綜 説

光 回 復 の 機 構

大阪大学医学部 放射線基礎医学 近 藤 宗 平※

§1. はしがき

A. Kelner は1948年放線菌 *Streptomyces griseus* から抗生物質を産生する変異株の分離を Cold Spring Harbor の生物部で試みていた。分離法は正確な UV (紫外線) 不活性化曲線を比較する方法に基づくものであった。この厳密な実験方法のおかげで、窓ぎわの胞子は著しく高い生存率をもつことを発見した。やがて照明用の人工灯で UV 致死の大半を生きかえらせることを証明した (昨年この世を去った Demerec²²⁾ によって学士院紀要にとりつがれた: Kelner, 図1)。

図1. UV 照射した *Streptomyces griseus* のフラッドランプ照明 (横軸) による光回復 (Kelner 1946²³⁾より作図)

Mechanism of Photoreactivation;

※ Sohei KONDO: Department of Fundamental Radiology, Faculty of Medicine, Osaka University, Kitaku, Osaka

つづいて大腸菌 *E. coli* B/r の UV 致死および変異誘発についても同様な光回復現象が起こることを発見した (図2参照)。Kelner の発見の反響は大きく、多くの研究者によって多種多様な生物と生物反応に関し類似の光回復現象が存在することが報じられた。それは UV 障害は光回復するのが生物界の一般法則であるかの感を与えるほどのものである。これについては Dulbecco⁹⁾, Jagger¹⁴⁾, Christensen and Buchmann¹⁵⁾, Rupert³⁹⁾ のすぐれた総説があるので参照されたい。ここでは微生物に UV 照射で生じる障害の光回復 (PR: Photoreactivation — UV より長い波長の光を UV 照射の後に照明することによって UV 照射効果が減少する現象¹⁴⁾) の機構について解説をおこなう。ここでのべる光回復機構がどの位一般性があるかは今後の問題である。明らかに別の機構による光回復現象が存在する証拠がある (§4)。

I 光回復の現象論的機構

UV 生物作用の全過程は、1) エネルギー付与 (物理的), 2) 光化学的変化 (化学的), 3) 生化学的変化, 4) 生物反応に大別して考えられよう。光回復は2) か3) の過程が光によって変更可能であることを意味する。本章では光照明時の条件を種々かえたときの最終的生物反応の変化の現象論的観測を基にして、光化学的回復反応のカイネティックスを詳述する。いかなる分子模型もここでのべる現象論の枠内におさまらなければ拒否される。この関係は量子論の誕生は熱力学の確立を前提としたことに対応する。

§2. 線量低減法則 (dose reduction principle)²³⁾

図2は、大腸菌 *E. coli* B/r に UV を照射したときの暗処理 (照射後暗黒中におく) 区 (D) と光処理 (最大光回復を与えるに十分な一定の光量を UV 後照明する) 区 (L) の生存 (コロニー形成能で判定) 率の比較を示す Kelner の実験である。線量低減因子 (DRF dose-reduction factor) を次のように定義す

図2. *E. coli* の生存率対 UV 線量の関係。曲線 D(●) : 照射後暗黒中におく。曲線 L(O) : UV 後に最大光回復が生じる光量を照明 (Kelner 1949)

¹⁴⁾
る。

$$DRF = \frac{U_D(s)}{U_L(s)} \quad (2.1)$$

ここで $U_D(s)$ と $U_L(s)$ は等しい生存率 s を与えるときのそれぞれ暗処理および (最大光回復) 光処理区の UV 線量である。図 2 の場合 $DRF=0.4$ で全 UV 線量域を通じてほとんど一定である。光回復割合 (PRF: photoreactivable fraction) をふつう次のように定義する¹⁴⁾

$$PRF = 1 - DRF \quad (2.2)$$

Kelner の B/r の場合 UV 障害の 60% が光回復し、この割合は調べた範囲内では障害量には関係ない。この回復割合がほぼ一定である (厳密には UV 線量の高い所で回復割合が漸減) という法則は光回復現象全般に認められる法則である。*H. influenzae* の T-DNA, *E. coli* B の PRF は 0.9, 0.8 である。

§3. 光回復のカイネティックス

Dulbecco の 1949, 1950 年の 2 編の論文は、T2 フェージを用いての光回復現象の解析で、光回復機構の研究に画期的寄与をなした。にもかかわらず Dulbecco は以後動物 ウィルスの研究へ転身して今日に到っている¹⁰⁾。彼の発見の要点は次の通り：(1) UV フェージの光回復は宿主菌体外では起こらず体内に感染して数秒後から起こる。(2) 光回復は外部からの代謝物または酸素を要せず、シアンで阻害されぬ。(3) 光回復作用スペクトルは 365mμ にピークをもつ (UV フェージが 330

mμ に吸収ピークがあり、菌体内へ侵入してからバクテリアの成分と作用して 360mμ へピークが移動するという仮定も提案している)。(4) 光回復はシングルヒット反応であるが光強度を上げると飽和現象を示す。(5) 光回復効率は複雑な温度依存性を示すので、暗反応が関与している。

Dulbecco の発見はその弟子の Bowen の博士論文の研究テーマとして取り上げられ、現存する最高精度の光回復カイネティックス資料となっている。提案された反応模型は Rupert の in vitro における UV 照射形質転換 DNA (T-DNA) の光回復現象 (イーストの抽出物を共存させて光を照明したとき T-DNA の活性が上昇する現象)⁹⁾¹⁴⁾³⁹⁾ で全面的に支持された。歴史的記述は他にゆずり、完成した模型を用いて記述する。

(Dulbecco-Bowen-Rupert 模型) (3.1)

光回復性 UV 障害 W は光回復酵素 E と複合体 EW をつくる。強さ I の光を照明すると W は非障害性のもの V に変換し、E は再使用される。今 EW の濃度を y , E の全濃度を e , W の全濃度を w , V の濃度を v とすると (3.1) は 1 次的であると仮定して次式をうる：

$$\begin{aligned} \frac{dy}{dt} &= k_1(e-y)(w-y) - k_2y - kIy \\ &\cong k_1ew - [k_1(e+w) + kI + k_2]y \end{aligned} \quad (3.2)$$

$$-\frac{dw}{dt} = \frac{dv}{dt} = kIy; \quad w+v=w_0=\text{const.} \quad (3.3)$$

(3.2) 第 3 式では y^2 の項を無視した。Bowen は $(e-y)(w-y)$ を一定と考え定数でおきかえた。Rupert は Michaelis-Menten の反応が成立することを証明するのに重点をおいたので $dy/dt=0$ とおき、 $w-y \cong w$ の条件下を主として論じた。³⁶⁾

上式から直ちに次式がえられる (Michaelis-Menten の式の一般化)：

$$y = \frac{k_1ew}{kI + L} \left[1 + \frac{kI}{L} e^{-(kI+L)t} \right] \quad (3.4)$$

$$\text{ただし } L \equiv k_1e + k_1w + k_2 \quad (3.5)$$

$$-\frac{dw}{wdt} = \frac{k_1ekI}{kI + L} \left[1 + \frac{kI}{L} e^{-(kI+L)t} \right] \quad (3.6)$$

ただし初期条件は $I=0$; $dy/dt=0$ とおいた。

(3.6) の L 中の w を定数とみなして積分すると Bowen の近似解を一般化したものがえられる：

$$\log \frac{w}{w_0} = -\frac{k_1 ekI}{kI+L} \left[t + \frac{kI}{L(kI+L)} \{1 - e^{-(kI+L)t}\} \right] \quad (3.7)$$

回復用照明を連続して与えれば式 (3.4) のカッコ内の第2項が消失するので、Rupert の近似式がえられる：

$$-\frac{dw}{wdt} = \frac{ekI}{K_m + e + w} \quad (3.8)$$

$$\text{ただし} \quad K_m = \frac{k_2 + kI}{k_1} \quad (3.9)$$

$$t = \frac{w_0 - w - (K_m + e) \log \frac{w}{w_0}}{ekI} \quad (3.10)$$

Rupert³⁶⁾ が指摘したように上の反応式をチェックするのに w の変化を直接測定できないのが泣き所である。一般に次式を仮定するのは妥当であろう。

$$s = f(\lambda) \quad (3.11)$$

$$\lambda = \alpha w + \beta x = IU \quad (3.12)$$

s ：生存率； λ ：致死ヒット数； x ：非光回復性障害； U ：UV線量， α, β, l ：比例定数。 U_0 のみを与えたとき，光回復光線量 D を追加したとき，最大光回復線量を与えたときの諸量を添字 0，なし， ∞ で区別すると w は観測可能量 U の関数として次式が採用できる：

$$\frac{w}{w_0} = \frac{U_0 - U}{U_0 - U_\infty} \quad (3.13)$$

ここで U, U_∞ は光回復後の s, s_∞ と等しい値を暗処理中で与える UV 線量。ふつう非定常項を無視できるので，(3.13) と (3.7) から $U_0 - U$ が指数函数的に減少する事実を説明できる。たとえ s 対 D にみかけ上の lag があっても U に換算すると lag が消失する。³⁸⁾

光回復実験の範囲では (3.11) は次のシングルヒット形が近似できる場合が少なくない：

$$s = me^{-\alpha w - \beta x} \quad (3.14)$$

このときは次式がえられる

$$\frac{w}{w_0} = \frac{\log \left(\frac{s_\infty}{s} \right)}{\log \left(\frac{s_\infty}{s_0} \right)} \quad (3.15)$$

(3.7) へ代入して次式をうる：

$$\log \left(\frac{s}{s_0} \right) = \log \left(\frac{s_\infty}{s_0} \right) [1 - e^{-A(t+B(t))}] \quad (3.16)$$

$$A = \frac{k_1 ekI}{kI+L} = \frac{ekI}{K_m + e + w};$$

$$B(t) = \frac{AkI}{L(kI+L)} (1 - e^{-(kI+L)t}) \quad (3.17)$$

ふつうの場合 $B(t) \equiv 0$ である。図1は (3.16) とびったりあう。多くの場合 (3.16) は実験データをうまく説明する（例外のときは (3.13) の換算をせよ）。(3.16) により， w （したがって U ）の大小に関係なく1次反応的に s の回復が起こることが証明された。しばしば疑問にされた多数致死ヒットがあるのになぜ1ヒット的に回復が起こるかはこれで氷解する。

Dulbecco, Bowen (図3参照) は (3.16) で $\log(s/s_0) \div \log(s_\infty/s_0) \equiv (s-s_0)/(s_\infty-s_0)$ とおいた実験結果をえているのは不可思議な謎である。

3.1 光反応——非定常的光回復初期³⁾

図3は，Bowen²⁾³⁾ の一連の実験の1つである。UV で 10^{-3} にタイターがおちた T2 を B/r に感染して

図3. T2 フェージの光回復カイネティックス。初期立ち上りの精密実験 (T2 濃度10倍変更) は挿入図に拡大尺度で示した。(Bowen 1953)

れにフィルターを通して 1000w のタングステン光を照射したときのプラーク数対照明時間の関係を示す。

図3の単位にあうよう (3.16) の s を P (プラーク数) で置きかえ $(P-P_0)/P_0 \ll 1$ での近似展開をすると次の通り：

$$\begin{aligned} P - P_0 &\equiv P_0 \log \left(\frac{P_\infty}{P_0} \right) \\ &\times \left[\frac{k_1 ekI}{kI+L} \left\{ t + \frac{kI}{L(kI+L)} \{1 - e^{-(kI+L)t}\} \right\} \right] \end{aligned} \quad (3.18)$$

立ち上り部分のみとり出せば次の通り。表に実測値を示す。

$$\begin{aligned} \Delta P_i(t) &= \Delta P_i(\infty) [1 - e^{-(kI+L)t}]; \\ \Delta P_i(\infty) &= P_0 \log \left(\frac{P_\infty}{P_0} \right) \frac{k_1 e}{L} \left(\frac{kI}{kI+L} \right)^2 \end{aligned} \quad (3.18a)$$

表1. 光回復初期立上り時間³⁾ $\left(\frac{1}{kI+L}\right)$

I °C	I		計 算 結 果	
	1.25	0.175	k	L
37	0.95秒	5.7秒	0.8	0.05/秒
0	0.6秒	4.3秒	1.33	~0/秒

3・2 定常期——光反応と暗反応の競合³⁾

立上り部分をすぎると直線部分が続きその回復速度 R は次の通り：

$$R = \frac{R_{\max} I}{I + B} \quad (3.19)$$

$$R_{\max} = k_1 e P_0 \log\left(\frac{P_{\infty}}{P_0}\right);$$

$$B = \frac{k_1(e+w) + k_2}{k} \quad (3.20)$$

⁹⁾ (3.19) は Dulbecco が実験的に発見していた法則である。Bowen は (3.19) の逆数 $1/R$ 対 $1/I$ が直線になることを利用して各種温度での B と $R_{\max}$ を決めた。図4はその1例である。

図4. 光回復速度 R の照明強度 I への依存性。(3.19) の B と $R_{\max}$ の決定。Bowen (1953)³⁾3・3 暗反応——分割照明³⁾

1 発のフラッシュが立上りを飽和させる (図3で5秒) に十分であれば、フラッシュの直後は (3.1) 式で EW の濃度 $y \equiv 0$ になっているだろう。この初期

図5. 暗間隔効果。光強度 $I = 1.0$ 。5 秒フラッシュ 3 回照明。各 t_D へだたる。(Bowen 1953)³⁾

条件下に (3.2) 式をとけば暗間隔 t_D 間に集積する y の値は次式に従う：

$$\Delta y(t_D) = \frac{k_1 e w}{L} (1 - e^{-L t_D}) \quad (3.21)$$

t_D 暗間隔をのいての照明による回復増量は Δy に比例するはず。(3.18) にならって上式から次の近似式をうる：

$$\Delta P(t_D) = \frac{k_1 e}{L} \left[P_0' \log\left(\frac{P_{\infty}}{P_0'}\right) + P_0'' \log\left(\frac{P_{\infty}}{P_0''}\right) \right] (1 - e^{-L t_D}) \quad (3.22)$$

ただし (')、(') は第 1, 第 2 フラッシュ後の量を意味する。Bowen の実験式 (図5 参照) は下記の通りで上の式が厳密に成り立つことを実証した

$$\Delta P(t_D) = \Delta P(\infty) (1 - e^{-L t_D}) \quad (3.23)$$

照射フェーズが菌に感染して 15 分 40°C において、 0°C へ急冷し、それから t_0 秒後 10 秒フラッシュをたき、60 分暗黒中に放置し、 40°C へ急熱し同じことを計 3 回繰返すと下記のような光回復量の変化が起こる

$$\Delta P(t_0) = \Delta P(0) e^{-D t_0} \quad (3.24)$$

理論式は (3.22) の場合のようにして次式がえられる

$$\Delta P(t_0) = \left[\left(\frac{R'_{\max} + R''_{\max} + R'''_{\max}}{L} \right)_{t_0} - \left(\frac{R'_{\max} + R''_{\max} + R'''_{\max}}{L} \right)_0 \right] e^{-L_0 t_0} \quad (3.25)$$

添字は実験温度、ダッシュの数はフラッシュの回数目に対応する量を指示する。Bowen の実験値は D も

4P(0) もこの理論に合う。見事というほかはない。

3・4 感染直後の光回復³⁾

照明5秒; $I=1.0$ による感染 t 分後の光回復の上昇は $(1-e^{-F})$ 形で $1/F=1\frac{3}{4}$ 分 (36.5°C) であった。これは (3・23) の $1/C$ 値の約3倍である。吸着は30秒内で完了 (抗血清処理でみている) しているのに光回復はまだ微少。吸着し DNA が菌体内に注入されるまで約1分かかり、それではじめて反応 (3・1) がスタートすると仮定すれば $1/F$ と $1/C$ のくい違いは説明できる。

3・5 光回復反応係数の温度依存性³⁾

Bowen は以上のべたカイネティックスを各種の温度で観測し, (3・20), (3・23) の因子 B , $R_{\max}$, $1/C$ の温度依存性を決定し (表2), B , C , $R_{\max}$ (したがって k_1 と k_2) は予期通り $\exp[-\mu/kT]$ (何れも $\mu \approx 0.5 \text{ eV}$) の型の温度依存性に従うことを発見した。 $R_{\max}$ が20°C前後で折れまがり低温域で $\mu \approx 1.3 \text{ eV}$ になるのは k_1 のせいか P_0 のせいかわ問題が解けていない。

表2. 光回復特性因子の温度依存性 (Bowen)³⁾

温度(°C)	B	$1/C(\text{sec})$	$R_{\max}(\text{相対値})$
45.7	—	—	1.72
45.5	.061	—	—
45.4	.060	—	—
45.0	—	22	—
44.7	.056	—	1.49
37.6	.030	—	—
37.0	.040	—	—
36.6	.032	—	1.00
36.1	—	34	—
30.5	—	41	—
30.4	.0265	—	—
30.1	.0205	—	—
30.0	.0186	—	0.62
29.9	.0202	—	0.75
23.2	.0160	63	0.46
22.8	.0139	—	—
14.9	—	129	0.192
14.8	—	—	—
17.7	.0085	—	—
8.2	.0072	—	—
7.9	—	280	—
7.8	—	—	0.069
0.0	.0038	564	0.0186

3・6 Bowen の資料による素過程の分析

図3の実験値を (3・18 a) に代入すると

$$\left(\frac{\gamma}{w}\right) k_1 e / L = 0.23 \quad (36.5^\circ\text{C}) \quad (3\cdot26)$$

ここで $k=1$ とした (表2)。次の仮定 (§3・8, §5・5,

表3参照) をおくと (3・5), (3・26) より k_1 , k_2 がもとめられる (以下細胞1個当りの数値) :

$$e=50; w_0=100 \quad (3\cdot27)$$

表2より $L(=C=0.03; 36^\circ\text{C})$ だから

$$k_1=1.4 \times 10^{-4}; k_2=9 \times 10^{-3} \quad (36^\circ\text{C}) \quad (3\cdot28)$$

(3・26) の値を厳密な式 (3・16) にいれると実験値との食い違いが相当にある。(3・26) は複合体を作っている障害は全体の23%もあることを意味する。立上り時期にこれが全部消失する (Bowen の仮定説) のなら, も早 (3・18) の近似展開の許容範囲外である。この点が冒頭のべたように Dulbecco-Bowen の素晴らしいカイネティックスの研究成果の中で唯一の謎である。

3・7 UV 障害濃度 w と光回復酵素濃度 e の関係³⁴⁾³⁹⁾

形質転換 DNA の in vitro 光回復: インフルエンザ菌 *H. influenzae* のストマイ抵抗株 Sr^+ の DNA を抽出し, 感受性株 Sr^- に加えて培養し, 希釈してプレートすると Sr^+ 特性の株が出現する。図6の TFM (変換体) とは Sr^+ 特性に変換した菌体をいう。 Sr DNA を抽出して UV を照射すると TFM 数が低下するが, イースト抽出物 (YPRE: 光回復酵素を含むのでこのように略記する) を UV-SrDNA と共存させて照明を与えると低下した TFM の活性が1部回復する。

図6は, YPRE の濃度を一定 (74 γ/ml) にし, UV-SrDNA の濃度 T を変化 (A→G の順に $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, 1 γ/ml) させたときの光回復速度 r (等しい生存率 s まで回復するに要した光照明時間の逆数で定義) の変化を示す。

図6. 光回復速度 r と UV 照射形質転換 DNA 量 T の関係 (Rupert 1962)³⁶⁾

(3.10) より, $(w_0 - w)/w_0 \ll 1$ なら次の近似式が成り立つ (a は比例定数)

$$\frac{1}{ar} = \frac{w_0 + K_m + e}{ekI} \quad (3.29)$$

$w_0 = nT$ として上式に代入すると Rupert の式³⁶⁾の一般化したものをうる:

$$\frac{1}{arnT} = \frac{K_m + e}{ekI} \frac{1}{nT} + \frac{1}{ekI} \quad (3.30)$$

マーカーのない DNA を UV 照射し濃度 C 加える³⁶⁾と次の通り

$$\frac{1}{rnT} = \frac{K_m + e + \frac{K_m \nu}{K_i} C}{ekI} \frac{1}{nT} + \frac{1}{ekI} \quad (3.31)$$

k_i , ν は T における K_m , n (単位 DNA 当りの障害数) に対応する量である。図 6 で求めた r 値と T の関係を $1/r$ 対 $1/T$ にプロットすると直線になり, C を変化させるとその直線の傾きは (3.31) の予想通りに変化する³⁶⁾。逆に $T(\propto w_0)$ を固定し YPRE ($\propto e$) を変化させると, (3.29) の形に従って r が変化することも証明された³⁶⁾。

3.8 光回復酵素のターンオーバーと分子数

大腸菌 (図では *E. coli* B_{s-1} で暗回復能を欠くものを用いた) に予め UV 照射し, 菌体外で UV 照射 (図では 400 erg/mm^2) した T1 フェージを感染させ, その上で光を照明すると図 7 に示すように, 未照射菌

図7. UV 照射 T1 フェージ (400 erg/mm^2) の光回復速度の宿主菌 (*E. coli* B_{s-1}) 前照射 (A: 0, B: 50, C: 150, D: 400 erg/mm^2 of UV) による低減 (村岡・近藤)³²⁾

主菌に感染させた場合に比べ, 光回復のスタートに著しい遅れがあり, スタートしてからも回復速度がおそい。光回復がスタートしないのは酵素 E が宿主菌の DNA 上の光回復性障害 X (その量を x_0) に結合してしまっていて, フェージの障害 W (w_0 /細胞 とする) に結合できないからと考えられる。しきい回復光量 D_{th} の照明で X が x_{th} に減じてはじめてフェージが光回復すると仮定するとその相対速度 R は (3.29) にならって次式で与えられる:

$$\begin{aligned} \frac{1}{Rv_0} &= \frac{x_{th}}{(1 + \varepsilon + \kappa)w_0} + 1; \\ \frac{1}{v_0} &= \frac{e + w_0 + k_2/k_1}{ekI}, \\ \varepsilon &= \frac{e}{w_0}, \quad \kappa = \frac{k_2}{k_1 w_0} \end{aligned} \quad (3.32)$$

B_{s-1} に微量 UV 照射 ($w_0 < e$) のときの PR D_{37} (X の 63% を光回復する照明量: 55.3 の $2 \times 10^3 \text{ erg/mm}^2$) から PRE のタンオーバー $N = D_{th}/D_{37}$ となり次式をうる

$$x_0 - x_{th} = eN \quad (3.33)$$

B_{s-1} に 4 erg/mm^2 照射すると w_0 と等しい障害数ができると仮定 (表 3) すれば, 図 7 の資料に上の 2 式を適用して次の実験式をうる:

$$\varepsilon + 0.4\kappa = 2.6w_0 \quad (3.33)$$

$\kappa < 1$ と考えられる (§5.4) ので, 上式から次の近似をうる:

$$e \sim 2.5w_0 \cong 200 \text{ (分子/細胞)} \quad (3.34)$$

ここに $w_0 = 80$ (表 3) とした。

§4. 光回復作用スペクトル

図 8 は UV 致死の光回復作用スペクトルの代表例である。

非酵素的な光回復: さて PRE を欠く *E. coli* B(phr^-) 株でも光回復が起こることを Jagger と Stafford¹⁹⁾ が発見した。この非酵素的な光回復は, Jagger によれば, 光防護 (図 8 の PP スペクトル領域内の近紫外光を予め照明すると UV の障害効果が軽減する現象) と同様に, 光照明でまず細胞の成長・分裂に遅れが生じ, そのため暗回復機能 (§6.1) の有効期間が延長され間接に回復効果が上昇するため起こるとされている。事実, 調べられた波長の範囲では両者のスペクトルの形はほぼ一致する。さらに, Jagger の模型は, PRE と暗回復能の両者を欠く株 ($\text{phr}^- \text{uvr}^-$) では光回復は皆無であることを予言する。この予言の正しいことも確認さ

図8. *E. coli* B/r (Jagger と Latarjet)¹⁷⁾, *H.30-R* (*uvr*⁻株³²⁾; Kondo と Kato), *S. griseus* (Kelner)³²⁾ とインフルエンザ菌 T-DNA (酵母菌, *E. coli* B, または *N. crassa* から抽出物添加による: Setlow と Boling,⁴⁸⁾ Terry と Setlow⁵⁵⁾ の光回復および *E. coli* B の光防護 (PP; Jagger と Stafford¹⁸⁾) の作用スペクトルの比較

れた。²⁷⁾

トウモロコシ花粉,¹³⁾ ショウジョウバエ,⁴⁾ カイコ³³⁾においても光回復現象が報告されているが、上述の非酵素的な光回復成分を含んでいる可能性が高い。以下断らない限り光回復とは酵素的な光回復をいみる。

E. coli B系の *H.30-R* 株 (*uvr*⁻, *phr*⁺) は酵素的な光回復のみと考えてよい。図8に示ように、その光回復スペクトルは B/r のスペクトルから PP(B) スペクトルを差し引いたものおよび T-DNA の *in vitro* のものとほぼ合う (ただし 385 mμ の極大点は未解決)。フェージの光回復スペクトルもほぼこれに合う。しかし、図8でわかるように、*S. griseus* のスペクトルは以上のべたスペクトルと異なる。ウニの卵からも PRE が抽出された。⁶⁾

II 光回復の分子機構

§5. 光回復酵素の諸特性

反応式 (3.1) を支持する各種の事実を §3 にのべた。しかし光回復の分子機構を明らかにするためには、UV 障害 W と光回復酵素 PRE の正体 (少なくともその特性) をしらねばどうにもならない。本節では後者についてのべる。

Goodgal, Rupert, Herriott (1957), Rupert, Goodgal, Herriott (1958) により酵母と大腸菌の蛋白質を含む粗抽出物中に反応式 (3.1) で仮定したような PRE の役目をする因子が含まれていることが発見された。その活性は T-DNA を用いて §7 にのべた方法で検出する。詳細は文献にゆずりここでは結論的な要点を記す。

5.1 光回復の拮抗的阻害 (competitive inhibition)³⁶⁾

図6と同じ方法をつかう。ただし UV-SrDNA (1 γ/ml) + YPRE (1.7 mg/ml) の反応系にマーカーなし DNA (1 γ/ml) をそのまま (曲線A) または UV 照射して (Bの○印) 加えたときの光回復速度は後者が前者の半分になる (図9)。この阻害効果は定

図9. 光回復の拮抗的阻害。A: 対照 B: UV-DNA 共存 (○) および YPRE 濃度半減 (x)。 (Rupert 1962)³⁶⁾

量的に (3.31) 式に従うことが証明された。³⁶⁾ 形式的にこの式の法則に従う阻害効果をもつものに (NH₄)₂SO₄ がある。³⁶⁾ リボフラビンの阻害効果も似た形式であるかもしれない。すなわち式 (3.1) の k_1 , k_2 を変更するように働く物質 (とくに k_1 を低下させるもの) はこの形の阻害効果をもつはずである。

重金属 (Ag⁺, Cu²⁺, Hg²⁺ の 10⁻⁵M) の阻害は直接 PRE を不活化するためのようである (∴ (3.31) の最後の項の値も上昇する)。³⁶⁾

5.2 UV-DNA による酵素保護効果³⁷⁾

YPRE (265 γ/ml) の活性 α は 66°C に t 分加熱すると次のように不活化する:

$$\alpha = \alpha_0 e^{-jt}; \quad -\frac{1}{j} = 0.61(\text{分}) \quad (5.1)$$

UV-DNA (0.25 γ/ml: 実は上式のも未照射の DNA を同じ様に加えている) を加えると j 値は上記の値の

1/4以下になる。UV-DNA は重金属による PRE の不活化も抑制してくれる。これは UV-DNA と PRE が結合していることを示唆する。一般に酵素は基質と結合しているとき各種阻害剤により高い安定性をもつ。図10は UV-DNA 濃度が低下すると保護効果が低下する模様を示す。

図10. UV-DNA の YPRE (265 r/ml) に対する熱防護効果の濃度依存性。熱不活性化は65°C, 2.5分処理による。(Rupert 1962)³⁷⁾

5・3 UV 障害と光回復酵素の複合体とその光分解

EがWと結合しているなら、DNAは沈澱しEは上澄みに残るような遠心条件で、UV-DNA を E に加えることによってEを強制的に沈澱させるはずである。Rupert³⁷⁾は蔗糖密度勾配法により、UV-DNA との共存下では YPRE の活性が DNA フラクシオン中に主に存在するが、未照射 DNA との共存では上澄みに残存することを証明した。セファデックスG-75を通すと UV-DNA 共存下では PRE は DNA と一諸に溶出するが、未照射 DNA 共存下ではおくれで溶出する。

EW 複合体に光を t 秒照明し、次に60°Cで2.5分加熱処理をすると遊離したEのみが不活化される。残留活性量(その割合を s とする)は UV-SrDNA を添加して照明を与えたときの光回復速度で測る(3・7)。Rupert³⁷⁾のえた実験式は 適当な条件のときのみ次の通り:

$$s = e^{-k'lt};$$

$$\frac{1}{k'} = 2 \times 10^5 \text{ erg/cm}^2 \quad (\sim 370 \text{ m}\mu) \quad (5.1a)$$

式(3・4)からわかるよう $kI \gg L$ の条件または t が小さいときにみ次の形の理論的近似式をうる:

$$s = \frac{y}{y(0)} = e^{-k'lt} \quad (5.2)$$

すなわち $k' = k$ である。この $1/k'$ 値は微少 UV 量を与えたときの4047 Åの PR D_{37} (それぞれ10と 5 erg/mm² UVを照射したときの H_{30-R} と B_{3-1} の4047 Åによる PR の値は 2.5×10^5 と 2×10^5 (erg/mm²); 3・8では後者を使用)とほぼ一致する。

Rupert³⁷⁾が指摘したように次式がなり立つ:

$$\frac{1}{k'} = \frac{1}{k} = \frac{5.2 \times 10^{10}}{\lambda(\text{m}\mu)\epsilon(M^{-1}\text{cm}^{-1})\phi}$$

$$\therefore \epsilon = \frac{7 \times 10^3}{\phi} \quad (5.3)$$

ϕ は光回復量子収率で ϵ はモル吸収光係数である。 $\phi \leq 1$ すなわち $\epsilon \geq 7 \times 10^3$ だから、EW が普通量存在すれば必ず吸光測定にひっかかる筈である。しかるに今もって EW の存在が吸光法によって検出されていない!

5・4 光回復酵素の純化

光回復酵素の結晶化はまだ成功していない。

Rupert が使用した粗抽出物 YPRE は、製パン用イースト塊をときほぐし、完全空気乾燥し、0.066M Na_2HPO_4 を3倍溶加え4~5時間37°Cにおき、遠沈法で細胞残骸を除去したしるもの。りん酸カルシウムゲル吸着法で濃縮すると活性濃度(含有蛋白量当り)は40倍になるが活性の安定度が低い。最近 Muhammed³⁰⁾は Rupert の方法に DEAE-セルロース、りん酸セルロース、ハイドロオキシリアパタイトのカラム分別溶出法を段階的に適用し3000倍まで濃縮することに成立した。図11はその吸収スペクトルで光回復作用スペクトル図8から期待される 400m μ 近くでの吸収は UV-DNA を共存させたときも存在しない

図11. 純化した光回復酵素含有成分の吸収スペクトル(○)。

●印は UV-DNA (30 r/ml) + YPRE (2 mg/ml) の吸収スペクトル (Muhammed 1966)

(図で 410m μ にあるこぶはチトクロームの混合によるものでこれを除去したものでも光回復活性は不変)。Muhammed³⁰⁾の酵素の分子量は30,000 (ただしもっと大分子量の物質が少し混在する)。

E. coli B *phr*⁻ の抽出物には親株 B *phr*⁺ のそれとみられる光回復を触媒する活性は存在しない。この PRE の構造を支配していると考えられる *phr* 座は *gal* 座の近くにある。

5・4・1 純粋 PRE 濃度の理論的推定

Rupert は(3・30)で ϵ をかえた時の実験式をえた：

$$r = Er_{\max} / (29 + E); T = 0.017 \gamma / \text{ml} \quad (5.4)$$

図10の T (UV-SrDNA の濃度: γ/ml 単位) をかえた時の式は

$$y = Ty_{\max} / (0.064 + T); E = 269 \gamma / \text{ml} \quad (5.5)$$

E は A.S. YPRE の濃度で粗抽出物 YPRE を5倍に濃縮したもの。後者の 1 γ 当りの純粋 PRE 分子数を m とすると上式に対応する理論式 (3・30) と (3・4) は次式になる

$$r = \frac{5mEr_{\max}}{\frac{k_2}{k_1} + \frac{kI}{k_1} + 0.017n + 5mE} \quad (5.6)$$

$$y = \frac{nTy_{\max}}{\frac{k_2}{k_1} + 5 \times 269m + nT} \quad (5.7)$$

$3.5 \times 10^3 \text{ erg/mm}^2$ UV 照射したときの n 値はダイマー密度として表3より求まる。 kI/k_1 を無視して上式をとく

$$k_2/k_1 = 9 \times 10^{10};$$

$$m = 3.9 \times 10^{-5} n = 3.2 \times 10^8$$

$$(\text{分子}/\mu\text{g 粗YPRE}) \quad (5.8)$$

k_2/k_1 と $5mE$ の比は $\frac{1}{10}$ の桁で Rupert の推定通り。大腸菌の各細胞内では(5・7)の $5 \times 269m$ の 10^{-10} の桁の PRE 分子数だから、 $k_2/k_1 \approx 10$ となり 3・5 の推定とはばあう。PRE の分子量を 4×10^4 とすると、(5・8)より PRE の粗蛋白中の含有率は 2×10^{-5} 。したがって Muhammed³⁰⁾の蛋白中の6% ($= 2 \times 10^{-5} \times 3000$) は純粋 PRE であるはず。複合体の $\epsilon \geq 7 \times 10^3$ だから、400m μ に純粋が吸収をもつなら、Muhammed の蛋白で検出にかかるはず。図11は純粋 PRE は 400m μ に吸収なしと結論させる。酵母、大腸菌の蛋白量は 1.7×10^{-12} , 1.2×10^{-13} g/細胞とすると (5・8) より 550, 40 PRE/細胞となる。後者は 3・8 の推定値の $\frac{1}{10}$ だが、増殖期の値 (5・5) とあう。

5・5 酵素活性の細胞期による変化

対数成長期の *E. coli* の抽出物は定常期のより低い PRE 活性をもつ。⁴¹⁾酵母の抽出物は対数期のものは定常期の $\frac{1}{10}$ の活性であり、大腸菌で光回復速度が(したがって酵素の活性もほぼ比例して)対数期では定常期の $\frac{1}{4}$ になる。Dulbecco-Bowen の実験は 2×10^8 細胞/ml だからまさにこの酵素活性の低い所での実験である。暗回復酵素の活性も似た細胞期依存性を示す。²⁸⁾

§ 6. 光回復性 UV 障害の分子的特性とその光回復特性

6・1 ピリミジンダイマーと暗回復

UV 致死障害の主因は、UV によって DNA 中の相隣るピリミジン塩基がダイマー化 (図12: ただし図のサイクロブタン型でないダイマー形成も報じられて

図12. DNA 中の相隣るピリミジンの UV によるダイマー化とダイマーの短波長回復

いる)にあることの証拠が蓄積し、その大筋の枠は確立したとみなしてよいだろう。ここでは詳細は全くふれないので他の総説を参照されたい。²⁴⁾²⁵⁾²⁹⁾⁴²⁾⁴³⁾⁵¹⁾⁵⁴⁾⁵⁸⁾

ダイマーはチミン間 ($\hat{T}\hat{T}$) チミンとシトシン間 ($\hat{C}\hat{T}$)、シトシン間 ($\hat{C}\hat{C}$) および後の2つが脱アミノ化したウラシルチミンダイマー ($\hat{U}\hat{T}$) とウラシルダイマー ($\hat{U}\hat{U}$) の5種が少くとも存在する。⁴³⁾⁵¹⁾⁵²⁾⁵⁴⁾これらのダイマーは光を吸収すると高い量子効率 ($\sim 100\%$) でもとのモノマーへもどる。ふつうはダイマーは短波長でしか吸収値が高くないので、長波UVでダイマーが飽和する近くまで DNA 照射し、短波長UVにきりかえるとダイマーがモノマーへ一部回復する。この変化は吸光度 OD の低下とその1部の回復としてとらえられる。⁵³⁾

Setlow 夫妻は T-DNA を 280m μ で十分不活性化し、239m μ へ切りかえて照射をつづけると活性が一部回復し、その回復速度は $\hat{T}\hat{T}$ の開裂のそれと一致したことから $\hat{T}\hat{T}$ が UV 不活性化の主因 (50~70%) だという重大な発見をした。つづいて、YPRE の共存下で光回復処理を予め行なうと上述の短波長回復処置は無効になることを発見し、詳細なカイネッ

表3. ダイマー生成効率の表

% A+T	1 erg/mm ² 当りの (ダイマー数)/ヌクレオチド ^{a)}	生 物	全ヌクレオチド数 個体	UV 1 erg/mm ² 当りの ダイマー生成量 ^{b)}
62	1.35×10^{-6}	<i>H. influenzae</i>	—	$2.25 \times 10^3/\mu\text{g DNA}$
50	1×10^{-6}	<i>E. coli</i>	2×10^7	20/細胞
64	—	T1ファージ	1.4×10^5	0.19/粒子 ^{c)}
64	—	T2ファージ	4.5×10^5	0.6/粒子 ^{c)}

- a) R. B. Setlow の測定値を、使用した 265mμ UV 線量で割ったもの。
b) 265mμ と 254mμ のダイマー生成効率差を無視した。
c) *H. influenzae* と同じ効率でダイマー化すると仮定。

クスより両回復現象は完全にオーバーラップすることを発見し、光回復とはダイマーの開裂が主要反応であるという証拠をはじめて提供した。⁴⁸⁾

ダイマーは光を照射しなくても、正常の大腸菌その他の微生物では、それを DNA から除去しそのあとを正常塩基で再複製する能力をもつことのさまざまな証拠がえられつつある。この現象を暗回復とよぶ。⁴²⁾⁴³⁾⁵¹⁾⁵⁴⁾

ダイマーは、熱や酸に抵抗力強く、とくにチミンの場合は標識チミジンを細胞に投与し標識 DNA をつくり、それを UV 照射し、抽出した UV-DNA を酸で処理してクロマトグラフにかけ、移動度の特性値 R_f 点における放射活性の測定により全チシン中の 10^{-3} 桁のダイマーを容易に検出できる。これに光化学反応特性を加味することにより、高い信頼度でわれわれはダイマーに代表される UV 障害の消長を追跡できるようになった。

6・2 ダイマーの光回復的開裂

Setlow 夫妻の実験結果がでる以前に、Wacker⁽⁵⁷⁾ と Wulff and Rupert (1962) により UV-DNA に生じたチミンダイマーは YPRE の共存下光を照明すると消失することが発見されていた。図13は同様な方法による TT 消失のカイネティックス。UV は 280 mμ を 1000 erg/mm² あてた。予め熱変性した UV-DNA は正常 UV-DNA より著しく光回復しにくい。⁴⁸⁾

以上の TT の消失が果して T, T へのモノマー化であることの保証は上述の方法ではえられない。Setlow⁵²⁾ らは、人工ホモポリマー dI:dC を UV 照射してえられる CC を 60°C×1hr 処理すると大半が UU に変換するので、これに YPRE を加えて光回復処理をした。消失した UU の放射活性の70%がUモノマーの中に現われることを発見しはじめて光回復が予期通りダイマー開裂であることを証明した。⁵²⁾ CC の光回復速度は他の4種類のダイマーより低い。

図13. UV-DNA (*E. coli*) の YPRE 添加による光回復カイネティックス。(Setlow 1964)⁵⁰⁾

6・3 各種ヌクレオチドの UV 障害と光回復酵素との相互作用

Setlow⁵²⁾ らの CC 生成の証明以前に、Rupert⁵³⁾⁵⁸⁾ により次のことが発見されていた。人工ホモポリマー dG:dC は UV 照射すると YPRE による UV-SrT-DNA の光回復を拮抗的に阻害し、その阻害力は予め YPRE と共存させて光を照明する前光回復処理で消失する。この光回復性拮抗阻害能は図9の場合の UV-DNA と本質的な差は皆無。これは CC 生成を予言すると同時に、光回復作用機構を生物活性のない人工ポリマーの上での反応とし取り扱えることを示した

点で重要な発見である。Rupert が上げた光回復性拮抗阻害のあるものとならないものは次の通り：

I 阻害能あり：各種生物の DNA そのまままたは変性（熱，アルカリ，酸）したもの，DNase で数%まで分解したもの， ϕX 174 の DNA。

II 阻害能なし：RNA， $d(AT):d(AT)$ の交錯ポリマー，8個のオリゴポリチミジル酸， $\widehat{TT}$ そのもの，DNA 分解酵素で極限まで分解した DNA，脱プリン化DNA ($\widehat{TT}$ は生成するのに！)

以上のことは PRE と複合体をつくるオリゴヌクレオチドの長さには下限があることを示唆する。⁴⁵⁾ Setlow は最近，約9ヌクレオドが下限で18ヌクレオドはもっと長いもの同じで14ヌクレオドのものは阻害力が低いと報告している。

さらに Rupert³⁵⁾³⁹⁾ はチミンを BU でおきかえた BU-DNA は，阻害能は UV 照射で獲得するが，光回復処理で阻害能を消すことができないと報告している。BU-DNA は一般に放射線高感受性である。その原因の1つは暗回復をうけえない障害ができるためらしい。BU-DNA の高 UV 感受性はシステアミン共存下で低下し，光回復さえうけうようになる。BU-DNA にはいろいろ変った種類の障害が生じる。これら阻害も多くは光回復酵素と結合はするが，光分解による回復過程がうまくゆかないのであろう。このような拮抗阻害だけの非光回復性障害の種類は案外多いのではなかろうか？

J.K. Setlow⁴⁷⁾ らは Rupert の方法を拡張し， $dA:dT$ ， $dI:dC$ ， $dG:dC$ ，poly dC の人工エポリマーは何れも光回復性拮抗阻害能を獲得できることを詳細なカイネテックスのデータで示した。変性 DNA は正常 DNA より，poly C は $dG:dC$ より拮力が弱い。UV 照射 ($dA:dT$) の阻害力は急速に光回復するが ($dI:dC$) の光回復はのろい (poly dI, poly dA は阻害能を獲得しない)。加熱すると UV 照射 ($dI:dC$) の阻害能の光回復速度は上昇する。これは加熱により $\widehat{CC} \rightarrow \widehat{UU}$ 変換がおこり前者は後者および $\widehat{TT}$ に比べ光回復の開裂の効率が著しく低いという R. B. Setlow⁵²⁾ らの実験事実とよく一致する。

6・4 1重鎖核酸フェージの光復

1重鎖 DNA フェージ ϕX 174 の UV 致死障害に対する PRF はわずか20%である。これは変性 DNA のダイマー消失が正常 DNA のそれより著しく低いと定性的には一致する。他方 RNA フェージ例えば ϕ_2 は RNA を抽出しそれに UV 照射し宿主に感染させたときはじめて光回復をうけ，PRF は

やはり約20%だとされている。⁶¹⁾ Rupert³⁵⁾³⁹⁾ は RNA は阻害能を獲得しないといっている。RNA フェージの光回復はダイマー開裂とは異なる機構によるのだろう。最近のわれわれの予備実験では，1重鎖 DNA フェージの光回復は図8の酵素的光回復スペクトルの他に近紫外域に光防護型と異なる非酵素的光回復が存在する結果をえた。光回復には各種の違った分子機構によるものがあると考えられる（詳しくは文献5) 14) 29) 39) 参照）。

6・5 UV 以外による障害の光回復

X線照射した T2 フェージはわずかながら光回復する。⁸⁾⁶⁰⁾ 230~300m μ の両端の波長へ近づくと UV 障害の光回復割合が低下するし，乾燥フェージ T1 の光回復は起こりにくい（例えば文献29) 43) 参照）。4ニトロキノリン1オキサイドによる大腸菌の DNA 障害は暗回復に関する限り UV 障害と等しい修復カイネティックスに従うにもかかわらず光回復性を示さない。²⁸⁾ 光回復はダイマー障害独特の特性である可能性が高い。

6・6 光回復の分子模型

ここにのべた各種の現象を総合的に説明するため筆者の模型を提唱する (Rupert の複覚系との類似性指摘による)。³⁹⁾

ダイマーを含んだ2重鎖 DNA のダイマー部位近くに光回復酵素が付着するとダイマーが構造変化をして 400m μ 付近に吸収ピークをもつようになる。400m μ 光子をダイマーが吸収してからの開裂は短波長回復の場合と全く同じ機構でおけると考えてよいだろう。仮想吸収構造体は，ダイマーを含む DNA の立体構造に左右されるだろうから生物が進えばちがった光回復スペクトルになりうる (§4)。1重鎖 DNA や脱プリン化 DNA が光回復性を示さないのも無理なく説明できる。ただし，低温では最大光回復は低下し， B_{2-1} で $e < w$ という低線量域でも I の低下につれ光回復効率 A (3・17) が増すことの説明は簡単にはできない。¹⁶⁾

§7. む す び

原始生命が原始海底において太陽紫外線により創生されたという仮説に筆者は魅力を感じる。²⁵⁾ 光回復は原始生命発生期に太陽光障害の回復機構として獲得されたものかもしれない。原始海は PRE でみちていたかもしれない。とまれ，現在しられている核酸障害回復機構中最も効率のよいものは光回復機構である。進化的に考えれば，ここでのべた酵素的光回復と機構的には異なるが現象的には似た各種の光回復が他の生物

に存在する方が自然である。

謝辞：本研究は文部省科学研究助成金の援助による。

文 献

- 1) Boling, M.E. and J.K. Setlow: *Biochim. Biophys. Acta*, 印刷中 (1967)
- 2) Bowen, G. H.: *Ann. Inst. Pasteur* 84, 218 (1953)
- 3) Bowen, G. H.: *Ph. D. Thesis*, California Inst. of Technology, Pasadena (1953)
- 4) Browning, L. S. and Altenburg: *Genetics* 47, 3611 (1962)
- 5) Christensen, B. C. and B. Buchmann, eds.: *Progress in Photobiology*, 273, Elsevier, Amsterdam (1961)
- 6) Cook, J. S. and J. K. Setlow: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 24, 285 (1966)
- 7) Dulbecco, R.: *Nature* 163, 949 (1949)
- 8) Dulbecco, R.: *J. Bacteriol.* 59, 329 (1950)
- 9) Dulbecco, R.: *Radiation Biology* (ed. A. Hollaender) 2, 455, McGraw-Hill, New York (1955)
- 10) Dulbecco, R.: *Scientific Am.* 216, No. 4, 28 (1967)
- 11) Goodgal, S. H., C. S. Rupert and R. M. Herriott: *The Chemical Basis of Heredity* (eds. W. D. McElroy and B. Glass), 341, Johns Hopkins Press, Baltimore (1957)
- 12) Harm, W. and B. Hillebrandt: *Photochem. Photobiol.* 1, 271 (1962)
- 13) Ikenaga, M. and T. Mabuchi: *Radiation Botany* 6, 165 (1966)
- 14) Jagger, J.: *Bacteriol. Revs.* 22, 99 (1958)
- 15) Jagger, J.: *Radiation Protection and Recovery* (ed. A. Hollaender), 352, Pergamon Press, New York (1960)
- 16) Jagger, J.: *Photochem. Photobiol.* 3, 451 (1964)
- 17) Jagger, J. and R. Latarjet: *Ann. Inst. Pasteur* 91, 858 (1956)
- 18) Jagger, J. and R. S. Stafford: *Photochem. Photobiol.* 1, 245 (1962)
- 19) Jagger, J. and R. S. Stafford: *Biophys. J.* 5, 75 (1965)
- 20) Jagger, J., W. C. Wise and R. S. Stafford: *Photochem. Photobiol.* 3, 11 (1964)
- 21) Kelner, A.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 35, 73 (1949)
- 22) Kelner, A.: *J. Bacteriol.* 58, 511 (1949)
- 23) Kelner, A.: *J. Gen. Physiol.* 34, 835 (1951)
- 24) 近藤宗平：生物物理, 3, 77 (1963)
- 25) 近藤宗平：生物物理学講座, 7, 231, 吉岡書店, 京都 (1965)
- 26) Kondo, S. and J. Jagger: *Photochem. Photobiol.* 5, 189 (1966)
- 27) Kondo, S. and T. Kato: *Photochem. Photobiol.* 5, 827 (1966)
- 28) Kondo, S. and T. Kato: *Adv. Biol. Med. Phys.* 12, 印刷中, Academic, New York (1967)
- 29) McLaren, A. D. and D. Shugar: *Photochemistry of Proteins and Nucleic Acids*, Pergamon Press, Oxford (1964)
- 30) Muhammed, A.: *J. Biol. Chem.* 241, 516 (1966)
- 31) Muhammed, A.: 私言
- 32) 村岡知子, 近藤宗平：第7回日本放射線影響学会, 千葉, 12月 (1965)
- 33) 中島 誠：私信
- 34) Rupert, C. S.: *J. Gen. Physiol.* 43, 573 (1960)
- 35) Rupert, C. S.: *J. Cell. Comp. Physiol.* 58, Suppl. 1, 57 (1961)
- 36) Rupert, C. S.: *J. Gen. Physiol.* 45, 703 (1962)
- 37) Rupert, C. S.: *J. Gen. Physiol.* 45, 725 (1962)
- 38) Rupert, C.S.: *Photochem. Photobiol.* 3, 399 (1964)
- 39) Rupert, C. S.: *Photophysiology* (ed. A. C. Giese) 2, 283, Academic, New York (1964)
- 40) Rupert, C.S.: *Photochem. Photobiol.* 4, 271 (1965)
- 41) Rupert, C. S., S. H. Goodgal and R. M. Herriott: *J. Gen. Physiol.* 41, 451 (1958)
- 42) Rupert, C. S. and W. Harm: *Adv. Radiation Biology*, 2, 1, Academic, New York (1966)
- 43) Setlow, J. K.: *Current Topics in Radiation Research* (eds. M. Ebert and A. Howard) 2, 195, North-Holland Publishing Co., Amsterdam (1966)
- 44) Setlow, J. K.: *Radiation Research*, Suppl. 6, 141 (1966)
- 45) Setlow, J. K.: *Abstr. Biophys. Soc.* 11th Ann. Meeting, Houston, 85 (1967)
- 46) Setlow, J.K. and M.E. Boling: *Photochem. Photobiol.* 2, 471 (1963)
- 47) Setlow, J.K., M.E. Boling and F.J. Bollum: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 53, 1430 (1965)
- 48) Setlow, J. K. and R. B. Setlow: *Nature* 197, 560 (1963)
- 49) Setlow, R. B.: *Brookhaven Symposia in Biology*, No. 14, p. 1 (1961)
- 50) Setlow, R. B.: *J. Cell. Comp. Physiol.* 64, Suppl. 1, 51 (1964)
- 51) Setlow, R. B.: *Science* 153, 379 (1966)
- 52) Setlow, R. B., W. L. Carrier and F. J. Bollum: *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 53, 1111 (1965)
- 53) Setlow, R. B. and J. K. Setlow: *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 48, 1250 (1962)
- 54) Smith, K. C.: *Photophysiology* (ed. A. C. Giese) 2, 329, Academic, New York (1964)
- 55) Terry, C. E. and J. K. Setlow: *Photochem. Photobiol.* 6, 印刷中, (1967)
- 56) van de Putte, P., C.A. van Sluis, J. van Dillewijn and A. Rörsch: *Mutation Res.* 2, 97 (1965)
- 57) Wacker, A.: *J. chim. phys.* 58, 1041 (1961)
- 58) Wacker, A.: *Progress in Nucleic Acid Research*, 1, 369 (1964)
- 59) Wang, S. Y., M. H. Patrick, A. J. Varghese and C. S. Rupert: *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, 57, 465 (1967)
- 60) Watson, J. D.: *J. Bacteriol.* 60, 697 (1950)
- 61) Werbin, H., R. C. Valentine and A. D. McLaren: *Photochem. Photobiol.* 6, 205 (1967)
- 62) Wulff, D. L. and C. S. Rupert: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 7, 237 (1962)
- 63) Luria, S. E.: *The Bacteria* (eds. I. C. Gunsalus, and R. Y. Stanier) 1, 1, Academic, New York, (1960)