

## B-18 高压酸素下の大腸菌の代謝

松原純子 山本俊一 (東京大学)

高压酸素(以下OHPと略称)の生体に対する作用,特にその遅効果を知るために、OHP下で生育した大腸菌における核酸と蛋白の生合成量と、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{32}\text{P}$ および $^3\text{H}$ -thymidineの上記分画における比放射能の変化をしらべた。

方法:菌(*E. coli*, NIH株)を、ブイヨン中に90分間前培養し、200ml程度のブイヨンまたは合成最少培地に菌液を接種し、これを高压釜中に置き、2あるいは3、5 ataの $\text{O}_2$ をかけ、 $37^\circ\text{C}$ で、ブイヨンの場合は数時間、合成培地の場合は十数時間培養した。その間、必要に応じて一時的に釜を開けて菌液を採取し、適心により集菌した。対照は、酸素加圧はせず大気圧下に置き、他は加圧群と同一の条件で培養した。試料は、Schmidt-Thanhauser法に従って分画し、核酸はOD 260, 蛋白はNinhydrin反応による発色のOD 570とそれぞれ測定し、同時に、各分画の各核種の放射能を測定した。データは、培養液の容量当り(/l. cult.)または単位菌濃度(/OD 520)または単位菌容量あたり(/ml cells)に換算して、各条件の比較を行った。実験は次の4種を行った。加圧条件を下に示す。

- ①合成培地(a. P-free 培地 b. 最少培地M9の二種)にて、3、5 ata  $\text{O}_2$ の加圧を行い、 $^{35}\text{S}$ と $^{32}\text{P}$ の二重標識とし、18時間の培養期間中4回の試料採取を行った。

- ②トリプトソイブイヨンに培養し、2 ata  $\text{O}_2$ の加圧をし、試料採取は最後の1回のみとし、その間、加圧は、連続的かつ完全に行われた。

- ④トリプトソイブイヨンに培養し、3、5 ata  $\text{O}_2$ の加圧をし、 $^3\text{H}$ -thymidineと $^{35}\text{S}$ の二重標識とし、8時間の培養期間中6回の試料採取を行い、その間各20分おき5回常圧にもどる期間があった。

- ③トリプトソイブイヨンに培養し、3、5 ata  $\text{O}_2$ の加圧をし、6時間の培養期間中、5回試料を採取し、その間各20分おき3回常圧にもどる期間があった。

結果:実験①, ②, ③により、通常2 ata  $\text{O}_2$ 以上の加圧が、培養期間中完全に行われると、単位培養液当りの菌量、すなわち菌の生長のたちあがりの遅れと、水準の低下がみられた。(図1) これは、ブイヨン培養の場合より、合成最少培地による長時間培養の際、特に著しく顕著された。同時に、単位培養液あたりの菌の核酸量、蛋白含量もかなり低下した。

また、②の試料に、菌の酸素消費量とガス電極にて測定したところ、加圧群が、対照より低下していることがわかった。

しかしながら、上に述べた各種の抑制は、可逆的で、実験③, ④のように、試料採取による減圧の時間が、相対的に長くなると、加圧群の(抑制は増進の)少なくなりむしろ増進もみられた。(表1)

また、培養液全体としては、増進が抑えられているように観測されても、OHP下でなお増進してきた細胞個々の活性について見るために、得られた核酸量、蛋白量などと、菌の濃度または容積あたりに換算しとみると、必ずしも、加圧群に抑制

とは云えないような値がえられた。(表1) 一般に、単位菌濃度当りのDNA量は、どの培養液を用いても、加圧群と対照との間に大差はみられなかったが、RNAおよび蛋白の量では、各実験条件の違いが明かになった。実験①、②では、OHP下で、RNAおよび蛋白の合成量が減少したが、実験③、④では、RNAおよび蛋白量は、対照よりも増加した。

放射能のとりこみも、上の傾向を反映しており、DNA分画への<sup>3</sup>H-thymidineのとりこみは、加圧群と対照との差がなかった。RNAおよび蛋白分画への<sup>32</sup>Pまたは<sup>35</sup>Sのとりこみは、P.F培地の場合、加圧群で抑えられた。ただし脂質分画への<sup>32</sup>Pのとりこみは、加圧群のとりこみが高く、またアイオンによる④の実験にとも、脂質分画および蛋白分画への<sup>35</sup>Sのとりこみが、加圧群で著しく高かった。

実験①で、得られた核酸、蛋白などの分析値を、同時に測定した生菌数1個あたりに換算したところ、培養の初期では、加圧群の細胞が、対照に比べて著しく高い値となった。このことは、OHP下の細胞が、何らかの代謝的変異または分裂様式の変異をしたことを推定せしめるが、今後更に検討を要する点である。

また、加圧の条件(加圧の強さ、加圧の様式と時間、加圧時の培地の栄養量など)によって、得られるデータが、かなり異なっているので、このことについても更に究明したい。

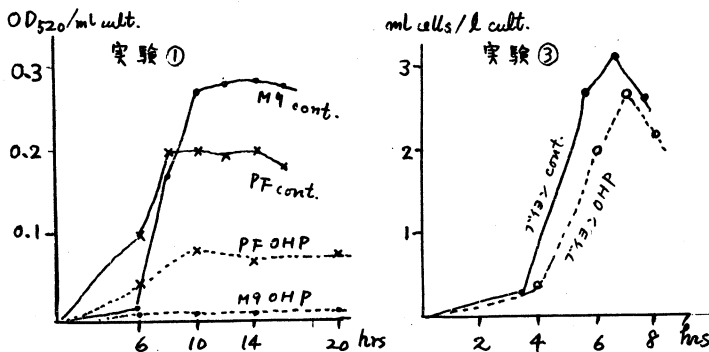


図1. OHP下の大腸菌の増殖(①, ③)

実験番号	加圧	a. 培養液あたりでの比較 (OD <sub>260</sub> /l. cult.)		b. 菌量あたりでの比較 (OD <sub>260</sub> /ml cells)	
		対照	加圧	対照	加圧
DNA	② 15時間	362	150	70.1	77.7
	③ 7時間	38.5	24.8	15.3	19.2
	④ 7時間	34.4	23.3	10.9	8.4
RNA	② 15時間	1463.	340.	284	176
	③ 7時間	736.	703.	101	261
	④ 7時間	365.	383.	116	139

表1. アイオン培養中の大腸菌に対するOHPの影響