

## 組織培養法による栄養学的研究

第2編 培養液中のアミノ酸量の細胞増殖に  
及ぼす影響

昭和38年4月16日 受付

信州大学医学部小児科学教室

(前主任: 山田尚達教授)  
(現主任: 吉田 久教授)

小 野 元 見

Nutritional Studies of Human Embryonic Fibroblasts  
and Human Amnion Cells in Tissue CulturePart 2. Effects of Lysine, Cystine, Tryptophan  
and Methionine Concentrations on the  
Growth of Cells

Motomi Ono

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine  
Shinshu University(Ex-Director: Prof. N. Yamada)  
(Director: Prof. H. Yoshida)

## I 緒 言

生体の発育と栄養との関係におけるアミノ酸の役割  
に関しては従来より臨床的観察、動物実験などにより  
数多くの研究が行われている。加うるに近年は組織培  
養法の進歩と共に *in vitro* に於ける研究も次第に活  
潑となつた。しかしながら著者の知る範囲に於て、こ  
れらはL細胞<sup>①-④</sup>、HeLa細胞<sup>⑤</sup>、鶏胚細胞<sup>⑥-⑩</sup>  
などに関するものであつた。対象とする細胞の種類、  
継代培養に伴う栄養要求乃至代謝系の差異を考え、第  
1編<sup>⑪</sup>に引続き今回はアミノ酸につき、組織培養法に  
より人体に由来する正常細胞を用い、しかも人体から  
とり出してより後未だ新鮮な細胞で細胞増殖に及ぼす  
影響を検討したので報告する。

## II 実験方法

## 1. 使用細胞

実験に用いた細胞は第1編<sup>⑫</sup>に於けると同様に新鮮  
な人胎児皮膚組織に由来する線維芽細胞及び正常分娩  
に由来する人羊膜上皮細胞である。これらの細胞を培  
養液のアミノ酸組成を変えて培養し、細胞の増殖に及  
ぼす影響を検した。使用したアミノ酸のうちリジン、  
シスチンはL型であり、トリプトファン、メチオニンはDL型である。

## 2. 培養法及び判定

1) 人胎児線維芽細胞: 人胎児線維芽細胞 (以下

HEFと略記)は廻転培養法により培養し、組織面積  
測定法により増殖を評価した。それぞれ細部は第1編  
と同一である。たゞし培養液の基本的組成は次の通り  
である。人血清10cc, Hanks液90cc, ペニシリン  
200u/cc, ストレプトマイシン100r/cc (以下すべて  
の培養液はペニシリン, ストレプトマイシンを本量宛  
含む)。

2) 人羊膜上皮細胞: 人羊膜上皮細胞 (以下HAC  
と略記)は静置培養法により培養し、細胞核数算定法  
により増殖を評価した。それぞれ細部は第1編と同一  
である。培養液の組成のうち母培養は第1編と同一で  
ある。たゞし各々の実験に於ては人血清20cc, Hanks  
液80ccを基本的組成とした。

成績の判定に当りては、何れの場合も日を追つて増  
殖曲線の推移をみると共に最終観察日即ち第6日にお  
ける増殖状況を参考とした。後者のうち比較成長価は  
約1以上、核数は約 $1 \times 10^4$ の差を以つて論じた。何  
れの場合も顕微鏡的観察を併用し評価の助けとした。

## III 実験成績

実験1: 培養液中にリジンを添加した際の細胞  
の増殖

## A. HEFについての実験

基本培養液にリジンを720, 240, 60, 0r/ccと漸  
減して添加しリジン量の異なる4種の培養液を調整して  
HEFの増殖を比較した。使用血清のリジン量を30.6

$r/cc$ ⑦とすればそれぞれの培養液のリジン量は、それぞれ723  $r/cc$ , 243  $r/cc$ , 63  $r/cc$ , 3  $r/cc$ となる。

実験成績は図1-A, 写真1~3に示す通りである。培養液に720  $r/cc$ を添加したものの比較成長価は甚だ悪かつた。これに比し240  $r/cc$ , 60  $r/cc$ , 0  $r/cc$ に添加したものは良好であつた。この3者中では60  $r/cc$ に添加したものが最も優れた。240  $r/cc$ 添加は0  $r/cc$ に比し大差がなかつた。顕微鏡的観察では720  $r/cc$ 添加のものでは細胞の破壊がみられた。240  $r/cc$ , 60  $r/cc$ , 0  $r/cc$ 添加のもの間では大差をみなかつた。なお添付写真は培養5日後のものである。HEFについては以下各写真とも特記しない限り同様である。

#### B. HACについての実験

Aの実験と同様にしてリジン量の異なる4種の培養液を調整してHACの増殖を比較した。各々の培養液中のリジン量はAと同様にして726  $r/cc$ , 246  $r/cc$ , 66  $r/cc$ , 6  $r/cc$ となる。

実験成績は図1-B, 写真4~6に示す通りである。培養液に720  $r/cc$ 添加したものは甚だ悪かつた。之に比し240  $r/cc$ , 60  $r/cc$ , 0  $r/cc$ に添加したものは良好であつた。この3者中では60  $r/cc$ に添加したものが最も優れた。240  $r/cc$ 添加は0  $r/cc$ に比し大差がなかつた。顕微鏡的観察では720  $r/cc$ 添加では細胞の破壊がみられた。240  $r/cc$ , 60  $r/cc$ , 0  $r/cc$ 添加のもの間では大差をみなかつた。なお添付写真は培養6日後のものである。HACについては以下各写真とも特記しない限り同様である。

#### 実験2: 培養液中にシスチンを添加した際の細胞の増殖

##### A. HEFについての実験

基本培養液にシスチンを200, 20, 2, 0  $r/cc$ と漸減して添加しシスチン量の異なる4種の培養液を調整してHEFの増殖を比較した。使用血清中のシスチン量を14  $r/cc$ ⑦とすれば各々の培養液中のシスチン量はそれぞれ201.4  $r/cc$ , 21.4  $r/cc$ , 3.4  $r/cc$ , 1.4  $r/cc$ となる。

実験成績は図2-A, 写真7~9に示す通りである。シスチンを20  $r/cc$ に添加したものは最も良好な比較成長価を示し、次いで2  $r/cc$ , 200  $r/cc$ , 0  $r/cc$ に添加したものとなつた。たゞし顕微鏡的観察では各培養液間に大差をみなかつた。

##### B. HACについての実験

Aの実験と同様にしてシスチン量の異なる4種の培養液を調整してHACの増殖を比較した。培養液中のシ

スチン量はAと同様にしてそれぞれ202.8  $r/cc$ , 22.8  $r/cc$ , 4.8  $r/cc$ , 2.8  $r/cc$ となる。

実験成績は図2-B, 写真10~12に示す通りである。シスチンを20  $r/cc$ に添加したものは最も良好な増殖を示し次いで2  $r/cc$ , 200  $r/cc$ に添加したものでこの間に大差なく0  $r/cc$ は劣つた。たゞし顕微鏡的観察では各培養液間に大差をみなかつた。

#### 実験3: 培養液中に2種のアミノ酸を添加した際の細胞の増殖

##### 1. リジンとトリプトファンへの添加

###### A. HEFについての実験

基本培養液にリジン60  $r/cc$ , トリプトファン20  $r/cc$ を何れか一方のみ添加した場合と、この両者を同時に添加した際につきHEFの増殖を比較した。使用血清中のトリプトファン量を11  $r/cc$ ⑦とすれば培養液中のトリプトファン量は1.1  $r/cc$ 及び21.1  $r/cc$ となり、リジンに就ては実験1-A中に述べた如くなる。

実験成績は図3-Aに示す通りである。2者併用の際とリジンのみ添加した際の比較成長価は大差なかつた。これらに比しトリプトファンのみ添加した際は劣つた。顕微鏡的観察ではこれらの間に大差はみられなかつた。

###### B. HACについての実験

Aの実験と同様な場合につきHACの増殖を比較した。使用血清中のトリプトファン量を11  $r/cc$ ⑦とすれば培養液中のトリプトファン量は2.2  $r/cc$ 及び22.2  $r/cc$ となり、リジンに就ては実験1-B中に述べた如くなる。

実験成績は図3-Bに示す通りである。2者併用の際とリジンのみ添加した際の成績は大差なかつた。これらに比しトリプトファンのみを添加した際の成績は劣つた。顕微鏡的観察ではこれらの間に大差はみられなかつた。

##### 2. シスチンとメチオニンの添加

###### A. HEFについての実験

基本培養液にシスチン20  $r/cc$ , メチオニン30  $r/cc$ を何れか一方のみ添加した際と、この両者を同時に添加した際につきHEFの増殖を比較した。使用血清中のメチオニン量を4.9  $r/cc$ ⑦とすれば培養液中のメチオニン量は0.49  $r/cc$ 及び30.49  $r/cc$ となり、シスチンに就ては実験2-A中に述べた如くなる。

実験成績は図4-Aに示す通りである。2者併用の際はシスチン又はメチオニンのみを添加した際に比し良好であつた。後2者間では大差はみられなかつた。顕微鏡的観察では各培養液間に大差はみられなかつた。

図 1. 培養液中のリジン濃度が細胞の増殖に及ぼす影響

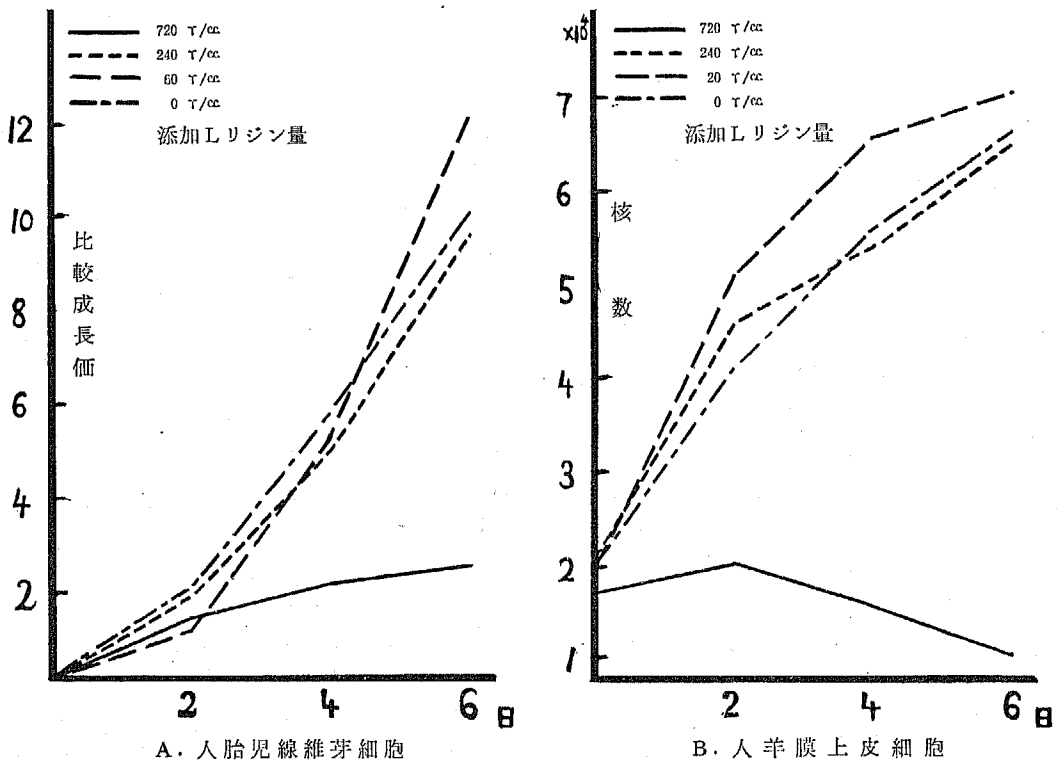


図 2. 培養液中のシスチン濃度が細胞の増殖に及ぼす影響

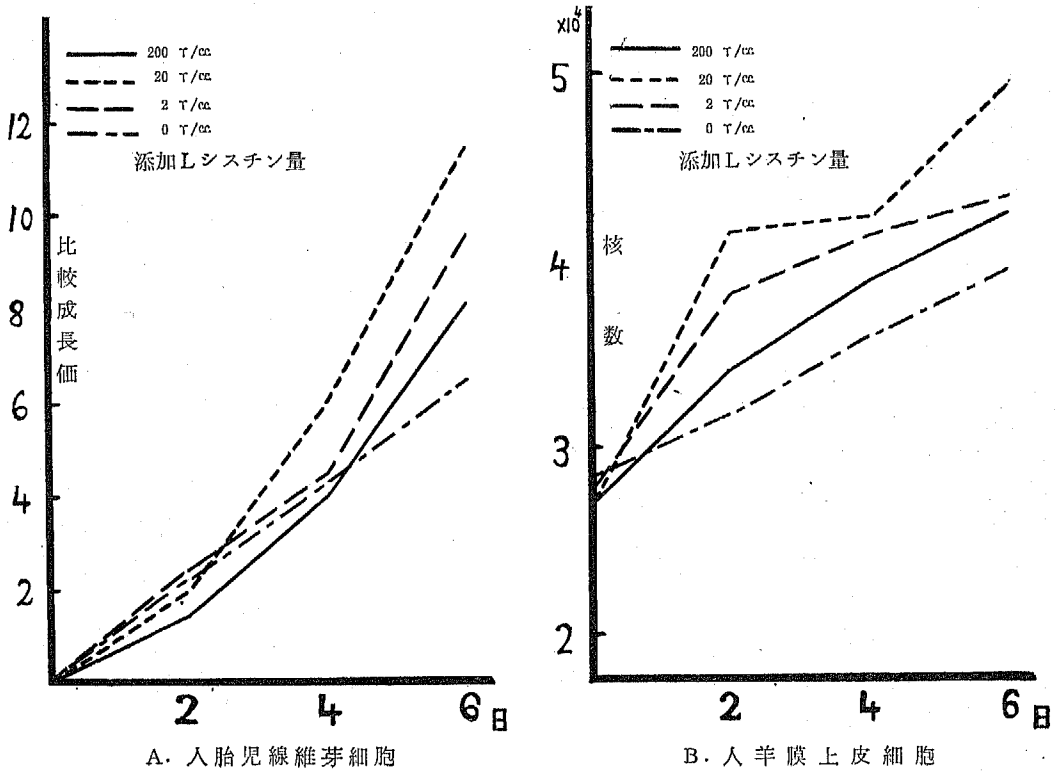


図 3. 培養液中のリジン・トリプトファン単独及び併用添加の比較

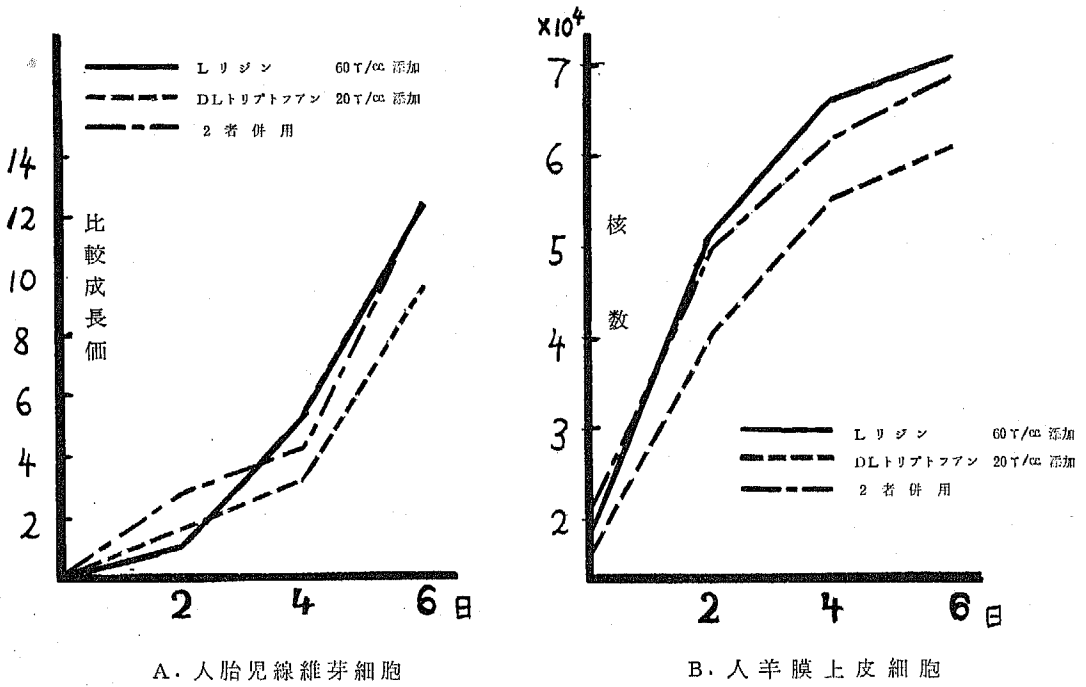
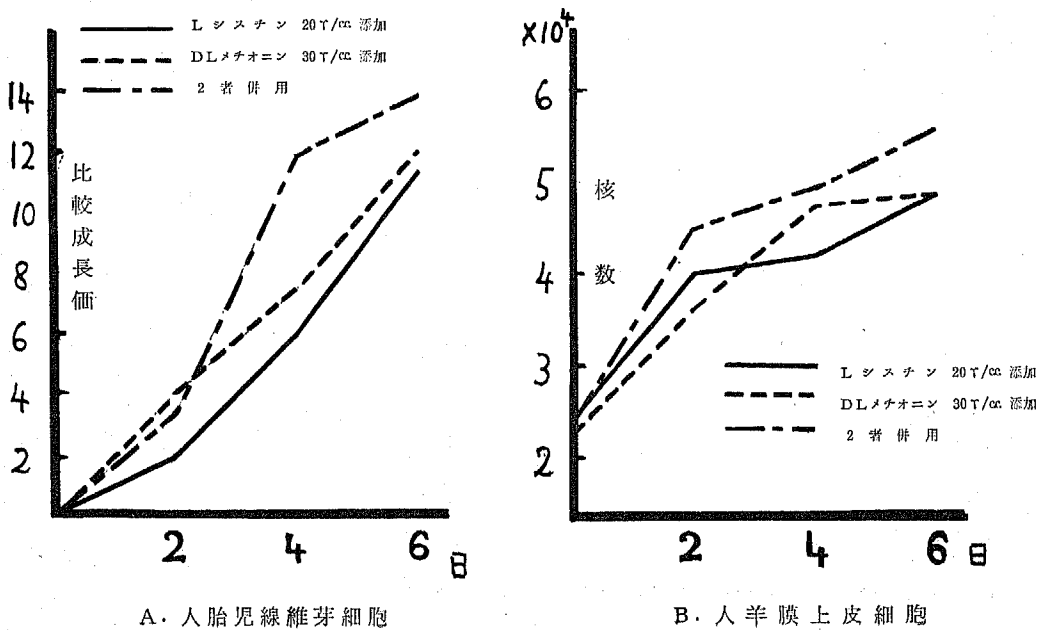


図 4. 培養液中のシスチン・メチオニン単独及び併用添加の比較



培養液中のリジン濃度による影響

人胎児線維芽細胞 (写真 1~3) 5日後

人羊膜上皮細胞 (写真 4~6) 6日後

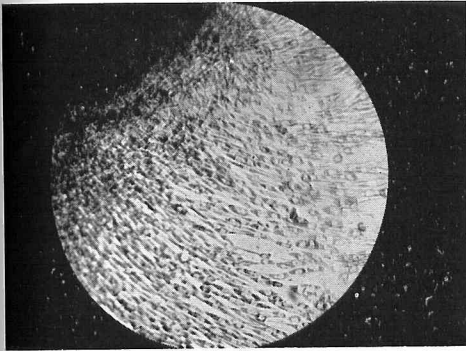


写真 1 リジン非添加

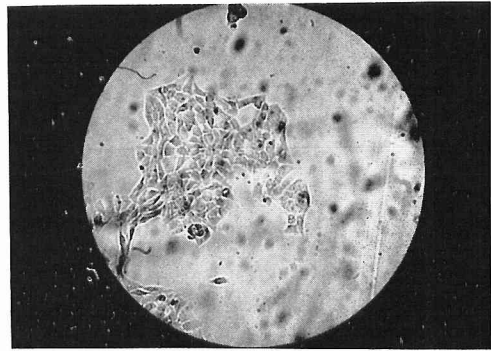


写真 4 リジン非添加

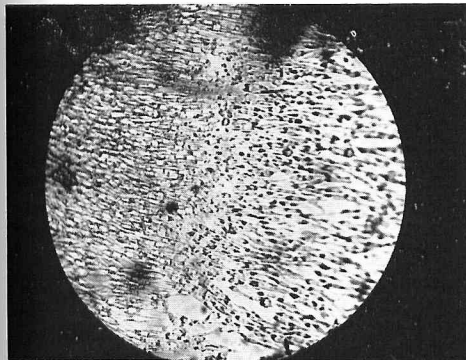


写真 2 リジン60r/cc添加

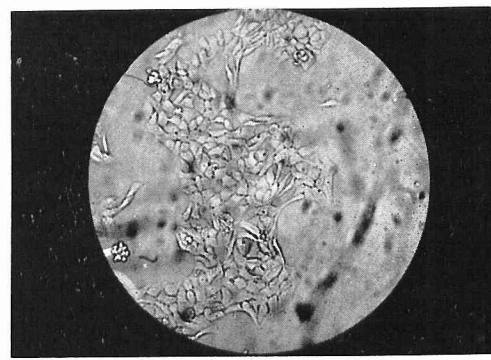


写真 5 リジン60r/cc添加

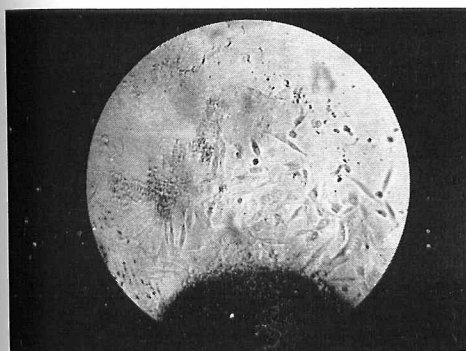


写真 3 リジン720r/cc添加

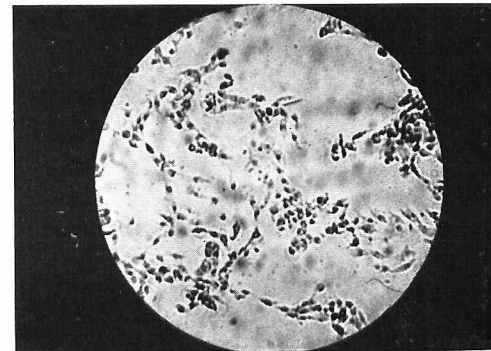


写真 6 リジン720r/cc添加

培養液中のシスチン濃度による影響

人胎児線維芽細胞 (写真 7~9) 5日後

人羊膜上皮細胞 (写真 10~12) 6日後

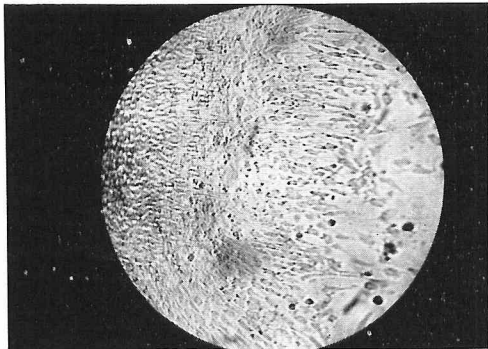


写真 7 シスチン非添加

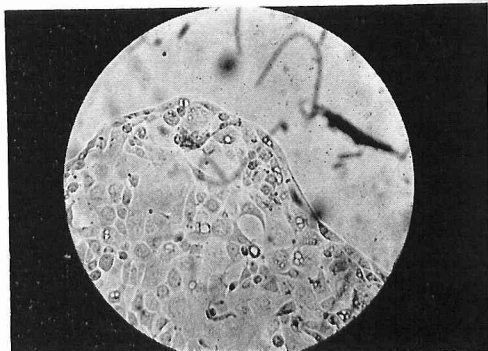


写真 10 シスチン非添加

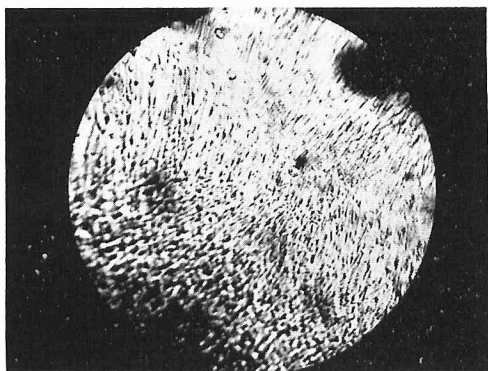


写真 8 シスチン 20 r/cc 添加

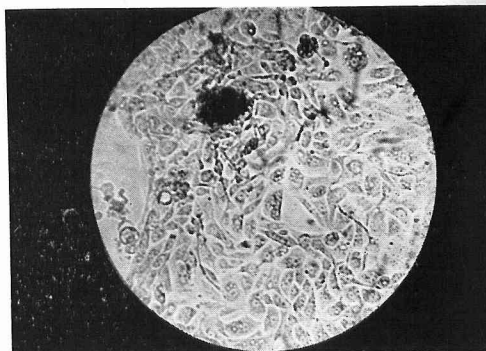


写真 11 シスチン 20 r/cc 添加

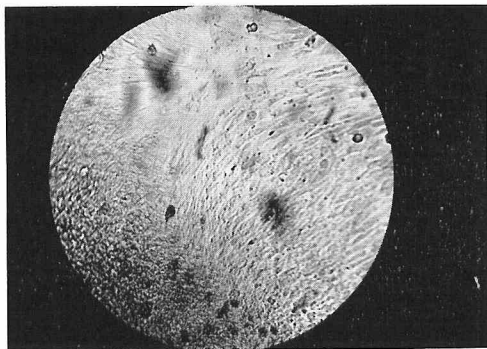


写真 9 シスチン 200 r/cc 添加

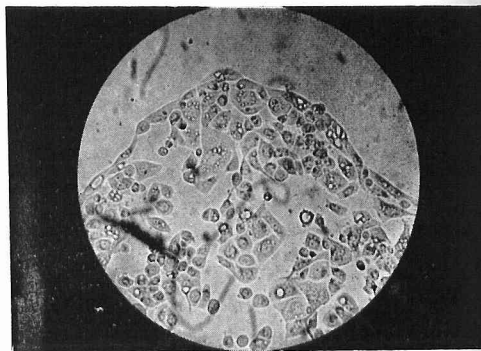


写真 12 シスチン 200 r/cc 添加

つた。

#### B. H A C についての実験

A の実験と同様な場合につき H A C の増殖を比較した。使用血清中のメチオニン量を  $4.9 \text{ r/cc}$  <sup>⑦</sup> とすれば培養液中のメチオニン量は  $0.98 \text{ r/cc}$  及び  $30.98 \text{ r/cc}$  となり、シスチンに就ては実験 2-B 中に述べた如くなる。

実験成績は図 4-B に示す通りである。2 者併用の際はシスチン又はメチオニンのみを添加した際に比し良好であつた。後 2 者の間には大差はみられなかつた。顕微鏡的観察では各培養液間に大差はみられなかつた。

#### IV 総括及び考按

組織培養法による *in vitro* における細胞のアミノ酸代謝については古くは Fisher <sup>⑧</sup> らの功績がある。その後 Eagle <sup>⑦⑩⑪</sup>, Waymouth <sup>①</sup>, Morgan <sup>⑩⑫</sup> <sup>⑬</sup>, Healy <sup>⑫</sup> らは HeLa 細胞, L 細胞, 鶏胚心細胞などを用いて組織培養法によりアミノ酸代謝に検討を加えた。本邦に於ては浜本 <sup>⑭</sup>, 勝田 <sup>⑮⑯⑰</sup>, 北村ら <sup>⑱</sup> の報告がみられる。しかしながら実験に用いた細胞が人体組織に由来する細胞であるか否か, 継代培養をした細胞であるか否かにより, 人体に於ける代謝状態と異なるであろう事は容易に想定される所である。これらの点を考慮して著者は本実験に於ては人胎児皮膚組織に由来する線維芽細胞, 及び正常分娩より得た人羊膜上皮細胞を用いた。前者では継代することなく又後者では 1 回の母培養を行つたのみで実験の用に供した。かくの如き点に注目してアミノ酸代謝を検索した成績は手許の文献には見出しえなかつた。実験に使用するアミノ酸としては多くのものが考えられるが, 本実験ではリジン, シスチンを主とした。リジンは人体の必須アミノ酸として, 生体の發育に不可欠と一般にされること <sup>⑲⑳㉑</sup>, 並びに臨床上食餌への添加が小児の發育と関連して特に論議されつつあること <sup>㉒-㉓</sup> より選んだ。シスチンは必須アミノ酸と一般にはされないこと <sup>⑲⑳㉑</sup>, 並びに含 S アミノ酸であることより選んだ。上記の基礎実験につけ加え相乗効果の有無などを見度いと考え, 既往における著者と相似の実験 <sup>⑭⑮</sup> 及び臨床知見 <sup>㉔㉕㉖㉗</sup> に基いてトリプトファンをリジンに添加した場合及びメチオニンをシスチンに添加した場合に就ても検討した。これらのアミノ酸のうち入手可能なりしものに就ては L 型 (リジン, シスチン) により, その不可能なりしものに就ては D L 型 (メチオニン, トリプトファン) によつた。各アミノ酸の添加量に就ては種々考えられるが, 著者が本実験を行つた

目的には人体由来の新鮮な細胞における成績を先人が他の細胞に就て行つた諸成績と対比することも含まれたので, 以下に述べる先人の諸成績を参照して各アミノ酸毎にそれぞれ適当と考えた量を選定した。既知の物質のみによる合成増地を用いて実験を行うことも考えられる <sup>③-④⑫⑬</sup> が, 既に報じた第 1 編と条件を近似させるため非動化血清を添加した。非動化血清を 10% (H E F) 及び 20% (H A C) に用いた理由は既報の成績 <sup>⑭</sup>, 当教室今泉 <sup>⑮</sup> の成績に於てこの程度の添加により良好な成績を得たためである。以下本実験の結果について培養した細胞の原組織による相違・継代の有無による相違・又同一の原組織であつても, 動物の種類による相違などを考慮して先人諸氏の報告と比較し検討を加えたい。

単独添加の 2 実験中まづリジンにつき先人の報告をみると次の如くであつた。例えば Eagle <sup>⑦⑩</sup> は HeLa 細胞につき  $14.6 \text{ r/cc}$  で, 又 L 細胞につき  $7.3 \text{ r/cc}$  で良好な成績を述べ, 何れの場合もその量を増加した場合は反つて不良であつたという。即ち前者では  $438 \text{ r/cc}$ , 後者では  $730 \text{ r/cc}$  以上では抑制的に働いたという。Swim <sup>⑯</sup>, 浜本 <sup>⑭</sup> も組織培養実験上リジン過剰投与の不利な点を述べている。シスチンについてみると次の如くであつた。例えば Morgan <sup>⑩</sup> は鶏胚心細胞につき  $10 \text{ r/cc}$  で, Eagle は HeLa 細胞 <sup>⑦</sup> につき  $7.4 \text{ r/cc}$  で, L 細胞 <sup>⑫</sup> につき  $2.3 \text{ r/cc}$  で, 浜本 <sup>⑭</sup> は H 細胞につき  $20 \text{ r/cc}$  で良好な成績を述べ, Morgan <sup>⑩</sup> は  $100 \text{ r/cc}$  では  $107 \text{ r/cc}$  よりも生存日数の減少をみたという。なお上述した諸家が使用したリジン又はシスチンは記載を欠く 1 部をのぞき L 型が主であり, 1 部は D L 型であつた。又, 実験に使用せる培養液の基本的組成はそれぞれ異なる所があつた。著者の実験成績中リジンに就ては検討した各添加量のうち  $60 \text{ r/cc}$  添加, 即ち H E F では培養液中濃度が約  $63 \text{ r/cc}$ , H A C では同じく  $66 \text{ r/cc}$  の際他に比し良好な成績を得た。この際その約 10 倍量に相当する  $720 \text{ r/cc}$  添加では, 何れの細胞の場合も増殖の障害を示し 1 部の細胞は明かな破壊を示した。又シスチンに就ては  $20 \text{ r/cc}$  添加, 即ち H E F では培養液中濃度が約  $21 \text{ r/cc}$ , H A C では同じく約  $23 \text{ r/cc}$  の際他に比し良好な成績をえた。この際その 10 倍量に相当する  $200 \text{ r/cc}$  添加では何れの細胞の場合も増殖は低下の傾向を示したが, 上述せるリジンの場合とは異りその程度は著しくなく  $0 \text{ r/cc}$  添加の場合に比べれば反つて良好であつた。即ち著者の成績において H E F 並びに H A C 増殖に及ぼす兩種アミノ酸単独添加の影響は兩種のアミノ酸に於て異なること並びに何れの細胞の場合もそれぞれのアミノ酸に対する

傾向はほぼ同様なことが注目された。

次に2種のアミノ酸を添加した際の成績について述べる。先づリジンとトリプトファンに関してみるとMorganは鶏胚心筋細胞でリジン3.5:トリプトファン1の比として<sup>④</sup>, WaymouthはL細胞について上述の比を4:1とし<sup>①</sup>, Healyは同じくL細胞で上述の比を7:1として<sup>②</sup>それぞれ培養液の基本的組成にとり入れている。又、シスチンとメチオニンに関しMorgan<sup>④</sup>は鶏胚心筋細胞の生存には何れか一方単独添加より両者の共存する場合に極めて良く、特にメチオニン30mg/ℓにシスチン10又は100mg/ℓの組合せが良かったという。H細胞によりほぼ同様な傾向の成績も報告されている<sup>⑥</sup>。なおこれらのアミノ酸は上述の場合と等しく1部はDL型により大部分はL型により行はれ培養液の基本的組成は種々であった。

著者の実験成績中リジン、トリプトファンに関しては各60r/cc, 20r/cc単独添加及び両者併用の3群中トリプトファン単独群は他の2者に比し劣り、リジン単独、併用群はほぼ匹敵した。又シスチン、メチオニンに関しては各20r/cc, 30r/cc単独添加及び両者併用の3群中併用群は他の2者に比し優れ、両単独添加群はほぼ匹敵した。以上の成績はHEF, HAC2種の細胞に共通してみられた。即ち著者の成績においてHEF並びにHAC増殖に及ぼすこれら2種アミノ酸添加の影響を単独と併用に大別すると、何れの細胞に於ても後者が常に著しく優れるとは限らない結果となつた。

以上著者は必須アミノ酸としてリジンを、又非必須アミノ酸としてシスチンを選び組織培養法を応用してHEF並びにHACの増殖に及ぼす影響を観察した。併せてこれらにトリプトファン、メチオニンをさらに添加せる場合に就ても検索した。これらの結果を既に述べた先人の報告せる種々の固定細胞あるいは実験動物由来の細胞に関する類似の成績と対比すると、本法による際細胞の増殖に及ぼす影響は添加するアミノ酸の質と量、その組合せにより異なること並びにこれらの関係は実験に用いる細胞の種類(細胞の由来する原組織の種類、動物の種類、継代の有無など)によつて異ると考えられた。

又近来はリジン、トリプトファンなどを中心として各種アミノ酸の食餌中への添加の小児の発育促進に及ぼす影響につき、特に過剰投与に対する警告乃至懐疑が行はれ<sup>③⑧</sup>、あるいはこの際の添加アミノ酸の比率に就き、臨床的見地より論議されつつある<sup>⑨⑩⑪</sup>。著者が今回えた上記の成績は対象とした細胞が人体に由来し、かつ比較的新鮮なもので、その代謝の状態は

可及的人体に近いと思はれるものである。従つて上述の成績は、これらの臨床的知見に関連しても特に意義を有すると考える。

## V 結 語

廻転培養法による人胎児線維芽細胞の増殖を組織面積測定法により評価し、又静置培養法による人羊膜上皮細胞の増殖を細胞核数算定法により評価して、日を追つて増殖曲線を描き、培養液中のアミノ酸が細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。アミノ酸としてはリジン、Lシスチン、DLトリプトファン、DLメチオニンをを用い、それぞれ異なる量を基本培養液に添加した。

1. リジンに就てみると細胞の増殖は60r/cc添加せる場合に良く、240r/cc添加は非添加の場合と大差を認めなかつた。之に反し720r/cc添加せる場合の増殖は甚だ不良であつた。

2. シスチンに就てみると細胞の増殖は20r/cc添加せる場合に良く、次いで2r/cc, 200r/cc, 非添加の順となつた。

3. 上述のうち良好な増殖を示した条件において2種のアミノ酸添加による影響を検索した。即ちリジン60r/ccにトリプトファン20r/ccを添加せる場合及びシスチン20r/ccにメチオニン30r/ccを添加せる場合に就てみたところ、前者においては併用による影響は明らかでなく、後者においては増殖は良好となつた。

4. 上述の成績は人胎児線維芽細胞及び人羊膜上皮細胞の両細胞において、ほぼ共通して認められた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲をいただいた恩師吉田久教授に深謝すると共に本研究の端緒を与えられた山田尚達前教授に深謝します。又人胎児及び人羊膜入手に御協力頂いた本学産婦人科学教室各位及び松本市丸ノ内病院福沢博士に深謝します。

本論文の要旨は第11回東日本小児科学会(昭和35年10月)並びに第7回中部日本小児科学会(昭和37年10月)に於て発表した。

## 文 献

- ①Waymouth C. et al: J. Nat. Cancer Inst. 17: 315, 1956 ②Healy G. M. et al: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89: 71, 1955 ③Katsuta, H. et al: Japan J. Exp. Med. 30: 95, 1960 ④Katsuta, H. et al: Japan J. Exp. Med. 30: 235 1960 ⑤Katsuta, H. et al: Japan J. Exp. Med. 31:125, 1961 ⑥Evans V. J. et al: Cancer Res. 17:



77, 1956 ⑦Eagle H.: J. Exp. Med. 102: 37, 1955 ⑥Fisher A.: Biochem. J. 43: 491, 1948 ⑤Denchar E. M.: Nature 191: 1006, 1961 ④Lawson K. A. et al: Exp. Cell Reserch 23: 84, 1961 ③Morgan J. F. et al: J. Nat. Cancer Inst. 16: 995, 1955 ②青木元見: 日児誌. 63: 2547, 昭34 ①Eagle H.: Science 130: 432, 1959 ⑩Morgan J. F. et al: J. Biol. Chem. 215: 539, 1955 ⑨Morgan J. F. et al: J. Nat. Cancer Inst. 16: 557, 1955 ⑧浜本英次・他: 小児科診療. 22: 550, 昭34 ⑦北村普吾・他: 日児誌. 63: 445, 昭34 ⑥市原 碩: 蛋白質及びアミノ酸の生化学. 共立出版, 東京, 昭27 ⑤Fruton J. S.: Biochemistry. John Wiley & Sons INC. N. Y. 1960 ④Walker B. S. et al: Biochemistry and Human Metabolism. The Williams and Williams Comp. Baltimor, 1957 ③Albanese A. A. et al: Am. J. Clin. Nutr. 3: 121, 1955 ②Albanese A. A. et al: Am. J. Clin. Nutr. 4: 161, 1956 ①山本嘉三郎: 綜合臨床. 7: 2190, 昭33 ⑩福井忠孝・他: 栄養と食糧. 9: 15, 昭32 ⑨武田啓志: 日児誌. 63: 3113, 昭34 ⑧山下泰正・他: 小児科診療. 23: 1107, 昭35 ⑦柳金太郎・他: 栄養と食糧. 10: 115, 昭32 ⑥Gomez F. et al: J. Pediat. 51: 261, 1957 ⑤諸橋健雄・他: 小児科診療. 25: 1132, 昭37 ④浜本芳雄・他: 小児科臨床. 13: 745, 昭35 ③宮尾益英・他: 小児科臨床. 13: 667, 昭35 ②Evans V. J. et al:

Cancer Res. 17: 87, 1956 ①Thomas A. M. et al: Cancer Res. 16: 979, 1956 ④Eagle H.: J. Biol. Chem. 214: 839, 1955 ⑤Swim H. E.: Pediatrics 17: 965, 1956 ⑥遠城寺宗徳・他: 小児科臨床. 11: 484, 昭33 ⑦Hutchinson J. B. et al: Nature 178: 46, 1956 ⑧Goldstein L. S.: Arch. Pediat. 70: 285, 1953 ⑨今泉雪恵: 信州医学雑誌. 8: 614, 昭34

### ABSTRACT

Nutritional studies of human embryonic fibroblasts and human amnion cells, respectively by means of areal growth and nucleous enumeration were made.

The results obtained were as follows:

1. Lysine: The highest growth was demonstrated in the concentration of 60 $\gamma$ /cc of L-Lysine added in the basal medium, whereas the growth unfavoarably in 720 $\gamma$ /cc.

2. Cystine: The highest growth was demonstrated in the concentration of 20 $\gamma$ /cc of L-Cystine added in the medium.

3. Effects both of the addition of Tryptophan (DL) to Lysine and of Methionine (DL) to Cystine were also studied.

4. Human embryonic fibroblasts and human amnion cells seemed to behave the similar way by these nutritional studies.