

X-線照射에 의한 細胞內酵素分子의 不活性化에 관한 研究

李 尙 馥

I. 緒 論

X-線照射에 의한 生體의 障害現象은 X-線發見直後(1896年初)부터 알려졌고, 그後 그臨床의利用率이 높아져 감에 따라서, X-線診斷 및 治療患者, 그밖의 職業上的 X-線被曝者에 관한 經驗이 쌓이고, 無數한 生物學的 實驗이 進行되어 온 結果 現在, X-線照射에 의한 生體障害의 大體的인 樣相과 種類, 특히 그 照射線量과 障害程度와의 關聯等 生物學的作用이 많이 밝혀졌다^{6, 9, 11, 13, 16, 28, 37}. 그러나 그러한 X-線の 生體에 미치는 基礎的인 細胞內的 作用機構에 관해서는 아직도 解明되지 않은바가 많다. 脊椎動物의 全身照射時, 그 致死量은 100~1000R 범위인데^{9, 26}, 이때, 그 X-線照射에 의한 放射線에너지가, 照射된 生體組織의 細胞內物質에 吸收되어, 單純히 熱에너지만으로 消費된다고 보기에는 그 吸收량이 너무 微小하여 個體의 致死를 招來한다고 理解할 수가 없다³⁹. 따라서 그러한 物理의 一次現象에 續發하는 生化學的變化 또는 生物學的 增幅效果에 의해서 個體의 致死를 이끄는 것이라고 解釋되어야 한다. 放射線에너지가 生體에 흡수되어, 그 生體조직의 原子 및 分子의 電離(ionization) 및 勵起(excitation)를 이르고, 그러한 物理的過程의 變化로 생기는 여러 活性遊離基, 中間生成物에 의한 複雑한 化學的變化가 細胞內巨分子의 多樣한 物理化學的變化를 이르고, 그 化學的 및 物理化學的인 變化가 다시 生體의 代謝過程과 生理的調節機能에 영향을 미쳐, 그후, 끝내는 構造的인 可視變化를 보이는 病理學的 장애를 초래하고, 심한 경우, 細胞의 壞死 내지는 致死效果마저 招來하게 된다고 볼 수 있다^{4, 5, 6, 24, 25}.

이러한 生體에 대한 X-線の 作用은, 標的理論^{14, 24, 27, 30-32}에 따르면, 照射에 의해서 電離된 分子가 細胞內的 放射線에 敏感한 特定構造(가령 蛋白分子나 核酸

分子등)에 생겨, 그 기능을 파괴시킴으로서 일어나는 것이라고 보고 있다²⁵. 照射된 X-線の 一定線량이 生體內的 特定한 放射線感受域(가령, 酵素分子內외의 一定한 領域)에 通過 또는 吸收될때, 그곳에 한 標的(target)이 있게 되고 이러한 標的反應(hit reaction)은 量子의 性格을 띠다고 보고 있는 것이다. 이 標的反應은 放射線感受域 내지는 細胞全體의 기능에 決定的인 打撃을 주는 事件으로서 그것을 hit 라고 한다. 이때 한쌍의 電離, 또는 E. C. Pollard³¹가 말하는 一次電離(primary ionization)가 일어나 그 細胞 또는 細胞內的 巨分子의 기능을 파괴할 때, 單一標的反應(one hit reaction)이라고 한다²⁵. 이러한 單一標的反應을 量的으로 處理하여, 線量作用率曲線의 指數函數型이 그에 相應하는 것이라고 解釋하고 있다. 그리고 그 細胞의 기능에 決定的인 役割을 갖는 標的反應이 어떠한 細胞內的 特定構造, 또는 放射線感受域에서 일어나는 것인지에 관해서도 學者에 따라서 意見이 紛紛하여 혹은 遺傳子, 細胞膜으로 보기도 하고, 혹은 細胞內巨分子, 특히 酵素蛋白質이나, DNA 등 核酸分子로 看做하기도 하였다²⁵.

本論文은 X-線照射에 의한 細胞內的 蛋白質 특히 特定酵素分子의 不活性化過程이 바로 이와같은 單一標的反應으로 解釋되는 것인지, 또는 다른 修正이 必要한 것인지 밝히고 아울러 不活化에 必要한 X-線の 照射線량을 決定함으로써 細胞內的 酵素分子의 放射線感受성이 그 細胞의 기능에 決定的인 打撃을 주는 基本障害인지를 검토해 보고자 하는 것이다. 여기서는 特定酵素分子로서 glutamic acid dehydrogenase(이하 GADH로 약칭)와 glucose-6-phosphate dehydrogenase(이하 G-6-P DH로 약칭)의 두 酵素를 이용하고, 그 두分子의 X-線照射에 의한 細胞內不活性化線량을 근거로 그 酵素들의 不活性化過程에 있어서의 上述한 문제點을 검토하였다.

II. 材料 및 方法

① 材 料

西獨 푸랑크푸르트市的 막스·프랑크生物物理學研究所에

* 서울大學校 醫科大學 神經科教室

* Department of Neurology College of Medicine, Seoul National University

서 標準食餌로 飼育한 生後 3~4個月된 平均體重 20~25인 생쥐에 滅菌條件下에서 푸랑크푸르트의 웨스트製藥會社서 育種한 에리히腹水癌細胞(Ehrlich ascites tumor cell, 이하 EAT細胞로 약칭)를 腹腔內注入시켜, 腹水癌을 만들고 注入後 2週만에 생쥐를 죽여 實驗에 利用하였다.

② 細胞懸濁液

생쥐 腹腔에서 採取한 EAT-細胞集團溶液을 Krebs-Ringer 溶液(以下 K-R 용액으로 약칭)에 희석시켜 2분간씩 3번 遠心沈澱시킨後, 그沈澱物을 다시 15分間 每分當 600回 回轉하는 遠心沈澱器(Junior I Centrifuge)로 沈澱시켜 그 세포檢體物을 실험에 使用하였다. 이 세포沈澱物은 EAT-세포沈澱物 이외에도, 그 세포 사이에 25% K-R 용액을 포함하고 있었는데, K-R 용액의 成分은 다음과 같다.

0.90%, 0.15mNaCl; 1.15%, 0.154mKCl; 1.22%, 0.01m CaCl₂; 2.11% 0.154mKH₂PO₄; 3.82%MgSO₄·2H₂O; 1.30% NaHCO₃; 0.1m phosphate 緩衝液(buffer solution), pH, 7.4. 1g의 上記 EAT-細胞檢體物은 약 5.10 細胞를 포함하고 있었고, EAT-細胞의 平均直徑은 15~16μ 이었다.

③ 放射線照射조건

放射線(X-線) 照射裝置로는 B. Rajewsky 및 O. Heuse¹³⁾가 考察·제작한 高性能 X-線照射器 제2型(Hoch-Leistungsröntgenröhre I nach Rajewsky und Heuse)을 使用하였다. X-線은 65KV 및 1 Amp의 조건하에서 照射하였고, 이때 12mm 떨어진 곳에서의 線量은 580KV/min(誤差 ±3%)였다. 照射時 使用한 細胞懸濁液의 容器는 3cm 直徑과 1cm 높이의 알미늄容器였고 그안에 약 3mm 두께의 EAT-세포를 담았다. 照射時 容器주위의 空氣는 窒素였다 그때 溫度는 4°C였다. 上記 高性能 X-線照射器는 照射時間을 最大限으로 단축시켜, 全實驗操作過程에서 생길 수 있는 二次的인 酵素의 不活性化를 可能한 限, 최대한으로 막는 利點이 있다.

④ X-線照射後 細胞處理

照射後 細胞懸濁液을 5ml 蒸溜水로 희석하고 그 희석된 세포沈澱物을 液化空氣冷凍法으로 4번 반복 冷凍시키는 조작으로 파괴시켜 細胞均質液(cellhomogenate)을 만들었다. 이 細胞均質液을 triethanolamine-hydrochloride buffer (以下로 TRA-B 약칭)로 희석하여, 各 酵素活性度測定에 適合한 pH 濃度의 稀釋溶液으로 만들었다.

⑤ 酵素活性度測定

酵素活性度測定은 O. Warburg 등이^{14, 15)} 提示한 光學方法에 따랐다. 酵素의 活性度는 溫度變化와 pH 濃度에 매우 예민함으로 活性度 測定期間中 溫度調節計(Thermomix-I, Fa B. Braun)로 25°C±0.1°C로 一定하게 恒溫을 유지시켰고 pH 濃도는 TRA-B와 1NHCl로 各酵素에 最適 pH 溫度로 調節하였으며, 또 活性度測定에 影響을 미치는 細胞均質液內의 重金屬粒子는 ethylendiamine tetraacetate-disodium salt(이하 Trilon으로 약칭)로 포착하였고, 各酵素의 活性度測定에는 다음과 같은 成分을 化學反應溶液으로 配合시켜 酵素活性度를 에펜돌프光學計(Eppendorf-photometer)로 測定하였다¹⁶⁾.

(가) GADH: 1.5ml 1/5m-TRA-B, pH 8.0; 0.5ml EAT-세포均質液, 0.05ml, 1.10⁻²m nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form(이하 NADH로 약칭), 0.05ml ammonium acetate; 0.05ml 1/2mα-ketoglutaric acid(이하 KG로 약칭)

(나) G-6-PDH: 1.5ml, 1/5m TRA-B, pH 8.0; 0.5ml EAT-細胞均質, 0.1ml, 1.10⁻²m nicotine amide adeninedinucleotide phosphate(이하 NADP로 약칭), 0.05ml, 1m MgSO₄; 0.05ml, 1/10m glucose-6-phosphate-sodium salt(이하 G-6-P-Na로 약칭). 이 G-6-PDH의 酵素活性度決定은 NADP의 時間的 濃度增加를 測定함으로써 이루어졌고, GADH는 NADH의 時間的 濃度減少를 測定함으로써 이루어졌다. 그때 위 조건하에서 NADP의 濃度증가 및 NADH의 濃度減少는 各各 G-6-PDH 및 GADH의 酵素活性度の 變化와 比例한다.

NADP 및 NADH의 濃度變化는 에펜돌프光學計를 366mμ의 波長에 맞추어 測定하였다.

本實驗에 使用한 試藥中, NADH, NADP, G-6-PNa, KG 등은 西獨 만하임(Mannheim-Waldhof)의 Boehringer 製藥會社의 製品이고, Trilon, ammonium acetate 등은 西獨 다름슈타트(Warnstadt)에 있는 E. Merck 製藥會社의 製품을 직접 使用하였다. 다른 溶液은 蒸溜水로 Merck 분말製품을 희석하여 使用하였다. NADP 및 NADH의 pH-調整은 1/15m NaHPO₄·2H₂O로 하였다. 모든 上記 試藥들은 2~4°C에 貯藏하고, 日光을 쬐이지 않도록 하였고, 試藥製造後 10日 以上 使用하지 않았다.

Ⅲ. 結 果

GADH 및 G6-PDH 등 두 細胞內酵素分子를 上記方法

에 의하여,攝氏4度,窒素 雰圍氣下에서 X-線照射하여,그 酵素들의 不活性化를 測定하고,그 測定值을 照射한 放射線의 線量의 函數로 表示하면 Fig.1과 Fig.2가 된다. 이 圖表는 照射線量을 MR을 單位로 橫軸에 表示하고, 酵素의 不活性化 즉 殘存活性率을 百分率로 縱軸에 표시하여 片對數圖表로 보인 線量-作用率曲線 (dose-activity curve 또는 dose-effect curve)이다. 曲線上에는 平均值的 標準偏差의 범위도 明示하였다. 本結果에서 모이는 線量-作用率曲線의 誤差는 試藥定量測定過程에서 $\pm 3\%$, 測定時의 周圍溫度變化幅인 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 및 光學計值目測誤差 $\pm 5\%$ 에서 由來하였다

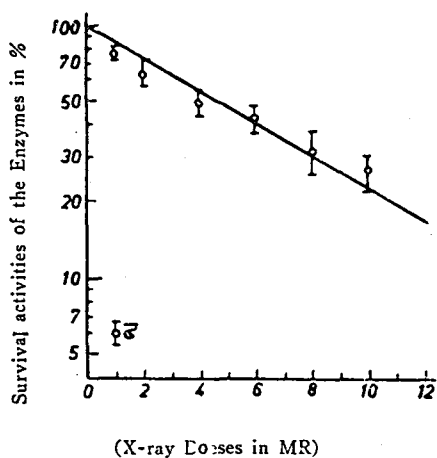


Fig. 1. dose-effect curve which reveals the inactivation of GADH in EAT-cell by X-ray irradiation (4°C. N₂-gas atmosphere)

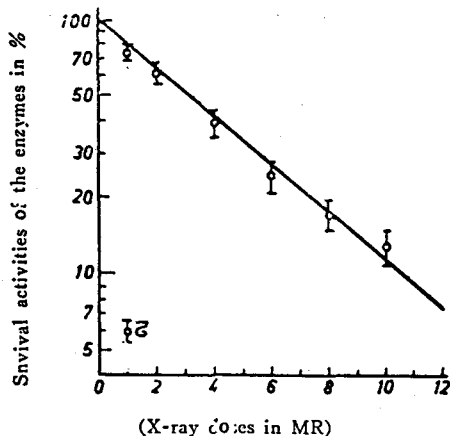


Fig. 2. dose-effect curve which reveals of G-6-PDH in EAT-cell by X-ray irradiation (4°C, N₂-gas atmosphere)

고 보겠다²⁵. 이 誤差범위는 그림 1과 2서 表示한 σ 值와도 잘 一致하는 것이다.

Fig.1와 Fig.2에서 보이는 GADH 및 G-6-PDH의 線量-作用率曲線은 指數函數型인 直線이다. 이 指數函數型의 線量-作用率曲線은 標的理論에 따르면 單一標的 反應을 나타낸다^{14, 23, 24, 25}. 이것은 酵素分子的 放射線感受域內에 平均 100eV의 吸收放射線에너지가 단 한번이라도 中하면, 그 酵素分子를 不活性化한다는 것을 示唆해 준다. 線量 D 를 100eV/cm²로 表示하고 酵素分子的 殘存活性率을 S 라고 하면, 上記曲線은

$$S = e^{-\alpha D} \quad (1)$$

로 表示된다. 이때 殘存活性率 S 는 放射線線量 D 를 照射받은 후 不活性化되지 않은 殘存活性의 酵素分子的 數(N)를 放射線에 의하여 照射된 全酵素分子的 數(N_0)로 나눈 N/N_0 이고, α 는 그 酵素의 放射性感受性에 依存하는 作用係數로서 cm²/100eV로 表示되어 標的理論에 따르면 放射線感受域 (radiation sensitive area)을 나타낸다. 그러나 一般으로 α 는 線量과 殘存活性率의 函數로서 不活性化係數 또는 不活性化斷面積 (inactivation cross section)이라고도 불리고, 이 α 의 逆數를 D_0 로 表示하고, 不活性化線量 (inactivation dose)이라고 부른다. 이때

$$S = e^{-\alpha D} = e^{-D/D_0} \quad (2)$$

式 (2)서 $D=D_0$ 가 되면, 卽 實際 照射한 線量과 不活性化線量이 같으면

$$S = e^{-1} = 0.3678 \dots \approx 0.37 \quad (3)$$

이 된다. 그러므로 平均致死線量 (mean Lethal dose)은 “ e^{-1} 線量” (元來의 酵素活性의 e^{-1} 로 減少시키는데 필요한 線量) 또는 “37% 生存率線量” (D_{37})이라고도 한다. e^{-1} 線量 즉 D_{37} 은 上記 線量-作用率曲線에서 쉽게 얻을 수 있다. Fig.1과 Fig.2에서 얻은 GADH 및 G-6-PDH의 e^{-1} 線量 또는 不活性化線量을 표시하면 Table 1과 같다.

Table 1. Inactivation-doses of the GADH and G-6-PDH by X-ray irradiation (4°C, N₂-gas atmosphere) error $\pm 5\%$

enzyme	D_{37} : Inactivation Dose (Unit:R)
GADH	$6.5 \cdot 10^8$
G-6-PDH	$5.0 \cdot 10^8$

Table 1에서 보는바와 같이 두 酵素分子的 不活性化線量은 $6.5 \cdot 10^8\text{R}$ 및 $5.0 \cdot 10^8\text{R}$ 이다. 著者의 다른 6개의 酵素에 對한 實驗值도 그 不活性化線량이 $3.2 \cdot 10^8 \sim$

6.0·10⁶R 사이에 놓여 있어서 大體로 一致하는 값을 보여주고 있다²⁰. 이것은 脊椎動物을 全身照射時의 致死量(LD₅₀)이 10⁶R의 單位인 것에 견주어 볼 때, X-線照射에 對한 細胞內의 酵素分子의 높은 抵抗性, 또는 耐性이 큰것을 示唆해주고 있다. 따라서 放射線에 의한 細胞內의 酵素的 不活性化自體가 그 放射線에 의한 細胞의 壞死, 乃至는 個體의 死亡을 招來하는 基礎的장애, 또는 一次的인 原因이 아님을 明白히 해주는 것이다²⁵.

式(1)에서 不活性化斷面積 또는 放射線感受域을 算出해 보면 Table 2와 같다.

Table 2. Radiation sensitive area (inactivation cross section) of the GADH and G-6-PDH by X-ray irradiation

enzyme	radiation sensitive areas (Unit: cm ²)
GADH	12.75·10 ⁻¹⁹
G-6-PDH	3.18·10 ⁻¹⁹

Table 2에서 보이는 酵素分子의 放射線感受域은 各已 12.75·10⁻¹⁹ 및 3.18·10⁻¹⁹cm²로서 著者의 다른 6개의 酵素分子에 대한 放射線感受域의 값들(2.84·10⁻¹⁹에서 4.95·10⁻¹⁹cm² 사이)과 비교할 때 大差없음을 보여주고 있다. 그런데 上記酵素의 分子量은 34,000에서 1,000,00사이에 놓여 있었다. 最少分子量을 갖인 phosphoglycerate kinase의 分子量 34,000와 GADH의 分子量 1,000,000 사이에는 約 30배의 엄청난 차이가 있었는데 불구하고, 上記酵素들의 不活性化線량은 10⁶R의 單位에 놓여 있었고, 그 放射線感受域은 大體로 10⁻¹⁹cm²의 單位로 거의 一定한 값을 보여주고 있음은 注目할 일이다. 그것은 放射線感受域이 酵素分子의 大小에 不拘하고, 거의 一定한 感受域을 갖는다는 것이며 그 根底에는 어느 共通的인 不活性化機構가 깔려 있을 수 있다는 것을 암시하는 것으로 볼 수 있다. 그렇 한 同一하거나, 또는 類似한 不活化機構 乃至는 過程으로 해서 不活性化線량 또한 分子量의 커다란 相異에도 不拘하고 生體로 一定한 값을 보여준다고 보겠다.

IV. 考 按

上記한바와 같이, GADH 및 G-6-PDH의 X-線照射에 의한 不活性化過程은 모두 指數函數型的 線量-作用率曲線을 보여주고 있다. 그 酵素的 不活性化線량은 6.5·10⁶ 및 5.0·10⁶R이다. 이 結果는 著者가 發表한 다른 6個酵素에 있어서의 實驗值²⁰와 Barron,¹⁹ Pauly²¹

및 Hutchinson^{20,21} 등의 보고와도 大體로 一致하는 것이다.

指數函數型的 線量-作用率曲線은 標的學說에 따르면 單一標的反應을 나타내는 것이다. 그러나 T. A. Hall¹⁷은 指數函數型的 線量-作用率曲線이 반드시 單一標的反應만을 의미하는 것은 아니라고 말하고, 多數標的反應(multi-hit reaction)이라도 그 照射된 조직의 放射線感受域이 適切하게만 分布되어 있다고 가정한다면, 그 多數標的反應의 蓄積效果에 의해서도 나타날 수 있다고 주장하고 있다. H. Langendorff²²와 S. Benzer²³도 相異한 조직의 放射線不活性化過程의 混合이 경우에 따라서는 單一조직의 單一標的反應을 暗示하는 指數函數型的 線量-作用率曲線을 보여 줄 수 있다고 말하고 있다.

Dittrich¹⁵도 그 可能性을 理論的으로는 是認하고 있으나, 그러한 可能性은 自然的인 조직의 分布와 數에 매우 어긋나는 放射線感受域의 數와 分布를 가정하는 것이므로 實際로는 있기 어려운, 아니 있을 수 없는 것이라고 강조하고 있다. Hall¹⁷도 照射된 조직의 放射線感受域이 指數函數型으로 分布되어 있는 경우에만, 그러한 일이 있을 수 있는 것이므로 現實的으로는 不可能하고, 따라서 문제시 되지 않는다고 말하고 있다. 本 실험에서 照射한 세포내의 酵素分子에 있어서, 그와같은 可能性은 더구나 實驗材料인 생체가 同一年齡群이고 同一育種群이며, 同一條件下에서 실험한 것이므로 무시해도 된다고 볼 수 있다. 그러므로 위 結果에서 보여주는 指數函數型的 線量-作用率曲線은 單一標的反應에 의한다고 解釋하지 않을 수 없다.

그러한 單一標的反應이라고 할 때, X-線照射에 의한 上記 酵素的 不活性化過程에 있어서 어떠한 反應이 일어나는 것인가? 標的反應이란 X-線照射에 의해서, 酵素分子자체건, 또는 그 分子周邊의 放射線感受域內의 에너지 擔保者와의 충돌로 인한 間接作用에 의하건 그 分子의 化學的性質의 變化, 즉 여기서는 酵素機能의 喪失을 말한다. X-線照射時酵素分子內, 또는 그 周邊의 放射線感受域內에 하나, 또는 여러개의 電離現象이 일어나는데, 平均 3개의 電離가 매우 밀접해서 나타나는 것은 C. T. R Wilson 등에 의해서 밝혀진바 있다²⁴. 따라서 한 酵素分子內에는 대략 110eV의 에너지가 흡수되고, 이 흡수된 에너지가 그 酵素分子의 化學的變化, 내지는 不活性化를 招來한다고 볼 수 있다. 한 酵素分子는 보통 100개이상의 아미노酸을 함유하고 있지만, 그중 酵素기능에 직접참여하는 것은 그 酵素分子의 表面에 있는 매우 少數의 아미노酸에 불과하며, 그 分子의 二次 및 三次構造와 관계되고 있다. Alexander 및

Charlesby^{1,2)}는 吸收에너지가 C-C 連鎖上을 대략 12C 原子以上은 전파하지 않는다고 보고 하고, 있고, Alexander 등³⁾ 및 Ray 등^{3b)} 과 그밖의 학자들²⁵⁾ 의 연구로는 酵素分子的 기능에 중요한 S-S 結合이 放射線照射에 매우 銳敏하고, 따라서 끊어지기 쉬운 結合인 것으로 밝혀져 있다. 그러므로 X-線照射에 의해서 酵素分子에 吸收된 에너지가 covalent 結合의 連鎖上을 傳播하는 途中, 가령 S-S 結合등 放射性感受성이 높은 銳敏한 結合에 이르러, 그 結合을 끊어버려, 그 結果 酵素分子的 不活性化를 가져온다고 생각할 수 있다. 그런데 Platzman 등²⁶⁾ 은 다른 不活性化過程의 可能性을 提示하고 있다. 그는 放射線照射에 의해 照射받은 分子內의 갑작스러운 電離現象이 생기고, 그로 인한 荷電이 H-結合등 여러 弱한 極性結合(polar binding)을 分解하고, 그 결과 分子의 二次構造가 파괴되어 不活性化될 수 있다고 보고 있다. 그러나, Hutchinson²⁷⁾ 은 照射된 放射線의 종류에 不拘하고 放射線感受域이 一定하다는 事實을 강조하고 따라서, H-結合의 分解에 의한 不活性化過程은 중요한 것이 아니라고 말하고 있다. 그것은 만일 H-結合에 의한 不活性化過程이 중요하다면, 電離現象이 보다 많이 생기는 그런 종류의 放射線照射에서는 H-結合의 分解可能性이 높고, 따라서 感受域도 달라질 것이기 때문이다. Augenstine²⁸⁾ 에 의하면 S-S 結合과 H-結合을 分解하는데 各各 1eV 및 0.2eV 의 에너지가 필요하다. 그러므로 理論적으로는 그 정도의 에너지 吸收로 이미 酵素分子的 不活性化를 招來한다고 말할 수 있을지 모른다. 그러나 Hutchinson¹⁹⁾ 의 연구는 2.2eV 의 에너지 吸收에 의한 蛋白分子的 不活性化의 可能性은 매우 적음을 示唆하고 있고, 10~12eV 의 에너지 吸收에서 비로소 현저하게 不活性化가 增大됨을 밝히고 있다. 이것은 空氣中에 한쌍의 電離現象을 일으키는데 필요한 평균에너지인 34eV 보다는 적은 값이다. 그런데, 特殊한 蛋白分子에서 약 30eV 의 에너지가 그 分子內에 吸收되어서 만은 그 分子를 不活性化하는데 充分하지 않다는 보고가 있다²²⁾. 따라서 Pollard 등³¹⁾ 은 C. T. R. Wilson³⁶⁾ 이 밝힌 3쌍의 電離가 空間적으로 密集해서 일어나는 것을 감안하고 여러가지 실험적 및 理論的 뒷받침에서, 100eV 의 에너지 吸收를 單一標的反應의 必要하고도 充分한 요건으로 보았다. 單一標的反應에서 吸收된 100eV 는 위의 S-S 結合등을 分解하는데 필요한 에너지와 비교할때, 매우크고, 또 分子를 100,000 인 巨分子는 大約 10,000개의 化學結合을 하고 있는데 그중 그分子的 不活性化에 중요한 結合은 매우 적으며, 또 吸收된 에너지가 分子內의 化學結合의 連鎖上을 傳

播하여 감으로, 分子中, 그 어느곳이고 100eV 만 에너지를 吸收하면, 分子를 不活性化시키는 確率は 1이라고 보는 것이다.

以上 不活性化過程의 고찰과 實驗値에서 보인 指數函數型的 線量-作用率曲線으로 보아서, X-線照射에 의한 2~3개의 電離現象과 그로 인한 約 100eV 의 에너지의 吸收가 酵素分子를 不活性化시킨다고 볼수 있다.

V. 總括 및 結論

X-線照射에 의한 생쥐의 EAT 細胞中の GADH 와 G-6-PDH 의 不活性化過程을 고찰하였다. 上記細胞內酵素를 65kV, 1Amp 의 X-線照射器를 사용하여, 온도 4°C 질소까쓰공기중에서 線量 580KR/min(誤差 ±3%)로 照射하였다. 照射後 酵素의 活性度는 液化空氣冷凍法으로 細胞를 처리하여 細胞均質液을 만든 후 光學的方法으로 측정하였다. 이 酵素活性度測定值를 照射한 放射線의 線量の 函數로 表示한 線量-作用率曲線은 指數函數型이었고, 不活性化線量은 GADH 및 G-6-PDH 서 各各 6.5. 10⁶R 및 5.0. 10⁶R 이었다.

이 結果는 X-線照射에 의한 酵素分子的 不活性化過程이 單一標的反應이고 X-線의 全身照射에 의한 脊椎動物의 致死作用의 直接的인 原因 또는 그 基本障害가 細胞內의 酵素分子的 不活性化過程에 있는것이 아니고 그밖의 다른 生化學的 내지는 生物學的機構가 介在해 있음을 밝혀주고 있다.

酵素分子的 不活性化過程에서의 單一標的反應을 아울러 考察하였다.

References

- 1) Alexander, P. and Charlesby, A. : Energy transfer in macromolecules exposed to ionizing radiations. Nature 175, 578-579, (1954).
- 2) Alexander, P. and Charlesby, A. : Physico-chemical methods of against ionizations. Radiobiology Symposium 1954 (Z. M. Bacq & P. Alexander, eds.) Acad. Press, New York 49-59, (1955).
- 4) Adams GD: Physical principles in: Medical radiation biology (ed: Dalrymple et al) Philadelphia London, Toronto, W. B. Saunders, (1973).
- 5) Altman K. J.: Radiation Chemistry in: Medical radiation biology (ed: Dalrymple et al),

- Philadelphia, London. Trouto W. B, Saunders, (1973).
- 6) Arena. V; Ionizing radiation and life, St. Louis The C. V Mosby Co., (1971).
 - 7) Augenstine, L. G.: A proposed mechanism of protein inactivation. Symposium on Information Theory (H. P. Jockey; R. L. Plattzman & H. Quastler, eds.) Pergamon Press New York, 287-292, (1958)
 - 8) Augenstine, L. G. Garter, J. G. Nelson, D. R. and Yockey, H. P.: Radiation effects at the macromolecular level. Symposium on Bioenergetica (L. G. Augenstine, ed.) Acad. Press New York 1960, Rad. Res. Supp. 2. 19-48, (1960)
 - 9) Bacq. Z. M. and Alexander. P.; Fundamentals of Radiobiology, Pergamon Press London, (1961).
 - 10) Barron. E. S. G.: The effect of ionizing radiation on some system of biological importance Symposium on Radiology (ed; Nickson. J. J.) John Wiley & Sons. New York. 216-240, (1952)
 - 11) Behrens. C. F.; The ionizing radiations in Atomic medicine (ed; Behrens. C. F. et al.) 4th ed. Baltimore, Williams and Wikins Co., (1969).
 - 12) Benzer, S.: Resistence to ultraviolet light as an index to the reproduction of bacteriophage. J. bacteriol. 63 59-72. (1952)
 - 13) Casarett, P.; Radition biology. Eaglewood cliffs, New Jersey, Prentice-Hall, Inc., (1968).
 - 14) Dessauer. F.: über einige Wirkungen von Strahlen I. A. f. Physik 38-47, (1923).
 - 15) Dittich. W.: Treffermischkurven, Z. Naturf. 15b 261-266, (1960).
 - 16) Ellinger. F.: Fundamental biology of ionizing radiations. in Atomic medicine (ed.; Behrens, C. F. et al.) 4th ed. Baltimore, Williams & Wilkrng co., (1969).
 - 17) Hall. T. A.: The interpretation of exponential dose efect curves. Bull. Math. Biophys. 15 43-47, (1953).
 - 18) Heuse, O.: Eine neue Röntgenröhre hohe Leistung mit rotierender, wasser gekühlter Membrananode für strahlenbiologische Untersuchunegn. Z.F. agnew. Phytik. 7. 378-389, (1955).
 - 19) Hutchinson, R.: Energy requirements for the inactivation of bovine serum albumin by radiation. Rad. 1, 43-52, (1954).
 - 20) Hutchinson. F.; Rose. D. A.; Some kinetics of the indirect effect of ionizing radiation on aqueous solutions. Rad. Res. 10, 477-489, (1959).
 - 21) Hutchinson, F.: Radiation inactivation of molecules in cells. Amer. Nataralist 94. 59-70, (1960).
 - 22) Hutchinson. F.: Modifying factors in the inactivation of biological macromolecules. Rad. Res. Supp. 2 49-64, (1960).
 - 23) Langendorff. H. and Sommermeyer, K.; Strahlenwirkung auf Drosophilaeier IV. Die experimentelle Schädigungskurve und der biologische Zeitfaktor bei der Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Drosophilaeier. Strahlenther, 68, 42-52, (1940).
 - 24) Lea, D/E.: Action of radiations on living cells. 2nd ed. Cambridge Press., (1956).
 - 25) Lee, Sängbok: über die strahlenempfindlichkeit von Enzymen in der Zelle. Frankfurt. M. Dissertations-Schrift, (1964).
 - 26) Lee Songbok: Röntgeninaktivierung von Tumorzellen. (mit B-Rajewsky und H. Pauly; Tagungsbericht: Gemeinsame Tagung der Deutschen Gesellschaft für Bisophysik E. V., der Österreichischen Gesellschaft für reine und angewanate Biophysik und der Schweizerischen Gesellschaft für reine und angewante Biophysik und der Schweizerischen Gesellschaft für Strahlen biologie. Wien 14-16, September 193-195, (1964).
 - 27) Pauly, H. and Rajewsky, B.: Die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf den Zellstoffwechsel und auf Enzyme, Jahrbuch 1958 der Max Planck-Gesellschaft zur Förderuch der Wissenschaften e. v. 127-183, (1958).
 - 28) Pizzarello, D. J.: Basic radiation biology. Philadelphia, Leaand Febiger, (1970).
 - 29) Platzman, R. L.: Frank, J.: A Physical mechanism for the inactivation of proteins by ionizing radiation. Symp. Information theory (Jockey, H. F. et al eds.) Pergamon Press 262-

275 (1958)

- 30) Pollard, E. C., Powell, W. F. and Reaume, S. H. : The Physical inactivation of invertase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 38. 173-180, (1953).
- 31) Pollard, E. C. : Primary ionization as a test of molecular organization. *Adv. biol. med. Phys.* Vol. III, Acad. Press 153-189, (1953).
- 32) Pollard, E. C., Guild, W. R., Hutchinson, F. and Setlow. R. B. : The direct action of ionizing radiation on enzymes and antigens. *Prog. Biophys. biophys. Chemistry* 5. Pergamon Press, 72-108, (1955).
- 33) Ray, D. K., Hutchinson, F. and Lorowitz. H. J. : A connexion between S-S bond breakage and radiation inactivation by radiation of a dry enzyme. *Nature* 185 312-13, (1960).
- 34) Warburg, O. Christian, W. and Griese, A. *Wasserstoffübertragendes Co-Ferment, seine Zusammensetzung und Wirkungsweisen. Biochem. Z.* 282. 157-205, (1935).
- 35) Warburg, O. and Christian W. ; *Isolierung und Kristallisation des Gärungsferments Zymohe-xase, Biochem. Z.* 314 146-176, (1943).
- 36) Wilson, Investigation on X-ray and β -ray by the cloud method. I. X-rays. *Proc. Roy. Soci. A* 104-24, (1923).
- 37) Zeman, W. : The effects of atomic radiation in; *Pathology of the nervous system* (ed. J. Minckler) vol. I, New York Toronto, Sydney, London, McGraw-Hill Book Co. (1968).
- 38) 李尙馥 : 放射線の細胞内酵素分子에 미치는 間接作用에 關한 研究. *서울大學校 論文集, 醫藥系* 21, 37-55, (1974)

Abstract

Study on the inactivation of intracellular enzyme molecules by X-ray irradiation

Sangbok Lee M. D

*Department of Neurology, College of Medicine,
Seoul National University.*

Inactivation of the glutamic acid dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme-molecules in the Ehrlich ascites tumor cells of the mouse were studied.

The above mentioned intracellular enzymemolecules were irradiated by the X-ray radiation under the condition of 65 kV, 1 Amp. under the atmosphere of nitrogen gases and by 4°C. Thereby, irradiation doses were 580 KR/min (error: $\pm 3\%$).

After irradiation, the cell homogenates were prepared through liquid air techniques. There after, the activities of the enzymes were measured with photometric method given by O. Warburg and W. Christian.

The dose effect curves of the activities of the two enzymes by the X-ray irradiation showed both exponential and the inactivation doses were $6.5 \cdot 10^0$ and $5.0 \cdot 10^0$ R respectively.

These results showed one side that the inactivation process of the intracellular enzymemolecules was one hit reaction after target theory, and the other side that this inactivation process could not be the primary causes of the death through X-ray irradiation of the vertebrate animals, because of the high resistance of the intracellular protein molecules against X-ray irradiation.

The one hit reaction by the inactivation process of the irradiated intracellular enzymemolecules was discussed.