

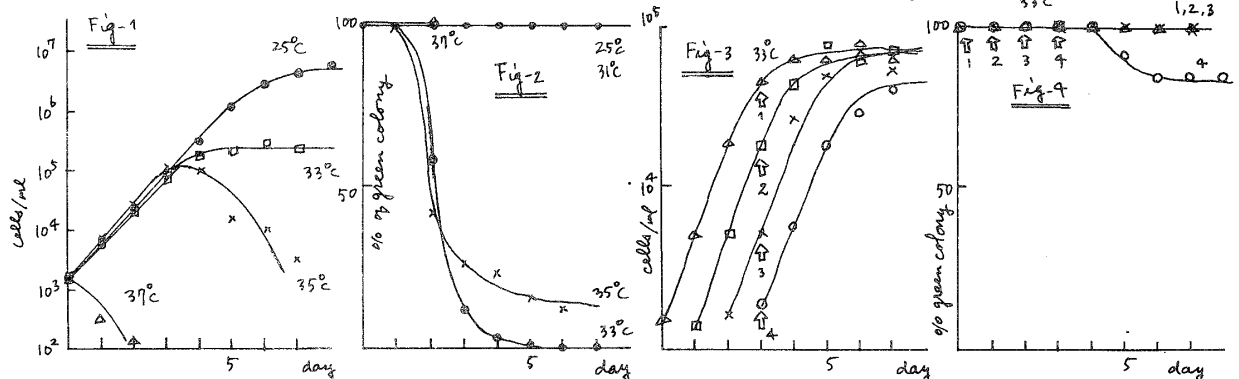
A 5

紫外線・streptomycin および温度処理による *Engelma* の bleaching の解析:
その相互作用

新田 敏・長井 光三・代谷 沢次 (東大・理・放射線生物)

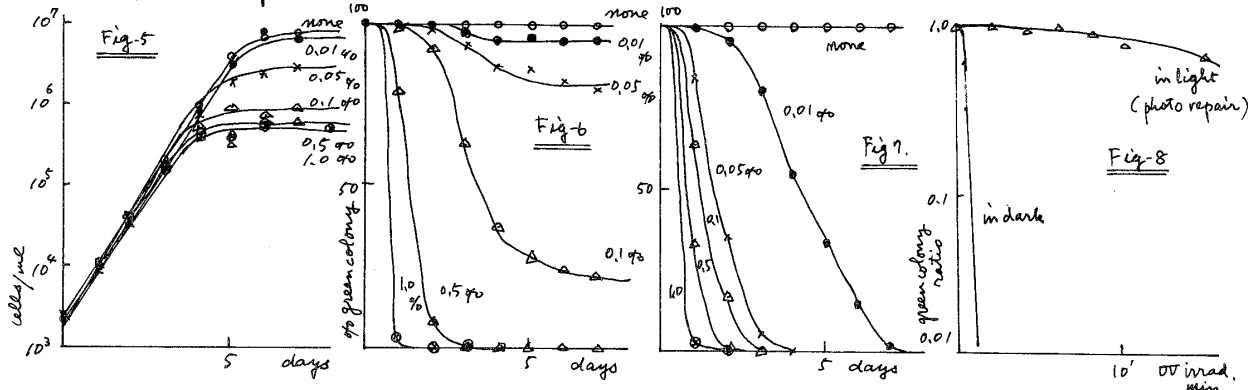
Engelma gracilis が紫外線の照射・温度処理・streptomycin (SM) 処理などにより高頻度で白化細胞 (bleached cell) を生ずることは古くより観察されてきたが、cell 密度勾配遠心分析によつてこれらの bleached cell からはいずれも葉緑体 DNA が欠けたことと明かされた。相互に作用点の異なるこれらの処理が互から由来する共通の作用機構を経て permanent bleaching に至らしめると考えられるようになった。この現象は細胞という場での葉緑体の自己増殖性を明らかにする目的にとつて多くの実験を果したものと考える。今回はこれらの処理の現象的解析を中心に報告する。*Engelma gracilis bacillaris* (葉緑体数 7-8) は Hutner の培養液 (pH 3.5) で培養した。暗条件でも光条件でも (5000 lux), doubling time は 25°C で 12 時間と変わらないが, stationary phase になったときの細胞数は 4×10^6 cells/ml, 5×10^5 cells/ml と異なる。bleached cell の増殖速度をほぼ同じだが, stationary phase では 3×10^5 と少ない。処理は直ちに plating し、8-10 日後に白化コロニーと緑色コロニーとを計数した。紫外線照射のばあいには 5 日間暗条件に置いた。

i) 温度処理 37°C 以上では増殖を行わない。(Fig-1) bleaching (non-spontaneous) は 31°C 以下の世代培養ではまったく観察されないが、37°C 以上でも観察されない。ただしこのときは細胞の増殖も起らない。bleaching には 37°C-35°C であることが必要で、50% の bleached colony を得るためには 2 日間の培養 (約 4 回の分裂) が要求される。(Fig-2) stationary phase の細胞、resting medium での非分裂細胞にはこの温度処理を続行しても bleaching colony は作らない。したがって温度処理を受けた細胞の葉緑体は保持されているが、16h 分裂能力は持たないと考えられる。(Fig-3, 4) 温度処理を受けた細胞の電子顕微鏡写真では葉緑体のラメラ構造の崩壊が観察された。電子顕微鏡による観察、UV 照射による標的放射化による葉緑体数の少ない細胞が中間体として生じることも実験された。

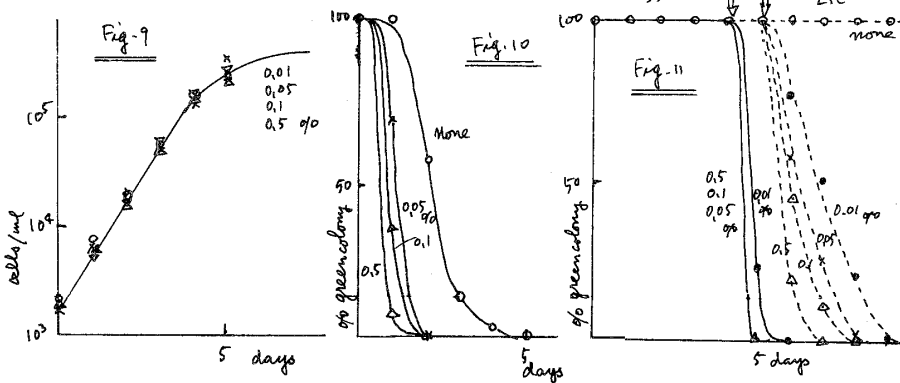


ii) SM 処理 (SM 処理は温度処理とは違つて処理後の結果を遮断 (完全に) するところがない。plate への SM の接種量は 1 mg。この濃度は正常細胞にはいはいは bleaching を起さないが、細胞内にすくなくともあるものはついても破壊する必要がある。) 100 mg/ml 以下の SM 濃度では増殖速度にほとんど変化がないが、stationary phase での細胞数は SM 濃度によつて異なる。100% の bleached colony を生ずる SM 濃度では bleached cell のばあいと同じく 3×10^5 cells/ml にとどまる (Fig-5)。高濃度処理では細胞内にすくなくともある SM の影響が plate 上にも及ぼすことは、SM による bleaching にも細胞分裂が要求されることによる。しかし SM のばあいには resting medium の細胞にはいはいは増殖期の細胞より著しい効果が見られる (Fig-7)。stationary phase ではこのような著しい効果の増大は観察できないので、resting medium での細胞の異常性に原因があると考えられる。事実、葉緑体の発達は不良で、ribosome の含有も少ない。

これは SM の効果を plate 上に長く残存させる結果になると考えられる。



iii) UV 照射 微弱の UV 照射により、細胞死を起すことなく bleached colony をうみとすることができる。光回復 (photo repair) 現象が極めて著しい。光回復が著しいのは暗回復機構が欠陥しているためらしい。この現象は葉緑体には一般性のある現象とは考えられない。細胞分裂が必要であるとは Epstein による標的効果の仮定から立証される。



iv) 温度処理と SM 処理 33°C の増殖曲線は 25°C と違って SM (~100 mg/ml) の存在により変化する (Fig. 9) bleached colony 出現頻度はそれぞれ単独に処理したときよりも大きい (Fig. 10) venting medium ではその効果はさらに著しい。このとき温度下ではほとんど SM による bleaching

の効果も減くする。SM の効果は温度の低いと違って葉緑体の状態に強く依存していると考えられる。

v) 温度処理と UV 照射 標的効果は温度増大による影響が減少する (植物学会、神戸 1967 発表)

vi) SM 処理と UV 照射 標的効果の減少の他に UV 感受性の増加が観察される。

<考察>

UV 照射の影響は、光回復が起ると、low dose でよいことから、葉緑体 DNA の thymine dimer 生成に原因があると考えられる。増殖効果曲線から細胞死では dark repair が正常通り行われるとみられるから、葉緑体と細胞核の回復機構はそれぞれ独立と考える。細胞核 DNA の光回復は葉緑体の存在によらない事実はこれを支持する。したがって葉緑体 DNA は独自の repair enzyme を持つものと考えられ、自然界の DNA が存在するというところ、自ら repair enzyme のための cistron を持つという事実は深いつながりがあると考えられる。SM の効果は最近 chloramphenicol が葉緑体 70S (bacterial type) の ribosome により親和性があると報告されたことと合せて、葉緑体 ribosome での蛋白質合成の特異的阻害と表わされる。細胞核 (80S) への影響はないと考えられる。温度処理の作用点については全く今後の問題として残される。分裂細胞では効果がなく、不可逆的変異化はない。光回復過程といふ以上結果は、細胞の分裂を促すことが指摘できる。UV の処理も葉緑体 DNA と細胞核 DNA の合成速度に均等な影響を及ぼす。Euglena はこれを修正し得ぬ——葉緑体 DNA と細胞核 DNA の合成の結びつきが loose であると考えられる。