

微生物의 細胞生理에 미치는 電離放射線의 影響에  
關한 研究 (第 2 報)

酵母菌의 酸素呼吸能 및 脫水素酵素能에 對한  $\gamma$ -ray 의 影響

金 鍾 協

(原子力研究所 生物學研究室)

Studies on the Cellular Metabolism in Microorganisms as  
Influenced by Gamma-irradiation. (II)

On the Respiration Rate and Dehydrogenase Activity  
in Yeast Cells Irradiated by  $\gamma$ -ray.

Kim, Jong Hyup

(Div. of Biology, Atomic Energy Research Institute, Korea)

Abstract

Kim, Jong Hyup, (Div. of Biology, Atomic Energy Research Institute.) Studies on the Cellular Metabolism in Microorganisms as influenced by Gamma-irradiation( II ). On respiration rate and dehydrogenase activity of yeast cells irradiated by gamma ray from cobalt-60.

1. Oxygen uptake rate of the gamma irradiated yeast cells had been measured with Warburg's manometer, and the  $O_2$ -uptake was compared with those of normal cells. The rate of endogenous respiration increases in its  $O_2$ -uptake at 150,000 rentgen dose, and at higher rentgen doses it was decreased. Exogenous respiration begin to decrease in its  $O_2$ -uptake at 5,000 r. doses of irradiation, further decrease with increasing of doses unproportionally.

2. It appears that plasma-membrane and nuclear membrane of yeast cells have changed and denatured by gamma-irradiation, as exogenous respiration of glucose had been decreased at a dose of 200,000 r's irradiation.

3. The activity of glucose, alcoholic, lactic, succinic and glutamic dehydrogenase (G.D.H., A.D.H., L.D.H., S.D.H., and GL.D.H.) in the gamma irradiated cells had been assayed by T.T.C.(Triphenyl tetrazolium chloride) method and spectrophotometry, the obtained results were compared with those of normal cells.

4. At a dose of and 10,000 rentgens' irradiation of gamma ray, the activity of each dehydrogenase (G.D.H., A.D.H., L.D.H.,) shows a sharp and highest peak in optical absorbancy, but each activity of S.D.H and GL.D.H shows its' maximum peak at a dose of 30,000 r.

5. The curve of each dehydrogenase activity was found to be rhythmical according to dose-rate of gamma irradiation.

6. Comparing with activity of dehydrogenase each other, the maximum peak in optical absorbancy can be arranged according to order as follows; glucose > alcoholic > lactic > glutamic > succinic, this order is identical to the order of breakdown utility in respiration of normal yeast cells,

7. The activity of dehydrogenase experimented exhibit a resistance against gamma irradiation at lethal dose of cells, and the activity of dehydrogenase are found to be much resistant than those of respiratory system.

We may assume that the membrane substrate of mitochondria or cytoplasm had been destroyed by gamma-irradiation much more than that of dehydrogenase system.

## 緒 論

放射線の 微生物細胞에 對한 影響은 細胞內에서 가장 重要한 役割을 하는 核酸·酵素等에 미치는 放射線의 作用을 究明하고, 이 作用效果와 生活細胞의 代謝生理와의 關聯性 即 生物學의 意義를 解明하는 順序로 研究되어야 할 것이다.

放射線の 微生物에 對한 致死作用은 最近 食品 및 醫藥品の 殺菌과 保存에 있어서 産業的 價値를 發揮하고 있으며, 生物學과 産業面에서 主要對象이 되고 있는 것이다. (Albaum, 1966<sup>(1)</sup>, Caputo 1960<sup>(6)</sup> Kim, 1966. <sup>(15)</sup><sup>(16)</sup>, Matsuyama, 1959, <sup>(20)</sup><sup>(21)</sup>)

그러나 現今까지 알리어져 있는 知識은 너무나 貧弱하며 不正確하고 또 斷片的이다.

例컨대 Phosphoglycer-aldehyde dehydrogenase의 酵素標品은 500 rentgen의 x-ray 照射에서도 完全히 失活하고 만다. 그러나 酵母細胞의 醱酵은 無慮 100,000 r.의 照射에서도 變치 않는 것이다. 또한 困難한 點은 研究者에 따라서 實驗條件과 實驗材料가 다르기 때문에 生體細胞에 對한 放射線의 效果가 千差萬差로 報告되어 있는 것이다. (Matsuyama, 1959. <sup>(20)</sup><sup>(21)</sup>)

따라서 放射線의 生物學의 效果를 論할때에 적어도 細胞生理的 水準에서 問題를 다루어야 할 것이며, 器官이나 組織의 影響因子를 排除할 수 있는 微生物細胞가 好材料인은 再論을 要치 않는다.

放射線의 生物學의 效果를 論할때에는 細胞가 存在하는 環境條件에 따라서 放射線의 影響은 달라진다는 點을 留意하여야 할 것이다.

本研究에 있어서는 이와같은 研究上의 limiting factor를 勘案하고, 또 細胞의 生理的 pattern에서 放射線이 如何히 生物學의 效果를 發揮하느냐 하는 點을 究明하기 위하여, 酵母細胞의 呼吸機能과 呼吸과 關聯된 諸脫水素酵素系의 機能에 미치는 放射線( $\gamma$ -ray)의 影響을 呼吸代謝面에서 追究 하였다. 本研究의 遂行中 物心兩面으로 援助하여 주신 原子力研究所의 李根培博士와 有益한 助言을 하여 준 高麗大學校 李永祿博士께 深甚한 感謝를 表합니다.

## 材料 및 方法

### *Saccharomyces cerevisiae*의 培養 및 懸濁液調製

酵母細胞를 2l. flask에서 液體培養을 하고, 이때 滅菌綿이 들은 濾過裝置를 附着한 뒤 vacuum pump 또는 aspirator로서 aeration과 agitation을 (Fig. 1) 實施한다. 培養溫度는 28~30°C이며, 液體培地의 組成은 Table. 1과 같다. 溫度維持를 위하여 Thermonconstant water bath內에 flask를 裝置하였다. 48時間 培養後, 6時間程度 通氣를 中止하였다가 다시 2時間 通氣하였다. 이것은 菌細胞의 年齡을 synchronize하기 위해서였다. 다음에 Basket type centrifuge로서 菌體를 濾過하고, 0.8% NaCl saline water로서 菌體를 2~3回 洗滌한後, 다시 菌體를 濾過하여 集菌하였다. 菌體를 上記 saline water에 懸濁하고 Cobalt-60 線源에서 放出되는  $\gamma$ -線을 照射하였다. (Fig. 1)

### Gamma-ray의 照射

$\gamma$ -ray의 照射는 本原子力研究所에 備置되어 있는 Panoramic gamma irradiator Cobalt-60, 1,000 curies를 使用하여 實施하였으며, yeast suspension이 들어 있는 試驗管을  $\gamma$ -source에 密着시켜, 各各 3,000, 5,000, 10,000, 30,000, 50,000, 100,000, 200,000, 400,000, 600,000 rentgen의 線量을 照射하였으며, 照射直後부터 26時間까지의 各時間區分에 따라서 脫水素酵素能의 測定과 呼吸能測定을 하였다.

### 酸素呼吸量의 測定

放射線의 照射를 받은 酵母菌의 懸濁液을 材料로 하여 Warburg's<sup>8</sup> manometer에 依하여 O<sub>2</sub>-uptake, QO<sub>2</sub>의 變化量을 各各 測定하였다. 測定溫度는 30°C, p.H.는 6.0이었으며, 放射線照射區 (R<sup>+</sup>)와 control區 (R<sup>-</sup>)以外에 glucose control, (G<sup>-</sup>)와 glucose treat(G<sup>+</sup>)의 實驗區로 나누어서 比較測定하였다.

### 脫水素酵素 活性의 測定

Dehydrogenase의 hydrogen donator인 基質(substrate)의 종류는 Glucose, Ethyl Alcohol, Lactic

acid, Succinic acid 및 Glutamic acid 등 5種이었다.  
Ethyl alcohol는 pure dehydrated alcohol (100%)의 0.5% 稀釋液을, 그 以外의 基質은 1/6 Mol. sodium salt solution, p.H. 7.0으로 調製하였다. 脫水素酵素能을 測定하기 위하여 酵母菌은 放射線照射 24時間前에 生理食鹽水懸濁液內에서 通氣操作을 하여 飢餓狀態(starvation)로 만들어서 細胞內의 基質을 可及的 消耗시켰다. 酵素反應은 Table 2와 같은 溶液內에서 實施하였으며, T.T.C의 還元型인 T.P.F의 紅色色素를 Ethyl Alcohol 또는 Ethyl acetate의 溶媒로서 抽出하고 그 溶液을 490  $m\mu$ 의 波長으로 Spectrophotometer를 使用, 吸光度(Optical density)를 測定하였다.

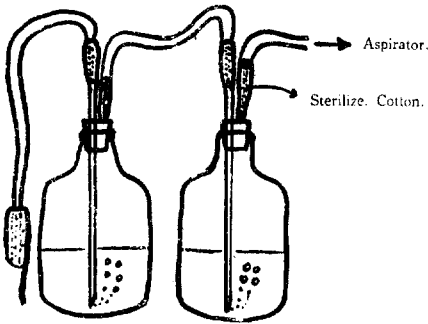


Fig. 1. A set-up for large scale culture of Yeast.

Table 1. Composition of liquid media for culture of yeast.

Peptone	1.0%
Glucose	5.0%
Yeast ext.	0.3%
Wort	(Bg. 10°) 48 c.c
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2%
Mg SO <sub>4</sub>	0.1%
Distilled water	454 c.c
Total	500 c.c
PH, 5. 4 151bs/15 min.	

T.T.C의 發色機構는 Fig. 2와 같다.

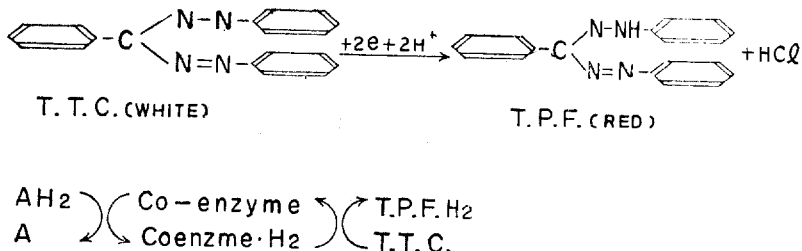


Fig. 2. Color reaction of T.T.C. to T.P.F.

Table 2. Enzymatic preparations for dehydrogenase in yeast cells.

Substrate solution(1/6 M) (P.H. 70)	1 c.c
Phosphate buffer solution(1/2 M.P.H. 70)	0.5 c.c
Yeast suspension	1 c.c
T.T.C.* solution(1 mg/1 c.c)	1 c.c
Temp. 30—32° c	
Time. 23—30 min.	
T.P.F. Solvent; Ethl alcohol(95%)	8 c.c
or Ethyl acetate	8 c.c
Reaction inhibitor T.C.A.** (20%) solution	0.5 c.c

\* T.T.C. 2, 3, 5, Triphenyl tetrazolium chloride.  
\*\* T.C.A. Trichlo acetic acid

酵素反應을 中止시키기 위하여 T.C.A(20%) 溶液을 全量의 1/10 程度 加하였으며, 이때에는 ethyl acetate를 溶媒로 使用하였다.

T.C.A.를 使用치 않을때에는 ethyl alcohol를 使用하였으며, 이것은 溶媒의 役割과 反應中止劑의 作用을 兼하게 되는 것이다. 溶媒에 依하여 溶解된 T.P.F의 赤色色素는 遠沈(1,500 r.p.m.)後 上層部에 大部分 옮기게 되고 이 上澄液은 곧 Spectrophotometer에서 測定되었다. 蒸溜水로서 Zero point를 定하고, 基質만을 除外한 溶液(酵母液包含)의 O.D.을 blank로 하여 減하였다.

實驗 結果

$\gamma$ -ray 에 依한 酸素呼吸量의 變化

Table 3과 같은 反應液을 manometer의 flask에 混入하여 酵母菌細胞로 하여금 酸素呼吸을 시키면서 O<sub>2</sub>-uptake의 變化를 測定한 結果는 Table 4와 같다.

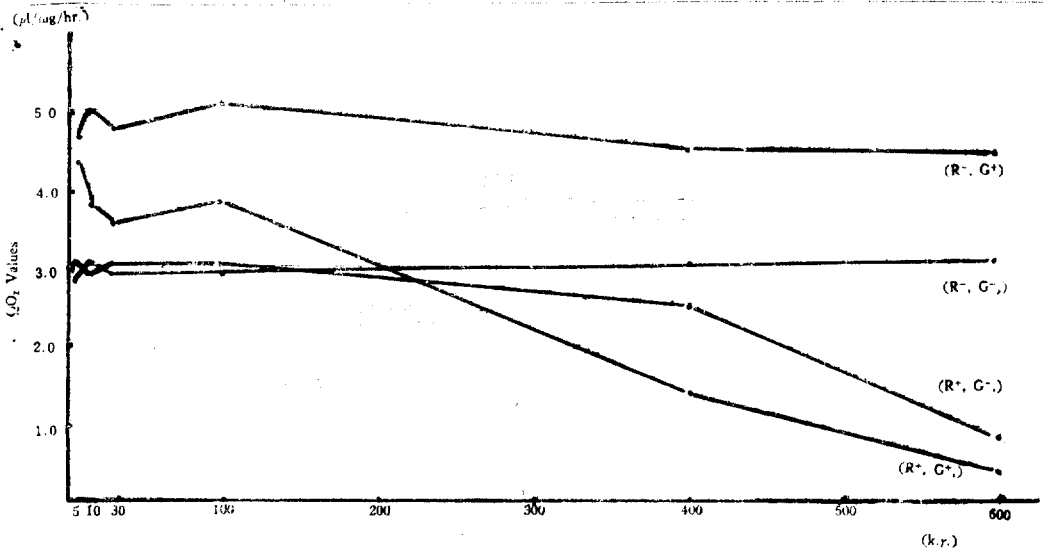
Table 4에 表記된 QO<sub>2</sub> value를 endogenous respiration(G<sup>-</sup>)區分과 exogenous respiration(G<sup>+</sup>)區分으로 나누어서, 그 activity를 percentage로 表示한 圖表는 Fig. 4 및 Fig. 5이다. QO<sub>2</sub> value를 percentage로 換算하지 않고 直接  $\mu\text{l}/\text{mg}/\text{hr}$ . 單位

**Table 3.** Compositions of reacting solutions in manometric flask

Container Expts.	Main compartment	Center well	Side arm	Gas
Endo. resp. (Control) R <sup>-</sup> , G <sup>-</sup> ,	0.5 ml. 1/5 M. phosphate buffer soln. 1.0 ml Dist. water. 0.5 ml Yeast suspension.	0.3 ml KOH (20%)	—	in air
Endo. resp. (Irradiated) R <sup>+</sup> , G <sup>-</sup> ,	0.5 ml 1/5 phosphate buffer soln. 1.0 ml. Dist. water. 0.5 ml. Yeast. suspension.	0.3 ml. KOH (20%)	—	in air
Exo. resp. (unirradiated) R <sup>-</sup> , G <sup>+</sup> ,	0.5 ml. 1/5 M. phosphate buffer soln. 0.5 ml. Dist. water. 0.5 ml. Yeast. suspn.	0.3 ml. KOH (20%)	1/10 M Glucose solution 0.5 ml	in air
Exo. resp. (Irradiated) R <sup>+</sup> , G <sup>+</sup> ,	0.5 ml. 1/5 M. phosphate buffer soln. 0.5 ml. Dist. water 0.5 ml. Yeast suspn.	0.3 ml KOH (20%)	1/10 M Glucose solution 0.5 ml	in air

**Table 4.** Respiratory QO<sub>2</sub> values in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray ( $\mu$ l/mg/hr)

Expt. doses.	Endo. resp. (control) R <sup>-</sup> , G <sup>-</sup> ,	Endo resp (Irradiated) R <sup>+</sup> , G <sup>-</sup> ,	Exo. resp. (unirradiated) R <sup>-</sup> , G <sup>+</sup> ,	Exo. resp (Irradiated) R <sup>+</sup> , G <sup>+</sup> ,
5,000 r	2.9030	3.0582	4.7144	4.4426
10,000 r	3.0649	3.0155	5.0593	3.7862
30,000 r	2.9989	3.0019	4.8241	3.6031
100,000 r	2.9749	3.0936	5.1086	3.9088
400,000 r	3.0655	2.5115	4.6161	1.4591
600,000 r	3.1670	0.7881	4.4193	0.3670

**Fig 3.** Changes of QO<sub>2</sub> values in respiration of yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray

(R<sup>-</sup>, G<sup>+</sup>,.....Unirradiated and glucose given)      (R<sup>-</sup>, G<sup>-</sup>,.....Unirradiated and glucose free)  
 (R<sup>+</sup>, G<sup>-</sup>,.....Irradiated and glucose free)              (R<sup>+</sup>, G<sup>+</sup>,.....Irradiated and glucose given)

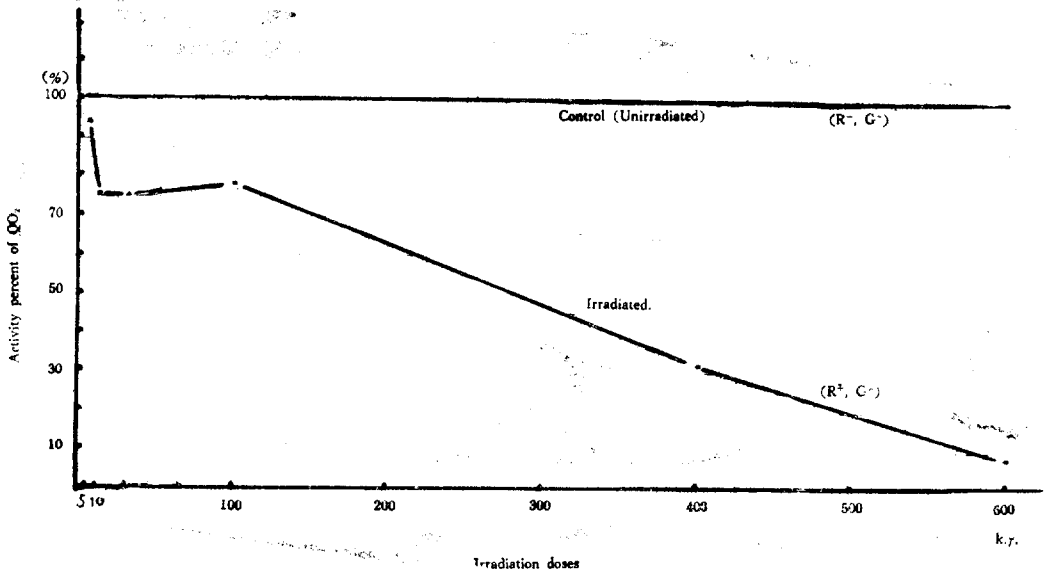


Fig. 4. Changes of exogenous respiration in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray from  $Co^{60}$  (R<sup>-</sup>, G<sup>+</sup>.....Unirradiated and glucose given) (R<sup>+</sup>, G<sup>+</sup>.....Irradiated and glucose given)

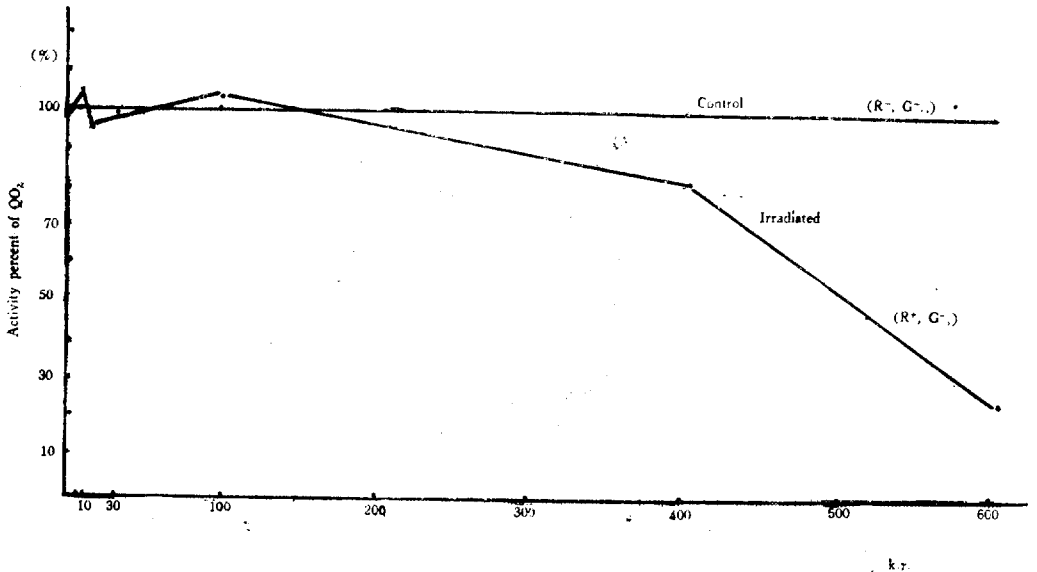


Fig. 5. Changes of endogenous respiration in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray from  $Co^{60}$  (R<sup>-</sup>, G<sup>-</sup>.....Control and endogenous resp.) (R<sup>+</sup>, G<sup>-</sup>.....Irradiated and endogenous resp.)

로 옮겨 놓은 것이 Fig 3 이다.

Fig 4 에서 보는 바와같이 照射後에 glucose를 投與한 區 即 exogenous respiration에 있어서는 5,000 rentgen에서  $QO_2$  value가 95%로, 10,000 rentgen에서는 75%로 減少하고 있다. 100,000

rentgen 以上에서는 線量增加에 反比例하여  $QO_2$  value가 直線的으로 減少하고 있다. 即 이것은 放射線에 依하여 酵母菌細胞의 exogenous respiration이 減少한것을 意味한다. 그러나 endogenous respiration에 있어서는 (Fig. 3.4. 參照) 150,000 rentgen 照

射線量까지는 오히려 若干 上昇 하고 있다. Exogenous respiration( $G^+$ )과 endogenous respiration( $G^-$ )을 比較하여 보면은 (Fig. 3) 200,000 r.까지는 exogenous 에 있어서 glucose가 攝取되고 있다. 그러나 200,000 r. 以上 線量에서는, ( $R^+$ ,  $G^+$ ) 即 放射線을 받은 exogenous respiration은 顯著히 呼吸機能이 減退하고 있다. 이 事實은 注目할만한 點이다. 即 放射線障害로 말미암아 細胞가 glucose의 攝取를 못함을 意味하는 것이다.

酵母生細胞의 脫水素酵素系에 미치는  $\gamma$ -線의 영

향은 Fig. 6, 7, 8, 9, 10 과 같이 나타났었다.

Fig 6에서 보는 바와 같이 Glucose dehydrogenase의 activity는 5,000 과 10,000 rentgen에서 急激히 上昇 하였으며, 30,000에서 一旦 激減하였다가 다시 上昇하여 400,000 rentgen까지 activity가 上昇한체로 머물고 있다. 이 G.D.H. (Glucose dehydrogenase)의 activity는 放射線照射後 1, 4, 6, 26 時間에 걸쳐서 測定되었다. 여기서 알수있는 것은 放射線 照射에 依하여 G.D.H.가 activation된다는 것과, 그 activity는 26 時間 繼續된다는 것이다. A.D.H

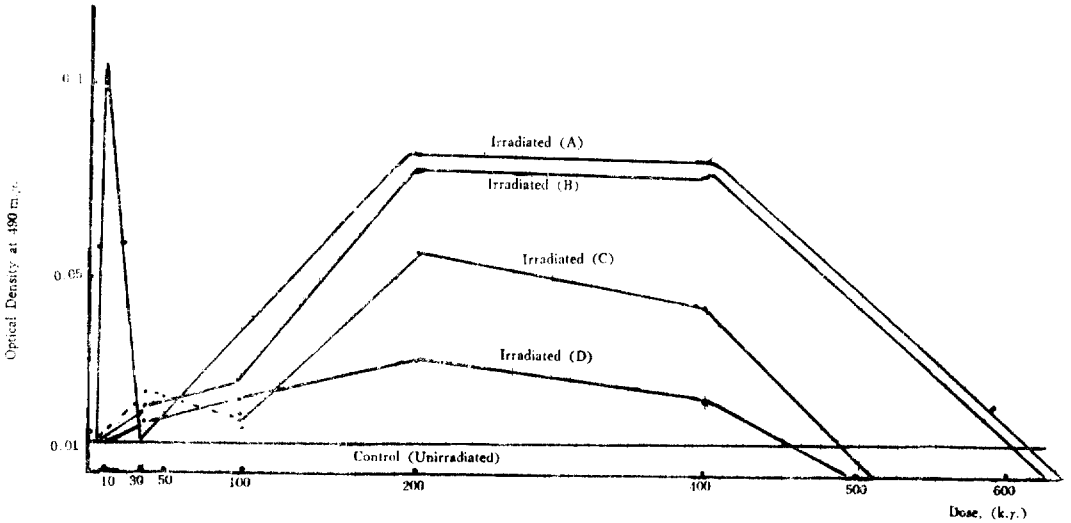


Fig. 6. Glucose dehydrogenase activity in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray.

A...Measured in 1 hr. later. B...Measured in 4 hrs later. C...Measured in 6 hrs later. D...Measured in 20hrs later.

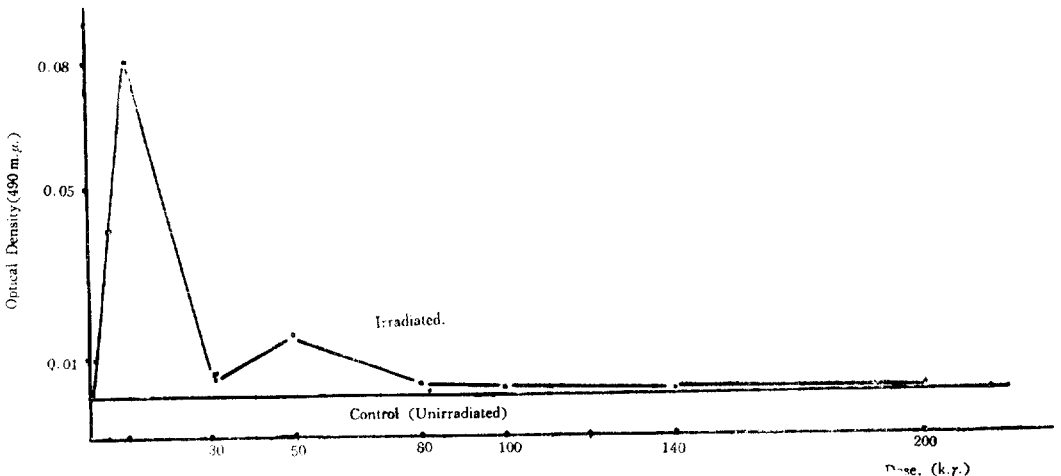


Fig 7. Alcohol dehydrogenase activity in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray, measured in 1 hr later.



Fig 8. Lactate dehydrogenase activity in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray, measured in 1 hr later.

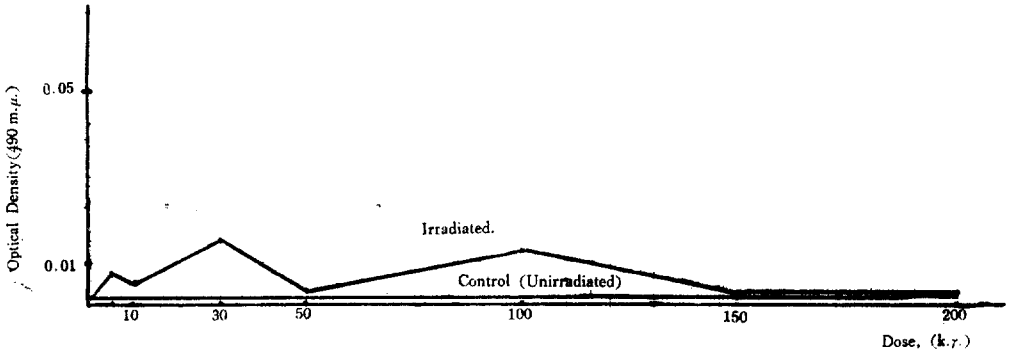


Fig 9. Succinate dehydrogenase activity in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray, measured. 1 hr. later,

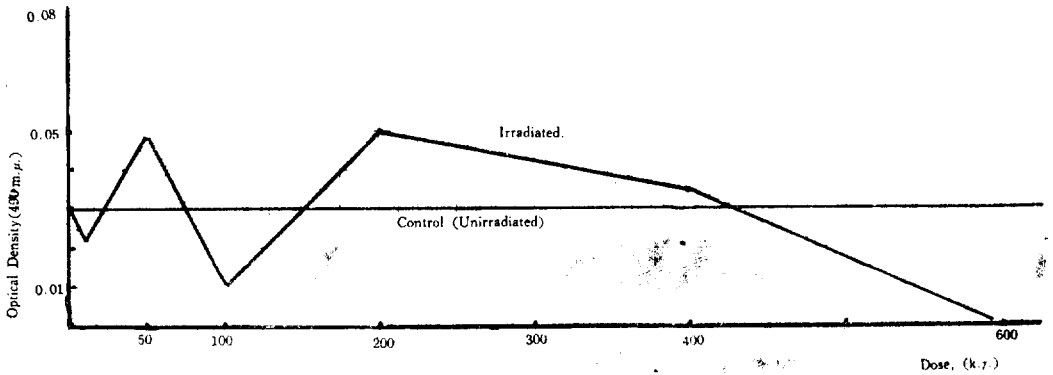


Fig 10. L-Glutamate dehydrogenase activity in yeast cells irradiated by  $\gamma$ -ray.(measured 1 hr. later,)

(Alcohol dehydrogenase)의 activity 역시 Fig 7에서 보는 바와 같이 5,000, 10,000 rentgen에서 相當히上昇하고 있으며 30,000 r에서 低下하였다가 다시上昇(50,000 r)한後 徐徐히 減退하고 있다.

바와 같이 5,000, 10,000 rentgen에서 그 活性이 上昇하였으며, 50,000 r에서 低下하였다가 다시 上昇(60,000 r부터 100,000 r 까지)하고 있다. 그後 200,000 r에서 低下하고, 다시 上昇(400,000 r)後에 低下하였다. S. D. H(Succinic dehydrogenase)의

L.D.H.(Lactic dehydrogenase)는 Fig 8에서 보는

activity는 Fig 9에서 보는 바와 같이, 5,000 r에서 若干上昇, 10,000 r에 低下, 그後 다시 30,000 r까지上昇하고, 50,000 r에서 低下, 100,000 r에서 다시上昇한後 150,000 r에서 control의 level로 低下하였다.

이와같이 4種의 炭水化物性呼吸基質이 各其의 特異酵素에 依하여 dehydrogenation을 받는데 있어서 그程度가 各其 다르다는 것이다.

한편 G.D.H(Glutamic dehydrogenase)의 活性度를 보면은 (Fig. 10), 5,000, 10,000 rengen에서는 若干 低下하고 다시 50,000 r에서는 上昇한後 다시 100,000 r에서 低下한다. 그後 다시 上昇하였다가 (200,000 r) 徐徐히 低下 하고 있다.

## 考 察

酵母菌細胞의 自家呼吸(endogenous respiration)作用이 150,000 rentgen까지의 放射線 照射에서 control의 O<sub>2</sub>-uptake rate 보담도 若干 上昇하고 있는 事實은 (Fig 5. 參照), Remezova 1959<sup>(27)</sup> Caputo, 1960<sup>(6)</sup>, Dewey, 1962<sup>(9)</sup> Romani 1962氏 등이 指摘한바와같이 細胞의 致死線量에서도 呼吸機能은 促進 또는 正常的이다 라는 主張과 一致한다.

그러나 exogenous respiration의 경우를 보면은 致死線量(200,000 r)까지는 glucose의 攝取가 이려나고 있으나, 그以上の 線量에서는 呼吸機能이 低下하는 것으로 보아 攝取가 안되고 있음을 알수 있다. 이것은 細胞의 滲透作用을 支配하는 原形質膜의 變性を 意味하는 것이다. (Billen, D. 1953,<sup>(6)</sup> 1954<sup>(4)</sup>, 1957<sup>(3)</sup>, Caputo, 1960<sup>(6)</sup>, Lieselotte, 1962<sup>(10)</sup>, Hagen, 1962<sup>(11)</sup>).

이 變性이란 protoplasm, nucleus, mitochondria 등의 plasma membrane이 放射線에 依하여 lysis, swelling 등을 이르킨 것으로 보는 것이다.

그러므로 glucose分子의 細胞內에로의 透過가 阻害되므로써 exogenous respiration rate가 低下되는 것으로 생각 된다.

이 點과 關聯하여 dehydrogenase activity의 實驗結果를 考察하면은, 이들 酵素의 activity가 低線量(300,000 rentgen 以下)에서는 大體로 Rhythmic process를 보이고 있는데, 그 mechanism도 nuclear membrane과 mitochondrial membrane의 swelling 및 lysis 등의 變性로 말미암아 基質分子의 透過가 阻害되므로써 activity가 下降(Optical density의 curve의 drop 現象)하고, 이와같은 membrane이 다

시 recovery乃至 repair 되었을 때에는 다시 glucose分子가 incorporate되어 dehydrogenation activity가 上昇하고, 이것이 Figure에서 Rhythmic process를 나타내는 것으로 生か 된다. (G.M. Frank. 1962<sup>(10)</sup>), (Caputo, 1960<sup>(6)</sup>).

酵母細胞의 酸素呼吸作用이나 脫水素酵素作用이 그의 致死線量인 280,000r.(Buffer液 또는 蒸溜水液內일때)에서 如前히 作用能力과 活性이 維持되고 進行하는 事實은 細胞의 全體의 生活樣相과 個個의 生化學的 作用能力사이에 放射線感受性이 相異함을 보여주는 것이다. 即 生化學的 作用은 放射線에 對해서 越等히 抵抗性이 있음을 알수 있는 것이다. (Dewey. 1962.<sup>(9)</sup>)

脫水素酵素의 活性를 基質別로 比較하여 보면은 Glucose>Ethyl Alcohol>Lactic acid>glutamic acid > Succinic acid.의 順序로 되어있다. 이 現象은 Yamaguchi, 1941.<sup>(28)</sup>氏가 酵母의 呼吸材料의 利用度를 研究하여 얻은 順位와 同一하다. 脫水素酵素系의 activity는 放射線照射에 依하여, 系列順位가 變치 않았으며 다만 照射에 依해서 activity가 rhythmic하게 變動하는 것이다. 放射線 照射直後 일수록 activity는 强하게 上昇하였으며, 6~26時間後에는 Control level까지 低下함을 알수있다. 酵母의 致死線量以上(500,000~600,000 r.)의 高線量에서는 enzyme의 構成物質인 蛋白質 등이 이미 많은 損傷을 입어서 activity가 低下하겠지만은, 50,000 至程 100,000 rentgen 程度에서는 곧 正常狀態로 回復이 되는 것으로 미루워보아 細胞의 permeability에 그 原因이 있다고 본다.

Gl.D.H.(Glutamate dehydrogenase)의 activity도 역시 放射線照射에 依해서 變動이 生겼으며, 그 Rhythm의 樣相은 Carbohydrate를 基質하는 enzyme의 경우와는 달랐었다. 이와 같은 差異는 그 enzyme의 activity에도 原因이 있겠지만은 오히려 glutamate의 細胞內에로의 透過도에 달려 있지 않나 생각된다.

酵母菌細胞를 破壞하는 方式을 取하지 않고 生體 그대로의 生活條件을 維持시키면서 細胞內의 脫水素系酵素 活性를 測定할수 있었던 것은 T.T.C.(Triphenyl tetrazolium chloride)의 發色現象을 利用 하였기 때문이다.

大體로 從前까지는 生物體의 放射線感受性에 關한 研究材料로는 大部分 動物의 血清, 肝, 脾臟 등의 homogenated tissue가 使用되었으나, whole body radiation과 cell radiation과는 그 次元이 다른 것이



다. 本方法의 發展은 植物細胞에도 適用이 可能할 것으로 믿어진다.

Warburg manometer 를 使用할때의 制限要因인 細胞의  $\text{CO}_2$  gas emission, endogenous respiration의 介在問題, permeability의 變化性의 問題等은, 生體反應研究에 障害을 주었지만은 今般의 T.T.C.에 依한 Spectrophotometric method에 依하면은 相當히 生體의 生活相에 가까워지므로 enzymic pattern 위에서 또 生命現象을 變性되지 않는 條件下에서 analysis 할수 있는 것으로 생각한다.

### 摘 要

1. 酵母菌細胞에  $\gamma$ -線을 照射한 後, Warburg manometer 로서 酸素呼吸量(oxygen uptake)을 測定하여 對照細胞와 比較 하였다. Endogenous respiration (自家呼吸)은 150,000 r. 以下の 低線量에서는 上昇하였으며 그 以上の 線量에서는 漸次로 減少하였다. Exogenous respiration 은 5,000 r. 부터 線量增加에 反比例하여 減少하였다.

2. Exogenous respiration 이 放射線照射에 依하여 減少하였을은 glucose의 incorporation을 막는 現象 即 原形質膜의 變性이 이려난 것이다.

3. 酵母菌細胞內的 glucose, alcohol, lactic, succinic, 및 glutamic dehydrogenase activity에 對한  $\gamma$ -線照射의 影響을 T.T.C.(Triphenyl tetrazolium chloride) method 로서 spectrophotometer에 依하여 測定하였다.

4. 10,000 rentgen의  $\gamma$ -ray 照射에서 G.D.H.(Glucose dehydrogenase), A.D.H.(Alcohol dehydrogenase) 및 L.D.H.(Lactic dehydrogenase)의 activity는 急激히 增加 하였다. S.D.H.(Succinic dehydrogenase)와 Gl.D.H.(Glutamic dehydrogenase)의 activity는 30,000 r. 에서 增加하였다. 各個의 dehydrogenase의 activity는 線量增加에 따라서 上昇·下降(增加·減少)의 起伏을 나타내었으며, dose-rate에 따라서 rhythmic한 反應을 나타내고 있다.

5. 各 dehydrogenase의 activity를 吸光度(O.D. value)의 peak 順으로 보면은 glucose > alcohol > lactate > succinate와 같이 되며 있다. 이 順位는 呼吸材料로서의 基質의 利用順位와 一致 한다.

6. Endogenous respiration rate는 150,000 r. 照射에 依해서도 100% 維持되었으며, 280,000 r. 線量에서 10% 減少하였다.

7. 同一線量의 放射線量에서 呼吸作用은 低下하나, 脫水素酵素系의 活性은 오히려 上昇하는 것으로 보아, 細胞內的 原形質膜이 放射線에 依하여 變性을 일으키므로써 細胞의 放射線 障害가 일어난다는 것이다.

8. 脫水素酵素系가 放射線照射에 依하여 rhythmic한 樣相을 나타내는 機作은 變性된 原形質膜의 修復과 障害로 인한 permeability의 變動現象과 關聯이 깊다.

### References

- 1) Albaum, H.G., 1960. Serum enzymes following wholebody radiation in the rabbit. Radiation Research. U.S.A. vol. 12. 186~194.
- 2) Bacchetti, S., 1965. Recovery from sublethal X-ray damage in surviving yeast cells. Radiation Research. U.S.A. vol. 25. 103.
- 3) Billen, D., 1957. Modification of the release of cellular constituents by irradiated *E. coli*. Archives of Biochem. and Biophysics. 67, 333-340.
- 4) ———, 1954. The effect of X-rays on the macromolecular organization of *E. coli*. J. Bacteriology. 67, 191.
- 5) ———, 1953. Postirradiation release of A.T.P. from *E. coli* B/r. Arch. of Biochem. and Biophysics. 43, 1.
- 6) Caputo, A and Giovanella, B., 1960. The action of ionizing radiations on the respiration and on the aerobic and anaerobic glycolysis of Ehrlich mouse ascites cells. Radiation Research. U.S.A. vol. 3. 809~813

- 7) Cammarano, P., 1963. Protein synthesis, glycolysis, and oxygen uptake in hepatoma cells irradiated in vitro. *Radiation Research*, U. S.A. 18 1~11.
- 8) De Moss, J.A., and Swin, H.E., 1957. Quantitative aspects of the T.C.A. cycle in baker's yeast. *J. Bacteriology*. Vol, 74. No. 4. p. 445.
- 9) Dewey, D.C. 1962, The effect of radiation on induced enzyme formation. Second Int. Congress of Radiation Research. Abstract of Papers. p. 112. England.
- 10) Frank, G.M., 1962. Radiation-induced changes of cell ultrastructures and of rhythmic oxidation processes. *ibid.*, p. 138~139. England.
- 11) Hagen, U. 1962. Radiosensitivity of the glycolytic enzymes in the nucleus. Membrane effects II. *ibid.*, p. 195. England.
- 12) Hawrylewicz, E. J., et al. 1966. Effect of gamma and proton irradiation on lactic dehydrogenase isoenzymes. *Radiation Research*. vol. 28. 538~547. U.S.A.
- 13) Hevesy, G.C. 1956 Biochemical irradiation effects on enzymes and other cellular constituents. *Advances in Radiobiology*. Proceedings of the Fifth International Conference on Radiobiology, Stockholm. p 25~72.
- 14) Ingram, M, et al. 1966. Microbiological principles in food irradiation. Proceedings of the International Symposium on Food Irradiation. Vienna. I.A.E.A, p. 267~285.
- 15) Kim, J.H. 1966. Studies on the effects of environments on radio-sensitivities of *Lactobacillus* and Yeasts. Ann. Report of A.E.R.I. Korea. p 263~269.
- 16) Kim, J.H. 1967. Studies on synergistic actions of some chemicals upon the radio-sensitivities of yeast. *The Korean J. of microbiology*. vol. 5. no. 1. p 7~14.
- 17) Kivy-Rosenberg, E., et al. 1964. Activity of pentose cycle dehydrogenase systems in liver and in spleen of rats after whole-body X-irradiation. *Radiation Research*. vol. 23. 310~318 U.S.A.
- 18) Laser, H., 1956. The influence of oxygen on radiation effects. Symposium on "The influence of ionizing radiations on cell metabolism" at the Ciba Foundation, 6 th~9 th. March, 1966. London. p 107~p 119.
- 19) Liselotte, S., and Otto, H., 1962. Radiation effects on metabolism and permeability of mitochondria. Second Int. Congress of Radiation Research. Abstracts of Papers. p 196.
- 20) Matsuyama, A., and Okazawa, Y., et al. 1959. Microbial growth and Radiations (1) *J. of the Fermentation Association*. vol. 17, No. 8. 9~12. Tokyo.
- 21) \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_, 1959, *ibid.*,<sup>(2)</sup> vol 17, no. 12. , 1~12.
- 22) Meissel, M.N., et al, The Biological effect of ionizing radiations on microorganisms, International Conference on the Peaceful uses of Atomic Energy, Geneva, vol. 11, p 227.
- 23) Mookerjee, A., 1959. Effect of X-irradiation on the survival of yeast in dry and wet conditions. *Nature*. 184, 1502~1503. London. N.Y.
- 24) Ontko, J.A., and Moorehead, W.R. 1964. Increased endogenous respiration of ascites tumor cells after radiation exposure. *Radiation Research*. 23, 135~144.
- 25) Patrick, M.H., et al. 1964. Dark recovery phenomena in yeast, conditions that modify the recovery process. *Rad. Res.* 23 : 564 U.S.A.
- 26) Pollard, E., 1954. The action of ionizing radiation on enzymes and viruses. *Radiobiology Symposium*. at Liege. 1954. p. 70~74. London.
- 27) Remezova, T.S., 1959. Effect of gamma-neutron radiation on microorganisms. *Radiobiology*, in English translation. p 77~83. An. SSSR.
- 28) Wood, T.H., Comparative X-ray sensitivities of related respiring and fermenting yeasts. *Radiation Research*. 13, 335~342 U.S.A.
- 29) Yamaguchi, S.S. 1941. Respiratory materials for yeast, *Plant Physiology*. Shokwabo. by Sakamura, T. 1942. Tokyo.
- 30) Yamazaki, Oka, M. et al. 1964. Microscopic observation of irradiated cells. *Tokyo Metro. Isotope Res. Center, Annual Report*. vol. 3. p 129~136.