

氏 名	松 岡 三 良
	まつ おか さぶ ろう
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	論 理 博 第 182 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Effects of gamma-irradiation on the growth of <i>Euglena</i> Cells (ユーグレナの生長に対するガンマー線の影響)
論文調査委員	(主 査) 教 授 新 家 浪 雄 教 授 芦 田 譲 治 教 授 北 村 四 郎 教 授 田 中 正 三 教 授 加 藤 幹 太

論 文 内 容 の 要 旨

この論文は、単細胞ソウ類のユーグレナについて、細胞の増殖と、これに深い関連のある RNA とたんぱく質の含有量、およびこれらの物質の前駆物質の細胞内へのとりこみに対するガンマ線照射の影響を、対数期と定常期の細胞について比較したもので、4 部に分かれている。

主論文第一部は、対数期と定常期の細胞の増殖に対するガンマ線 ($1.01 \times 10^5 r$) の影響を比較したものである。その結果によると、照射による死亡率は、対数期のものに比べて、定常期のものが大であった。したがって、定常期の細胞は対数期のものよりも、照射に対する感受性が高いと結論されている。また、いずれの時期についても、細胞の増殖は、照射により強く阻害されたが、増殖能の回復は、対数期のものが速かであった。また、照射によって、細胞の鮮量と体積は増加したが、1 細胞当りの乾量は影響をうけなかった。したがって、照射による細胞の鮮量と容積増加は、透過性の変化による含水量の増加によると結論されている。

主論文第二部では、細胞の RNA の含有量と照射の影響との関係をしらべ、つぎの結果をえた。

すなわち、非照射時の 1 細胞に含まれる RNA 量は、生育過程の各時期でちがいが、対数期の細胞を新しい培地に移すと、細胞の増殖に伴い、1 細胞当たり RNA のはしだいに減少する。一方、定常期のものを同様に培養すると、RNA 量は、細胞増殖に伴って増え、対数期のある時期(移植 6 時間後)で極大に達しその後はしだいに減少する。つぎに、対数期のものを照射すると、RNA 量は照射後 6 時間以内にいちじるしく減少するが、それ以後は変化しない。この場合、減少率は、照射時の細胞の RNA 量に比例する。ところが定常期のものでは、照射による RNA の減少は、ほとんど認められないか、またはわずかであった。

これらの結果から、対数期細胞には、照射に対して安定な RNA と不安定な RNA とが含まれているが、定常期細胞の RNA は、おもに安定なものであると推論されている。

主論文第三部は、照射による RNA 量の変動を、詳しく解析し、さらに、ウラシル- ^{14}C の細胞内 RNA

へのとりこみをしらべたものである。

まず、対数期と定常期の細胞から、フェノール法により粗核酸を抽出したが、この抽出液は、紫外線（波長、2600 Å）を強く吸収する。この吸光度は、非照射のものに比べて、照射された細胞のものでは著しく低かった。つぎに、抽出液をメチル化アルブミンカラムで A・B・C・D の4分画に分けたが、これらの分画の呈色反応と紫外線吸収測定の結果から、A分画は、ヌクレオチド、B分画は、sRNA、C分画は、DNA と RNA、D分画は、rRNA を含むと推定されている。同様の分画は、照射された細胞からもえられたが、照射によって、各分画の紫外線吸光度は減少する。この場合、各分画とも、対数期のものでは減少率は、定常期のものに比べて、はるかに大きい。また、照射された対数期細胞では、紫外線吸光度の減少率は、流出順序の早い分画ほど大きいことから、細胞内の RNA は、分子量の小さいものほど、照射による影響が大きいと推論されている。

つぎに、ウラシル- ^{14}C のとりこみをしらべた結果によると、対数期の非照射細胞では、ウラシル- ^{14}C は粗核酸の各分画によくとりこまれ、とりこみの程度は、各分画の紫外線吸収の強さに平行する。ところが、照射された細胞からえられる各分画では、とりこみはごくわずかであった。一方、定常期の非照射細胞でも、かなりの程度のとりこみが認められるが、その程度は対数期の細胞に比べてはるかに低い。また、とりこみは、照射によって強く阻害され、ほとんど認められなくなる。

これらのことから、照射によって、RNA へのウラシル- ^{14}C のとりこみが、強く阻害されることが結論されている。

主論文第四部は、細胞のたんぱく質量と照射の影響、およびアラニン- ^{14}C のとりこみをしらべたものである。

まず、非照射細胞をりん酸緩衝液内で破壊し、可溶性分画と、不溶性分画とに分け、これら分画内の粗たんぱく質量を測定した。その結果はつぎの通りである。すなわち、対数期・定常期とも、1細胞当りの可溶性たんぱく質量は、照射によってわずかに増えたが、不溶性たんぱく質量は、ほとんど変化しなかった。

つぎに、可溶性分画を、セファデックスゲルカラムで分画すると、非照射の対数期・定常期の細胞からは、A・C・D・E の4分画がえられた。これに対して、照射された細胞では、E分画は認められなくなり、新しくB分画がえられた。また、C・D2分画の流出は、対数期・定常期とも、照射によって遅れることが認められた。この事実から、対数期・定常期ともに、照射によって、全可溶性たんぱく質は、量的にはほとんど影響をうけないが、ある程度の解重合をおこすと推測されている。

つぎに、アラニン- ^{14}C のとりこみをしらべた結果によると、非照射細胞では、対数期・定常期とも、アラニン- ^{14}C は、可溶性たんぱく質のAとCの2分画に多くとりこまれるが、D・E分画にはすくない。これとちがって、照射された細胞では、各分画とも、とりこみは強く阻害され、とくに定常期細胞では、ほとんど認められない。これらの事実から、アラニン- ^{14}C のたんぱく質へのとりこみは、照射によって強く阻害されると結論されている。

参考論文その一は、ユーグレナ細胞の p^{32} のとりこみが、ガンマ線照射によって阻害されることを明らかにしたもの、その三は、ユーグレナ細胞に中性子を照射し、白色突然変異細胞をえたもの、その五は、

ユーグレナ細胞にガンマ線を照射して、細胞外の媒液中に数種のヌクレオチドを含む物質が逸出することを明らかにしたものである。

参考論文その二は、核酸定量法の予備的研究、その四は、ユーグレナ細胞から核を分画する方法の検討を行なったものである。

論文審査の結果の要旨

細胞の生長に対する放射線の影響は、生物に対する放射線の影響の中でも、基礎的な課題の一つで、単細胞生物はこの問題の研究に適した材料である。ところが、従来の単細胞生物に対する放射線の影響は、大部分、細菌や原生動物の生長過程の特定の時期（おもに対数期のもの）について研究され、ちがった生育時期の細胞に対する比較研究はすくなく、とくに、自養的なソウ類に関するこの種の研究は、ほとんど行なわれていない。

この研究は、単細胞ソウ類に属するユーグレナの、対数期と定常期の細胞について、その増殖と、これに深い関係をもつと考えられる RNA やたんぱく質の含有量、これらの物質の前駆物質の細胞内へのとりこみに対するガンマ線の影響などを比較したもので、その結果、いくつかの興味ある知見をえている。

その一つは、細胞の増殖に対するガンマ線照射の影響である。一般に、高等生物の細胞の放射線に対する感受性は、分裂活性の高い細胞の方が、低いものよりも大きい。これとちがって、申請者のえた結果によると、ユーグレナ細胞では、照射による死亡率は、細胞分裂のさかんな対数期細胞よりも、分裂のほとんど認められない定常期細胞の方が大きい。この事実は、従来、高等生物についてえられた結果に、新しい知見を加えるものである。

つぎに、申請者は、細胞の RNA 量と、これに対する照射の影響をしらべた結果、照射によって、対数期細胞の RNA 量は大きく減少するが、定常期のものは、ほとんど減少しないこと、この場合の減少率は、照射時の RNA 細胞の含有量に比例することなどを明らかにした。これらの結果から、申請者は、対数期の細胞には照射に対して不安定な RNA と安定な RNA が共存するが、定常期の細胞の RNA は、おもに安定なものであるとの興味ある推論を下している。

申請者は、さらに、対数期の照射された細胞から分離した、粗核酸からえられた 4 分画を比較した結果から、分子量の小さいものほど、照射による減少が大きいと推論した。

また、ウラシル- ^{14}C の細胞内へのとりこみをしらべた結果、対数期・定常期ともに、照射によって甚しく阻害されることを明らかにした。この事実は、従来、多くの高等生物細胞で知られている事実、すなわち、RNA の前駆物質のとりこみは、多くの場合に、照射によって阻害されにくいという事実、新しい知見を加えるものである。

さらに、申請者は、細胞の粗たんぱく質を可溶性と不溶性の 2 部分に分けた。この場合に、対数期・定常期ともに、可溶性たんぱく質量は、照射によって、わずかに増加したが、不溶性たんぱく質量は、ほとんど変化しないことを明らかにした。さらに、可溶性たんぱく質をセファデックスゲルカラムで分画した結果、照射細胞のものでは、カラム流出位置が遅れることから、照射によって解重合が起こることを推測している。また、この研究に用いた線量では、照射によって、アラニン- ^{14}C のとりこみが阻害されるこ

とを明らかにしている。

また、参考論文5編は、ともに申請者が細胞学の分野に、すぐれた研究能力と広い知識をもつことを示すものである。

要するに、本論文は、従来ほとんど未開拓であった自養的な単細胞ソウ類の対数期と定常期の細胞について、ガンマ線照射の影響、ことに感受性の相違、RNA とたんぱく質の変動などを比較したもので、この分野に興味ある新知見を加えており、理学博士の学位論文として価値があるものと認める。