

## SM耐性鳥型結核菌より抽出せる核酸の遺伝学のおよび生化学的研究

## 第Ⅱ報 X線照射によるDNA活性の変化について

佐々木 富子

東京慈恵会医科大学医化学(指導 牧野堅教授)

国立国府台病院

受付 昭和32年5月9日

R.M. Drew<sup>1)</sup>は肺炎双球菌R型菌からS型菌に型変換をさせうる活性を有するDNAにX線照射を行つて、その活性を減弱させた。また生理的食塩水溶液中のDNAはX線照射により活性消失が見られるが、チスチン溶液中ではX線の作用が阻止されることを報告している。

Limperos & Mosher<sup>2)</sup>はチオ尿素あるいはアスコルビン酸溶液中ではDNAにX線照射してもDNAの活性の低下が見られなかつた。

そこで著者はSM耐性鳥型結核菌より抽出した核酸にX線照射を施し、その活性の減弱ないし消失状況を検討し併せて前記3物質と還元作用を有する2~3種の物質の溶液中におけるDNAに対するX線照射効果の有無を検したのでここに報告する。

## 実験方法

使用菌株は鳥型結核菌調株を用い、休止菌を第I報<sup>3)</sup>の場合と同様に作成した。

休止菌を Glasshomogenizer にて均等化し、等調磷酸緩衝液(pH 7.4)で Mac Faland No. 1 の比濁度に稀釈した菌浮遊液を作る。

実験I(抽出核酸の活性に及ぼすX線照射の影響)

100 $\gamma$ /ccの割合にDNAに生理的食塩水溶液を作成する。X線照射法。

① DNA 100 $\gamma$ を生理的食塩水1ccに溶解し、菌液1ccを加える。

② DNA 100 $\gamma$ を生理的食塩水1ccに溶解した後8万レントゲン単位照射後菌液1ccを加える。

③ DNA 100 $\gamma$ を生理的食塩水1ccに溶解した後16万レントゲン単位照射後菌液1ccを加える。

④ 生理的食塩水1ccに菌液1ccを加える。以上4種の菌液に上記操作を加えた後、37°C、20時間感作後、DNAを等調磷酸緩衝液で洗滌除去し、SM含有 Sauton 培地に前報<sup>3)</sup>と同様約4000個の菌を接種した。37°C、7日後の菌の生え方の差異を表1に示す。

表1 X線照射によるDNA活性の変化

SM含有量	① 非照射DNA感作菌	② 8万X線照射	③ 16万X線照射	④ 非照射感性菌
0.125 $\gamma$ /cc	■ ■ ■ ■ ■	■ - - - -	■ - - - -	- - - - -
0.250 $\gamma$ /cc	■ ■ ■ ■ ■	■ - - - -	■ - - - -	- - - - -

■ 試験管全面に広がり壁に生え上つたもの、■ 全面に生えたもの、+ 1部分に生えたもの、± かすかに生えたもの

その結果抽出核酸の活性は感性菌をSM0.25 $\gamma$ /ccまで耐性を上昇させることが可能であるが、この活性はX線照射により顕著に抑制されるのは表の如くであつて、8万レントゲン単位照射群よりも16万レントゲン照射群の方が抑制が強い。

実験II(各種溶液中におけるDNAに対する16万レントゲン単位照射の影響)

R.M. Drew<sup>1)</sup>の方法にしたがつて、チオ硫酸ソーダ、チスチン、チオ尿素、アスコルビン酸、グルタチオン、過酸化水素のそれぞれ0.043molの無菌溶液を作り、そのおのおのDNAを100 $\gamma$ /ccの割合に添加し、一方生理的食塩水にDNAを100 $\gamma$ /ccの割合に添加し、それぞれに16万レントゲン単位照射した後、等調磷酸緩衝液(pH 7.4)

でDNAを洗滌除去し、前述のように菌液1ccずつを加え、対照としてX線照射をしないDNA感作菌群と、休止菌群を作つた。これら菌群をSM耐性培地に培養したところ表2に示す結果を得た。

今回抽出せるDNAにより感性菌はSM 0.25 $\gamma$ /ccまで耐性が上昇し試験管5本全部菌が増殖し、対照の休止菌群は全く菌の増殖が見られなかつた。すなわちこのDNA活性は生理的食塩水溶液中では、16万レントゲン単位照射で全く消失するが、グルタチオン、チオ硫酸ソーダ、チオ尿素、チスチン溶液中ではDNA活性も相当よく保たれて、X線照射効果を阻止する作用は前記溶液の順序に強弱の差があつた。アスコルビン酸、過酸化水素には阻止作用が認められなかつた。

表2 各種溶液中におけるDNAに対する16万レントゲン単位照射の影響

	6 日				12 日			
	SM 0.125 $\gamma$ /cc		SM 0.25 $\gamma$ /cc		SM 0.125 $\gamma$ /cc		SM 0.25 $\gamma$ /cc	
生理的食塩水DNA感作菌	-	-	-	-	-	-	-	-
グルタチオン	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-
チオ硫酸ソーダ	≡	≡	≡	-	≡	≡	≡	≡
チオ尿素	≡	+	-	-	-	-	-	-
チステイン	+	-	-	-	-	-	-	-
アスコルビンサン	-	-	-	-	-	-	-	-
過酸化水素	-	-	-	-	-	-	-	-
対照生理的食塩水	非照射DNA感作菌	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡
	非照射感性菌	-	-	-	-	-	-	-

表3 各種溶液中におけるDNAに対する8万レントゲン単位照射の影響

	36 時 間				140 時 間			
	SM 0.062		SM 0.125		SM 0.062		SM 0.125	
生理的食塩水DNA感作菌	-	-	-	-	-	-	-	-
グルタチオン	≡	≡	≡	≡	+	+	+	+
チオ硫酸ソーダ	+	+	+	+	-	-	-	-
チオ尿素	+	+	+	+	±	±	±	±
チステイン	+	-	-	-	-	-	-	-
アスコルビンサン	-	-	-	-	-	-	-	-
過酸化水素	-	-	-	-	-	-	-	-
対照生理的食塩水	非照射DNA感作菌	-	-	-	-	-	-	-
	非照射感性菌	-	-	-	-	-	-	-

実験III

さらに菌の増殖が見え易いために、レントゲン単位を半減し、SM濃度を半減した実験を繰返し表3に示す結果を得た。

すなわち8万レントゲン単位照射、SM 0.062 $\gamma$ /cc含有培地でもX線効果の阻止作用は、同じで、グルタチオン、チオ硫酸ソーダ、チオ尿素、チステインの順であり、アスコルビン酸と過酸化水素には16万レントゲン単位照射した場合と同様全く阻止作用は認められなかった。

考 察

実験Iによつて、X-Rayは8万レントゲン単位で抽出核酸を不活性化し、そのSM耐性化する能力を失わせることが判つた。現在の放射線生物学の成果によると放射線の作用は基本的には2つの作用があるという。1つ

は広い意味で細胞に対し刺戟または障害をして作用するような分子、例えばH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、HO<sub>2</sub>の如き分子が新たに作られること、他の1つは酵素、遺伝子(核酸)の如き重要な分子が破壊されることである。

私が行つた抽出核酸の不活性化がこのいずれの作用によるか、すなわちX-Rayによつて核酸を不活性化するような物質(例えばH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)が生じたためであるか、あるいは抽出核酸そのものをX-Rayが破壊したためであるかを検討するため、実験IIを行つた。実験の部分に述べた如く、X-Rayによる抽出核酸の不活性化はグルタチオン、チオ硫酸ソーダ、チオ尿素、チステインによつて抑制され、不活性化をまぬかれることを示した。しかもその抑制作用は上述の順に弱くなつていのが見られる。またアスコルビン酸、過酸化水素には全くこの抑制作用はみられない。

したがってこの抑制作用は還元作用によるらしいこと、しかも-SH基を持つていることに関係があることが分る。さらにこの場合の X-Ray による抽出核酸の不活性化は、X-Rayが直接DNA核酸の破壊によるためではなく、X-Rayによつて生じた酸化作用を持つ物質によることが分る。換言すればこの酸化作用が上述の諸物質の酸化に利用されてDNA核酸の酸化はまぬかれるらしいことが推察される。

実際 X-Ray は  $H_2O$  を分解して  $OH$ ,  $O_2H$ ,  $H_2O_2$  等とする作用があり、これがかなりの酸化力を持つことが Weiss<sup>4)</sup>によつて明らかにせられ、またこの酸化作用は、被酸化物質にかなり依存し、-SH基をもつたものが酸化

されやすいと報告されている(Barron et al.)<sup>5)</sup>ことから考えて、上の実験事実と全く符合するようと思われる。

#### 文 献

- 1) R.M. Drew : Radiation Research, 3 : 2, 1955.
- 2) G. Limperos & W.A. Mosher : Am. J. Roentgenol. Radium. Therapy Nuclear Med., 63 : 681, 1950.
- 3) 佐々木富子 : 結核, 32 : 505, 1957.
- 4) Weiss, B.J. : Radiat. Radiol., 52 : 6, 1949.
- 5) Barron & Flood. : J. G. Physiol., 33 : 229, 1950.