

酵母細胞의 膜透過性에 關한 研究

—透過性 및 增殖能에 미치는 溫度의 影響—

金鍾協 · 崔連淳 · 金喜子

(原子力研究所 生物學研究室)

Studies on membrane permeability of yeast cells (I)

—Effect of heat shock upon permeability and surviving action—

Jong Hyup KIM, Yun Sun CHOI, and Hee Ja KIM

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

ABSTRACT

The effect of heat treatment on membrane permeabilities of yeast's cells was studied, the amounts of efflux out of yeast cells were put to analysis, and fraction survival was also counted by viable plate counting method.

Effects of nutritional substances on thermally injured yeast cells were also investigated under the highlight of reabsorption mechanism, then the relationship between permeability and surviving action in injured yeast cells are discussed.

Changes of efflux from thermally injured yeast cells under influences of uracil, yeast extract, calcium chloride and diphenhydramin (anti-histamic agent) were surveyed. The experimental results are as following;

1). At the treatment of 70°C heat shocking for 2~15 minutes, it was observed much amount of carbohydrates, pentoses and it's compounds, total amino acids, potassium ion (K^{42}), inorganic phosphates, organic phosphates and 260 $m\mu$ absorbing substances are released from thermally injured yeast cells, it is considerable that membrane permeability of injured yeast cell have changed respectively by heat shock.

2). There observed no differences between the treatment effect of 60°C and 70°C for the same time of 15 minutes in growth of survivors. However, it was observed higher surviving ratio is in the plot of 70°C for minutes. It seems that regeneration from thermal injury is capable, and is not affected proportionally by the loss of cellular substances under 70°C. Actually much quantities of cellular materials loosed out at the heat shocking of 70°C rather than that of 60°C.

3). By the addition of uracil, there observed much inhibition of efflux, but nothing of treated chemicals act inhibitive for K^+ . (K^{42}) efflux. It is considerable that K^+ ion is either sensitive for changes of circumstances which may act positive or negative to yeast cells. Large amount of potassium ions (K^{42}) are loosed out by heat treatment.

4). Fraction surviving of yeast which had been treated of 70°C for 2 minutes and there-after was put into rich nutrient broth is increased. It is suggested that the absorptional ability of membrane had been kept partialy intact. If reabsorption of nutrient substances be able to take place, regeneration and reproduction could be possible through thermal injury.

緒 論

熱處理에依해서 微生物이 死滅하는 機作은 一般의으로 albumin 蛋白質의 熱凝固로 말미암아 酵素가 不活性化하므로써 나타나는 現象이라고 보고 있다(Giese, 1968).

그러나 90°C를 上廻하는 溫度에서도 活性을 나타내는 alpha-amylase와 RNA-ase 등에 對해서는 蛋白質의 熱凝固說은 不適當하며, 死滅의 機作이 될수 없다.

微生物의 熱致死作用은 또 培地組成, pH, 作用時間, 및 微生物自體의 內的狀態 등에 依하여 相當히 달라지는 것이다 (A.H. Cook 1958.).

이와같이 微生物의 自體條件과 外部環境의 狀態에 따라서 熱致死作用의 效果가 決定된다는 것은 數千에 達하는 研究報告를 通하여 充分히 알수 있다.

따라서 微生物과 같은 多樣한 種類的 單細胞生物의 죽음은 簡單하게 說明하기 어렵다. Heilbrunn(1954)은 動物細胞의 죽음에 對해서 言及하기를 細胞內 lipid의 融點과 關係있다고 하였다. 即 높은 溫度에 견딜수 있는 動物은 높은 融點의 lipid을 가지고 있다는 것이다. 그러므로 細胞膜의 主成分이 lipid로 되어있는 만큼 熱에 依한 膜의 파괴를 집작 할수 있는 것이다. 한편 Cook(1958)에 依하면 酵母細胞가 熱에 依하여 죽는 溫度는 50~60°C라고 하였다. Epstein과 Snell (1940)⁽²⁾은 *Sacch. elipsoideus* 細胞가 麥酒속에서 58°C, 10分間의 熱處理에 依해서도 견딘다고 하였으며, Lund(1951)⁽²⁾는 特殊한 어떤種의 酵母는 麥酒속에서 50°C, 20分間 熱處理에 依하여 죽는다고 하였다.

그러나 strain에 따라서는 60°C, 20分處理에서 죽는것도 있다고 하였다. *Sacch. elipsoideus*의 영양세포는 56°C, 20分間의 熱處理에 依해서 죽는다고 하였다.

한편 Castelli(1935)⁽²⁾는 酵母의 營養細胞

는 葡萄汁에 있어서는 60°C, 5分間의 處理에서 죽으며, spore는 60°C, 15分間에도 견딘다고 하였다. Lund(1918)⁽²⁾는 cream에 있어서는 63°C, 30分의 處理에서 죽는다는 것을 報告하였다. White (1953)⁽²⁾의 研究에 依하면 55°C, 4分間의 處理에 依하여 50萬個의 細胞中에서 164個의 細胞가 살아 남았고 6分間 處理에서는 24個만 살아남았다고 한다. 그런데 어떤 種類的 耐熱性 微生物은 90°C 以上에서도 견딜수 있으며 또 90°C 以上에서 作用할 수 있는 酵素도 分泌할 수 있는것으로 알려져 있다. 이와같이 細胞에 對한 熱衝擊의 效果는 耐熱性 生物과 非耐熱性 生物에 있어서 많은 差異가 있다. 따라서 熱處理에 依하여 蛋白質이 凝固하므로 生物은 죽는다는 在來의 單純한 mechanism은 再考되어야 한다고 生覺한다.

이와같이 酵母細胞에 對한 熱致死 效果는 많이 研究되어 왔으나 熱處理로 因하여 細胞의 生理作用이 어떻게 變化하며, 酵母의 죽음에 對하여 어떤 機作으로 作用하는가의 問題에 對해서는 전혀 研究되어 있지 않다.

最近 Stephen (1967) 등은 *Staphylococcus aureus* 菌株를 使用하여 熱損傷의 機作을 研究하였다. 氏는 55°C, 15分間의 熱處理를 하여 細胞의 protein合成과 ribosomal RNA의 再生過程을 觀察하여, 熱損傷後의 恢復現象에 있어서 protein合成이 일어나지 않을 경우에도 ribosomal RNA의 再生만 일어나면 熱損傷으로 부터 恢復이 可能 하다고 報告 하였다. 또 細胞의 熱損傷은 Ca.²⁺ion의 除去에 依하여 促進된다고 한다(Heilbrunn, 1954, Allen, 1960).

本 研究은 放射線障害의 하나의 現象으로서 膜透過性이 變化 한다는 Billen(1954), Pollard (1964), Caputo (1960). 및 著者(金) (1967), (1968)의 報告에 立脚 하여, 人體의 熱傷細胞로 부터 流出 되어나오는 粘液이 熱에 依한 透過性의 變化가 아닌가 보고, 熱에 依한 生體細胞의 損傷을 膜透過生理面에서 追窮코저 하였던 것이다.

따라서 本研究의 目的을 熱處理에 依하여 細胞의 透過性이 어떻게 變化하며, 그 透過性의 變化가 세포의 죽음과 어떤 mechanism 을 가지게 되는가를 밝히는데에 두었다. 細胞에 對한 熱處理는 食品工業에 있어서 pasteurization 과 關係있으며, 醫藥方面에 있어서는 藥品器具의 殺菌操作 및 火傷의 治療와 密接한 聯關性을 가지는 것이다. 또한 放射線 障害의 mechanism 解明과 그 治療에 있어서 基礎的인 면에서 貢獻할 것으로 生覺하여 實驗을 實施 하였다.

材料 및 方法

實驗材料는 第一物產洋行製의 壓搾酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)를 購入하여 使用 하였다. 熱處理에 앞서서, 蒸溜水懸濁液을 28°C 에서 酵母를 2時間 振盪하여 活性化와 synchronizing 를 實施하였으며 pH는 5.5로 맞추었다. 活性化된 酵母 懸濁液은 basket type centrifuge 를 使用하여 遠心分離하고 細胞를 蒸溜水로서 4~5 回洗滌하였다.

熱處理 方法은 大型試驗管(50 ml 容)에 一定量의 蒸溜水를 미리 넣고 water bath 上에서 一定溫度로 維持시킨다음 yeast 의 懸濁液을 瞬間적으로 注入하였다. 藥品處理에 있어서는 前處理, 後處理로 區分하였고, 熱處理의 區分은 30°C 를 Control 로 하여 50°, 60°, 70°, 80°, 90°C 에서 2分間 및 15分間의 二種類로 하였다. 處理한 藥品의 種類는 calcium chloride, uracil, yeast extract, (Difco. Co.) diphenhydramin 등이었으며 恢復現象에 對한 影響을 알기 爲하여 nutrient media 로서 malt ext. yeast ext, glucose, phosphate 등이 包含된 培地를 使用하였다. 熱致死作用의 測定은 上記培地를 使用하여 28°C. 에서 plate agar media 에 나타나는 colony 를 count 하여 surviving fraction 을 求하였다. 膜透過性의 測定은 熱處理를 한 酵母懸濁液을 International-centrifuge 로서 3,000 rpm 로 15分間 遠心分離하여 그 上澄液을 取하여 用途別

로 各各 定量 分析하였다.

carbohydrate 는 anthrone 試藥反應으로써 spectrophotometer (Beckman B type)의 吸光波長 620 m μ 에서 glucose 價로 分光比色 定量하고, pentose 는 orcinol 反應에 依하여 660 m μ 에서 測定하였고, total amino acid 는 ninhydrin 試藥反應으로 570 m μ 에서 行하였으며, organic phosphate 는 Allen 및 Martin-Doty 法을 使用하였다.

Inorganic phosphate 는 Martin-Doty 法으로 620 m μ 에서 測定하여 true inorganic phosphate 로서 流出量을 定量하였다. Potassium 의 流出狀況은 620 m μ 에서의 cobalt-nitrate 發色法과, K⁴² isotope 를 2時間동안 yeast 懸濁液에 미리 incorporation 시킨다음 熱處理를 하여, 流出液속에 들어있는 isotope 의 放射線量을 scintillation counter (Nuclear Chicago Co.)를 使用하여 CPM 을 測定하였다. 260 m μ 吸收波長 物質은 大體로 核酸關聯 物質로 보고 spectrophotometer DU-2 로서 紫外線의 吸光度를 測定하였다.

結果 및 考察

熱處理를 받은 酵母菌의 細胞는 그 透過性이 莫大하게 變化하여 細胞內의 重要한 物質들이 外部로 流出되고 있다. Fig. 1 에서 보는 바와같이 大量의 炭水化合物이 60°C~70°C, 15分間의 熱處理에 依하여 對照區의 것보다도 35倍 以上 流出되었다. 流出은 이미 40°C 에서 부터 始作하고 있다.

Pentose 는 Fig. 2 에서 보는 바와같이 40°C 에서 부터 流出되어 나오면서 急激하게 增加하고 있다. Amino acid 도 역시 60°C~70°C 에서 莫大하게 流出하였다 (Fig. 3). Potassium ion 역시 30°C 以上에서 莫大量이 流出하고 있으며 (Fig. 4), 無機磷酸은 60°C 以上에서 流出 하고 있다 (Fig. 5).

260 m μ 의 吸收極大를 갖인 物質도 多量流出 되어 나왔다 (Fig. 6).

15分間의 熱處理에 依한 酸母菌細胞의 溫度에 따르는 生殘曲線(surviving curve)은 Fig.

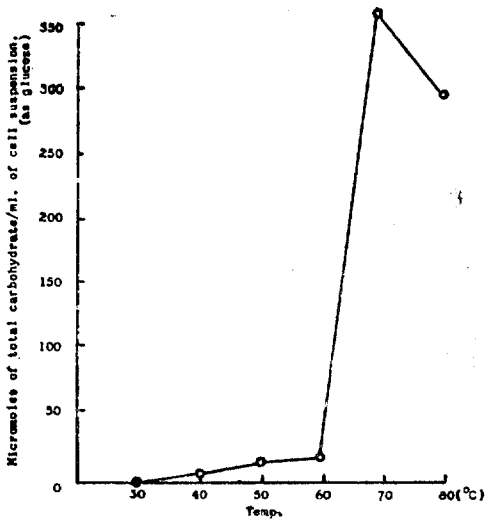


Fig. 1. The release of total carbohydrate from the heat shocked yeast cell (for 15 mins.).

Remark: 1. The color reaction was held with the anthrone reaction.
 2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

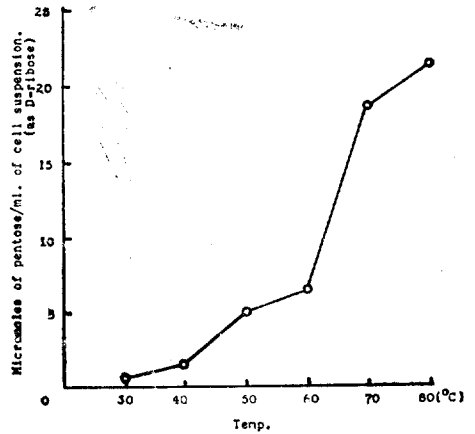


Fig. 2. The release of total pentose from the heat shocked yeast cell (for 15 mins.).

Remark: The color reaction was held with orcinol reaction.

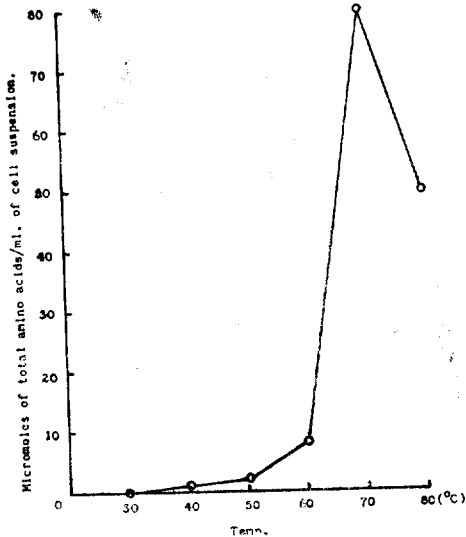


Fig. 3. The release of total amino acids from the heat shocked yeast cell (for 15 mins.).

Remark: The color reaction was held with ninhydrin reaction.

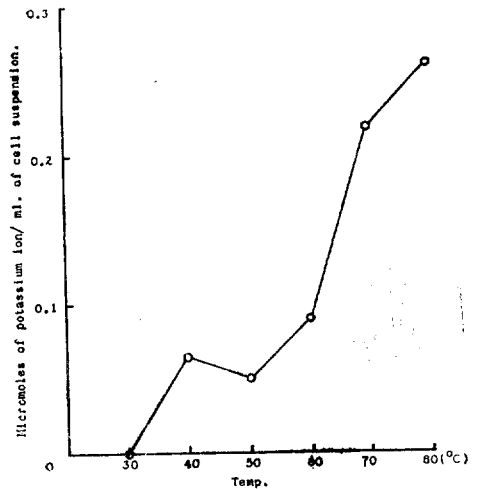


Fig. 4. The release of potassium ion from the heat shocked yeast cell (for 15 mins.).

Remark: Estimation of the amount of potassium ions was held by comparing the color of cobalt nitrate.

7 과 같다. 即 60°C, 15 分間의 熱處理效果는 70°C, 15 分間의 熱處理效果와 같다. 이때의 生殘率은 7%이다. 生殘率은 麥芽汁寒天培地上的 集落形成能을 viable count method 에 의하여 計算한 것인데, 酵母細胞의 單位容積當의 密度에 의하여 相當히 달라졌으며 이 結果는 密度가 稀薄한 細胞懸濁液에서 얻은 것이다(Kaufman, 1959).

위와 같이 60°C 보다도 70°C 에서 數十倍의 細胞內物質이 流出하였음에도 不拘하고 生殘率이 兩溫度區에서 同一하게 7%를 나타낸은 興味 있는 事實이다. 이 事實은 酵母菌이 醱酵糖液中에서 磷酸化合物, potassium 및 magnesium ion 을 재빨리 流出하고 또 再吸收하는 現象(Stephanapoulus, 1967)과 生理的으로 相通한다고 본다. 이와 같은 現象은 醱酵液中에서 amino acid 가 많이 流出되는 事實로서도 立證된다 (Stephanopoulus, 1966.). 即 細胞의 生理代謝에 있어서 細胞內

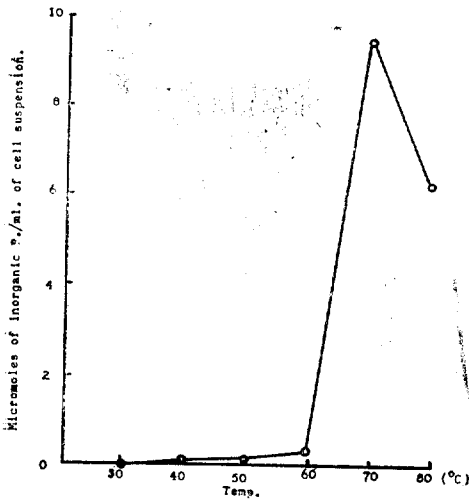


Fig. 5. The release of inorganic phosphate from the heat shocked yeast cell (for 15 mins.).

Remark: 1. The color reaction was held by the method of Martin-Dorty's.
2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

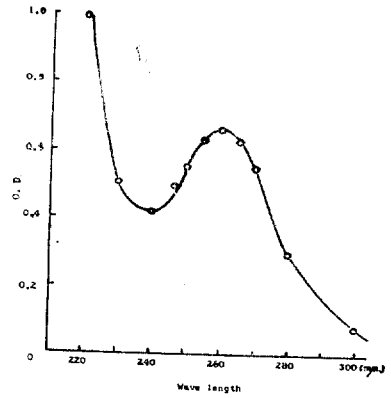


Fig. 6. UV. Absorbing curve of the released substances.

物質의 流出은 透過膜의 破壞로 인한 生體의 損傷現象이라고 斷定 할수 없다는 것이다. 오히려 逆으로 物質代謝의 促進과 細胞活動의 補償的過程의 一環으로서 透過性的의 變動과 流出作用이 일어난다고 보아야 할 것이다.

Stephen (1967) 등은 細胞의 熱損傷은 ribosome 와 ribosomal RNA 의 再生이 可能한 限 恢復될수 있다고 證明 하였으며, ribosomal RNA 의 關聯酵素는 90°C 까지 熱抵抗性임을 想起 시키고 있다 (Prosser 1967). 이와 相通한 data 는 放射線被曝 酵母細胞에 있어서 莫大量的의 potassium ion 이 流出함에도 不拘하고 細胞는 增殖 할수 있으며, 集落形成能이 保持됨을 報告한 Myers (1968)의 實驗結果를 보아도 流出的透過性的의 增大現象이 반드시 致命的損傷의 結果라고는 생각 할수 없다.

따라서 Fig. 1 과 Fig. 3 에서 보는 바와같이 70°C 以上の 高熱에서 오히려 流出이 低下하고 있음을 볼수 있는데, 이 低下點이야말로 오히려 損傷의 criteria point 가 아닌가 생각된다.

炭水化合物의 流出에 對해서는 Fig. 8 에서 보는 바와 같이 uracil, calcium chloride, yeast

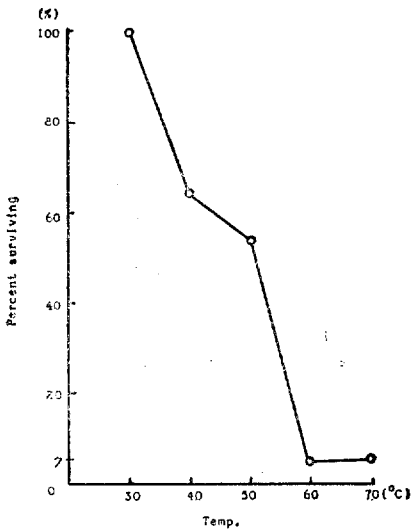


Fig. 7. Effects of 15 minutes, heat shocking on the surviving action of yeast.

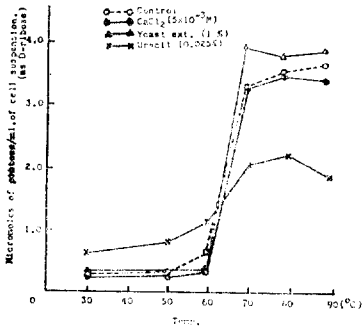


Fig. 9. The release of total pentose from the heat shocked yeast cell at high temperature, and influenced by chemicals (for 2 mins.).

Remark: 1. The color reaction was held with orcinol reaction.
 2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

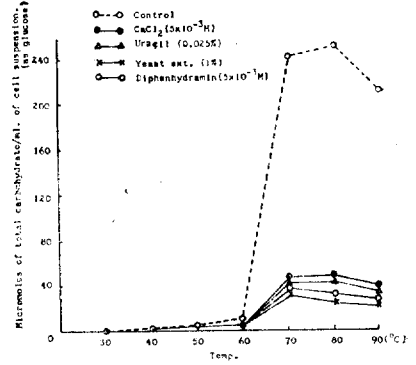


Fig. 8. The release of total carbohydrate from the heat shocked yeast cell at high temperature (for 2 mins.) and influenced by chemicals.

Remark: 1. The color reaction was held with the anthrone reaction.
 2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

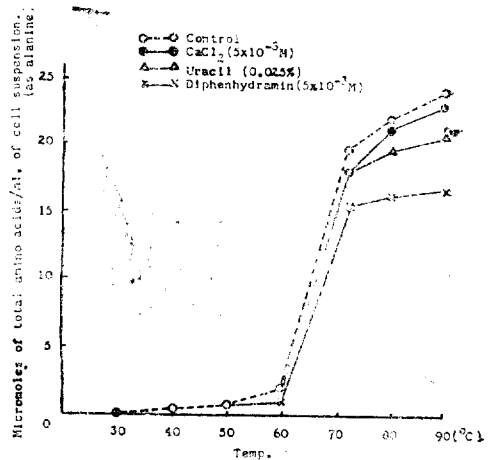


Fig. 10. The release of total amino acids from the heat shocked yeast cell at high temperature (for 2 mins.).

Remark: 1. The color reaction was held with ninhydrin reaction.
 2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

extract, diphenhydramin 등이 각각 抑制作用을 나타 내었으며, uracil와 yeast ext.는 어떤 保護作用을, calcium chloride와 diphenhydramin은 각각 ion transport의 抑制作用을 나타 낸 것으로 생각된다. Pentose化合物에 對해서는 uracil만이 抑制效果를 나타 내었다(Fig. 9).

Amino acid에 對해서는 stabilizer인 diphenhydramin만이 若干의 抑制效果를 보였다(Fig. 10).

Potassium ion의 流出에 對해서는 어떠한 藥物도 增加만 시키고 있다(Fig. 11). 이 점은 potassium ion의 transport가 細胞內에서 가장 敏感한 것으로 解釋되며, 透過性에 있어서 先導의 役割을 하는 事實을 뒷받침하여 주는 것이다. 放射性同位元素인 K^{42} 를 사용한 實驗에 있어서도 어떠한 物質의 添加도 potassium ion의 transport를 促進하는 것으로 나타 났다(Fig. 12).

無機磷酸化合物의 流出은 uracil만이 抑制할 수 있었다(Fig. 13). 有機磷酸化合物의 流出은 diphenhydramin과 yeast extract의 添加에 의하여 오히려 促進되고 있다. 生體內에서 가장 重要한 役割을 하는 이 物質이 K^+ 의 경우와 같이 添加物質에 對해서 銳敏한 流出反應을 보여 줌은 興味 깊다(Fig. 14).

260 $m\mu$ 吸收物質의 流出을 보려는 uracil만이 抑制作用은 하였는데, uracil와 같은 pyrimidine base가 膜에 對하여 어떠한 機作으로 作用하는지 關心이 集中되며, 혹시 再吸收를 도우는 것인지도 모른다(Fig. 15).

高温에 對한 生殘率(Fraction survival)을 보려는 60°C, 2分間熱處理區에서 보다는 70°C 2分間處理區에서 오히려 더 높다(Fig. 16). 이것은 Stephen(1967)이 指摘한바와 같이 ribosomal RNA의 生合成만 可能하다면 增殖이 된다는 報告로 보아 RNA 合成速度가 70°C에서 促進된 것이 아닌가 생각한다. 營養培地의 前處理 및 後處理結果는 모두 生殘

率을 높였으며 특히 後處理의 效果가 컸다. 이 점은 熱損傷을 받은 細胞의 復活 및 恢復作用이 營養補給을 받으므로 可能하다는 것을 立證하는 것이다. 生殘率의 測定方法은 plate agar上的 viable count에 依하였으며, Kaufmann(1959)이 指摘한 酵母懸濁液의 酵母의 密度의 影響을 考慮하여 묽은 懸濁液으로써 實施하였으며, 60°C와 70°C와의 生殘率의 差異는 實驗誤차가 아님을 強調한다.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 70°C, 15分間熱處理區의 生殘率이 60°C, 15分間의 熱處理區와 共히 7%이며, Fig. 16과 같이 70°C 2分間熱處理區에서 오히려 60°C, 2分間熱處理區보다 높은 것은 70°C熱處理區에서 莫大한 量의 細胞物質이 流出되어 나오는 事實과는 對照적이다. 이 現象을 考察하건던 透過性의 異常現象과 細胞의 增殖現象이 直結되어있지 않는 別個의 作用임을 알 수 있다. Stephen(1967)이 指摘한 ribosomal RNA의 合成酵素群의 固有의 耐熱性이 熱損傷의 criteria point를 支配할지도 모른다. 한편 營養分의 後處理에 의하여 再生(또는 修復)이 促進된다는 것은 膜透過程에 있어서 再吸收가 可能하였다는 것을 意味하며 細胞物質의 efflux 보다는 그 뒤에 따르는 influx의 能力 即 再吸收能力에 의하여 細胞의 活性과 再生能力이 評價되어야 한다고 생각 한다.

위와 같은 實驗結果들을 考察하건던 細胞內部의 代謝生理에만 偏重하던 從前까지의 視野를 좀더 넓혀서 細胞와 環境과의 eco-system이라는 面에서 物質出入의 重要性에 關心을 두고 細胞의 生理를 考察하여야 할 것이다. 即 微生物細胞에 對하여 營養物質이나 藥物을 單純히 投與 또는 添加하였다는 事實 보다는 細胞에 依하여 어떻게 또 어느 만큼 그 物質이 吸收되었느냐 하는 問題와 그와 連累하여 隨伴되는 다른 物質의 吸收等を 考慮하여야 할 것이다. 이와 같은 細胞內部物質의 流出(efflux)과 營養物質 또는 藥

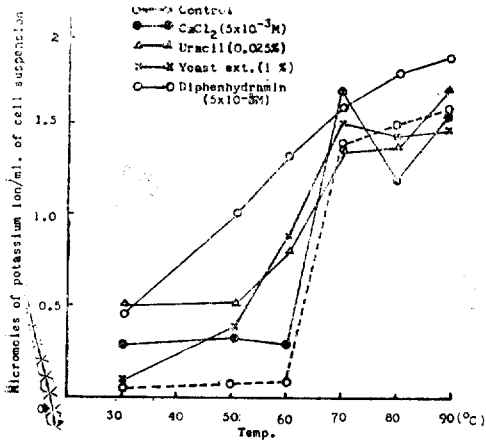


Fig. 11. The release of potassium ion from the heat shocked yeast cell at high temperature (for 2 mins.).

Remark: 1. Estimation of the amount of potassium ion are compared to developed colorer of cobalt nitrate.
2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

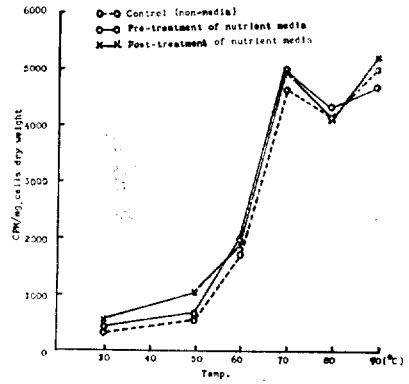


Fig. 12. The release of potassium ion (K^{42}) from the heat shocked yeast cell at high temperature (for 2 mins.).

Remark: 1. K^{42} (β, γ) were measured with scintillation counter.
2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

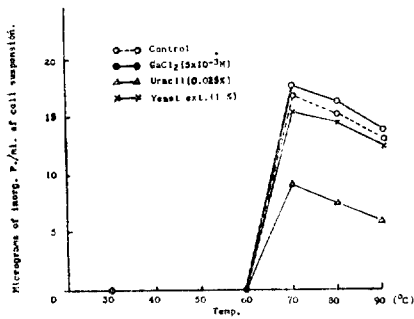


Fig. 13. The release of inorganic phosphate from the heat shocked yeast cell at high temperature (for 2 mins.).

Remark: 1. The color reaction was held by the method of Martin-Dorty's.
2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

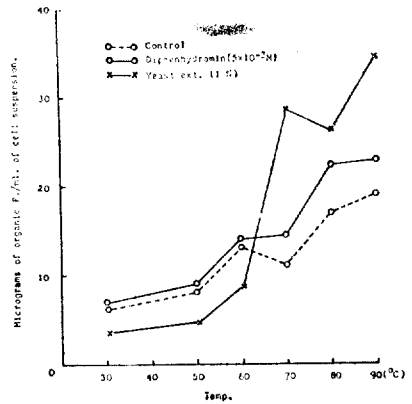


Fig. 14. The release of organic phosphate from the heat shocked yeast cell at high temperature (for 2 mins.).

Remark: 1. The color reaction was held by the method of Martin-Dorty's.
2. Dry weight of yeast cells in one ml of suspension is equivalent to 17.1 mg.

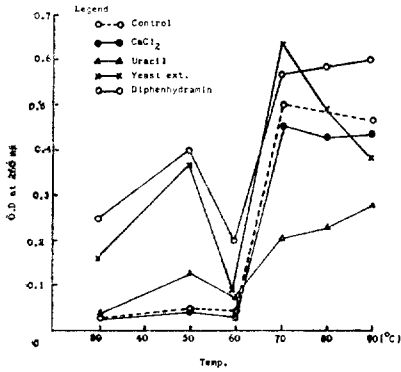


Fig. 15. The release of 260 mμ absorbing material from yeast cell for 2 mins. heat shocking at high temperature.

物の 流入(influx)過程을 兩面에서 dynamic 하게 다루워야만 細胞의 生活作用을 올바르게 把握 할수 있을 것이다.

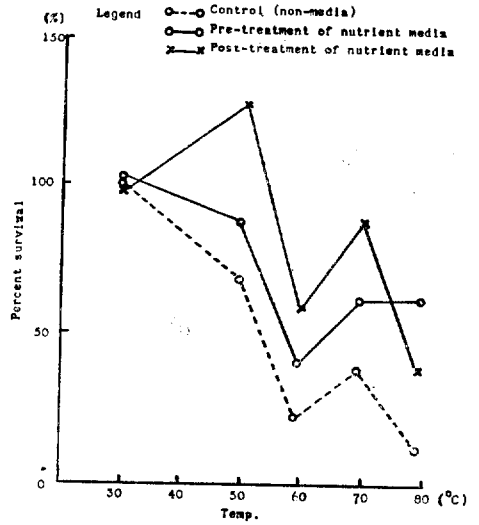


Fig. 16. Effects of heat shocking for 2 mins. on the surviving action of yeast.

摘 要

酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)의 細胞에 熱處理(80°C 以下)를 實施하여 細胞內物質의 透過性을 實驗하였다. 熱處理의 影響을 fraction survival 로서 評價하고, 營養物質의 處理效果를 細胞膜의 再吸收面에서 檢討 하였다.

熱處理後에 酵母細胞에 uracil, yeast ext., calcium chloride 및 diphenhydramin 을 作用시켜 透過性의 變動을 實驗하고 細胞의 熱傷機作을 透過성과 關係지어 考察 하였다.

研究結果는 다음과 같이 要約 된다.

1. 酵母細胞에 있어서 70°C, 15分間의 熱處理結果 總炭水化合物이 control 보다 40倍以上, 五炭糖 및 그 化合物은 20倍以上, total amino acid 는 40倍以上, K⁺ 은 0.22 micromoles/ml/17.1 mg 까지, 無機磷酸化合物 및 有機磷酸化合物은 10倍以上, 260 mμ 吸收物質은 O.D. 0.65/ml/17.1/mg 까지 流出되어 나왔다. 따라서 溫度變化에 따라서 膜透過性이 甚大하게 變化함을 알았다.

2. 酵母細胞의 生殘率에 미치는 熱處理의 影響에 있어서 60°C, 15分間의 區와 70°C, 15分間의 區사이에는 共히 差異가 없었다. 한편 60°C, 2分間, 과 70°C, 2分間의 處理區에 있어서는 오히려 70°C, 2分間의 區에 있어서 生殘率이 높았다. 따라서 熱處理에 依한 膜透過性의 變化와 致死作用과의 사이에는 比例的인 關聯性이 없음을 알았다. 卽 兩者는 獨立된 pattern 에 屬함을 알았다.

3. 總炭水化合物, 五炭糖化合物, 總 amino acid, 無機磷酸化合物 및 260 mμ 吸收物質의 熱損傷에 依한 efflux 에 對하여 uracil 은 많은 抑制效果를 보여 주었다.

4. K⁺ (K⁴²)의 熱處理로 因한 efflux 에 對해서는 使用된 어떠한 藥品이나 또는 營養物質도 抑制效果를 나타내지 못하였다. 卽 K⁺ 은 透過性에 있어서 가장 敏感하며 transport 의 行動樣式이 特異 하고 旺盛하다.

5. 熱處理를 받은 酵母細胞의 生殘率은 營養物質의 供給에 依하여 增加한다. 이 것은 70°C, 2分間의 熱損傷에 對해서도 膜의 再吸收能力이 어느 程度 保全되었음을 示唆하며, 營養物質이 一旦 吸收될수 있다면은 細胞의 恢復과 增殖은 可能함을 알수 있다. 또한 이것은 增殖系의 機能이 70°C, 2分間의 熱處理에서도 完全히 破壞되지 않았음을 立證하는 것이다.

REFERENCES

1. Billen, D., 1953. Post-irradiation release of ATP from *E. coli* B/r., *Arch. Biochem. Biophys.*, **43**, 1-10.
2. Cook, A. H., 1958. Importance of external factors to yeasts, p. 84-91. The chemistry and biology of yeasts, Acad. Press, N.Y.
3. Giese, A.C., 1968. Temperature as factor in the cell environment, p. 235. Cell physiology, Saunder's Co.
4. Heilbrunn, L.V., 1954. Heat death, *Scientific American*, **190** (1) p. 70.
5. Kaufmann, O.W. *et al.*, 1959. Effect of heat treatment on the growth of surviving cells, *Jour. Bacteriol.*, **78**, 834-738.
6. Kim, J. H., *et al.*, 1968. Studies on the membrane permeability changes and leakage of cellular constituents of gamma-irradiated yeast cell, *Kor. Jour. Microbiol.*, **6**, 54-62.
7. Lewis, M., and D. Stephanopoulos, 1967. Glucose induced release of amino acids from *Sacch. carls-bergensis* by action of the cytoplasmic membrane, *Jour. Bacteriol.*, **93**, 976-984.
8. Myers, D., and T. Karazin, 1968. Comparison of the effects of radiation on the cell membrane and on the reproductive survival of yeast, *Radiation Research*, **35**, 612-621.
9. Prosser, C.L. (ed.) 1967. Molecular mechanisms of temperature adaptation (original), Temperature as a factor in the cell environment. (ed.) Giese, A.C., Cell physiology (1968), W.B. Saunders Co.
10. Vladimir SRB, 1964. Immediate and short term changes in cell permeability after X-irradiation, *Radiation Research*, **21**, 86-90.
11. Spoel, E., *et al.*, 1964. Permeability changes in yeast cells after X-irradiation and starvation, *Radiation Research*, **21**, 308-313.
12. Stephanopoulos, D., and M. J. Lewis, 1968. Release of phosphate by fermenting brewer's yeast, *Jour. Inst. Brew.*, **74**, 378-383, London.
13. Stephen J. S., and Z. J. Ordal, 1967. Regeneration of ribosomes and ribosomal ribonucleic acid during repair of thermal injury to *Staph. aureus*, *Jour. Bacteriol.*, **94**, 1082-1087.