当たりの総染色体数の出現頻度が高い11本、10本、12本の染色体を有する細胞の核型について分析したものである。1細胞当たりの総染色体数が基本の細胞の11本であっても分与当時の No.5 の染色体が1本欠失した、いわゆる(22212)の核型は全継代時で219細胞あり、1細胞当たり11本所有する細胞の35.96%にみられ、次いで(231212)の核型が53細胞8.7%(232211)の核型が46細胞7.6%、(223211)の核型が28細胞4.6%、(321212)の核型が21細胞3.4%を占め、以下個々に異なる核型は47種類、7.7%の細胞にみられる。また1細胞当たり10本所有する細胞の核型を分析すると、(222211)の核型が24細胞、10.3%、(221212)の核型と(222112)との2種類の核型がいずれも19細胞みられ、合わせて16.2%、次いで(231211)の核型は15細胞、6.4%にみられる。また染色体数が12本の核型では(222222)が11細胞あり1細胞に12本所有する細胞の6.6%を占める。

表3は全継代時における主要な核型の出現頻度を示したものであり、15細胞以上同じ核型を示す主な核型は9種類、444細胞にみられ、これらはいずれも10本または11本の総染色体を示す細胞においてみられる。また2細胞以上12細胞以下の同じ核型は166種類、561細胞であり、個々に異なる核型は604種類604細胞あり全体の37.5%を占める。言い換えると24代から31代にかけて任意に抽出した合計1609細胞の核型は779種類に分けられる。

図9はこれらの核型の出現頻度をみたものである。横軸の核型の種類から、個々バラエティに富んでいる

ことが推察される。

以上を総括すると、培養 Rat kangaroo cell line の核型は、ヒトの染色体の short culture にみられる Hypomodal cell または Hypermodal cell の出現にみられる単なる染色体数の増減と異なり、基本数 11 本においても同じ核型を示すものは全細胞の 13.6% であり、他は種々の異型を示し、二次元的様相を帯びている。11 本以外の総染色体数の細胞においても同様の様相を示している。多種多様な核型を示しながら継代されていると言えよう。

結 論

Rat kangaroo (*Potorous tridactylis*) の細胞においては、その染色体数が少ないこと(♂: $2n = 13$, ♀: $2n = 12$) や特徴的な形態などから、in vitro の染色体上の変化の解析には理想的である。

著者らは in vitro で 24 代から 31 代にわたって継代を続けた雌の Rat kangaroo cell line について、毎継代時ごとに 200 個、総計 1609 個の細胞について細胞遺伝学的検索を行ない、主として核型上の数的な変動を追求し、次に総括する結果を得た。

1. 各継代時における 1 細胞当たりの染色体の平均本数は、いずれの継代時とも基本数の 11 本より多く、とくに 26 代で最大で 14.45 本であった。
2. 各継代時での 1 細胞当たりの総染色体数の出現頻度では 11 本を中心とする高い peak と 20 本を中心とする低い peak が認められた。
3. 1 細胞あたりの総染色体本数の平均値の変動と、各染色体別の 1 細胞当たりの総染色体本数の平均値の変動は、ともに 26 代と 30 代前後高値を示した。
4. 24 代から 31 代にかけて任意に抽出した合計 1609 細胞は 779 種類の核型に分けられる。

以上培養 Rat kangaroo cell line の核型は単なる染色体数の増減と異なり、種々な異型を示し、二次元的様相を帯び、多種多様な核型を示しながら継代されている。

文 献

- 1) Shaw, M. W. and Krooth, R. S. : The chromosomes of the Tasmanian rat kangaroo (*Potorous tridactylis apicalis*). *Cytog.*, **3**, 9-33(1964).
- 2) Hayman, D. L. and Martin, P. G. : An autoradiographic study of DNA synthesis in the sex chromosomes of two Marsupials with an XX/XY₁Y₂. *Cytog.*, **4**, 209-218(1965).
- 3) Moore, R. : A biometric analysis of the chromosomes of the Marsupials-*Macropus major*, *Macropus rufus* and *Potorous tridactylis*. *Cytog.*, **4**, 145-156(1963).
- 4) Sharman, G. B. and Barber, H. N. : Multiple sex chromosomes in the Marsupial *Potorous*. *Heredity*, **6**, 345-355(1951).
- 5) Walen, K. H. and Brown, S. W. : Chromosomes in a Marsupial (*Potorous tridactylis*) tissue culture. *Nature*, **194**, 406(1962).
- 6) Levan, A., Nichols, W. W., Peluse, M. and Coriell, L. L. : The stemline chromosomes of three cell lines representing different vertebrate classes. *Chromosoma (Berl)*, **18**, 343-358(1966).
- 7) Levan, G. : Contributions to the chromosomal characterization of the Ptk 1 Rat kangaroo cell line. *Hereditas*, **64**, 85-96(1970).
- 8) Heyman-Zandstra, K. and van Steenis, H. : Chromosomal changes in three cell strains of the Tasmanian Rat-kangaroo, *Potorous tridactylis*, cultured in vitro (Marsupialia). *Genetica*, **43**, 31-38(1972).
- 9) van Steenis, H. : Chromosomal changes in eight cell strains of the Tasmanian Rat-kangaroo, *Potorous tridactylis* (Marsupialia), male and female heart fibroblasts cultured in vitro. *Genetica*, **44**, 110-124 (1973).
- 10) Brown, J. A. and Cohen, M. M. : The characterization of two established heteroploid lines (Indian muntjac and Rat kangaroo) with a low chromosome number. I. In vitro karyotype evolution and cell cycle dynamics. *Can. J. Genet. Cytol.*, **15**, 135-143(1973).
- 11) Brown, J. A. and Cohen, M. M. : The characterization of two established heteroploid lines (Indian muntjac and Rat kangaroo) with a low chromosome number. II. Chromosome identification by autoradiography and specific banding technique. *Can. J. Genet. Cytol.*, **15**, 145-154(1973).
- 12) Moore, G. E., Sandberg, A. A. and Ulrich, K. : Suspension cell culture and in vivo and in vitro chromosome constitution of mouse leukemia L1210. *J. Natl. Cancer Inst.*, **36**, 405-421(1966).
- 13) Hanks, J. H. and Wallace, R. E. : Relation of oxygen and temperature in the preservation of

tissues by refrigeration. Proc. Soc. Exp. Biol., 71, 196-200(1949).

14) 松田健史: ヒト染色体の分析検査技術. 臨床病理, 22, 203-207(1974).

15) **Todaro, G. and Green, H.**: Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. J. Cell Biol., 17, 299-313(1963).

16) **Katz, M. and Koprowski, H. and Moorhead, P.**: Transformation of cells cultured from human

brain tissue. Exp. Cell Res., 57, 149-153(1969).

17) **Hayflick, L. and Moorhead, P.**: The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp. Cell Res., 25, 585-621(1961).

18) 武田公男: 培養 Rat kangaroo cell line (Ptk₁ cell line) についての細胞遺伝学的研究. 十全医学会誌, 85, 472-490(1976).

19) 松田健史, 森沢佐歳, 武田公男: 培養 Rat kangaroo cell line (Ptk₁ cell line) にみられた染色分体端部接合について. 解剖誌, 52, 190(1979).

Karyological Changes in a Cell Line of the Rat Kangaroo (Ptk₁) Cultured *in vitro* Takeshi Matsuda, Satoshi Morisawa and Kimio Takeda, Department of Anatomy (I), School of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama, 930 — J. Juzen Med. Soc., **90**, 336–346 (1981)

Key words: Ptk₁ cell line, Karyological changes, Chromosome

Abstract

Cells of the Rat kangaroo (*Potorous tridactylis*) seem to be specially useful for the analysis of chromosomal changes *in vitro*, because they have a low number of chromosomes ($2n=12$ in the female and $2n=13$ in the male) and their unique morphology. The chromosomal changes that occurred during the *in vitro* cultivation of a female Rat kangaroo cell line were analyzed from 24th to 31th passage. In each passage, two hundred well-spread metaphase plates were randomly selected and examined for the chromosomal analysis. The results obtained were summarized as follows.

- 1) Although chromosomes in the stemline were originally eleven in number, chromosome numbers per cell were always more than eleven in each passage.
- 2) The cell populations classified by the chromosome numbers appeared bimodal, that is, the main peak was seen at 11 chromosomes and the satellite peak at 20 chromosomes.
- 3) Both the chromosome number per cell and total numbers of the individual chromosome were peaked at 26th and 30th passage.
- 4) During the cultivation, 1609 cells randomly selected were karyotypically classified into 779 groups. Through the entire period of observations the Rat kangaroo cell line exhibited not only simple numerical but also constitutional changes in their chromosomes.