

## E.coliにおける照射と加熱の組合せ効果の機構について

誌名	食品照射 = Food irradiation, Japan
ISSN	03871975
著者	松山, 晃 金子, 文子 岡沢, 精茂
巻/号	12巻1号
掲載ページ	p. 33-38
発行年月	1977年3月

< Note >

E. coli における照射と加熱の組合せ効果の  
機構について

理化学研究所 松山 晃・金子文子・岡沢精茂

On the Mechanism for Combined Effects of Irradiation  
and Heating on the Inactivation of E. coli

Akira MATSUYAMA, Fumiko KANEKO and Yoshishige OKAZAWA

Institute of Physical and Chemical Research, Wako-shi,  
Saitama-ken 351, Japan

Combined effects of gamma irradiation and mild heating (at 50°C for 15 min) on cell killing were studied with E. coli derivatives of different DNA repair capacity, W3110 ( $pol^+$ ,  $rec^+$ ), P3478 ( $pol A1$ ), AB2500 ( $uvr A6$ ) and AB2487 ( $rec A13$ ). Synergistic enhancement by heating of radiation lethal effect was most effected during irradiation than before or after irradiation. Log-phase cells were more sensitive to the thermal enhancement than stationary-phase cells. The thermal enhancement of radiolethality is observed with all of the above four strains. Alkaline sucrose gradient sedimentation experiments on DNA from strains of W3110, P3478 and AB2487 revealed a small increase in number of DNA strand breaks and the remarkable inhibition of their rejoining during post-incubation, regardless the sequence of the combination of irradiation and heating. These results suggest that the enhancement mechanism may involve the inhibition of rejoining of DNA-strand breakage by cellular damages which are not associated with functions of  $pol$ ,  $rec$  or  $uvr$  genes.

微生物細胞に対する放射線照射と加熱との組合せ処理による増感効果は、菌株、細胞の生理学的状態、組合せ処理の条件などによりかなりの相違がある。そこでE. coliのDNA修復能の異なる各種変異株を用いて組合せ処理を行い、増感効果の機構解明を試みた。

実験方法

E. coli K-12のW3110 ( $pol^+$ ,  $rec^+$ )、P3478 ( $pol A1$ )、AB2487 ( $rec A13$ )およびAB2500 ( $uvr A6$ )の各菌株のlogおよびstationary phase細胞を、 $^{60}Co$ ガンマ線照射の直または直後に50℃15分間加熱し、照射時の加熱とあわせ

て生存曲線を測定した。また照射にともなうDNA鎖切断とその再結合を、アルカリ性蔗糖密度勾配を用いる沈降分析により検討した。0.01M Tris + 0.01M NaCl (pH 12.5)を用いて遠心チューブにつくられた5-20%蔗糖密度勾配4.2mlの上に0.1% Sodium lauryl sarcosinateを含む0.5N NaOH 0.1mlをのせ、さらにその上に $10^7$ 個程度の $^3\text{H}$ -DNA細胞を含む試料懸濁液0.05mlを重層し20℃、30000 r.p.mで110分間遠心した後、管底より10滴宛 paper disk 上に分取、TCA不溶 $^3\text{H}$ 放射能を測定してDNAプロファイルを求めた。DNAの再結合をみるための照射後再培養は、照射後のリン酸緩衝液中の細胞を遠心により集菌せず、この緩衝液に等容の2倍濃度B2培養液を加えて直ちに37℃で再培養し、その0.05mlをとりアルカリ性5-20%蔗糖密度勾配上のアルカリ性detergent液0.1ml(0.1% Sodium lauryl sarcosinateおよび0.01MEDTAを含む0.5N NaOH)の上に直接重層した<sup>1)</sup>。

#### 実験結果および考察

本実験において測定した生存曲線の1例をFig.1に示す。W3110、P3478、AB2487およびAB2500何れの変異株においても照射と加熱の組合せによる増感効果が認められた。このことはこのような組合せ効果がpol, recあるいはuvr geneの完全な支配下にはないことを意味していると解される。Phase効果が認められ、一般に対数期細胞において組合せ効果が比較的強くあらわれ、定常期細胞に対しては組合せ効果が弱い。照射の前と後の加熱の組合せの効果はほぼ同程度で(Fig.1)あるが、加熱による不活性化に対して補正しても照射時の加熱が最も効果的であった。DNAの沈降分析によりDNAプロファイルを検討すると、照射と加熱の組合せによりいくらかDNA鎖の切断数が増加するが、照射後の再培養によるDNA鎖切断の阻害がより明瞭に認められる。照射と加熱の組合せ効果の機構の少くとも一部は、この組合せ処理によるDNA鎖切断修復の阻害が強化されることであると推論される。

#### Reference

- 1) C.D. Town, et al.: Radiat. Res., 55, 334 (1973).

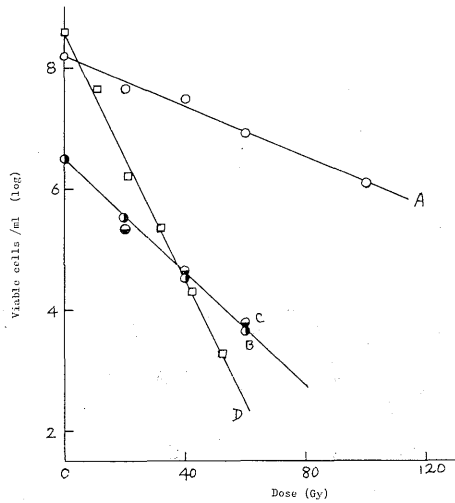


Fig. 1. Survival curves of *E. coli* K-12 P3478 (POL A1) log-phase cells for  $^{60}\text{Co}$  gamma rays combined with heating  
 A, control; B, heating before irradiation;  
 C, heating after irradiation; D, heating during irradiation

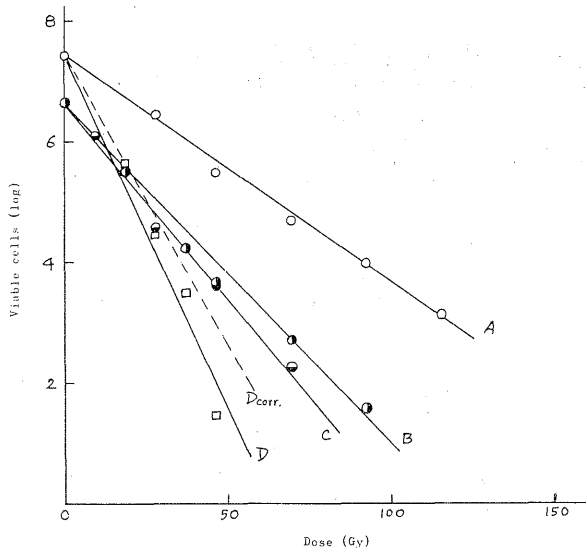


Fig. 2. Survival curves of *E. coli* K-12 AB2487 (rec A13) long-phase cells for  $^{60}\text{Co}$  gamma rays combined with heating  
 A, control; B, heating before irradiation;  
 C, heating after irradiation; D, heating during irradiation;  $D_{\text{corr.}}$  (broken line), curve D corrected for inactivation by heating

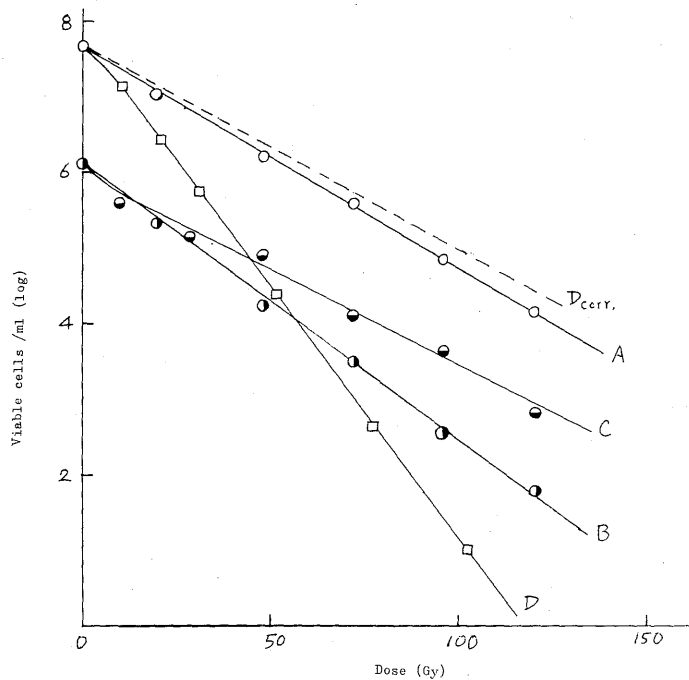


Fig. 3. Survival curves of *E. coli* K-12 AB2487 (rec A13) stationary-phase cells for  $^{60}\text{Co}$  gamma rays combined with heating A~D and  $D_{corr.}$ , see Fig. 2.

Fig. 4a *E. coli* K-12 W3110 (pol<sup>+</sup>)

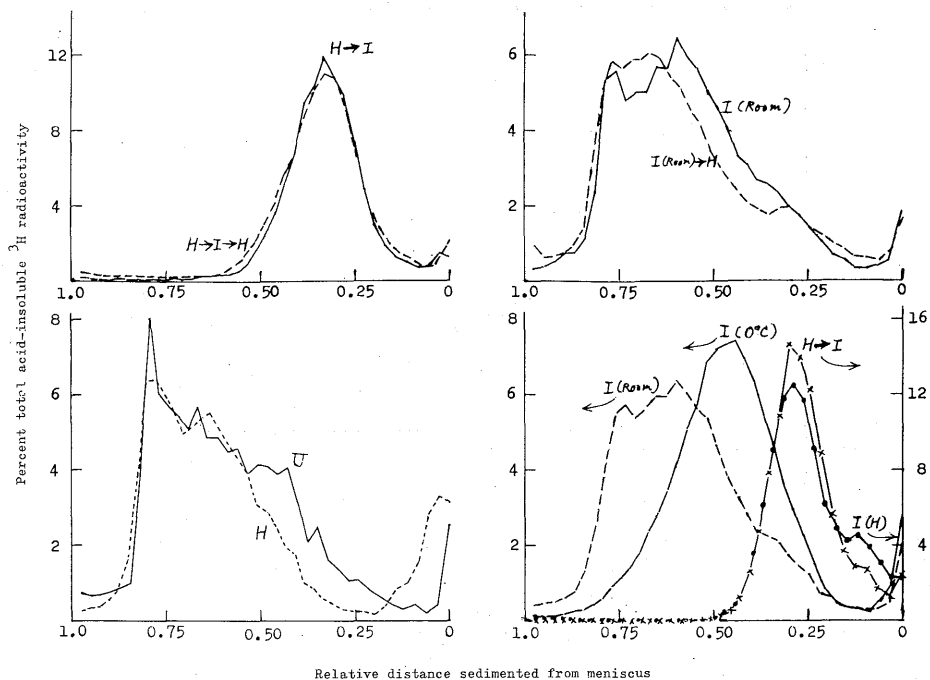


Fig. 4b. *E. coli* K-12 W3110 (pol<sup>+</sup>)

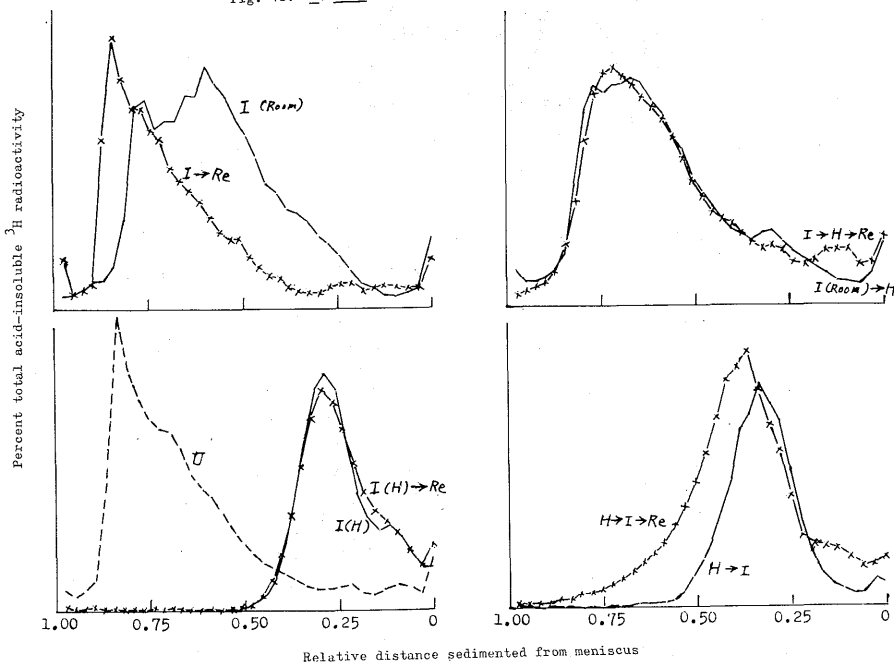


Fig. 4. Sedimentation profiles of DNA from *E. coli* K-12 derivatives U, unirradiated; I, irradiated (143 Gy); H I, heated (50°C, 15 min) and then irradiated; I H, irradiated and then heated; I(H), heated during irradiation; Re, reincubated in B2 broth at 37°C for 45 min.

Fig. 4c. *E. coli* K-12 AB2487 (rec A13)

