



Title	放射線間接作用の研究(第13報)タバコモザイク病ウイルスに及ぼす放射線の影響
Author(s)	仲屋, 真兵衛
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1959, 19(3), p. 529-537
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19069
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

放射線間接作用の研究 (第13報)

タバコモザイク病ウイルスに及ぼす放射線の影響

北海道大学医学部放射線医学教室 (主任 若林勝教授)

仲屋真兵衛

(昭和34年2月22日受付)

緒言

ウイルスは放射線生物作用の研究に好んで用いられる材料である。従つて之に関する研究¹⁾²⁾は多数見られるが、夫等はウイルスが放射線に依つて不活性化する事を示標としての実験が大部分である。著者は物理化学的立場に立つて、放射線に依るウイルスの形態的变化を示標として、放射線作用の機序を究明せんとするものである。

タバコモザイク病ウイルス (以下TMVと略称する) は桿状形をなすものであるが、之が種々なる物理的侵襲に依つて切断される。紫外線³⁾、超音波⁴⁾、加熱⁵⁾、凍結乾燥⁶⁾等の処理に依つて切断されるか如何かを検討してみた。次いで、其の切断は直接作用に依つて起るか、間接作用に依つても出現するかを追求した。又、水溶液中での放射線に依る切断に就いては間接作用が如何なる役割をなすかを追求した。

実験方法

a) 試料

使用したTMVは北海道大学農学部植物病理学教室の御好意に依り入手した。煙草モザイク病罹病煙草 (*Nicotiana glauca*) の凍結したものから作った磨碎汁液を材料とした。此の原汁液をガーゼで濾過し、3500r.p.m. で30分間遠心沈澱し、上清に硫酸アンモニウムを1/4飽和になる様に加え、更に3500r.p.m.30分間遠心分離してウイルスを沈澱させた。此の沈澱にpH 6.8の磷酸緩衝液を原液量と等量加えウイルスを分散させ、更に3500r.p.m.30分間の遠心沈澱に依つて不溶性の物質を除いた。此の操作を2回反覆した後、其の上

清に1/10N HClを加えてpH 3.3の等電点とし、遠心沈澱で得た沈澱を、原汁液と等量のpH 6.8の磷酸緩衝液に溶かす。之を12000r.p.m.20分間遠心分離し、上清を原液として氷室内に保存し、要に望み使用した。

b) 照射条件

放射線はCo⁶⁰ (50c) 遠隔照射装置 (東芝製RIIT 101A型) に依りγ線照射を行つた。乾燥TMVを照射する場合は、コロジオン膜上にTMV浮游液を滴下し、真空乾燥後、線源試料間距離2.5cmとして行つた。TMV浮游液を照射する場合は、試料1ccを2cc用アンプルに入れ、液層 (ca 1cm) の中心と線源との距離を2.5cmとした。線強度は1440r/minで、照射線量は 3×10^6 rより 15×10^6 rまでの間を使用した。以上の操作は室温下で行つた。

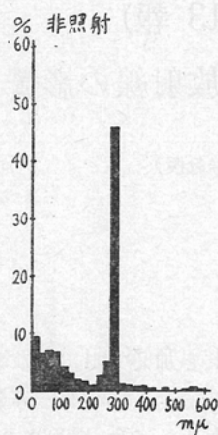
c) 電子顕微鏡写真

試料をコロジオン膜上に滴下し、室温にて真空乾燥し、クロームシヤドウイングを施し、電子顕微鏡にて直接倍率8000倍、更に光学的に5倍拡大し、写真上では40000倍として計測を行つた。使用した電子顕微鏡は日本電子光学研究所製TE-02型、超高圧電子顕微鏡、加速電圧100kVp、及び同社製T4型、加速電圧50kVpである。写真上のTMVの長さを測定するには1μを40000倍に拡大した標尺を作り、最小目盛を25mμ相当とし、各々500~1000個のTMVの長さを測定して、ヒストグラムを作製した。

実験成績

実験第1 対照実験

第1図 非照射TMVの長さの分布



非照射TMV粒子の長さの分布は、附図1に示す如く病原性の単位と言われる 300μ 附近のものが最も多かつた。ヒストグラム（第1図）を見るに $275\sim 300\mu$ のものが最も多く45.8%であつた。今、 200μ 以下のものと、以上のものに分けると、前者は40.7%、後者は59.3%で之等を平均するれば 212.0μ であつた。之等の値は先人の業績（第1表、福土著：植物バイラスに依る）と一致している。本実験に用いたTMVは精製処理に依る形態的变化は無いと考えられる。

実験第2 乾燥状態で照射した場合

乾燥状態のTMVは $3\times$ 、 $6\times$ 、 $9\times$ 、 $12\times 6r$ 照射した場合のヒストグラムは第2図である。3

第1表 TMVの大きさ

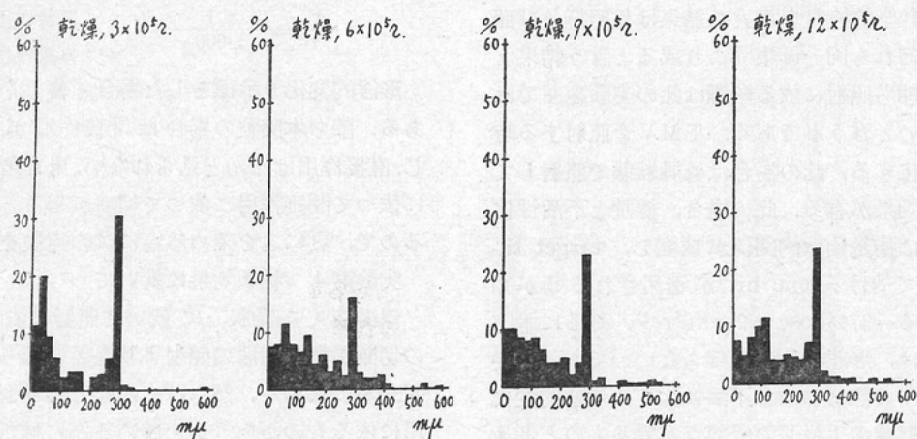
報 告 者	測定方法	TMVの大きさ (μ)
Bawden & Pirie (1937)	濾 過 性	幅 13
Bernel & Fankuchen (1937)	X線廻折と電子顕微鏡	300×15.2
Lauffer, Frampton & Neurath (1938)	沈澱恒数と粘性	430×12.3
Kausche, Pfankuch & Ruska (1939)	電子顕微鏡	$150\sim 300\times 15$
Melches et al (1940)	"	$140\sim 190$
Stanley & Anderson (1941)	"	$80\sim 310$ 、 50%又は 280×15
Rawlins, Roberts & Utech (1946)	"	Ca 70%又は $225\sim 450$ Ca 30%又は 225 以下
Sigurgeirson & Stanley (1947)	"	280×15
Knight & Oster (1947)	"	$100\sim 600$ 主に $280\pm 8.6\times 15.2$
高橋, Rawlins (1948)	"	Ca 70%は $231\sim 446$ Ca 30%は 231 以下
仲 屋 (1953)	"	45.8%は $275\sim 300$

$\times 10^5 r$ 照射のものでは、 300μ 位のものが、対照群では45.8%のものが30%となり減少したかの如くに見える。 100μ 以下のものは対照群では10%以下であるのに、照射したものでは20%となり増加したかの如くであつた。然し乍ら之等の事が線量の増加と共に増強するが如き事は見られなかつた。又、平均の長さで比較すると、対照群の 212μ に対し、照射群は $167\sim 187\mu$ の間である。平均の長さに就いては線量に対応して短縮の度が強くなる様な現象は見られなかつた。

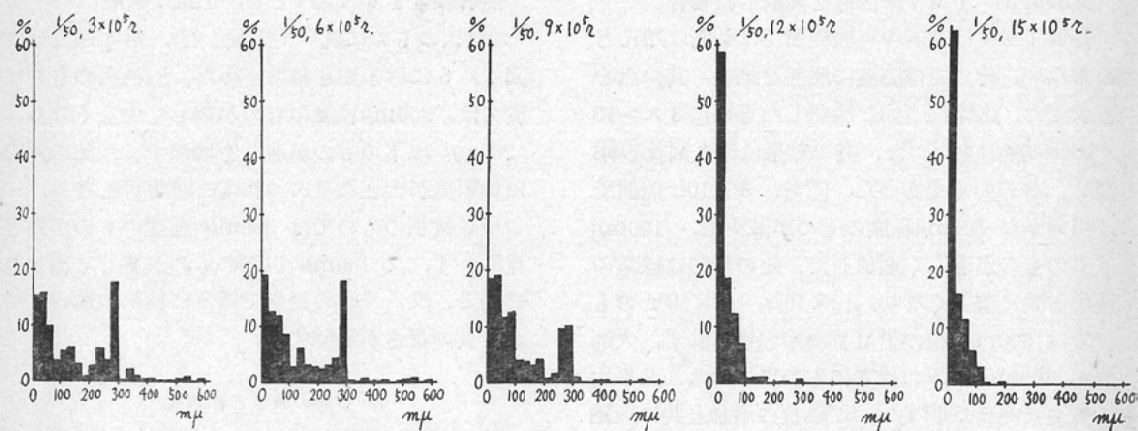
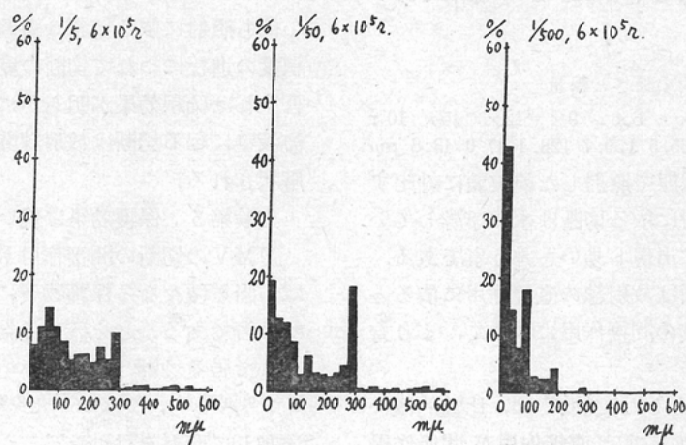
照射に依る影響を検討するために次の如き処理を行つた。今、一定の長さ（1mm）になる標本のTMVの箇数を求める。之に各長さ（級間 25μ ）の度数頻度を乗ずれば、各長さの箇数が得られる。今、病原性の単位と言われる $250\sim 300\mu$ のものに就いて、対照群の夫を100とし、之が照射に依つて減少し、其の残り即ち残存率をとつて線量との関係を見るに、次の如くであつた。

線量と残存率					
線 量	0	$3\times$	$6\times$	$9\times$	$12\times$
残存率	100.0	89.6	64.4	67.4	78.9
					$10^5 r$ (%)

第2図 乾燥TMVを照射した場合



第3図 TMV浮游液 (1/50稀釈)を照射した場合

第4図 $1/5$, $1/50$, $1/500$ 稀釈液に各 $6 \times 10^5 r$ 照射した場合

此の結果は残存率の減少を示すかの如き観があるが、推計学的検討を加えた結果は対照群及び照射群は、何れも同一母集団より成ると言う結果となつた。即ち照射に依る影響は此の実験範囲では見られないと言う事である。TMVを照射する時は不活性化する。此の場合は乾燥状態で照射しても著しい効果が有る。此の場合、線量と不活性化との間には指数函数的関係が成立し、target theoryに於て於ける one hit が適用される事が知られて居る ($37\% \text{dose} = 2 \times 10^5 \text{r}$)²⁾。然るに本実験範囲では、形態的变化が起らないのである。従つてTMVの照射に依る不活性化と、形態的变化とは、放射線のTMVの侵襲点が異なるものと考えざるを得ない。

実験第3 TMV浮游液を照射した場合

乾燥TMVは著者の実験範囲では切断は殆んど起らない。そこで浮游液に照射を試み、其の点を追求した。原液を $1/50$ に稀釈したものに $3 \times 10^5 \text{r}$ の照射を行つた。其の結果は第3図及び附図2, 3の如くであつた。即ち、 $3 \times 10^5 \text{r}$ 照射では明らかに $300 \text{m}\mu$ 程度のものが減少し、 $100 \text{m}\mu$ 以下のものが著しく増加した。此の傾向は線量の増加と共に著しくなり、 $12 \times 10^5 \text{r}$, $15 \times 10^5 \text{r}$ のものでは $300 \text{m}\mu$ 程のTMVは殆んど見られず、大部分が $100 \text{m}\mu$ 以下の長さのものになつた。又平均の長さで見ると明らかに線量の増加と共に短縮を見る。即ち明らかに切断が起り、而も其の度は線量の増加につれ著しくなると言う結果であつた。

平均の長さと線量

線量	0	3×10^5	6×10^5	9×10^5	12×10^5	15×10^5
平均の長さ	212.0	165.5	150.7	128.4	47.0	43.8 $\text{m}\mu$

此の結果を乾燥状態で照射した前実験に対比するに、TMVの照射に依る切断は水に浮游している状態の方が遙かに出現し易いと言う事である。即ち照射に依る切断は放射線の直接作用に依ると言うよりは、寧ろ其の間接作用に依つて、より有効に発するらしい。

不活性化を示標とした実験では、比較的濃い浮游液 (0.022g/cc) では直接作用が間接作用

よりも遙かに重要な役割を果して居ると言う事。

$$\frac{r}{\tau} = \frac{1}{4,000} \quad \begin{array}{l} r : \text{間接作用の寄与} \\ \tau : \text{直接作用の寄与} \end{array}$$

形態的变化を示標とした場合と著しく異なる事である。即ち本実験の場合は間接作用が主役を演じ、直接作用は殆んど見られない。兎も角、本実験に依つて間接作用に依つて切断が起ると考えられるので、更に之を確める為に次の実験を行つた。

実験第4 稀釈効果に就いて

浮游液 ($1/50$ 稀釈) に就いて照射に依るTMVの切断が乾燥状態の照射より遙かに起り易い事が明らかになつた。然らば之が果して放射線間接作用に依るものか何うかを確める為に稀釈効果に就いて実験を行つた。

照射線量を $6 \times 10^5 \text{r}$ とし、TMV原液の $1/5$, $1/50$, $1/500$ 稀釈のものに就いて実験を行い第4図及び附図4, 5に示す如き結果を得た。 $1/5$ 稀釈のものに於ては、 $300 \text{m}\mu$ 程度のものが著しく少なくなり、 $200 \text{m}\mu$ 以下のものが著しく増加する。此の傾向は稀釈度が大きくなるにつれて一層著明となる。

$1/500$ 稀釈のものでは $300 \text{m}\mu$ 程度のものが殆んど見られず、又 $100 \text{m}\mu$ 以下のものが著しく増加して居る。又、平均の長さで見ると稀釈の進むにつれて其の長さが短縮する。

平均の長さと稀釈度

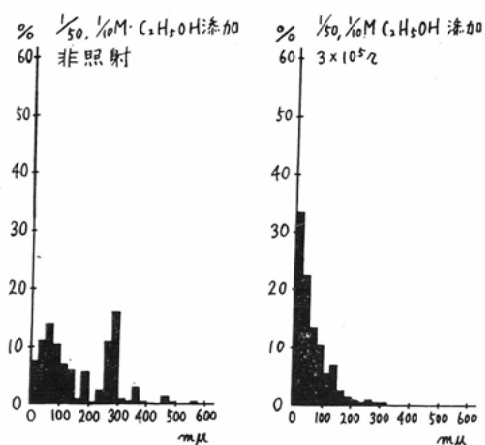
稀釈度	対照	$1/5$	$1/50$	$1/500$
平均の長さ	212.0	156.7	150.7	75.4 $\text{m}\mu$

即ち照射に依る切断は線量が一定なる場合は稀釈度の進むにつれて切断の度合は著しくなる。換言すれば稀釈効果が明らかに見られた。従つて浮游液中に起る切断は放射線間接作用に依るものと解釈される。

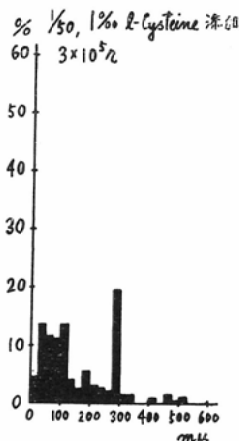
実験第5 保護効果に就いて

TMVの切断の間接作用に依つて起るのならば、当然種々なる保護物質に依つて切断が防禦される筈である。之を確める為に保護物質として知られて居るゲラチン²⁾³⁾, エタノール⁷⁾⁸⁾, チステイン⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁴⁾, グルコース²⁾⁸⁾等をTMV浮游液に添加して照射を行つた。

第5図 TMV浮游液にエタノールを添付して照射した場合



第6図 TMV浮游液にチス테인を添加して照射した場合.



a) ゲラチン

浮游液に 1 mg/cc の濃度となる様にゲラチンを加え、 3×10^5 r 照射して非照射群と比較した。此の場合の電子顕微鏡写真はゲラチン添加の為、コロイド膜上の試料の凹凸が少なくなる為か、シャドウイングの効果が不良となり鮮明な像を得られず、写真上で TMV の正確な長さを測定し得なかつた。併し、 3×10^5 r 照射の写真を観察すると、短い TMV は殆んど見られず、切断が阻止されたものの如くである。

b) アルコール

$1/50$ 稀釈液に $1/10$ M の濃度となる様にエチルアルコール C_2H_5OH を加えると、非処理 TMV に比し、非照射試料で既に軽度の短縮が現われた。更に 3×10^5 r 照射に依り著しい切断を認める (第 5 図)。即ち、エタノールを加えて照射しても、保護効果は認められないと言う事である。一般にエタノールは保護物質として知られて居るものである⁸⁾ にも拘わらず、此の場合は其の効果が見られなかつた。添加量の多寡が関係するものとも考えられる。

c) チス테인

TMV の $1/50$ 稀釈液に 1% の濃度となる様にチス테인 (和光製最純 L-チス테인, $HSCH_2CH(NH_2)COOH$) を添加して、 3×10^5 r 照射した場合には 300 mμ 位のものが 19.5%, 200 mμ 以下のものが 66.0%, 平均の長さは 172.0 mμ となり、明らかに切断が起りチス테인添加の効果は認められなかつた (第 6 図)。此の場合も前実験 (エタノールの実験) と同様なチス테인の保護効果は認められないと言う結果となつた。チス테인は保護物質として良く知られたものであるにも拘わらず、此の場合、全く其の効果は認められなかつた。

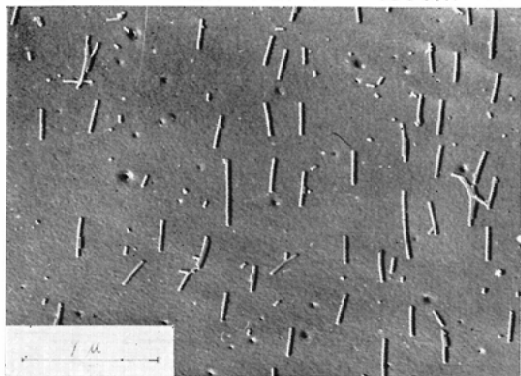
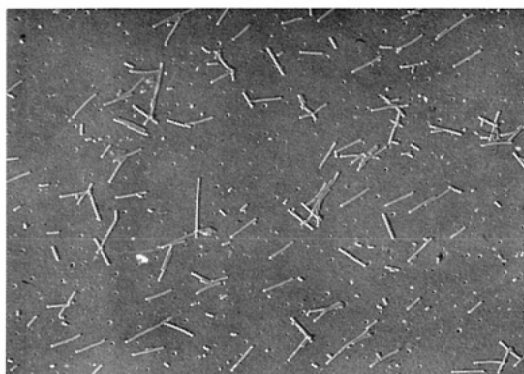
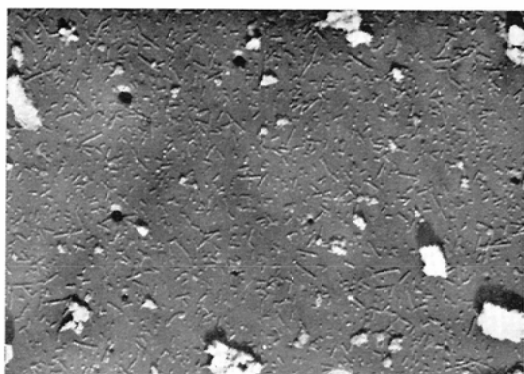
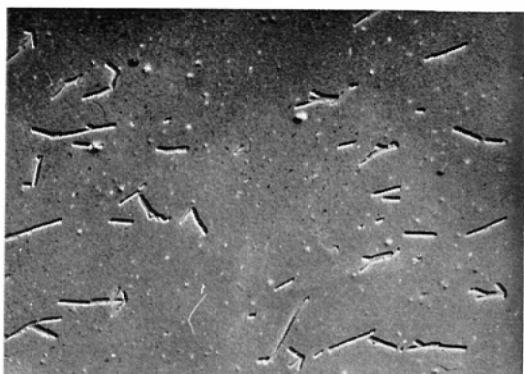
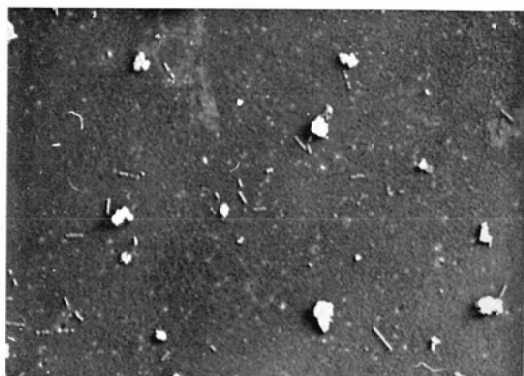
d) グルコース

TMV 原液の $1/50$ 稀釈液に 0.05 g/cc の濃度となる様にグルコースを添加した試料を電子顕微鏡で観察しようとした。此の場合、標本作製の為の乾燥に依り結晶を生じ、電子顕微鏡体内で炭化し、実験を阻げ測定不能であつた。

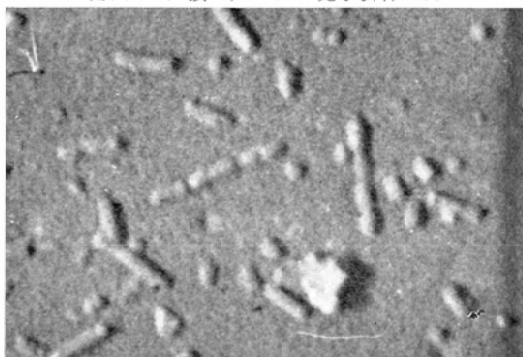
本実験に於て、ゲラチン、グルコースは実験操作上不適当なものであつた。之等の物質を照射後、何等かの方法で除去した電子顕微鏡標本作製する様な試みを行えば、其の効果が窺えたのかも知れない。又、エタノールは量的関係の問題も残されて居るであろうが、兎に角、予期に反した結果であつた。更にチス테인に於ても保護効果が全く認められなかつた。

以上、此の実験は何れも予期に反した結果であつたが、敢て実験結果を附記し、此の解釈に就いては今後の研究に俟つ事にしたい。

附図1 非照射TMV, 直接 8,000×光学引伸5×

附図2 TMV浮游液 (1/50稀釈) 9×10^5 r 照射附図3 TMV浮游液 (1/50 稀) 積 15×10^5 r 照射附図4 TMV浮游液 (1/5 稀釈) 6×10^5 r 照射附図5 TMV浮游液 (1/500 稀釈) 6×10^5 r 照射

附図6 直接 8,000× 光学引伸14×



考 案

TMVは種々なる物理的侵襲に依つて切断されるが、乾燥状態のTMVは放射線に依つて切断され難い様である。然るにTMVの浮游液を照射する時は容易に切断が起る。そして、此の切断は線量の増加に対応して切断の度は増強される。又、線量の増加に対応して切断の度は増強される。又、線量を一定として稀釈度を変化せしめる時

は、稀釈度の大きくなるにつれて、切断の度は増強されるのである。稀釈度 $1/5$ から $1/500$ の間で明らかに稀釈効果が認められた。従つて間接作用に依つて切断が起ると言えるであろう。此の事は、又、本実験に用いたTMV浮游液は可成り純度の高いものである事の証左でもある。何故ならば、不純

物が可成り混在するならば、之等は間接作用の protective agent として働く筈であるからである。バイラスの不活性化を示標としての実験に於ては直接作用が主役を演じ、間接作用に依る効果は遙かに低いと言われて居る。Lea は TMV に於て $\gamma/\tau=1/4,000$ (τ : 間接作用の寄与, T : 直接作用の寄与) であると言う²⁾。放射線に依る切断の場合とは著しく異なる。兎に角、乾燥状態では殆ど切断が起らず、浮游液の照射で容易に切断が起り、而も稀釈度を高くするにつれて切断の度が強くなる事は、放射線間接作用に依って切断が起るならば、当然保護効果が見られる筈である。然るに保護効果に就いての本実験は全く予期に反する結果であった。

バイラスの不活性化を示標としての研究に於ては、何れも保護効果が証明されて居る。Luria et Exner³⁾ はバクテリオファージで、塩液中で照射する時は、フイヨン中で照射するよりも遙かに不活性化の割合が大であると言う。又、浮游液にゲラチン、ペプトン等を加えて照射する時は中活性化は著しく低下すると言う。櫻井⁴⁾ は、チステインは X 線の吉田肉腫核分裂数を減少せしめる作用を軽減する事を報告した。中山⁵⁾ はパラアミノ安息香酸の水溶液に極めて少量のエタノール或はグルコースを添加する事に依って、核分子の照射に依る変化を著しく低減すると言う。Lea²⁾ は TMV の不活性化を示標として、グルコース 0.05 g/cc 或はゲラチン 0.001 g/cc の添加で、何れも明らかに保護効果ありと言う。著者が用いたゲラチン、エタノール、チステイン、グルコース等は、前記した業績の外、なお多数の実験結果が有り、既に保護物質として良く知られて居るものである。然るに、本実験に於ては何れも明らかなる保護効果が認められなかったのである。之等の内、ゲラチン、グルコース等は、むしろ本実験には不適当のものであったとでも言う可きであろうが、チフテイン、エタノール等にも明らかに保護効果が本実験範囲内では認められなかったのである。バイラスの不活性化を示標とした実験に於ては、之等の物質に依って明らかに保護効果が認め

られるに拘わらず、形態的变化を示標とした本実験では、それが現われない事に就いては、如何に解釈されるべきであろうか。此の事に関しては、実験結果を述べるにとどめ、其の解明は後日の研究に俟つ事にしたい。

さて、TMV が放射線に依って切断が起る機構を検討せん。日高、桐山等⁶⁾等は TMV を超音波で処理すると、一本が10数個に細片され、夫等が並んで存在するものが見られる事が有ると言い、Oster の写真にも此の様なものが見られる事を指摘している。著者の実験に於て斯かる像が見られた(附图6)。此の事実から彼等は細断された粒子が単位であつて、之等を連結する何等かの機構が存在するであろうと考えている。然し、別の考え方もある。即ち、根井⁶⁾等は長い棒状のものが細断されて見えるが、細断された像こそ TMV の本来の姿であるかも知れないと推定している。そして凍結乾燥の操作条件に依って TMV の切断が起るが、之は恐らく機械的な力に依るものと考えている。TMV の切断箇所の構造に就いては此の様な考えが提唱されて居るが、兎に角、棒状のものの中に種々なる侵襲に依って切断され易い場所が有するだけは言へよう。放射線に依る切断も恐らく此の様な場所で行われるであろう事は推定されよう。

TMV の化学的構造は核蛋白分子の連鎖がスパイラルになつて居て、one turn と次の turn との間に構造上の不連続な部分が有るとは言われて居る¹²⁾。之等の点の何所かで切れるとも想像される。

次に切断の機序に就いて考えん。放射線に依る切断には間接作用が主役をなす事は明らかである。一般に間接作用の機序に就いては二つの事考えられる。一つは照射に依って水から生ずる遊離基(OH, H基等)と分子との化学変化であり、他は遊離基の相互反応に依って生ずる過酸化水素との化学反応である。Luria³⁾ はバイラスの照射に依る不活性化は多くは遊離基との化学反応に依ると言い、又、其の反応は一次性光化学反応ではなく、温度依存性で溶質に起る化学反応と共通の性質の

ものであると言う。著者の教室では此の点に関し、種々なる実験(若林, 櫻井¹³⁾)より放射線間接作用に依つて起る変化には温度依存性なきものが多い点より、広義の光化学的反應であると考えて居る。著者の実験に於ても、遊離基がTMVと直接化学反応を起すのではなく、遊離基を energy transfer と考え、之に依つてTMVに energy が与えられる。此の energy に依つて機構的に結合の弱い部分に切断が起ると考えたい。従つて放射線に依るTMVの切断は、物理的現象に依ると解釈する方が理解し易いであろう。

兎に角、不活性化を示標とした結果と、切断を示標とした実験とでは、非常に異つた結果であつた事は興味深い事実であつた。放射線生物作用の研究に就いて、此の辺に何か重要な手懸りが得られるのではないとも思われる。

結 論

TMVに Co^{60} γ 線照射を行い、電子顕微鏡写真に依り其の形態的变化を追求し、次の如き結論を得た。

1. 本実験に使用したTMVは約 $300 \times 15 \mu$ の棒状のものが大部分であつた。
2. 乾燥状態のTMVを照射する時は、殆ど明らかな形態変化は見られない。
3. 浮游液を照射する時は、 300μ 程度のものが減少し 200μ 以下のものが明らかに増加する。即ち、照射に依り切断が起る。
4. 浮游液を照射して起る切断は、同一濃度では線量に対応して著しくなる。
5. 稀釈度 $1/5 \sim 1/500$ の間に於て、明らかに稀釈効果が見られる。即ち、照射に依る切断は放射線間接作用に依る。
6. ゲラチン, エタノール, チステイン, グルコース等の保護物質に依る保護効果は認められなかつた。此の事に就いての解明は後日にゆずる。
7. バイラスの不活性化を示標とした従来の実験結果とは著しく異なるものであつた。TMVの切断の実験結果より、放射線間接作用の機序を論じた。

掲筆するに当り、種々御懇篤なる御教示を頂きました北大農学部植物病理学教室、富士名誉教授並びに四方助教、北大医学部眼科学教室藤山教授、札幌至大放射線医学教室牟田教授、徳島大学医学部放射線医学教室河村教授、北大医学部臨床講座電子顕微鏡研究室職員各位に深く感謝致します。

本研究は文部省科学研究費に依つた、附記して感謝の意を表する。

本論文要旨は北海道医学会第37回大会(札幌)昭和32年9月、並びに日本医学放射線学会第16回東北、北海道新潟地方会(仙台)昭和33年7月に於て発表した。

〔附記〕

本論文を書き上げた後に牟田信義教授より次の様な討論を頂いた。『乾燥状態で照射した場合、実際には切断が起つても此の実験方法では見出し得ないのかも知れない』と言うことであつた。

そこで著者は乾燥状態で照射した後、再び浮游液として電子顕微鏡標本を作製観察した。その結果は照射しない対照群(乾燥後再び浮游液とする)でも切断が起り、 100mr 以下のものが77.0%を占めていた。照射後では 100μ 以下のものが $3 \times 10^5 \text{r}$ 照射のものでは66.5%、 $6 \times 10^5 \text{r}$ 照射のもので65.5%であつた。即ち、対照群に見る如く此の様な操作を行う事で可成りの切断が起る。従つて照射の影響を見出すことは困難であつた、ここに牟田教授の討議に対し、実験を追加し御好意に謝意を捧げます。

文 献

- 1) 福士: “植物バイラス” 第3版, 朝倉書店, (1956). —2) D.E. Lea: “Action of Radiations on Living Cells” 2nd ed., Cambridge University Press, London, (1955). —3) S.E. Luria: “General Virology”, John Wiley & Sons, Inc., N.Y., 松本稔訳, 第1版, 丸善, (1955). —4) 四方: 煙草モザイク病バイラスに対する紫外線の影響, 柄内・福士両教授還暦記念論文集, 344, (1955). —5) 日高・桐山: Virus, 3, 39, (1953). —6) 根井・佐々木・四方: 低温科学, 生物篇, 14, 75, (1956). —7) 高山: 日医放誌, 16, 963, (1956). —8) 中山: 日医放誌に掲載予定。 —9) 桜井: 日医放誌, 16, 407, (1956). —10) 湊: 日医雑誌, 16, 392, (1956). —11) 桜井他: 北海道医誌, 31, 426, (1956). —12) R.E. Franklin: Nature, 175, 379, (1955). —13) 若林: 日本医事新報, 1579, (1954). —14) 気賀: 昭和32年, 癌の放射線療法の基礎的研究班会議に発表。

Studies on Indirect Action of Radiation
(13th Report)
Effect of Radiation on Tobacco Mosaic Virus (TMV)

By

Shimbei Nakaya

Department of Radiology, School of Medicine, Hokkaido University

(Director: M. Wakabayashi)

TMV metamorphosed by Co-60 γ -ray irradiations of 3×10^5 r. was observed by means of an electron microscope. The results obtained are summarized as follows;

- 1) TMV used in these experiments mostly long rods about $300 \times 15 \text{ m}\mu$.
- 2) In experiments with irradiation on virus in dry state, no remarkable morphological change of the virus particles was observed.
- 3) In experiments with irradiation in suspension, the number of about $300 \text{ m}\mu$ long rods was reduced, whilst the number of rods shorter than $200 \text{ m}\mu$ was remarkably increased. That is to say, TMV is broken by irradiation.
- 4) The breaking of TMV by irradiation increases according to the doses of irradiation.
- 5) The dilution effect was recognized in the dilution rate 1/5 to 1/500. That is to say, the breaking of TMV by irradiation is mainly ascribable to indirect action of radiation.