

X-線에 의한 突然變異 頻度에 미치는 Colchicine의 영향

姜 永 善·姜 炫 三

(서울大·文理大·動物學科)

The Modification of X-Ray induced Mutation in Paramecium by Pre- and Post-irradiation Treatment with Colchicine.

KANG, Yung Sun and Hyun Sam KANG

(Dept. of Zoology, Seoul National University)

(1965. 7. 27. 接授)

SUMMARY

We have carried out a study on the modification of the frequency of X-ray induced lethal and slow growing mutations by colchicine treatment before and after X-ray irradiation in *Paramecium aurelia*.

1. Lethal and slow-growing mutation induced by X-ray in *Paramecium aurelia* were reduced by colchicine treatment.

2. The effects of colchicine on the X-ray induced mutations were remarkable in the radiosensitive stages of cell division.

3. The pre-irradiation treatment with colchicine showed no significant influence on the frequency of mutations.

4. It is believed that the reduction of mutation induced by X-ray after treatment with colchicine was due to the fact that the delay of the cell division allowed more time for the pre-mutational damage to recover.

緒 論

근래에 와서 放射線照射에 의한 突然變異의 誘發機作과 照射 後 여러 가지 物質을 處理하므로써 突然變異頻度の 變化機作에 관하여 많은 研究가 이루어지고 있다 (Clauuds, 1962; Douney, 1961; Witkin, 1961; Wolff, 1961; Kimball, 1957; 1961; 1962; 1963). 현재까지 研究된 것을 보면 放射線照射 後에 RNA 나 蛋白質의 合成을 抑制하는 chloramphenicol, 6-azauracil, dinitrophenol, 등의 物質을 處理하거나 아미노酸이 부족한 培地에서 培養할때는 突然變異의 量이 대단히 감소하나 한편 아미노酸이 많거나 RNA 나 蛋白質의 合成이 유리한 條件을 만들어 주면 突然變異의 量이 현저히 증가한다는 것이다 (Doudney, 1961; 1959b; Witkin, 1961). 그리고 Kimball(1957) 등에 의하면 成長이나 分裂을 느리게 하는 抗生物質 (Streptomycin, Penicilline 등)이나 饑餓 또는 低溫處理를 하면 X-線照射에 의한 致死와 生長障害의 突然變異의

頻도가 감소되며 이와 같은 突然變異頻度の 감소는 放射線照射 後 第1分裂의 초기에서 일어난다고 하였다. 그리고 突然變異의 頻도가 감소되는 機作은, 放射線照射에 의하여 變化된 突然變異 前物質의 障害가 成長 또는 分裂을 억제시키는 物質을 處理하므로써 회복할 수 있는 시간적 여유를 많이 얻기 때문이라고 하였다. 著者들은 X-線照射 後에 colchicine의 處理가 X-線에 의하여 誘發된 致死와 生長障害의 突然變異의 頻도에 미치는 영향을 觀察하여 보고져 本 實驗을 시도하였다. 本 實驗에서 照射前에 colchicine을 處理한 경우는 中期가 오래 유지되어 여기에 X-線을 照射하였을 때의 突然變異頻도에 대한 영향을 보는데 목적이 있고, 照射後 colchicine을 處理한 것은 細胞分裂의 過程을 어느 정도 지연시켜서 前突然變異의 有害物質이 突然變異로 固定되기 전에 회복될 수 있는 시간적 여유를 많이 주었을 때에 突然變異의 頻도에 대한 영향을 觀察하기 위해서이다.

材料 및 方法

本實驗에서는 서울市内에서 採集한 *Paramecium aurelia* seoul strain을 純粹分離하여 27°C의 incubator에서 培養한 材料를 사용하였다. 여기에 사용된 培地는 상추잎즙 (lettuce infusion)에 aerobacter aerogenes를 2~3 ml/l로 接種하여 일었다. 상추잎즙은 재증류수 500 ml에 0.7 g의 상추잎 분말을 넣고 15분간 끓인후 filter하여 만든 것이다. X-線照射는 General Electric Maximar 250 III型으로 230 KVP에서 照射率 368 r/min을 필터 없이 12分 12秒 동안 총 4,500 r를 照射하였다. 材料는 分裂이 가장 왕성한 時期에 있는 眞신벌레集團에서 특히 分裂중에 있는 個體를 뽑아 사용했으며 分裂후 적당한 時間에 照射, 處理하였다. colchicine 處理의 濃度는 0.1mg/ml로 하고 處理 직전 상추잎즙에 colchicine을 넣어 섞은 뒤 眞신벌레를 넣어서 적당한 시간 處理하였다. 다음 材料를 1個體씩 10 cc의 眞신한 培地로 옮겨 3日間 增殖시킨 후 個體數를 對照區와 비교해서 최대로 分裂한 것을 정상 眞신벌레集團으로 하고 그 百分率을 구하여 突然變異의 頻度를 일었다.

結果 및 考察

眞신벌레에 있어 X-線照射에 의하여 誘發된 致死와 生長障害의 突然變異 頻度에 대한 colchicine의 影響을 보고서 眞신벌레를 細胞分裂의 時期에 따라서 分裂後 70分, 200分 그리고 360分에 각각 X-線을 照射하였다.

Table 1은 X-線 照射후 colchicine을 處理하였을 때 致死와 生長障害의 突然變異 頻度에 미치는 影響을 나타낸 것이다. 實驗 1과 2는 colchicine을 3時間,

Table 1. Experiments on the effect of the postirradiated colchicine treatment on the frequency of mutation.

	Time after division when		Number of treated animals	Frequency of normal clones (%)
	irradiated (Minutes)	treated (Minutes)		
1	70		150	20.0
	70	90	150	39.7
	70	200	145	22.3
2	200		150	52.4
	200	230	175	54.1
	200	320	170	53.7
3	360		170	37.4
	360	390	175	46.1
	360	480	171	46.5

實驗 3은 3時間 30分을 處理하였다. 實驗 1은 分裂후 70分에 X-線을 照射한후 20分, 130分후에 각각 colchicine을 處理받은 實驗區이다. 여기서 對照區와 實驗區의 結果를 비교해 보면 X-線 照射후 20分에 colchicine

을 處理한 實驗區에서는 對照區에 비해 19.7% 정도 致死와 生長障害의 突然變異 頻度가 감소되어 colchicine의 影響이 현저하다고 하겠으나 130分에 處理한 實驗區에서는 2.3% 밖에 감소되지 않아서 colchicine의 影響이 별로 나타나지 않았다고 보겠다. 이와 같이 照射후 20分에 colchicine을 處理한 實驗에서 突然變異의 頻度가 현저히 감소한 것은 일찌기 Kimball et al. (1957)의 突然變異에 대한 streptomycin의 影響에 관한 研究에서 설명한 것과 같이 突然變異를 일으키기 전의 有害物質이 突然變異를 固定시키기 전에 colchicine의 影響으로 다시 회복할 수 있는 시간적 여유를 많이 가지기 때문이라고 생각된다. 그러나 200分에 colchicine을 處理한 實驗에서는 突然變異를 일으키는 前物質의 대부분이 colchicine을 處理하기 전에 이미 突然變異를 固定시켰기 때문에 그 뒤의 colchicine의 影響으로는 突然變異의 頻度가 별로 감소되지 않는 것으로 생각된다. 그리고 實驗 1의 分裂후 70分은 대개 眞신벌레의 G₁時期(前 DNA 合成時期)에 해당되며, Kimball (1962)의 研究에 의하면 이 時期는 放射線에 대하여 감수성이 대단히 커서 致死 또는 生長障害의 突然變異 頻度を 대단히 增加시킨다고 報告한 바 있는데 本 實驗 1의 結果에서도 어느 다른 實驗區에서 보다 많은 突然變異를 일으킴을 보겠다.

實驗 2는 分裂후 200分에 X-線을 照射한 후 30分, 120分에 colchicine을 處理한 實驗區이다. 200分에 X-線만 照射한 對照區와 實驗區의 結果를 보면 實驗區에서 colchicine에 의한 突然變異 頻度가 약간 감소하나 有意한 度와 差異는 볼 수 없다. 그러나 實驗 1의 突然變異의 頻도 비교하여 보면 전체적으로 實驗 2에서 그 頻도가 현저하게 감소되어 있다. 그런데도 分裂후 200分 후는 대개 G₂時期(後 DNA 合成期)에 상당하기에 (Kimball, 1962) 이 時期에 突然變異의 頻도가 크게 감소되는 것은 미리 예기하였다. Kimball (1962)의 研究에 의하면 G₁時期와 G₂時期에 있어 放射線照射에 의한 突然變異의 頻도를 볼 때 G₂時期에서 그 頻도가 훨씬 작다고 하였는데 이 점은 本 實驗結果와 비슷하다. 그리고 實驗 2에서 colchicine이 突然變異의 頻도에 대하여 별로 影響을 주지 못한 이유는 원래 放射線에 의하여 誘發된 突然變異의 頻도가 實驗 1에 비하여 대단히 적을 뿐만 아니라 이때 誘發된 突然變異 前物質의 障害가 colchicine 處理와 관계없이 突然變異로 固定되었기 때문이 아닌가 생각한다.

實驗 3은 分裂후 360分 즉 細胞分裂時期에 있어 이른

休止期에 X-線을 照射하고 그후 30分, 120分에 각각 colchicine을 處理한 實驗區이다. 對照區와 實驗區의 結果를 비교하면 照射후 30分에 colchicine을 處理한 實驗區나 120分에 處理한 實驗區에서 突然變異의 頻도가 8%정도 감소되었다. 또한 實驗 3의 對照區의 突然變異 頻도가 實驗 2의 그것에 비해서 증가됨을 볼 수 있는데 이는 細胞分裂의 이른 休止期가 放射線에 대하여 G₂時期 보다 민감하여 보다 많은 突然變異의 頻도를 나타내는 것으로 생각된다. Table 1을 보면 放射線에 대한 感受性이 큰 時期인 實驗 1과 3에서는 colchicine의 處理에 의하여 致死와 生長障害의 突然變異 頻도가 감소하며 放射線에 대하여 抵抗性을 가지는 時期를 포괄한 實驗 2에서는 突然變異의 頻도가 별로 감소하지 않는 것으로 보아 colchicine의 致死와 生長障害의 突然變異에 대한 영향이 放射線에 대한 感受性이 큰 時期에서 크게 作用한다고 말할 수 있다.

그리고 Table 2는 放射線 照射 전에 處理한 colchicine의 突然變異의 頻도에 미치는 영향에 관한 實驗結果를 나타낸 것이다. 즉 細胞分裂時期의 中期에 X-線을 照射

Table 2. Experiments on the effect of the preirradiation colchicine treatment on the frequency of mutation.

Time after division when treated (Minutes)	Time after division when irradiated (Minutes)	Number of treated animals	Frequency of Normal clones
	250	200	48.5
70	250	200	50.7
200	360	195	38.3

한 후 colchicine을 處理하였을 때 突然變異의 頻도에 대한 영향을 본 實驗區이다. Table 2에서 實驗 1은 分裂率 250分에 X-線만 照射한 對照區와 分裂率 70分에 colchicine을 2時間동안 處理한 후 X-線을 照射한 實驗區의 結果를 비교해 보면 對照區의 정상인 clone의 頻도가 48.5%에 비하여 實驗區는 50.7%인 것으로 보아서 colchicine을 處理한 實驗區에서 突然變異의 頻도가 약간 감소한다. 그런데 分裂 후 250分은 대개 細胞分裂時期에 있어 中期에 해당되며 中期전에 colchicine을 處理한 후 X-線을 照射하였기 때문에 對照區보다 많은 突然變異의 頻도를 예기하였으나 오히려 突然變異의 頻도가 多少라도 減少된 것을 보면 中期를 유지함으로써 突然變異의 頻도를 더 이상 감소시키지 못하는 것이 아닌가 생각된다. 그러나 Table 2의 對照區의 結果를 비교하면 Table 2의 對照區의 突然變異의 頻도가 현저히 증가된 것으로 보아 中期에 보다 많은 突然變異가 X-線 照射에 의하여 誘發된다고 볼 수 있다. Kimball(1963)

의 研究에서도 이와 같은 경향을 찾아 볼 수 있다. 그리고 Rothe and Grenan (1961)은 쥐를 材料로 colchicine 誘導物質을 적당한 濃度로 放射線 照射 전에 處理하였을 때 쥐의 骨髓細胞의 生存率을 증가시켜 준다고 報告한 바 있다. Table 2의 實驗에서 照射전 colchicine의 處理의 영향은 Table 1의 照射후 colchicine 處理가 突然變異의 頻도에 미치는 영향과는 달리 어떤 다른 化學的作用에 의하여 약간의 保護現象을 나타내지 않는가 생각되나 이점에 대해서는 좀더 補充研究가 필요하다.

摘 要

질선벌레에 있어 放射線 照射 後 colchicine의 處理에 의한 致死 및 生長障害의 突然變異頻度の 變化를 觀察하여 그 結果를 보고한다.

1. X-線 照射에 의한 突然變異가 照射후 colchicine의 處理에 의하여 대단히 감소되었다.
2. 細胞分裂時期에 있어 放射線에 대한 感受性이 큰 時期에서 colchicine의 영향이 현저하였다.
3. 放射線 照射전 colchicine의 處理는 突然變異의 頻도를 크게 감소시키지 못하였다.
4. 照射后 colchicine의 處理에 의한 突然變異頻度の 감소는 細胞分裂의 過程을 지연시킴으로써 突然變異 前物質의 障害가 回復될 수 있는 시간적 여유를 많이 얻기 때문이라고 생각된다.

文 獻

Burdette, W.J., 1951. Influence of penicillin on frequency of induced mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 47: 2, 1813—1816.
 Clauds, A., 1962. Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. II Formation of an enzyme-substrate complex. *J. Gen. Physiol.* 45, 725—732.
 Dondney, C.O., 1961. Nucleic acid formation and ultraviolet light induced mutation in bacteria: Some considerations in light of recent advances. *J. Cell and comp. Physiol.* 58 suppl., 145—150.
 Killander, D.C., Ribbing, N.R. Ringertz and B.M. Richarde, 1962. The effect of X-radiation on nuclear synthesis of protein and DNA. *Exptl. Cell Research* 27, 63—69.
 Kimball, R.F., 1961. Further studies on the refractory period for mutation induction in *paramecium aurelia*. *Genetics* 46, 875.
 _____, 1961. Postirradiation processes in the

- induction of recessive lethal by ionizing radiation, *J. Cell and Comp. Physiol.* 58 suppl., 168—169.
- Kimball, R.F., 1963. X-ray dose rate and dose fractionation studies on mutation in *Paramecium*. *Genetics* 48:4, 581—595.
- Kimball, R.F., N. Gaither and S.W. Perdue, 1957. Postirradiation modification of mutagenesis in *Paramecium* by streptomycin. *Genetics* 42, 661—669.
- Kimball, R.F., N. Gaither and S.M. Wilson, 1959. Recovery of stationary phase *Paramecia* from radiation effects leading to mutation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 45, 833—839.
- Kimball, R.F. and S.W. Perdue, 1962. Studies on the refractory period for the induction of recessive lethal mutation by X-ray in *Paramecium*. *Genetics* 47:11, 1595—1607.
- Rothe W.E. and M.M. Grenan, 1962. Studies on colchicine, colchicine derivatives, and endotoxin in irradiated animals. *Radiation Research* 17:4, 594—606.
- Witkin, E.M., 1961. Modification of mutagenesis initiated by ultraviolet light through posttreatment of bacteria with basic dyes. *J. Cell and Comp. Physiol.* 58 suppl., 135—144.
- Witkin, E.N. and C.T. Elizabeth, 1960. The effect of posttreatment with chloramphenicol on various ultraviolet-induced mutation in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. U.S.* 46:2, 226—231.
- Wolff, S., 1961. Some postirradiation phenomena that affect the induction of chromosome aberrations. *J. Cell and Comp. Physiol.* 58 suppl., 151—162.