

ヨツヒメゾウリムシの生存率に対する紫外線損傷と光回復の影響

丹治 悟, 三輪 五十二
(茨城大・院理工)

Effects of ultraviolet damage and photoreactivation on the survival rate of
Paramecium tetraurelia

Satoru TANJI and Isoji MIWA
(Grad. Sch. Sci. Engn., Ibaraki Univ.)

SUMMARY

Many organisms have developed various restoration mechanisms to counteract the negative effects induced by ultraviolet light. The photoreactivation that recovers these effects by the visible light irradiation is a restoration mechanism. It is confirmed that the clonal life span is decreased by the DNA damage induced with ultraviolet irradiation, but when followed by photoreactivation, clonal life span is recovered in *Paramecium tetraurelia*. In this study, we examined the decrease and recovery of survival and growth rates by the ultraviolet irradiation with different wavelength and intensity and visible light irradiation in *P. tetraurelia*. Results show that the ultraviolet damage and the recovery with visible light were increased respectively when the intensity of ultraviolet and visible light were increased. Furthermore, the survival rate was decreased with 257 and 283 nm ultraviolet more than 229 nm ultraviolet when followed by photoreactivation, the growth rate was decreased with 257 nm ultraviolet more than with 283 nm ultraviolet. These results suggest that

the survival rate and growth rate with ultraviolet and visible light irradiation depend on the intensity and wavelength of these lights.

[目的] DNA に紫外線を照射すると DNA の塩基部分が変化し, *cyclobutane pyrimidine dimer* や 6-4 photoproduct といった架橋構造が生じる. この構造は DNA の複製, 転写を阻害し, 細胞死, 突然変異を引き起こす. これらの損傷を打ち消すために生物は, 様々な修復機構を発達させており, 最も広く存在している修復酵素の一つが光回復酵素である. この酵素が近紫外光, 青色光を吸収することで活性化し, 紫外線により生じた *cyclobutane pyrimidine dimer*, 6-4 photoproduct を復帰させ, それに伴い生物活性が回復する. *Paramecium tetraurelia* では, Smith-Sonneborn (1979)¹⁾により, 紫外線の照射によって分裂寿命の減少が起こるが, 直後に可視光線を照射することによって, 寿命の回復が起きることが確認されている. 今回の研究では分光照射機を用いて, 紫外線, 可視光線の線強度, 波長の違いによる *P. tetraurelia* の生存率, 増殖率への影響の変化に関して検証した.

[方法] *P. tetraurelia* stock 51 株 (接合型VII) を 25°C, LD16:8 の条件下で培養し, 分裂齢一定の初期定常期細胞を用意した. 分光照射機 (日本分光 CRM-FA 型) を用いて様々な波長, 線強度の紫外線, 可視光線を照射し, その後の細胞の生存率, 増殖率を観察した. 任意の可視光照射時以外の光回復を避けるため, 細胞の観察, 実験は暗室内で赤色光下において行った.

[結果]

紫外線損傷による生存率, 増殖率の低下

229, 257, 283 nm の波長の紫外線で線強度 500-4,000 J/m² のダメージを与えた場合, 線強度の増大に伴う増殖率の低下の推移は 3 つともほぼ同じ結果であり, 波長の違いによる紫外線影響の差は見られなかった. しかし生存率の低下に関しては, 257, 283 nm では線強度の増大とともに生存率が低下したが, 229 nm ではほとんど生存率が低下しなかった.

紫外線照射後の可視光線照射による生存率, 増殖率の回復

光回復は主に波長 350-500 nm の範囲で可視光線を照射した際に誘導され, ピークは 440 nm 付近に存

在した. 257, 283 nm の波長の紫外線を線強度 1,000-6,000 J/m² で照射し, 細胞に損傷を与えた後に可視光線 100,000 J/m² を照射し光回復を誘導した場合, 紫外線の線強度が強いほど光回復による細胞の回復率は低下し, 4,000 J/m² でほとんど回復することはなくなった. また線強度 2,000-3,000 J/m² での細胞の回復率を比べると, 257 nm に比べて 283 nm の方が細胞活性の回復率が高くなった. 257 nm, 2,000 J/m² の紫外線で細胞に損傷を与えた後に波長 442 nm, 線強度 20,000-100,000 J/m² の可視光線を照射した場合, 可視光線の線強度が強くなるほど回復率は上昇するが, 60,000 J/m² で回復率の上昇は緩やかになった.

[考察] 細胞に損傷を与える紫外線の波長に関しては 229, 257, 283 nm の波長で損傷を与えたが, 波長の違いによる細胞の増殖率への影響の違いは見られなかった. しかし, 生存率は全体的に 229 nm が 257, 283 nm と比べると高かったため, 229 nm の紫外線による生体への影響は, 生存率の点から見ると 257, 283 nm の紫外線よりも低いと思われる. DNA の紫外線に対する吸収スペクトルは約 265 nm にピークを持つため, 257, 283 nm と比べ 229 nm の紫外線は DNA に吸収されにくく, それによって他の 2 つと比べ高い生存率を維持していると思われる.

紫外線, 可視光線の線強度を比較するとどちらも強ければ強いほど影響が大きくなるが, 紫外線により与えられる細胞の損傷が一定以上になると光回復は起こらなくなると思われる.

また 257 nm の紫外線で初めに損傷を与えたものに比べて, 283 nm で損傷を与えられた細胞の方が細胞活性の回復率が高く見える部分がある. これは, 283 nm の紫外線はタンパク質に吸収されやすい波長であるため, 257 nm の波長に比べ DNA に直接与えた影響が少なく, そのために回復率が増大したと考えられる. 以上のことから, 生存率, 増殖率への紫外線損傷, 光回復の効果は線強度の強さに依存し, 波長の違いによって変化することが確かめられ, その推移をグラフに示すことが出来た.

[文献]

- 1) Smith-Sonneborn (1979) Science, 203, 1115-1117.