

Saccharomyces cerevisiae 의 物質代謝에 미치는 中性子の 影響

李 敏 載* · 權 五 溶**

(*서울大學校 · 文理大 **安東教育大學)

(1964. 11. 20. 受理)

ABSTRACT

Lee, Min Jai (Dept. of Botany, Seoul National Univ.) and Kwon, Oh Yong (Andong Teacher's College) Effects of neutron radiation on the metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. Kor. Jour. Bot. VII(4) : 9—14. 1964.

According to the results measured the respiratory quotient of *Saccharomyces cerevisiae* with neutron radiation by manometric direct method, the respiratory quotient of them was stimulated at the dose (7×10^8 N/cm²/sec) of neutron radiation for 60 seconds, and was inhibited in each group irradiated at the high dose (7×10^8 N/cm²/sec) of neutron. Its physiological effects influenced on neutron had relations with respiratory quotient, reproductive rate and fermentation in the curve of normal logarithmic phase. The multiple reactions which appeared in yeast, indicated that a great deal of physiological function were closely correlated with the irradiated dosage of neutron. The kinds of free amino acid in yeast irradiated with neutron were different from those of unirradiated yeast. The activity of dehydrogenase system accelerated the metabolic function of yeast irradiated at some low dose of neutron. By this results, it may demonstrate that the fact which the phenomena obtained in the stimulation of neutron possess its character for several generation, is dependent on the theory of mutation. Subsequently, it seemed reasonable certain dominant type of microorganisms.

緒 論

放射線이 生物體에 미치는 影響에 관하여 近來 많은 사람들에 依하여 研究되어 오고 있다. 各種의 放射線이 生物體의 組織物質을 透過하였을 때 거기에 이어나는 作用性은 放射線의 勵起 에너지가 生物體內에서 여러가지 化學的 變化를 일으킨다고 한다. 그것은 生物體를 構成하고 있는 物質의 要因 및 代謝物質의 分子, 鹽, 原子 等に 不活性化를 유발하게 되는 것이어서 結局 生物體의 生活作用은 크게 影響을 받게 되는 것이다. 그러나 生物體中 특히 微生物은 機能的으로 複雜性을 가진 有機體制이므로 放射線이 作用하는 過程이 대단히 複雜한 것이다.

많은 放射線 學者들은 간단한 Target-theory와 같은 過程으로 微生物이 不活性化 된다고 하였다. 그러나 微生物은 放射線의 障礙에 대하여 一様性 있는 反應을 나타내는 것이 많으나 때로는 適應現象을 나타내거나 또는 放射線의 照射에 依하여 얻어진 獲得現象이 持續되어 突然 變異가 이어나 物質代謝 過程에서 一定한 酵素系의 作用에 變化를 나타낸 다든가 또는 物質 變化에 대한 感染性도 各種各색으로 多樣性을 나타내는 것이 있다.

放射線中 X線과 감마線의 作用이 生物體에 미치는 影響에 대해서 많은 報文이 나와 있다. Rubenfeld (1962), Haber (1961)와 William (1961) 등은 감마線의 作用에 대해서 Isavey (1961)는 中性子 照射에 依한 生物學的 影響에 관한 것을 報告하였다. 우리나라에서도 近間 X線, 감마線, 熱中性子가 生物에 미치는 諸影響에 대해서 報告된 바 있으나 아직 生物의 物質代謝 過程에서 呼吸作用의 抑制과 刺戟에 따르는 機作에 關한 研究는 報告되어 있지 않다. Oster (1934), Giese (1942, 1947), Swanson (1947) 등은 *Saccharomyces*를 試料로 하여 紫外線이 呼吸作用에 미치는 障礙에 대한 報告란이 있을 程度이다.

이러한 見地에서 著者들은 *Saccharomyces cerevisiae* 를 材料로 하여 原子爐에서 放出되는 中性子 作用의 生理學的 考察을 試圖하여 弱한 Dosage 에 依한 菌株의 物質代謝에 미치는 酵素系의 活性化와 作用性을 究明하였다.

材料와 方法

實驗材料는 東洋麥酒株式會社에서 分離培養한 *Saccharomyces cerevisiae* 를 接種 實驗하였다.

Manometric measurement 로서는 Warburg direct-method 를 使用하였고 Enzyme activity 의 測定은 Keilin and Potter 의 方法으로써 하였다. 醱酵實驗은 Meissel 의 醱酵管으로써, 增殖率의 測定은 Colorimeter 로써, Amino 酸의 定性分析은 Moore and Stein 의 方法으로서 하였으며 中性子 照射는 原子爐에서 7×10^8 N/cm²/sec 와 7×10^6 N/cm²/sec 의 Dosage 에서 各 各 照射時間을 달리 하였다.

結 果

實驗 1. 各 照射 Dosage 에 依한 代謝作用에 미치는 呼吸의 影響

本 實驗에서 *Saccharomyces* 의 呼吸에 미치는 中性子 照射 Dosage (7×10^6 N/cm²/sec, 7×10^8 N/cm²/sec)에 依한 促進과 障害을 照射群別로 보던 다음과 같다.

Table 1 에서 보는바와 같이 中性子를 照射하지 않은 群은 Control 로 定하고 이의 呼吸率을 100%로서 算定하였을 때 各 照射群의 呼吸率은 等差級數의인 差異를 보이고 있다. 各 照射群中에서 60 秒(7×10^6 N/cm²/sec)의 限定된 時間으로 照射받은 群이 30 秒에서 照射받은 群보다 呼吸率이 刺戟되었다는 것은 60 秒의 弱한 Dosage 에서 菌株가 많은 刺戟을 받을 수 있다 하는 것을 意味하는 것이다. 그러나 30 秒의 照射群도 control 群 보다 呼吸率이 刺戟된 것인데 이는 代謝作用에 供與되는 酵素系의 活性化에 依한 것이다. 이와 反對로 90 秒 以上에 照射받은 群들은 呼吸에 若干의 障害을 이르렀다.

Fig. 1 에서와 같이 各照射群, Control 群은 4 時間 까지 Stationary phase 을 維持하고 있었으나 그 以後부터는 呼吸曲線이 Stationary phase 로서 平行으로 進行하고 120 秒에서 照射 받은 群은 10%, 15 秒에서는 12%, 180 秒에서는 17%로써 90 秒(7×10^6 N/cm²/sec) 以上の Dosage 에서 가장 많은 呼吸 抑制率을 보이고 있다.

Table 1. Effect on the respiration of yeast irradiated under 7×10^6 N/cm²/sec.

Dosage 7×10^6 N/cm ² /sec	O ₂ uptake μl/mg./hrs.	Stimulation percentage	Inhibition percentage
180 seconds	11, 113	83	17
150 "	11, 789	88	12
120 "	12, 105	90	10
90 "	12, 375	94	6
60 "	13, 845	103	—
30 "	13, 607	97	3
Control	13, 444	100	0

Table 2. Effect on the respiration of yeast irradiated under 7×10^8 N/cm²/sec.

Dosage 7×10^8 N/cm ² /sec	O ₂ uptake μl/mg./hrs.	Stimulation percentage	Inhibition percentage
12 minutes	0, 785	6	94
9 "	1, 950	14	86
6 "	2, 875	21	79
3 "	3, 920	31	69
1 "	5, 824	43	57
Control	13, 444	100	0

中性子の 6×10^8 N/cm²/sec 에서는 Table 2 와 같이 各照射群 全體가 極甚한 障害을 받았는데 12 分에서는 94%, 9 分에서는 86%, 5 分에서는 79%, 3 分에서는 69%, 1 分에서는 57%의 呼吸抑制率을 나타내었다.

中性子の 極甚한 障害을 받고 呼吸率의 抑制를 나타내는 Fig. 2 에서 12 分에서 照射 받은 群들은 中 最下의 Stationary phase 를 維持하고 있고 9 分에서는 4 時間까지 조금 上昇되는 呼吸曲線이 나타났으나 6 分에서는 12 分과 9 分 보다 높은 呼吸曲線이 나타났다. 그러나 이들은 역시 Control 群의 呼吸曲線 보다 아주 낮은 常數를 가진 curve 가 나타났다. 3 分에서는 4 時間까지 若干의 上昇된 呼吸曲線을 보이고 이 外의 各時間에 依한 群들의 呼吸障害線과 平行하였다. 1 分에서 照射 받은 群은 다른 照射群보다는 높은 呼吸率을 가졌으나 이것은 역시 Control 群에 比해서 아주 낮은 呼吸率이 나타나서 生長에 많은 抑制를 보였다.

實驗 1 의 結果를 綜合하여 본다면 *Saccharomyces* 는 中性子 7×10^6 N/cm²/sec 의 Dosage 에서 30 秒, 60 秒 동안 照射받았을 때는 輕微한 刺戟을 받으며 7×10^8 N/cm²/sec 의 Dosage 에서 照射받았을 때는 致命的인 障害을 나타내게 되었고 各 照射 Dosage 에 따르는 呼吸曲線의 Optimum peak 는 Fig 3 과 같다.

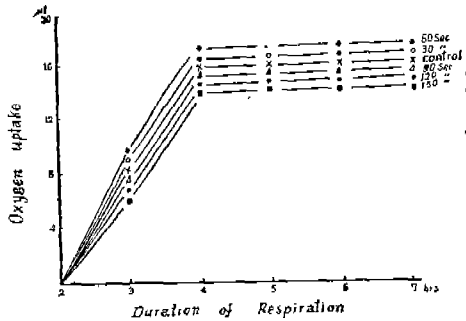


Fig. 1. Effect of neutron irradiation (7×10^6 N/cm²/sec) on the respiration of yeast.

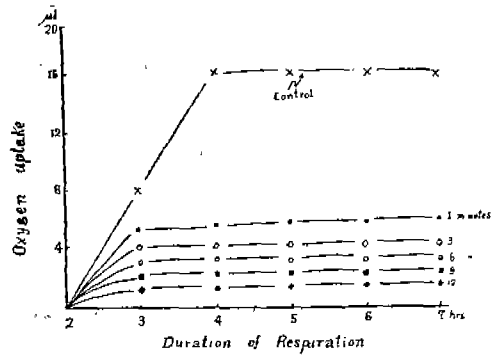


Fig. 2. Effect of neutron irradiation (7×10^6 N/cm²/sec) on the respiration of yeast.

實驗 2. 照射處理後의 增殖率

照射處理된 菌體를 實驗管에 接種後 colorimeter 로서 增殖率을 觀察한 結果 增殖率은 10 時間이 經過한 後 次次로 上昇하여 46 時間에 이르기까지 Stationary phase 를 Fig 4 에서와 같이 나타내고 있었다.

30 秒와 60 秒에서 照射 받은 群들은 40 時間 까지는 control 群과 類似한 曲線을 나타내어 生長率에는 그리 큰 影響이 없는것 같이 보였다. 그러나 30 秒 및 60 秒의 照射가 呼吸을 刺戟시킨 것으로 미루어 보아서 多少間 生長率에도 影響이 틀림없으리라고 믿으나 生長率의 測定方法으로 分明히 나타나지 않는 것으로 본다.

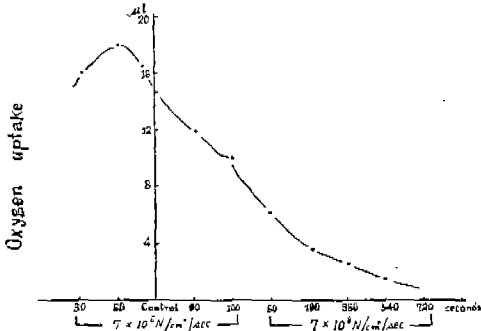


Fig. 3. The stimulated effect on the respiration of yeast at various dosage of neutron.

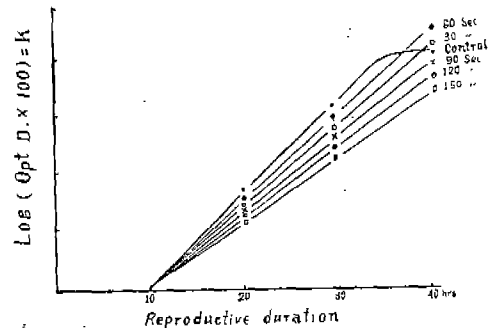


Fig. 4. Reproductive rate against resistance influenced a low dosage of neutron.

實驗 3. 照射體와 非照射體의 醱酵能

Meissel의 醱酵管에 Lee et al. (1959)의 組成醱酵液을 넣고 中性子의 弱한 Dosage 인 7×10^6 N/cm²/sec 에서 照射 받은 群들을 中心으로 해서 Control 群과의 醱酵能을 比較하여 보았다. 이것 역시 60 秒에서 照射 받은 群들의 醱酵能이 가장 왕성하였고 다음은 30 秒, 90 秒, 120 秒의 順으로 醱酵能이 이루어졌다. 醱酵能은 中性子 照射體에서나 非照射體에서 거의 비슷하게 Fig 5 와 같이 4 日까지 持續되었다.

實驗 4. 脫水素 酵素作用에 미치는 中性子의 影響

Dehydrogenase 測定에서 Succinic dehydrogenase 를 測定하게 된 理由는 이것이 Cytochrome C 系와 緊密히 結合하여 酵素複合體로서 作用하고 Methylene blue 의 色素體를 水素 受容體로 받아 들일 수 있는 關係로 Keilin (1947) 과 Potter (1941)의 方法에 依하여 Succinic dehydrogenase 의 活性을 測定하였다. 여기에 있어서 上記 實驗에 依한 生理的 諸現象 即 呼吸率, 增殖率, 醱酵能이 活潑한 弱한 Dosage 의 照射群들이 Fig. 6 에서와 같이 Control 群보다 Dehydrogenase 의 活性이 높았다.

實驗 5. 照射體와 非照射體의 Amino 산定性 生體內 原形質의 主成分은 蛋白質이고 이 蛋白質에는 많은 種類가 있는데 이느 것이나 큰 分子量을 가진 高分子物質인 것이다. 많은 種類의 蛋白質은 性質과 分子量도 다르고 그 作用性은 千差萬別이지만 어떤 것이든지 Amino 酸으로 構成되어 있다는 共通性을 가지고 있다. 이와같은 窒素化合物이

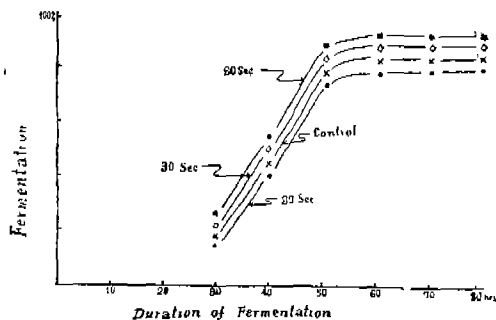


Fig. 5. Fermentative rate of yeast influenced with a low dosage of neutron.

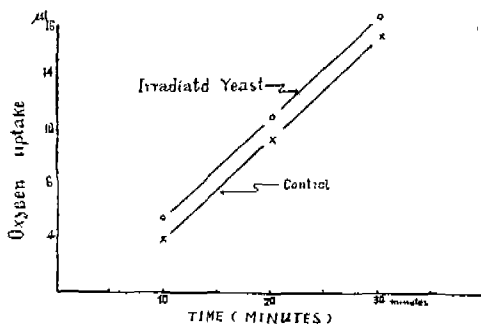
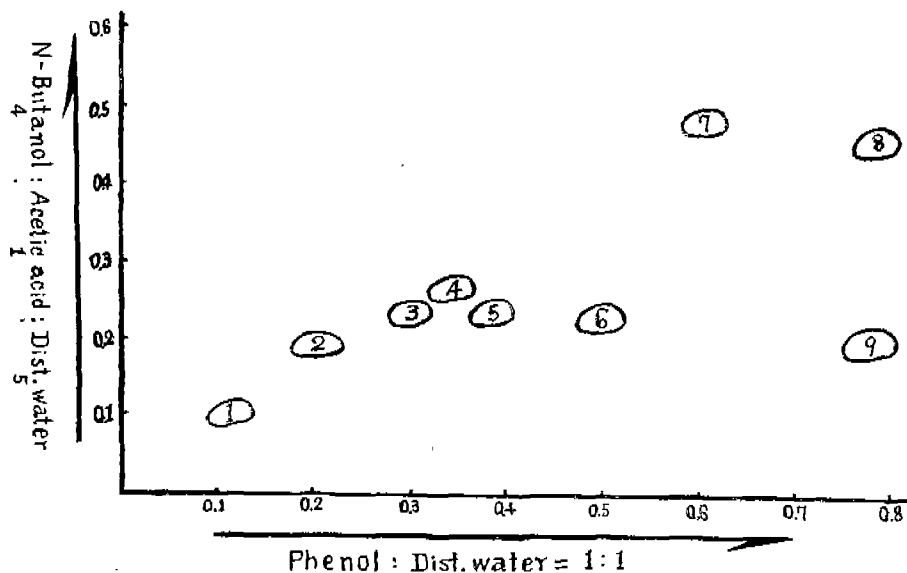


Fig. 6. Succinic acid dehydrogenase activity of the most stimulated group with neutron irradiation.



- 1. Asparatic acid 2. Glutamic acid 3. Serine 4. Glycine 5. Arginine 6. Glutamine
- 7. Tyrosine 8. Proline 9. Unkown A

Fig. 7. Paper chromatogram of free amino acids in both irradiated group and unirradiated group.

Saccharomuces	Unirradiated yeast	Irradiated yeast
Kinds of free amino acid		
Asparatic acid	+	+
Glutamic acid	+	+
Serine	+	+
Glycine	+	+
Arginine	+	+
Glutamine	+	+
Tyrosine	+	+
Proline	+	-
UnKown A	+	-

Table 3. Distribution of free amino acids in irradiated yeast and the control

어떻게 炭水化合物에 붙어서 原形質을 構成하느냐 하는 것이 重要한 問題가 될 뿐만 아니라 放射線 特히 中性子照射에 依해서 窒素代謝에 어떤 影響을 미치느냐 하는 것도 重要한 問題가 아닐 수 없다. 이에 따라 弱한 Dosage 에서 刺戟된 群들의 窒素化合物과 Control 群과 相互 比較하여 본다면 Fig. 7 에서 보는 바와 같이 照射體에 含有된 Amino 酸은 7 種類이고 Control 群들은 9 種類로 分析되었다.

考 察

Huthinson (1930) 및 Newton (1930) 은 紫外線을 照射한 結果 呼吸率과 增殖率이 刺戟되었다고 報告하였다. 그 後 Luyet 는 *Mucoraceae* 의 胞子에 紫外線과 X線을 照射한 結果 刺戟됨은 全然 볼 수 없고 오히려 生長과 發芽가 抑制된다는 相反된 報告를 하였다. 그러나 Nadson (1928) 氏는 *Zygosaccharomyces*, *Mucoraceae* 等に 紫外線을 照射한 結果 낮은 Dosage 에서는 生長을 促進시킨다고 하였고 Lacassagne (1936) 는 조금 높은 Dosage 의 紫外線을 使用하면 胞子の 發芽와 出芽가 지연된다고 하였다.

또한 Wyckoff (1932)와 Luyet (1931) 및 Oster (1934) 도 *Saccharomyces* 에 紫外線을 오랫동안 照射하면 出芽가 지연되고 胞子가 致死된다는 報告를 하였다. 이 외에 Landen (1939) 는 *Ustilago* 로서, Diamond et al. (1946) 는 *Rhizopus suinus* 로서, Haskins (1939) 는 *Asperigillus niger* 로서 同一한 實驗을 한 結果 胞子の 出芽와 發芽를 지연시키고 發芽胞子の 生長率은 抑制되며 生長의 刺戟은 그 때 培地의 環境條件에 달려 있다고 報告하고 있어 紫外線이 Fungi 의 生長 및 胞子の 生存에 미치는 影響은 刺戟이 아니라 抑制라고 하였다.

이와 反對로 Chacsly (1934) 는 *Arabicia* 의 卵에 X線을 致死量에 가까운 程度로 照射하여도 呼吸에는 無關하다고 發表하여 放射線이 呼吸에 미치는 影響에 대해서 言及하였다.

우리나라에서는 Lee et al. (1960) 등은 *Azotobacter* 에 X線을 照射하여 그 呼吸量을 測定한 結果 낮은 Dosage 에서는 呼吸이 control 과 비슷하게 나타난다고 하였다. 그래서 上述한 두가지 反對되는 事實을 究明키 위하여 實驗한 結果 *Saccharomyces* 에 낮은 Dose 를 照射하였을때 manometric 上의 呼吸量, 增殖率, 醱酵能에서 얼마간 刺戟됨을 볼 수 있었고 높은 Dosage 인 境遇는 큰 障礙를 받았다.

Lindgren (1932)의 survival rate 는 本 實驗과 同一한 Stationary phase 로 나타났고 이것은 放射能의 影響이 呼吸率, 增殖率, 醱酵能과 緊密한 關係가 있음을 示唆하였다. 中性子의 낮은 Dosage 서 이러한는 呼吸, 增殖, 醱酵의 刺戟機作을 究明코져 酵素系의 活性를 測定 實驗하였던바 Cytochrome 系보다 Dehydrogenase 系의 作用이 活性化 하였다는 것을 알 수 있었다. 또 放射線의 刺戟에 대한 獲得現象의 機作에 關係서는 Luria (1947)와 Demerec (1945) 一派가 主張한 Mutation and selection theory 와 Hinshelwood (1946) 一派가 主張한 Adaptation theory 가 採두되는 것인데 위의 諸實驗 結果 前者의 說을 認定케 한다.

摘 要

本研究 照射에 依한 *Saccharomyces cerevisiae* 의 呼吸率을 Manometric direct-method 로 測定한 結果 7×10^8 N/cm²/sec 의 30 秒, 60 秒에서는 呼吸이 刺戟되었고 7×10^8 N/cm²/sec 의 各照射群에서는 極甚한 障礙를 받았다. 이에 따라 中性子가 *Saccharomyces* 에 미치는 生理學的 影響은 Stationary phase 로서 呼吸率, 增殖率, 醱酵能에 密接한 關係가 있었으며 中性子의 照射群과 非照射群에 含有된 Amino 酸의 種類가 相異하였다. 낮은 Dosage 의 照射菌體에 있어서 呼吸, 增殖, 醱酵能이 刺戟된다는 것은 Cytochrome 系보다 Dehydrogenase 系에 의해서 代謝作用이 活潑하여 질을 알 수 있었고 照射處理後 數時間이 지나서도 中性子의 刺戟에 대한 獲得現象이 持續된다는 것은 Mutation and selection theory 에 依한다는 것을 暗示하여 주었다.

文 獻

1. Demerec, M. 1945. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 1. 16.
2. _____ & W. H., Swanson 1947. Studies on the respiration of yeast after irradiation with ultraviolet light. J. Cellular Comp. Physiol. 30 : 285—301.
3. Moore, S. & Stein, W. H. 1948. J. Biol. Chem. 176, 337—367.
4. Lee, Min Jai & K. I. Yoo 1960. Protection effect of some amino acids to the X-ray injury on the respiration of *Azotobacter*. (under print).
5. Oster, R. H. 1934. Results of irradiating *Saccharomyces* with monochromatic ultraviolet light. J.G. Physiol. 18; 71—88.
6. Giese, A. C., 1942. Stimulation of yeast respiration by ultraviolet radiations. J. Cellular Comp., Physiol. 20 : 35

—46.

7. Hutchinson, S. H. & D. Newton 1930. The specific effects of monochromatic light on the growth of yeast. *Can. J. Research*, 2: 249—263.
8. Lindgren, C. W. 1932. Spectral sensitivity of spore and sporidia of Ustilagozeae to monochromatic ultraviolet light. *J. Cellular. Comp. Physiol.* 14 : 217—226.
9. Chaesly, L. C. 1934. The effect of radiation upon cell respiration. *Biol. Bull.*, 67 : 359—472.
10. Potter, V. R. 1941. *J. Biol. Chem.*, 137. 13.
11. Zahl, Koller & Haskins 1939. The effects of ultraviolet radiation on spores of the fungus *Aspergillus niger*. *J. Gen. Physiol.* 22 : 689—698.
12. Simon, S. 1939. Etude de l'action du radium sur certaines propriétés cytoplasmiques de levure de pilsade *Barnea candida*. *Arch. Biol. Liege* 50 : 95—203.
13. Luyet, B. J. 1932. The effects of ultraviolet light, X and cathode rays on spores of the Mucoraceae. *Radiology* 18 : 1019—1022.
14. Hinshelwood, N. 1946. The chemical kinetics of the bacterial cell. Oxford.
15. Isayev, B. M., 1961. Physical bases of radiobiological experiments with neutron fluxes. *Biolo. Abst.* 36. 17. 1354—1355.
16. Nadson, G. A. & Phillippov, G. S. 1928. Action excitante des rayons ultraviolets sur le développement de levures et des moisures. *Compt., Rend., Soc., Biol.*, 95 : 443—445.
17. Lee, Min Jai & Chin Ki Lee 1959. Studies of copper resistance influenced by *Saccharomyces cerevisiae*. *Korean J. Phar.*, 3. 1 : 15—20.
18. Rubinfeld, S. & Evelyn, S., 1962. Effects of gamma radiation on ribonuclease. 39, I, 1235—1236.
19. Luria, S. E. 1947. *Bact. Rev.* 1.
20. Wyckoff, R. W. G. 1932. The killing of colon bacilli by ultraviolet light. *J. Gen. Physiol.* 15 : 351—361.
21. Diamond, A., & B. M. Duggar 1940. Effects on monochromatic ultraviolet light radiation on the growth of fungus surviving irradiation. *Am. J. Bot.* 27 : 906—914.
22. Haber, A. H., William, L.C. & Donald, E.F., 1961. Metabolic studies of gamma irradiated wheat growing without cell division. *Biol. Abst.* 35. 19. 2356—2357.
23. Landen, E. W. 1939. Spectral sensitivity of spores and sporidia of Ustilagozeae to monochromatic ultraviolet light. *J. Cellular Comp. Physiol.* 14 : 217—226.
24. Keilin, D. & Hartee, E. F. 1947. *Biochem. J.*, 41. 503.
25. Lacassagne, A. 1930. Différence de l'action biologique provoquée dans les levures par diverses radiations. *Comp. Rend.*, 1900 : 524—526.