



Title	放射線の作用機構に関する基礎研究5(卵アルブミンに及ぼす放射線の影響)
Author(s)	松澤, 秀夫
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1956, 16(8), p. 827-830
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15281
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

放射線の作用機構に関する基礎研究 5 (卵アルブミンに及ぼす放射線の影響)

群馬大学放射線科(主任 戸部龍夫)

松 澤 秀 夫

(昭和31年6月21日受付)

I 緒 言

放射線の作用機構を基礎的に検討するに當り、其の研究対象と測定手段の適切な選定は成果の有用性を左右する重要な要素である。即ち、*in vitro* に於ける放射線の影響は一般に極めて微弱であるから、第一に出来るだけ鋭敏に變化する試料と測定方法を、又第2には成る可く生體に關係の深い物質を選ぶ必要がある。第1の觀點より、各種溶液に就き其の物理化學的諸特性のうち特に放射線の影響を蒙り易いものに着目して、放射線の作用を検討し既に報告した^{1)~4)}。本報に於ては第2の觀點に立ち、生體構成物質として生命に關係が深いと思われる卵アルブミン溶液を対象とし、其の變性を弱アルカリ性ビュレット反應及び紫外線吸収の變化に依り觀測した。

元来NaOHを用うるビュレット反應はペプチッド結合部の活性化に對應するから、蛋白質變性の研究上重要な手段であるが、 10^5 „r” 照射しても非照射との差異を見出し得なかつた。従つて荒谷の方法に倣い⁵⁾⁶⁾、弱アルカリ性ビュレット反應を利用し以下の結果を得た。

最近蛋白質變性に関する研究⁷⁾は著るしく進歩し、放射線照射による變性に就いても幾多の業績が擧げられ、蛋白質側鎖のアミノ酸基(例えばチロシン基)の活性化⁸⁾⁹⁾、粘度の變化¹⁰⁾¹¹⁾等が報告されている。

著者はペプチッド結合部の活性化及び紫外線吸収の變化を利用して蛋白質變性を検討せんとするものである。

II 實驗方法

1) 結晶卵アルブミン(武藤化學製)の0.5%水溶液を作り、之をセロファン袋に入れ、冷蒸溜水を用い3日間透析後濾過して實驗試料とする。(氷室保存)

2) 試料を直徑1.4cmの硬質ガラス試験管に入れ、1氣壓の大氣と接觸せるまゝ側方からX線照射する。照射條件は150KV P, 3mA, 濾過板なし, 416r/分, 5×10^4 „r” 照射である。

3) 試料の處理は次の4種類である。イ. 50°C, 10分加熱(H) ロ. 5×10^4 „r” 照射(X) ハ. 50°C, 10分加熱後 5×10^4 „r” 照射(H+X) ニ. 5×10^4 „r” 照射後50°C, 10分加熱(X+H) ホ. 非處理(K)

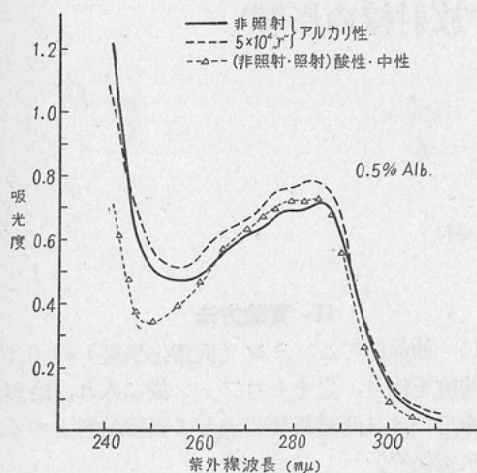
4) 紫外線吸収變化の測定: 卵アルブミン溶液を酸性(N-HClを用いpH: 2に調整), アルカリ性(Na_2CO_3 を用いpH: 9.4に調整)及び中性とし 5×10^4 „r” 照射する。ITO-Beckman型分光光電光度計を用い、230~310m μ 間の紫外線吸収を1~2m μ 間隔で測定する。

5) 弱アルカリ性ビュレット反應の測定: 中性0.5%の卵アルブミン溶液5ccに1% Na_2CO_3 溶液0.45ccと1% CuSO_4 溶液0.25ccを加えると淡い赤紫色を呈し時間を経るに従つて濃色化する。故に540m μ の光線を用い、其の吸光度變化を経時的に觀測する。反應液のpHは9.2である。(ビュレット反應の色は、反應開始後20~25分で略と一定の濃度に達する)

III 實驗結果

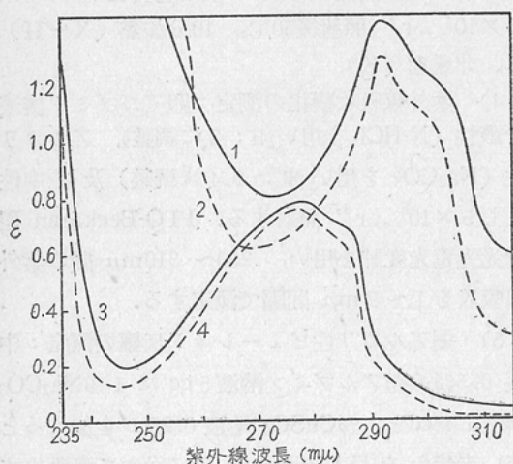
1) 紫外線吸收 (第1圖)

第 1 圖



酸性・中性・アルカリ性の如何を問わず，260～300mμ間に特性吸収帯を示すが，之は芳香族アミノ酸基に依る吸収である．酸性・中性の場合は照射と非照射の差異が認められないが，アルカリ性の場合は $5 \cdot 10^4$, "r" 照射により紫外線吸収が

第 2 圖



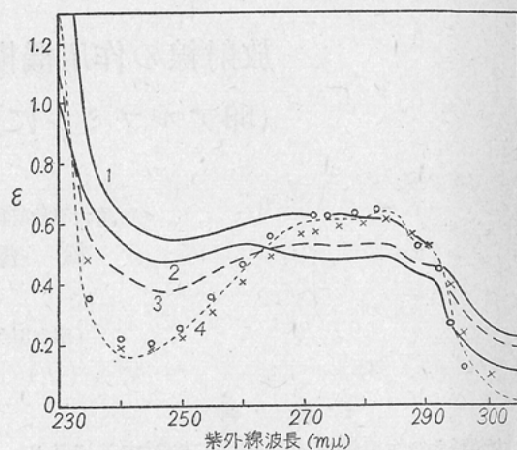
Tyrosine 5×10^{-4} M 2×10^4 r 照射

{ 1in $\frac{1}{4}$ N NaOH
3in aqua. & $\frac{1}{10}$ N H_2SO_4

非照射

{ 2in $\frac{1}{4}$ N NaOH
4in $\frac{1}{10}$ N H_2SO_4 & qua.

第 3 圖



Tryptophan $\frac{1}{3} \times 10^{-3}$ M

2×10^4 r 照射

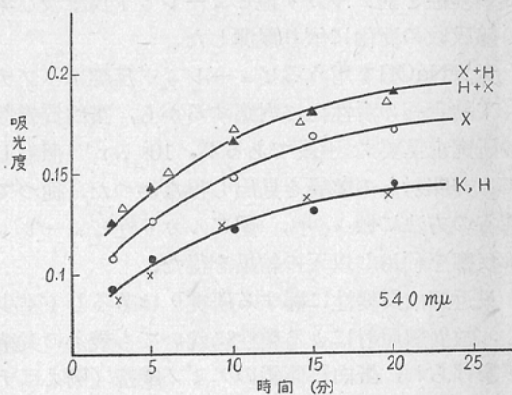
{ 1in $\frac{1}{4}$ N NaOH
2in $\frac{1}{10}$ N NH_2SO_4
3in aqua.

非照射

{ 4in aqua.
xin $\frac{1}{10}$ N H_2SO_4
oin $\frac{1}{4}$ N NaOH

増加し極大値 (286mμ) は稍々短波長側へ移行する。但し50°C, 10分加熱による影響は認められない。チロジン (第2圖⁴⁾。トリプトファン (第3圖⁴⁾) の吸収曲線と比較すると，以上の変化は

第 4 圖



0.5% Alb. 5cc
1% Na_2CO_3 0.45cc } pH 9.2
1% $CuSO_4$ 0.25cc }

K (非處置)

H (加熱50°C, 10分)

X (照射 5×10^4 "r")

チロジン基の變化に對應すると考えられる。(5・10⁴“r”に對しチロジン基が11%活性化する。)

2) 弱アルカリ性ビューレット反應

第4圖に結果を示す。即ち非處理と50°C, 10分加熱とは同様の呈色を示しているから、此の程度の加熱ではペプチッド結合部は活性化しない事が知られる。5×10⁴“r”照射すると非處理に對し20%活性度が増加し、加熱後照射及び照射後加熱の場合は同様に34%の増加を示した。但しX線照射中の温度は室温(15~20°C)である。之は加熱に依りX線の作用が増感される事、及びX線照射後に於ても準活性化したペプチッド結合部が潜在する事を示している。

IV 考 按

1) 紫外線吸収も弱アルカリ性ビューレット反應も共に測定操作が簡單で且つ變化が鋭敏であるから、放射線の作用機構の研究上有用な手段であると思われる。

2) Mirsky, Pauling¹²⁾, 水島¹³⁾等によれば、蛋白質のペプチッド鎖は可成り緊密に折りたゝまれた一定の構造を持ち、一つのペプチッド結合部の—NH—と他の—CO—とが水素結合を保つて居る。従つてペプチッド結合部が活性化される事はペプチッド鎖がルーズにはぐれる事を意味し、蛋白質變性の一標識である。扱、結果2)に於てX+HはXに比し變性が促進されている。Giese¹⁴⁾は悪性腫瘍にX線照射した後、短波をかけて局所の温度を42°Cに上げると治療効果が増強すると云い、又 Ficke¹⁵⁾はX線照射により熱變性の活性化エネルギーを減少させ得ると報告して居るが、本實驗に於けるX+Hと其の作用機序を一にするものであろう。即ちX線照射による蛋白質變性の中には、明に變性した部分の他に準變性(又は勵起)した部分も含まれると考えられる。

3) Haurowitz¹⁶⁾は、蛋白質熱變性の原因として折たゝまれたペプチッド鎖間に割り込む水の作用を指摘し、之が水素結合を切断すると云う。結

果2)に於けるH+Xに此の説を引用すれば、50°C 10分の加熱により水がペプチッド鎖間に或る程度割り込み、夫がX線により活性化されるとペプチッド鎖の開裂に著るしく有効に働き、従つて變性が促進すると解釋される。

4) 實驗結果1)に示す如く、X線照射された卵アルブミンの紫外線吸収は、pHが高い時に増加し低い時には變化しない。然し Arnow¹⁷⁾はα線照射の卵アルブミンに就き紫外線吸収の變化を測定し、pHが等電點より高い時は吸収が減少し、等電點より低い時には逆に吸収の増加が見られると述べ、本實驗の結果と相違する。之はα線とX線の線質が異なる爲であらう。

V 結 論

卵アルブミンに對する放射線の影響を検討して次の結果を得た。

1) 弱ビューレット反應を利用すれば、5×10⁴“r”照射でもペプチッド結合部の活性化を測定し得る事、並びにX線照射と加熱とを併用して活性化を著明に促進し得る事を知つた。之は放射線による蛋白質變性の研究上有用な結果であると考えられる。

2) 紫外線吸収の増加はアルカリ性の場合に於てのみ現われた。

文 獻

- 1) — 4) 松澤: 日醫放會誌, 15巻, 10號, 45, 72, 77, 81(1956).
- 5) S. Araya: J. Biochem. 38, No. 1, p. 7(1951).
- 6) 荒谷: 生體の化學, 4巻, 2號(1922).
- 7) 赤堀, 水島: 蛋白質化學 2, 共立出版 K.K. (1954).
- 8) 河村: 日醫放會誌, 12巻, 6號, 35(1952).
- 9) 若林, 河村: 日醫放會誌, 13巻, 5號, 35(1953).
- 10) Conway: Brit. J. Rad. 27, 313, 42(1954).
- 11) Scholes, Weiss: Brit. J. Rad. 27, 313, 47(1954).
- 12) Mirsky, Pauling: Proc. Nat. Acad. Sci. 22, 439(1936).
- 13) 水島, 島内: 蛋白質の構造, 60(1949).
- 14) Giese: J. Gen. Physiol. 31, 249(1948).
- 15) Fricke: Nature 169, 965(1952).
- 16) Haurowitz: The Chemistry and Biology of Protein p. 125, Academic Press, New York(1950).
- 17) Arnow J. Biol. Chem. 110, 43(1935).

Fundamental Studies on Mechanism of Action of X-ray 5
Effect of X-ray upon aqueous ovalbumin solution

By

H. Matsuzawa

Department of Radiology, Gunma University

Effects of X-ray upon aqueous solution of ovalbumin were investigated. (5.10^4 "r")

Results:

- 1) Using the weak alkali biuret reaction, the reactivity of peptide linkage part of irradiated aqueous ovalbumin solution was clearly observed.
 - 2) The reactivity was further increased by heat after irradiation.
 - 3) The U.V. absorption of irradiated ovalbumin solution was increased. (in alkali solution)
-