放射線耐性無孢子細菌†

矢 野 圭 司

東京大学 農学部

東京都文京区弥生1-1-1

1. 放射線殺菌について

放射線の傷害作用、耐性の機構の研究は遺伝学、分子生物学に多大の貢献をしている。一方放射線殺菌作用を実用化し、従来の、主として熱による、化学物質（ガスを含む）による殺菌手法に代替、定着するよう、基礎的研究から中間試験まで検討されてきた。定着した顕著な例は紫外線（UV と略）で、器具の低廉、操作の簡便が広く普及を助けた。UVの短所は浸透力の弱さで、物体照射表面のみが有効対象であり用途は限定される。電離放射線はその短所を埋める特徴をもつ。しかし誘導放射能防止から核種、線量が限られ、安全管理を含めての設備投資や線源補充の経済面、対象物質集散に関しての場所の問題がある。その大きな魅力は“冷温殺菌”である。

“冷温殺菌”は熱変性を無視できるが、放射線による変性は無視できない。殺菌を必要とするのは、食品保存、医療品調製、公衆衛生、培養基調製、飼料調製（無菌動物用、有害菌除去）があるが、放射線処理は被処理物の性格や、微生物汚染度で適合性が変わり、他法との競合が評価される。酵素標品は一般に熱不安定であるが、微生物に比べて放射線高耐性で実用にむくが、培養液殺菌は多少の利点があっても熱殺菌、無菌ろ過に規模、設備の点で優位にならない。医療品で血漿などは食品以上に健全性が要求されるが、熱に弱いプラスチック製品は密封包装のまま殺菌、供給可能で、ガス殺菌より有利である。この場合、食品との根本的相違は乾燥状態であることで、一般に放射線耐性菌は乾燥に強く高線量が必要だが、健全性が保持できればよく、マーカー菌が選ばれた¹⁾。食品に放射線殺菌を応用するには^{2), 3)}、食品としての性格保持、処理後の健全性が要求される^{4), 5)}。線量は3段階、1) rad-appertization, 2) radicidation, 3) radurization に

分かれるが²⁾、消費者に至る末端機構まで殺菌レベルの正しい理解が要求される。食品は清浄に処理、調理されるべきもので、加工処理現場での微生物汚染は絶対的防止は無理としても、汚染は極力避けるべきで、それに伴って殺菌処理が有効になる。医療品と同様¹⁾、殺菌過程への安心感は殺菌前の処理、加工に持ちこめない。

1956年に2～3 Mrad 照射処理した肉のかん詰の変敗から *Micrococcus radiodurans* が発見されたのは⁶⁾、生態学的研究で明らかのように⁷⁾、初歩的な誤りの結果とみられるが、放射線高度耐性無孢子細菌の存在と、放射線殺菌法の限界を明確にした。細菌胞子は熱、薬品、乾燥、放射線に耐性であるが、高度耐性菌の放射線に対する D_0 , D_{10} 値は胞子と同等か、それ以上にもなって(表1), 生存曲線に肩をもてば(シグモイド曲線), 殺菌効果は著しく変わる³⁾。任意に取った 10^{11} の胞子数が完全に死滅する 10^{-1} になる 10^{12} の変化を完全殺菌レベルとした古典的理論⁸⁾ は熱殺菌では 121°C (250°F), 3分となり、かん詰工業での長い経験に支えられて放射線殺菌に適用され、嫌気性食中毒菌 *Clostridium botulinum* 胞子の12 D_{10} に安全性をみて4.5～5.6 Mrad を完全殺菌量としている⁹⁾。この極高線量では食品の本来性は失われる。特定菌の 10^{11} 存在は非現実的で、4 D_{10} , 6 D_{10} で十分とする意見もあるが、安全性の見解から 12 D_{10} が推されている⁹⁾。リン酸緩衝液中で $9 \times 10^8/\text{ml}$ の *Cl. botulinum* の胞子は9 Mrad でも死滅しないほど tailing する例もあり¹⁰⁾、 D_{10} では判断できない点も多い。加熱殺菌での胞子の有無による殺菌温度が2～2.5倍であるの

† Radiation-resistant Asporogenic Bacteria, Keiji YANO: Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi, Bunkyo, Tokyo.

表1 種々の細菌, フェージ, ウイルスの D_0 値

種	D_{10} 値 (krad)	文 献
<i>Salmonella typhimurium</i>	$5 \times 10^3 \sim 6 \times 10^4$	76, 77, 105)
<i>Escherichia coli</i>	$2 \sim 5.7 \times 10^3$	105)
<i>Serratia marcescens</i>	1.3×10^3	105)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.1×10^3	105)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1.1×10^3	105)
<i>Pseudomonas radiora</i>	$2 \sim 9 \times 10^4$	68)
<i>Acinetobacter</i>	$1.5 \sim 2.3 \times 10^4$	72, 73)
<i>Pneumococcus</i>	$1 \sim 1.5 \times 10^4$	3)
<i>Bacillus subtilis</i>	3.3×10^3	105)
<i>Micrococcus radiodurans</i>	$1.3 \sim 8 \times 10^4$	6, 27)
同上組換え欠損株 <i>rec 30</i>	5.9×10^3	45)
<i>Micrococcus</i> sp. 248	2.3×10^3	48)
<i>Arthrobacter radiotolerans</i>	1.0×10^6	60)
<i>Bacillus subtilis</i> 孢子	1.2×10^5	
<i>Clostridium botulinum</i> 孢子	$0.8 \sim 1.7 \times 10^5$	10, 49)
大腸菌フェージ R17	7.5×10^5	3)
" $\phi \times 174$	3.8×10^5	3)
" T ₁	5.7×10^5	3)
" T ₄	1.0×10^5	3)
" λ	3.8×10^5	3)
ポリオーマ Tウイルス	4.1×10^5	105)
ポリオウイルス	3.4×10^5	105)
アデノウイルス 5型	7.0×10^4	105)
インフルエンザウイルス A型	5.9×10^4	105)
ニューキャッスル病ウイルス	4.7×10^4	105)
タバコモザイクウイルス	3.0×10^5	3)

数値は直接引用, D_{10} より計算, 生存曲線より求めた。

に対し, 放射線単独の効果では無孢子菌の D_0 値に 10^3 倍の開きがある(表1)。

法的許可を得た食品放射線殺菌は, 国際的にも少なく²⁾ 現状ではジャガイモを主体とする発芽防止, 害虫駆除である。そのほか, 熟度調整, 食品改質, 加工適性向上など²⁾, 化学物質処理に対する批判の強い現状では, 放射線の他に求め難い特色がある。動物飼料の殺菌は¹¹⁾ 食品に比べて神経質に考えられていないが, 原料汚染度は強く, 動物を介しての疫病, 今後貴重となる動物タンパク源の安定な保持・増産で考える必要がある。

公衆衛生の面で放射線利用は, 化学物質使用の疑問(耐性菌出現, 生物への影響)と, 熱エネルギー問題, 廃棄物処理の現状, 地球上での窒素, 炭素の循環還元などの視点でより検討がさげばれている¹²⁾。疫病防止が第一主眼であるが, 生物由来の廃棄物は汚染の限り

をつくした対象であることを念頭におかねばならない。

放射線致死機構, 耐性機構の解析は他にゆずり^{3, 13)}, ここでは, 放射線耐性無孢子細菌の微生物学, 生態学を中心とする。著者の私見が多いのをお許し願いたい。

2. 放射線高度耐性菌の発見とその性質 (図1)

2・1 *Micrococcus radiodurans* R1, ATCC13939
1956年, Anderson ら¹⁰⁾によりオレゴン州の肉製品包装工場での $2 \sim 3$ Mrad 照射ひき肉かん詰の変敗から発見された。孢子形成能なく, ピンク色の $1.5 \sim 3 \mu\text{m}$ と比較的大型の球菌で4細胞が対合する。若い細胞はグラム陽性でしだいに染色性は弱まる。紫外線にも高度耐性で¹⁴⁾, また生化学的試験により *M. roseus*

図1 各種細菌の生存曲線
 グラム(+) 1: *A. radiotolerans* P-1
 2: *M. radioproteolyticus*
 3: *M. radiophilus* NCTC 10785
 4: *M. radiodurans* R1
 5: *M. sp.* 248
 胞子 6: *Cl. botulinum*
 7: *B. subtilis*
 グラム(-) 8: *Pseu. radiora* O-1
 9: *Acinetobacter* A-10

(肩の大きさと D_0 がわかる程度に部分的に著者がそれぞれの文献より作製した。)

などと区別される¹⁵⁾。代謝、資化能、栄養要求はとくに区別するところなく、メチオニン、ビタミンB群などの添加で合成培地に生育(30°C)するが^{16), 17)}熱に対しては弱い¹⁸⁾。また、他の *Micrococcus* 属細菌に比べて耐塩性は低く⁶⁾、2%食塩で生育阻害をうける。前記工場での照射、非照射ひき肉から発見されるほか、オレゴン州各地からの多数の肉や鶏からも見出されるが、北太平洋での魚貝類からは照射の有無に関係なく見出されていない⁷⁾。空気中から混入の類似菌があり¹⁹⁾、*M. radiodurans* Sark 株と命名された。最初の発見に関する工場区域で、牛・豚ひき肉、近傍の堀割の水、一時囲い中の生牛の皮膚から見出され、土壌、乾草、糞からは見出されない⁷⁾。堀割の水からは約300m 上流でも認められ、水由来と考えられた。2 Mrad 照射ひき肉でも好気性菌数 $1.5 \sim 17.8 \times 10^5/g$ という原料汚染であって、*M. radiodurans* とみられる菌は $5 \sim 20/g$ 、未照射の場合約 $100 \sim 200/g$ であった。生牛皮膚から黄色球菌、土壌からピンク無孢子球菌がべつに得られている。ミリポアフィルターで水試料の濃縮に成功せず、原因は不明である。浅・深井戸から *M. radiodurans* は単離されず、飲用水も陰性である。堀割の水は一時囲いの牛に使って

る。

この菌の微細構造は核様物質や細胞質に違いはなく、表層構造が他の細菌とは異なり、変わったグラム陽性菌である^{20), 21)}。細胞薄片の電子顕微鏡像から、グラム陽性菌では珍しい外膜を認めた場合と²⁰⁾、認めない場合があるが²¹⁾、使用菌株のわずかな差かも知れない。外膜に結合して²⁰⁾、あるいは直接外表面に²¹⁾トリプシン感受性の層(sheath, 鞘²⁰⁾)があり、六角網目構造でピンク色を示し、カロチノイド、奇偶数脂肪酸の脂質、ラムノース、マンノースを含む多糖類、タンパクを含むが、剛直性はない。この層につぎの剛直性のある層が無数の穴で陥入し²¹⁾、ために薄片像では周期的波状縁を示す²⁰⁾。陥入層は白く、ムコペプチドより成り、グルコサミン、ムラミン酸をもち、L-オルニチンがジアミノ酸である。つぎに内膜(細胞膜)がある。このような構造なので、リゾチームを直接働かせても剛性を失った袋状の形が残る、これにはムコペプチド成分は残らない²¹⁾。したがって一見リゾチーム耐性を示すが、剛直性のある壁成分は感受性である。リゾチーム、トリプシンの併用効果は記載されていない^{19), 20)}。Sark 株も同様の構造である。無色素変異株²²⁾は六角網目構造層が少なくなり、脂質、色素がない²¹⁾。リゾチーム処理に *n*-ブタノール飽和緩衝液を用いると溶壁が起こる。このときエンドヌクレアーゼが活性化されるので、阻害剤としてEDTAを加えるが、得られたプロトプラストはDNA切断を修復しない²³⁾。*Streptomyces albus* GのSAエンドペプチダーゼ(SA: *Staphylococcus aureus* 細胞を基質として検索した。)は*M. radiodurans*を完全に溶解する²⁴⁾。また *Achromobacter lyticus*の酵素と非イオン界面活性剤(Triton X-100, Emulgen 109 P, Surfactin)の併用で溶菌する。Triton X-100 単独前処理後は、酵素のみで溶菌する²⁵⁾。一般に放射線高度耐性菌はリゾチーム耐性を示すが *Cytophaga sp.*の溶菌酵素#2(N-アセチルムラミル-L-アラニンアミダーゼ、ペプチダーゼ、エンドペプチダーゼなどの混合、協和発酵)は*M. radiodurans*のほか、高度耐性菌(後述)、*M. sp. strain* 248⁴⁷⁾、*M. radiophilus*⁴⁸⁾を溶菌し、また *Arthrobacter radiotolerans*⁶⁰⁾を溶菌する²⁶⁾。

耐性度は培養基組成、生育時期により変化し、合成培地、定常期のほうが高い²⁷⁾。菌の単離にはNZ-Case(カゼイン-トリプシン分解物)のはいった培地が生育もよく好適だが⁷⁾、NZ-Caseの添加量増加とともに細胞は大きく色素は減少し、耐性は減少する²⁸⁾。同じ

R₁ 株を用いても D₀, D₁₀ 値は研究者によりかなり差がある。酸素効果も認められるが^{29, 56)}, この機構はまだ明らかでない。超酸化物分解酵素はカタラーゼとともに好気性菌のなかでも含量は高い³⁰⁾。酸素存在下で照射後, DNAから切り出されるチミンに5-hydroperoxy-6-hydroxy-5, 6-dihydro 体, また 5, 6-dihydroxy-5, 6-dihydro 体が得られている³¹⁾。重イオンビーム照射は酸素効果を減らすほか³²⁾, いろいろの数値が得られている。この菌の DNA 塩基組成は他の菌ととくに変わることはなく^{33, 34)}, リゾチームブタノール処理をしてスベルミジン存在下で得られるプロトプラストを計測した細胞数あたりの DNA 含量は 1.92×10^{-14} g/cell と計算されている³⁵⁾。この数字は大腸菌の約 2.5 倍であって, これよりも多い数字の例もあるが²⁹⁾, これは単細胞の計測法の差であろう。GC 含量を 67%³³⁾ とすると 1.7×10^7 塩基対/細胞が得られる³⁵⁾。

この菌の放射線高度耐性機構は, いろいろな角度から追究されてきた。情報量の極端に多い大腸菌に比べると, 実験技法も限られた *M. radiodurans* のこの方面の研究の範囲は広くないが, しだいに情報が蓄積してきている。この菌の抽出物は *E. coli* B/r の耐性を増すが *Sarcina lutea* の抽出物は阻害的である³⁶⁾。mercaptoethylamine のような還元物質の存在が考えられたが, オートクレープで賦活される点で奇妙であり, 以後の報告はない。赤色素に注目した例も多いが, 無色素変異株で生存曲線の長大な肩が消失した場合, D₁₀ は 0.25→0.5Mrad とむしろ上昇している²²⁾。変異株の細胞分析は sheath 部分での色素消失と同時に脂質消失を認めているので²¹⁾, 単なる色素生成能欠損ではないようである。無色素変異株が野生株と耐性が変わらない例や²⁹⁾, 抽出色素の放射線感受性を検討した例もあるが³⁷⁾, scavenger のみで高度耐性は説明できない。しかし, 化学分析のない, 肉眼の判定で scavenger の不在を決定することは避けたほうがよい。

UV 照射後のきわめて効果的な DNA 修復機構は³⁴⁾, 耐性の問題の焦点になった。放射線による DNA 傷害のうち二重鎖切断は, 大腸菌で修復されないが, この菌では可能であることが示され^{38, 39)}, この菌の異常とまでいえる修復機能が注目された⁴⁰⁾。以下, 最近のおもなトピックスを述べる。*M. radiodurans* のチミン要求菌が取られた⁴¹⁾。合成培地に¹⁶⁾ NZ-Case を添加した SM 培地を用いているが, UV-耐性は親株と同じで NZ-Case による感受性変化²⁵⁾も同じようである。

しかしチミン欠乏死には耐性がない。チミン欠条件下で細胞は 2~3 倍大きくなり unbalanced growth を示すが, クロラムフェニコール添加はチミン欠処理の UV 感受性に影響を与えなかった。チミン欠後, 2 時間は生菌数がほとんど変わらず, 生存曲線の大きな肩はほとんど消失しても D₀ 値は変わらない。チミン欠後チミン添加は親株と同じ耐性を再獲得し, このときクロラムフェニコール添加のほうに効果がある。チミン欠を続けると菌体はしだいにスフェロプラスト状となり, チミン添加は急激な溶菌を起こす。*M. radiodurans* のファージはまだ発見されず, 共通の親株由来の保存株についても溶原性は確かめられていない。プロファージ誘導と酷似のこの現象から, 溶菌液によるプラーク形成能がしらべられたが成功しなかった。チミン要求菌の発見は DNA 修復様式を半保存的 DNA 合成と区別できるほか, 酸素存在下での塩基損傷についての化学的分析³¹⁾に役立つであろう。

形質転換が可能になったことは DNA 修復能の検討法を大きく進歩させた⁴²⁾。形質転換は野生株菌体抽出液(フレンチプレス破砕→オートクレープ処理)が頻度を高める。この手法を用いて照射 DNA の野生株, 放射線感受性株での修復が検討された⁴³⁾。感受性株の D₀, 肩 dose はともに 1/2 減少しているが, それとほぼ同じ程度に未照射 DNA による形質転換頻度は減少している。しかし両株に取りこまれた照射 DNA は同程度に修復され, これは UV, γ 線に共通であった。UV 照射 DNA の生物学的活性消失は DNA 標品で変わりなく, γ 線照射 DNA の場合には標品により 40 倍も変わったが, 両株による修復度はそれぞれ同じであった。形質転換前に受容菌を照射すると, 頻度は感受性株では指数的に低下するが野生株では低下の様相が複雑である。しかし, γ 線照射 DNA の修復は宿主菌の照射前処理の有無にあまり関係ない。したがって宿主菌の照射は宿主による照射 DNA 修復を阻害するのではなく, その取込みを低下させる。このような転換能は組換え能によるとされるが, 組換え温度感受性変異株 *rec⁻ts* が NTG* 処理で得られた⁴⁴⁾。ts 株は 39° で *rec⁻*となり 4 時間は生菌数が変わらない。しかし *rec⁻*となると UV, γ 線照射での生存曲線の肩が消える。ごく最近, 組換え欠損株 *rec 30* も NTG 処理で得られた⁴⁵⁾。この *rec 30* の γ 線に対する D₀ は 5.9 krad であって肩がまったく消失している(表 2)。一般無孢子細菌の耐性レベルに近くな

* NTG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG とも略称される)

表2 *M. radiodurans* 親株と組換え欠損株 *rec 30*の生存曲線の分析⁷⁵⁾

菌 株	UV 照射 (ergs/mm ²)			γ線照射 (krad)		
	1/e (D ₀)	折点 (肩)	D ₃₇	1/e (D ₀)	折点 (肩)	D ₃₇
親 株	1, 220	11, 000	12, 220	64	640	704
<i>rec 30</i>	330	480	810	5.9, 9.1*	0	5.9
感 受 性 度	3.7	23	15	11, 7.0*	∞	120

*生存曲線は20krad 付近で折れ、D₀は5.9→9.1krad と上へ折れる。

っているが、*E. coli rec A* 変異株の1.1krad よりまだ多い。組換え能は野生株の0.01%以下で大腸菌の *rec A* 変異に相当すると考えられている。UV に対しては約15倍の感受性、γ線には120倍、マイトマイシン(MC と略)に300倍で、それぞれの損傷修復様式の反映を示している。ゲノムあたり1つのMC-DNA 交叉で失活すると考えられる。UV 照射後のピリミジン二量体の切出しは正常である。すべての変異復帰株は親株と同じ耐性、組換え能を示すことから、この変異は点変異と考えられる。この変異株 DNA は *exr* 型変異株を野生株型へ形質転換が可能である。このように変異株取得、形質転換手法、そして細胞の温和な破壊法が加えられれば、この菌での異常な放射線耐性機構は急速に解明されるであろう。残念ながらいまのところファージ、とくに溶原ファージや、接合現象は認められていない。

一般に細菌は UV 照射の致死効果に対して耐性を示すとき、同時に UV により惹起される変異の感受性が増すが、*M. radiodurans* では UV 照射後の修復がきわめて正確で変異はほとんど起こらない⁴⁶⁾。これは4-NQO**に対しても同様であったが、NTG に対しては感受性であった。UV 照射後にカフェインを働かせても変異惹起は増感されていない。これはDNA 損傷様式とその修復機構の差を示したもので、前述のMC 感受性が *rec 30* 株で増大するのとあわせて損傷の質的相違を明瞭に示している。

同時にこの菌の除去修復能が大きいのみでなく正確であるのは酵素化学的にも興味をもたれる。

2.2 他の *Micrococcus* 属

2.2.1 *M. sp.* 248株 ATCC 19172

M. radiodurans に続いて1963年、Haddock (北大西洋のたらの一種)の切身からオレンジ褐色の球菌が50~800 krad 照射でつねに認められた⁴⁷⁾。*M. radiodurans* より細胞は小さく1.3~0.8 μm と通常

の *Micrococcus* と同じだが二対、また四対になる。25~30° でよく生育し、3%食塩にも耐える。コロニー性状により rough (249株), smooth (248株)に分かれるが、特徴的なのは生存曲線が肩のない指数関数型をとることである(248株)。D₁₀: 0.52 Mrad であるが高線量下では *M. radiodurans* よりも耐性を示す。249株は約100krad まで、より低下するが、それ以上の線量では D₀ 値は248株とはほぼ同じである。グラム陽性であるがしだいに染色性を失う。ゼラチン液化、硝酸塩還元的能力で *M. radiodurans* とは区別されている。取扱い中における混入と考えられるが追跡調査はされていない。GC 含量は68%である⁵²⁾。

2.2.2 *M. radiophilus* NTCC 10785 (RBD 株)

グラム陽性で、*M. radiodurans* より高耐性のオレンジ赤色球菌が Bombay duck (インド近海産のはだかいわし)の店頭保存期間の長期化を考えた1~2 Mrad 照射処理品から分離された⁴⁸⁾。最初は RBD 株と称され、*M. sp.* NTCC 10785⁴⁹⁾、そして最近、*M. radiophilus* と命名された⁵⁰⁾。細胞は1.5±0.2 μm で *M. radiodurans* よりいくぶん小さいが、二対、四対となるのはよく似ている。グラム染色性は変化しない。メチオニンの添加¹⁶⁾、NZ-Case の添加²⁸⁾も影響がない。*M. radiodurans* (opt pH5.5~6.5)より高いpHがよい。5%食塩耐性で30~37° が好適である。*M. radiodurans* はタンパク分解をかなりするが⁹⁾、この菌では認められない。*M. radiodurans* も *M. radiophilus* も毒物は産出しない。生存曲線はシグモイド型であるが *M. radiodurans* よりも大きな肩をもち(1.5Mrad)、10⁻⁶ を得るには3.6Mrad を必要とする。この菌の大きな特徴は UV 耐性が非常に大きいことで大きなシグモイドの肩と長い tailing をする^{49, 51)}。GC 含量は64.4%である⁵²⁾。試料は開きにしたもので、消化管寄生のもののか、表面的混入菌か不明で、また追跡研究もどうしたわけか行なわれていない⁴⁹⁾。

2.2.3 *M. radioproteolyticus*

** 4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide

医療品の放射線殺菌のマーカー菌の選定に、土壤中の孢子形成菌と、諸国から移入した動物(上野動物園)の糞より分離した赤色細菌について、乾燥状態での放射線耐性を検討中に発見された⁵²⁾。乾燥状態では 10^{-8} を得るのに7.0 Mradを要する。一般に放射線高度耐性菌は乾燥状態で耐性はさらに増大し、水性溶液での生存曲線が比例的に伸張してシフトする⁵³⁾。*M. radiophilus* よりやや耐性が強い。グラム陽性で $1.3 \sim 0.8 \mu\text{m}$ で単独、二対で四対はまれである。5%食塩に耐え $30 \sim 37^\circ\text{C}$ が適温でGC含量は70.5%である。この菌の特徴はタンパク分解の強いこと、動物の消化管に由来すると考えられる最初の放射線耐性菌であることである。毒性はいまのところないと考えられるが、この種の菌は食品衛生・保存に影響すると見てよい。糞は南米産ラマ (*Lama glama*) 由来である。

2・2・4 その他の *Micrococcus* 属

1) *M. sp.* H-55 株

キノコの培養基として鋸屑と米糠の混合物を殺菌の目的で $1.0 \sim 2.0 \text{ Mrad}$ 照射後、保存したところ、 $10^{4-5} / \text{g}$ の赤色グラム陽性菌が生育した⁵³⁾。二対で四対になるにつれて染色性を失う。 D_{10} は $0.2 \sim 0.3 \text{ Mrad}$ で*M. radiodurans*に似ているが、耐塩性が多少異なる。生存曲線はシグモイド、指数関数型の両者に属するものが得られている。

2) NE-2-1株

自然界から広く試料を集めて放射線高耐性菌を検索する試みのうちで、一般区域(東京、文京区、根津神社境内)から採取された⁵⁴⁾。*M. radiodurans*に形態、色調、放射線耐性生存曲線がよく似ており、おそらく同種の菌と考えられている。それ以上の研究はまだされていない。

3) *M. sp.* B-12株

三朝温泉山田湯共同浴湯内の枕湯(かつて薬用効果を期待して飲用に用いた泉、現在は噴出湯がほとんどなく、たまり湯で洗浄もされていない。)から分離した⁵⁵⁾。赤色球菌で $D_{10}=370 \text{ krad}$ 、肩=640 kradである。*Micrococcus*と考えている。耐熱性はない。

2・2・5 *Arthrobacter radiotolerans* P1, IAM 12072

従来、発見された放射線高度耐性の無孢子細菌は食品の保存殺菌を目的とした照射処理後に予期せず偶然に単離された。自然環境には放射能泉、ウラン鉱山などのように低線量率区域でもバックグラウンドの高い地域や、 γ -フィールドのような人工放射能地域がある。食品の放射線処理、あるいは廃棄物の放射線処理

を考えると無孢子性高度耐性菌の出現、分布は大きな影響があるが、*M. radiodurans*における追跡検索⁷⁾以外はほとんど行なわれていない。一方微生物、とくに細菌は外界の条件によく適応して生育することがよく知られており、温度、pH、塩類濃度、炭素源、酸素分圧など、多くの因子の、しかも極端な条件下から、それに適した株が単離されている。弱い放射線でも生物体になんらかの影響を与えることは、DNA一本鎖切断のエネルギーが $50 \text{ eV}^{56)}$ 、そして二重鎖切断のエネルギーが $520 \sim 800 \text{ eV}^{57)}$ であることを考えれば当然である。生体は弱い放射線のなかでつねに傷害を受け、そして修復して生存していると考えられる。そのような環境のなかでは慢性的影響の結果、放射線高度耐性菌が集積している可能性があるのではないかという仮説に立って、1970年にRn泉として著名な三朝温泉に試料を求めた。三朝温泉はRn含有量はわが国2位と称され、また一般に放射能泉が冷泉であるのに珍しく温度が高い(50° 以上)。年間でRn含量は変動があり、雨量、積雪などのほか周辺水田の湛引水で変わる^{58, 59)}。このうち川原湯露天風呂から得た試料に赤色桿菌で極高耐性菌が得られた⁶⁰⁾。 $0.8 \sim 1.0 \times 1.0 \sim 4.0 \mu\text{m}$ で単独、2連、連鎖する。多形性を示し培地組成で変わるが、老細胞では球形で間違えやすくグラム陽性度も落ちる(図2)。孢子を作らず運動性はなくゼラチンを液化しない。食塩6%で生育可能で $46 \sim 48^\circ\text{C}$ に適温をもつ。 $D_0=1.0 \text{ Mrad}$ ときわめて高く、600 kradに肩をもつ。おそらく知られている耐性菌のなかで最高であろう。難点は生育がきわめて遅いことで栄養豊富な培地でも世代時間は9 hである⁵⁴⁾。合成無機液体培地でも生育するが、その寒天固形培地では生育しない。また栄養寒天固形培地でも接種量を多くすれば4日以内に良好な生育集落を得るが、菌数測定のように単独細胞として分散させると肉眼で認識するのに2週間以上かかる。これらのことはこの菌が未知の栄養要求をもつことを示している⁶¹⁾。またいま1つの難点は

図2 *Arthrobacter radiotolerans* P-1

左: B-寒天培地, 37°C , 3日間培養, 右: 左の斜面培養を1か月室温で保存, ゲンチアナ紫染色

栄養培地斜面生育菌を室温保存すると、それより接種した液体培地で菌体が凝集して（肉眼で認め得るくらい）沈さず傾向があることで、これを防ぐには寒天上で分散生育した各コロニーを、それぞれ液体培地で無凝集性をたしかめ、1週間単位で移植保存する。他の保存法も目下検討中であるが、生存曲線を求める実験では無凝集性であることを確かめたいうでで使用している。世代時間が長く、他の細菌群との混合平板培養では生育競合が弱く、*M. radiodurans* と同じように⁷⁾ 放射線前処理が有効な単離手段である⁵⁴⁾。しかし最近ある種の糸状菌との共存で生育良好となり、しかも凝集性の起こらないことを発見した⁶¹⁾。栄養因子の解明によって難点は解決することと思われる。

2・2・6 他の Coryneform 細菌など

1) *M. radioproteolyticus* について動物の糞から Coryneform 無孢子桿菌が発見された⁶²⁾。動物はジャイアントパンダ (*Ailuropoda melanoleuca*) であるが、これらの菌の宿主との関係はまだ明瞭でない。グラム陽性でクリーム〜ピンク〜オレンジの色素をもつ。培地組成で多形性が変わり、ゼラチン液化(+), 37°Cで60分の世代時間で、これはこの種の耐性菌のなかではもっとも短い。合成培地にもよく生育するが馬血液を溶血する問題がある。GC=68%で細胞壁にリジンを含むことから *Arthrobacter* と同定された⁶³⁾。D₁₀ 値=460~345krad と高い。

2) その他、*M. radiodurans* と同等の耐性を示すグラム陽性桿菌が取得されたが、博士論文以外に公表されていないので詳細は不明である⁶⁴⁾。乾燥状態で細菌孢子よりかなり強い Coryneform 桿菌が得られているが由来の記載は割愛されている⁶⁵⁾。

2・2・7 *Streptococcus faecium* A₂ 1

医療品の放射線殺菌マーカー菌として北欧で用いられている¹⁾。腸内球菌の38株について放射線耐性を検討したところ、病原性のある *St. faecium* に属する24株が14株の *St. faecalis* よりも強かった⁶⁶⁾。土壌、空中のちりから採取した2連のグラム陽性球菌が2.0 Mrad の照射後2株得られ、乾燥状態で細菌孢子よりも強い耐性を示すので⁶⁷⁾これがマーカー菌として用いられている。しかしこの放射線高耐性は乾燥状態においてであり、緩衝液中では10⁻⁸を得るのに約1 Mrad であって⁶⁷⁾ *M. luteus* 程度となる⁴⁹⁾。乾燥状態での殺菌のときには病原性もあり、塵あいに含まれる可能性が強いので注意したい。

2・2・8 *Pseudomonas radiora* O-1

穀類保存中の虫害・微生物害はばく大なものであ

る。放射線殺菌を行なったところ200krad 以上で残存するグラム陰性菌として分離された⁶⁸⁾。グラム陰性菌は陽性菌よりも耐性は弱いとされてきたが⁶⁹⁾、この菌のO-1株は細菌孢子なみの耐性を示す。グラム陽性放射線高度耐性菌と同様に赤色色素をもつ。国内産新米、古米、スペイン産米、タイ産米で発見され、籾を無菌的に除皮した試料にも認められるので、元米、稲に寄生していると考えられる。その点についての研究はとくにない。この菌以外に寄生する菌相はかなり固定しているが多種である⁷⁰⁾。0.5~0.8×2.0~3.0μm, 極鞭毛で運動性がある。生育は他の *Pseudomonas* より遅く、放射線前処理が単離に有効である。変敗の原因とはならないようである⁷⁰⁾。株によって耐性度は異なり O-1 株の D₁₀=170 krad, RP-C 株の D₁₀=46 krad であってともに小さな肩を生存曲線にもつ⁶¹⁾。放射線感受性と損傷回復について報告がある⁷¹⁾。

この菌についての追試を国内産5栽培品種、5年にわたる収穫籾をそれぞれの年数貯蔵した14試料籾につき、無菌的に除皮した玄米洗液で行なった。結果はすべての試料より *Ps. radiora* と思われるコロニーを得た⁵⁴⁾。

2・2・9 *Acinetobacter* 属

当初は *Achromobacter* とよばれたグラム陰性球桿菌が養鶏死体の500krad 照射試料より得られた⁷²⁾。D₁₀=60 krad で多少肩を示す。またウイナソーセージを300~500 krad 照射後、ネット発生菌として *Acinetobacter* が分離されている⁷³⁾。D₁₀=54~44 krad であった。これらは細菌孢子よりも弱耐性であるが、グラム陰性のなかではD₁₀ 値が1桁多い。食品の変敗を起こす菌であり、汚染しやすいとみられるので実際面を考えてここにまとめた。

3. 自然界からの耐性菌分離

3・1 一般区域

2・2・5 に述べた観点から放射線区域より積極的に試料を集めるとともに一般区域試料を集め検討した⁵⁴⁾。動物糞、土壌、水（河川、池、人工池、植物栽培用ポット、排水溝水泥）などである。2.7, 5.1, 8.1×10⁵ rad の照射後生存菌を位相差顕微鏡で孢子の有無を観察し、無孢子細菌について放射線耐性を検討した。その結果、放射線耐性をかなり示す菌は、ほとんど水系試料に限られ、またすべてグラム陽性の球菌または桿菌で、色素を有する菌が大部分を占めた、しかしD₁₀ 値は30~60 krad のものが多く、NE-2-1株のみが高耐性を示した。これは *M. radiodurans* 類似菌とみら

れる(2・2・4(2))。いくらでも耐性を示す菌は水系試料に多いが、汚染(化学的、生物的)の強い場所よりも、自然環境に近い、つまり植物、藻類、小動物が生物圏を作った場所の試料のほうに多い傾向である。動物糞からは得られなかったが2・2・3や2・2・6(1)の例があるので結論は下せない。小島らとの実験手法の大きな違いは試料懸濁液を直接照射するのと、赤色細菌を選り照射することである。

3・2 高バックグラウンド地域

3・2・1 土壌系試料

γ -フィールド、ウラン鉱山、放射能泉区域の土壌を緩衝液で懸濁した上澄みを検討したが、無孢子で耐性を示す菌は得られなかった。 γ -フィールド土壌は線源から10m間隔で10試料についてしらべたが、有孢子性の細菌のみを取得した⁵⁴⁾。東大原子力研究総合センターの γ 線照射室中のちりも同様であった⁵⁴⁾。

3・2・2 水系試料

主として三朝温泉の井泉水のほか、池田、関金、増富温泉から試料を集めた。このなかで三朝川原湯から得られた *Arthrobacter radiotolerans* P-1 は2・2・5に述べた。無作意に試料を集めた結果、川原湯と山田湯がきわめて特徴のあることを認めた⁵⁴⁾。前者は露天風呂で、後者は共同湯の枕湯である(2・2・4(3)参照)。松山らは1972年、同様な観点から試料採取、山田枕湯より高度耐性菌を得ているが(2・2・4(3))⁵⁵⁾川原湯からは得ていない。この違いは以下で説明される。自然界の微生物はたとえ貧弱な栄養源でも生体維持に必要なエネルギーなどを得れば生息可能である。温泉水は一般に有機炭素源は少なく、無機イオンのみのものが多い。独立栄養性でないかぎり、この環境下で従属栄養菌は混在以外には生息し得ない。物理的エネルギーを利用して生命維持するのは光合成生物以外には発見されてなく、S.F. の材料にとどまっている。炭化水素資化菌は炭化水素を炭素源エネルギー源となし得るが、土壌・水試料からも資化菌を単離できる。しかし油田(地底深くとも)からは多い確率で単離できる(これは安定な資化能の意でない)。つまり、細菌生息可能な環境が先決で、つぎに放射線の影響が微生物相にあらわれると考えてよい。山田枕湯は2・2・4(3)で述べたが泉井内部は無洗浄のまま放置されている。川原露天風呂は河川敷にあり、上流約100mの川岸で汲水、埋設管で送水、防岸堤内壁で開口し、湯舟には孟宗竹の樋で給湯している。竹樋内面には混入した泥に苔が生育し、水あかも多い。泉井内壁面や、竹樋内面の

苔、水あかを水とともに十分に採取した試料に総菌数は多く、耐性菌の単離も容易である(図3)。しかし、山田共同湯浴室内の枕湯は外的条件がほぼ一定と考えられるのに反し、露天の竹樋は老朽化すれば更新され、それまでの微生物相は一扫される。残念なことに汲水ポンプには側路がなく、川岸開口部より上部の試料は得られない。年間季節を通じ5回の採取でつねに高度耐性菌が得られた。川原湯由来の高度耐性菌の生存曲線を図4に示す⁵⁴⁾。微生物相中のすべての菌種について検討していないが、これより低い耐性菌も生息している。川原湯由来高度耐性菌は形態、生存曲線の形から少なくとも3群に分かれる。1) *A. radiotolerans* 類似のピンク色桿菌、2) 生存曲線に肩のある赤色球菌、3) 生存曲線に肩のない赤色球菌でコロニー形態が2)と異なる。属の異なる高度耐性菌が同時に採取された場合や、単独の場合もある。しかしこのように同一場所で群として認めたのは最初であり、自然界の環境微生物相として留意してよい。山田枕湯も同様であった。三朝大瀬湯からは細菌孢子なみの菌を得ている⁵⁴⁾。また排水などからも耐性菌が得られた。また増富温泉の一源泉で耐性菌が得られているが⁷⁴⁾、培養温度が一律30°Cなので、再検討の余地がある。三朝地区は45~60°Cであり、増富は16~18°Cである。*A. radiotolerans* の生育適温が46~48°Cというのは、この菌

図3 三朝温泉、川原湯、山田枕湯試料の苔、水あか、泥などの有無による菌数の照射による相違
1-MK-1: 川原湯、水+苔、水あか、泥
1-MK-2: 同上水のみ
1-MY-1: 山田湯、水+水あか
1-MY-2: 同上水のみ

(1973年11月8日採取試料による)

図4 川原湯由来の高度耐性菌の生存曲線

A: ピンク色桿菌群

B: 赤色球菌群シグモイド型

C: 赤色球菌群指数関数型

AR: *Arthrobacter radiotolerans* P-1MR: *Micrococcus radiodurans* R-1248: *Micrococcus* sp. 248BSS: *Bacillus subtilis* 胞子

がよくその場所に適応していることのいま1つの反映であろう。

4. 放射線耐性の獲得

4.1 照射—培養反復による耐性化

細菌の放射線耐性度は培養、生育時期、照射、生菌計測での培養などの条件で影響をうける。同一菌種でもかなりの差がある。食中毒原因菌 *Salmonella* など、慎重に検討されたが、 D_0 値にかなりの開きがある(表1)。放射線処理で耐性化することは、その性質

上歓迎されず、追究されてきた⁷⁵⁻⁷⁷⁾。照射と培養を反復し、耐性大腸菌が得られたが、食品照射線量ならば出現しない⁷⁵⁾。13回反復で2倍 D 値の *Salmonella* が得られる⁷⁶⁾。20回反復で2~4倍となるが、それ以上進行しない⁷⁷⁾。しかし最近、*Sal. typhimurium* L T₂ で14反復(1週間)ごとに0.1%生存率照射線量を求め、照射線量増加を6回(14×6=84反復)行なったところ、表3の結果となった⁷⁸⁾。生存曲線はしだいに肩が伸長し、 LD_{10} が20倍耐性の D21R 6008 株は *M. radiodurans* の栄養培地对数期の生存曲線²⁷⁾を上まわる⁷⁸⁾。プロファージの存在は影響ない。耐性株は親株より大型で、RNA、タンパクは1.8~2.1倍多いがDNA量は変わらない。DNAポリメラーゼIとDNAリガーゼが上昇している⁷⁸⁾。親株は20~50 krad 照射後4時間の培養でラベルDNAの30~50%を酸可溶物とするが、耐性株は15%である⁷⁹⁾。照射後DNA合成は親株では、20kradで減少し200kradでまったく阻害されるが、耐性株は200kradでも阻害されず遅延するのみである。両線量でのDNA一重鎖切断数は両株で同じであるが、耐性株のDNA修復のほうがずっと早い⁷⁹⁾。この耐性株(適応株)取得法(6週間で段階的に線量をあげる)は難分解性のクロル安息香酸分解菌取得法(連続培養系で11週間の間に濃度をあげる)と似通ったところがある⁸⁰⁾。

4.2 プラスミッド獲得による耐性化

細菌のプラスミッド(染色体外遺伝子)は元来その菌にとって必須ではない情報DNAをもち、独立にDNA複製を行なって主染色体とともに分裂細胞に引

表3 *S. typhimurium* の溶原菌(DB20)、非溶原菌(DB21)の放射線抵抗性に対する反復照射線量と培養の影響⁷⁸⁾

反 復 回 数	各回での 照射線量 (krad)	各14回ごとの生存曲線の特徴			
		平均 LD_{10} 線量 ^{a)} (krad)		3D 線量 (krad)	
		DB 21	DB 20	DB 21	DB 20
0		30	45	90	135
1~14	100	112	135	225	260
15~28	225	230	200	380	330
29~42	350	250	254	420	435
43~56	420	345	310	570	500
57~70	520	450	430	810	750
71~84	780	550	560	900	980

a) LD_{10} 線量: 最初の生存菌数の10%が生残する線量(文献78の表に手を加えた。)

きつがれる⁸¹⁾。主染色体の約 $1/100 \sim 1/1000$ 程度の分子量の小さな環状二重鎖で、取扱いの点から放射線研究にも使われている⁸²⁾。転移因子をもつものは菌の接合により伝達可能であり、それは種間、属間でも起こり得、主染色体に組み込まれる場合もある⁸¹⁾。F(性)、バクテリオシン、R(薬剤耐性)のほか金属耐性、分解系プラスミッドが知られ、その他の例は増えつつある。*Sal. typhimurium* LT₂のCol I(コリシンI生産因子)保持菌は不保持菌よりUV照射に耐性で⁸³⁾、また変異頻度を増す⁸⁴⁾。Col Iは*Shigella sonnei*由来で、大腸菌へ転移可能である⁸⁵⁾。Rプラスミッドも同様で⁸⁶⁾、UVのほか、 γ 線、チミン欠乏、MMS***、NTGに耐性効果を示す⁸⁷⁾。*Sal. typhimurium* pol A1にR-Utrechtプラスミッドを保持させるとDNAポリメラーゼの活性が賦与される⁸⁸⁾。プラスミッドにDNA修復能(変異頻度上昇)があることは、化学物質の変異原性試験に保持菌が鋭敏であることで示される⁸⁹⁾。R-Utrechtは復帰株出現に2~3倍の促進があるが⁹⁰⁾、それよりも約10倍強化するpKM101(多剤耐性を示すR46由来で、アンピシリン耐性のみを残す)はR46よりも有効である⁸⁹⁾。しかし、pSC101(最初、Tc 6-5: R 6-5を*in vitro*で切断、形質転換を行ない*in vivo*で環状とした。テトラサイクリン耐性と複製ドライブ単位をもつ⁹¹⁾)は効果がなかった⁸⁹⁾。pKM101の役割はまだ明確でないが、保持菌をrec A⁻とすると効果はほとんど現われない。

4.1の*Salmonella*の20倍耐性化はプラスミッド由来であるという⁹²⁾。プラスミッド消失により耐性を失い、また大腸菌に転移可能という⁹²⁾。もしそうならば、*Salmonella*の耐性度に大きな開きがあり(表1)、外部から情報が得られない場合には耐性化はわずかで(主染色体の変異が考えられる)、また薬剤耐性での遷移型プラスミッドのような形式で耐性が増したり⁹³⁾、あるいはプラスミッドのコピー数増加に伴って遺伝子産物が増加したり⁹⁴⁾することがあり得る。R46よりもpKM101のほうが効果のあることは後者の可能性を示す。一般に小さいプラスミッドDNAのほうが、自己複製の宿主による制約を受けず、コピー数が増加するからである⁹¹⁾。宿主主染色体に組み込まれてエピゾームとなる場合には、DNA鎖の組換え、切断、連結が必要であるが、組み込まれるプラスミッドのみにDNA修復能があるとは限らない。プラスミッドの情報の多くはまだ明確でなく、また複合体形成によりい

ろいろな情報の組合わせが自然的にも⁹³⁾人為的にも可能である⁹¹⁾。

5. 生物由来廃棄物の処理

自然環境の悪化に対する考慮から諸種の法的規制が強まりつつあり、一般の関心も高まってきているが、化学、物理的分析と美的感覚で処理する傾向がある。廃棄物、廃水は産業、生活と区分されるが、この間には交錯しており、むしろ生物由来、非由来のほうにより明瞭に区別される。廃水処理に主として用いられている活性汚泥法でのおもな問題は、難分解物と蓄積する汚泥の処理である。海洋投棄は地域的に限られ、いったん分離した汚泥をふたたび海洋に投ずることは不経済でもあり、汚染もする。埋立造成、内陸投棄も限度があり、焼却処理は衛生上有効でも二次汚染となり、有限の地球上での資源の損失である。生物由来廃棄物は炭素、窒素に富み、リン、カリなど植物栄養分が豊富で、大地に再分配することは太陽エネルギーの有効利用を高め、食糧増産、化石資源短小化に伴う人工肥料不足、エネルギー節約のほか、地力の低下を補うことができる。

しかし病原菌、寄生虫、ウイルスに対する処理が必要で、活性汚泥法、嫌気的消化法ではそれに対する保証が少なく、*Salmonella*汚染汚泥を牧草地に与えると、27週間は植物に、それ以上でも土壌からこの菌を検出でき、家畜疫病発生の報告もある⁹⁵⁾。とくに動物ウイルスの処理が緊急であり、生物必須の飲用水も確保のみでなく安全性を高めねばならない。1973年、IAEAの要請で放射線利用検討が急がれたのは、化石エネルギー価格急増、廃棄物増加、人間の急速な、広汎な移動による病原菌の分散などの対処である。1975年3月のシンポジウム¹²⁾では、最近2~3年間の研究成果が、経済性、安全性、社会反響を含めて討議された。内容は生物由来のみに限られなかったが、最終パネル討論では、そこに重点がおかれた。中間試験の結果も多かったが、最終結論は見送られた。

その理由として、1)高度耐性菌の存在⁹⁴⁾、耐性化菌の出現⁷⁹⁾、中間試験処理場(西独ミュンヘン市近郊の γ 線利用)からの*Salmonella*菌検出⁹⁶⁾、2)動物ウイルスの資料不足。とくにその検出法の不備。3)以上のことから安全尺度決定についての資料不足がおもなるもので、それぞれについての急速な解決が望まれた。

その他論議されたのは、 γ 線と加速電子線の優劣で、ともに中間試験規模の実例例が示されたが、検定

*** MMS: methyl methanesulfonate

菌に通常の大腸菌やカプセル封入ウイルスを用いるなど、耐性化菌や汚泥成分のウイルス保護作用への考慮が不足であった。熱、塩素、酸素との相乗効果が強調されたが、個々の生物種（寄生虫卵を含む）単独の例が多く、微生物、ウイルス、寄生虫卵を含む廃棄物での統一条件には至らなかった。殺菌以外の長所では、放射線処理によるコロイド粒子の変質、固型分の容易な分離が数多く示されたが、フェノール物質を含めての有機物分解は放射線化学でのG値の限界から、能率の点で今後はあまり期待できないとする意見が出され、また分解によって何が生成し、それがいかなる性質の物質かという未解決点が指摘された。微生物によっても難分解である物質に対しては有効と思えるが、最近の研究でもリグニン物質は 10^{6-7} radの高線量でも全分解せず⁹⁷⁾、このような難分解性物質は微生物処理の前処理に放射線を利用する方向になるのではなからうか。

この分野での研究、中間試験は急がねばならないが、まず第一に現状での廃棄物処理の実体を十分に把握することが必要であり、経口する食品関係にのみ眼を奪われることなく、家庭での洗剤使用量、そして微生物的に重要なのは抗生物質乱用による耐性菌など、廃棄する（せざるを得ない）方向に留意すべきである。地球上の元素の循環は有限の地球上での、当初からの必須条件であって金で買えたり、巨大産業で対抗できるものではない。1975年3月のシンポジウムは前述のように、現状分析、従来の知見、最新の各方面にわたる。たとえば気体からの公害物質除去などの研究例が出されたが、日本からの出席は4人で、生物関係ではわたくし1人であったのでこの小文に取りあげたが、全体についての要約は困難なので、今秋に予定されている出版物を参照されたい。

わが国での廃棄物処理の実体は、わたくし自身よく把んでいない。むしろ把めないほど複雑怪奇で決して優れたものではない。工業での化学的廃水に対する批判は強く示され、対策も着々とされているし、先のシンポジウムの廊下トンビの耳情報（帰国後確認したが）で日本のこの方面の進歩はスイスへ技術輸出している。それはM社のオゾン分解による方法で、B社の権利は全欧州を覆う。しかし生物的な面では活性汚泥法、曝気循環法、厩肥法（この技術は高められ、大規模化している）が主であり、河川海洋への放流投棄も海水浴場の大腸菌数に一般の関心が集まっているに過ぎない。

デンプン製造廃水と家畜の疾病については北海道で

の実状経過が紹介されている⁹⁸⁾。瀬戸内海の汚染と赤潮⁹⁹⁾、生態学と公害問題¹⁰⁰⁾、などの良い解説がある。

6. おわりに

放射線高度耐性菌は放射性耐性という表現形質で区別され、照射手段ではじめて認識される。他の微生物との混在では生育競合が弱く発見が遅れた。胞子の耐性が静的とすると、動的、積極的である。照射手段のなかった時代は、その表現形質は識別不能で、人類の能力、要求の進展につれて発見されたにすぎない。異なった方法で自然界を検索するといままでの常識や規範では分別できない菌が出てくるようになるのは¹⁰¹⁾、われわれの知識がいかに貧弱であるかを示す。しかし、放射線耐性を特別の表現形質とするのは、人間の勝手であってその耐性能の大部分がDNA修復能であり、プラスミッドにもその情報は存在し、生物生存必須能力が強化しているのが高度耐性菌である。一部の酵素がとくに高い量に保持され、誘導されることは微生物にとって当然であるし、われわれの常識である。

“生命は光により生まれ、光により滅ぶ”¹³⁾、矛盾に対して種により対応程度が異なり、“エラーの伴わない複製の反復は生命の進化を停止し、やがてその滅亡に導く”¹³⁾のならば、自然界にさほど広く分布、また強固に基盤を保持していない放射線耐性菌はその典型かも知れない。通観して、かれらは他生物の活力にかなり従属し、ほそぼそとその種族を維持している。グラム陽性菌には珍しい、むしろグラム陰性の表層構造は、進化の小枝の枝分かれに芽を残した姿を示しているのかも知れない。かれらの滅亡する過程を変える可能性をもつ生物種はヒトのみで、それはまた、人類の滅亡をも意味しよう。

かつて地球上に分子状酸素はなかった。われわれはあまりに好氣的であるので、酸素の毒性^{102,103)}について、よく認識していない。大腸菌を嫌氣的、好氣的に生育させ、照射時の嫌氣、好氣条件と組み合わせると、好氣的照射で嫌氣的生育菌のほうが好氣的生育菌より耐性を示す¹⁰⁴⁾。超酸化物分解酵素の照射時添加は両者に耐性を賦与するが、同じ耐性度のレベルでとまる。好氣的生育菌のほうが超酸化物分解酵素の影響が多く出る¹⁰⁵⁾。大腸菌でのこの酵素の誘導に分子状酸素が必要だと¹⁰⁶⁾いうことに矛盾する。かつて酸素効果のないといわれたファージにも酸素依存性の損傷が認められたのは¹⁰⁷⁾、酸素効果についての知見の貧弱さを示す。超酸化酵素添加の好氣照射でも、好氣的生育

一嫌氣的照射のレベルまで達しない¹⁰⁵⁾。この差はどう説明できるだろうか？ 酸素は放射線殺菌での相乗効果剤としてその役割は大きいのである。

遺伝学, 生化学の進歩は細菌におけるプラスミッドの存在, 働きを認識させた。これによって従来理解し難い事象が明確に理解されつつあるが, 耐性化賦与の事実は警鐘を鳴らしている。抗生物質の発見は大きな貢献と人類の福祉をもたらしたが, その乱用はR因子の広汎な散布を伴った¹⁰⁸⁾。元来必須でない遺伝情報が, 細菌にとって必須となりつつあると考えるのは悲しいが, R因子のこれ以上の散布は, 病原菌, ウイルスの散布と同様, 防止したい。廃水処理に利用する微生物の有核有機物質分解能がプラスミッド由来すること, 薬剤耐性情報が伴う場合があることは, 実行手段に大きな矛盾をはらんでいるかに見える。放射線も変異薬剤も DNA 損傷の意味では変わりはなく, DNA 修復を含めて耐性機構(資化分解, 無毒化, 不感受性化, 取りこみ拒否)の制御は, 実はわれわれが握っているのである。

ウイルス性肝炎のウイルスの感染経路は不明とされるが, 容疑者として水があるという¹⁰⁹⁾。日本の都市は上半身があって下半身がないといわれるが, 微生物の知識(常識)の啓蒙は, 最近大きな反響を起こしつつある遺伝子工学¹¹⁰⁾に直接関与する人々に対¹¹¹⁾してのみ必要なのではない。科学の粋を尽したジャンボ機中で, わずか一本の指に由来する感染で大騒動となった現在の姿は, デカメロンの時代より高度に進歩した姿であろうか? 集積回路の製作に無塵装置が普及したことが全体の進歩につながっているのだろうか? 微生物の知識を深めて, また放射線についての理解が深まってこそ, 殺菌手段としての放射線の有効さ, 他にないメリットが発揮され, 生活の向上(物質的でない)が図れるのである。

プラスミッドが進化に関与したと考える意見があることを付言しておく¹¹²⁾。それはいまでも起こりつつあると考えてもよいからである。

東京大学山口彦之教授にご助言をいただいた。教室の吉仲妙子, 趙奉錦両氏が自然界からの耐性菌分離, *Arthrobacter* の研究を行なっている。未発表の資料を提供していただいた。岡山大学温泉研究所御船政明氏に試料採取の折, ご援助を受けた。あわせて厚く感謝する。

研究の一部は東京大学原子力研究総合センターの生物系プロジェクト研究費によるものである。

文 献

- 1) 田辺俊, 小島満子, C. エンボーグ, 中野和城: *Radioisotopes*, **20**, 498 (1971)
- 2) 佐藤友太郎: *ibid.*, **18**, 464 (1969)
- 3) 松山晃: *ibid.*, **18**, 457(1969); **22**, 724(1973)
- 4) 並木満夫: *ibid.*, **18**, 454 (1969)
- 5) 河端俊治: *ibid.*, **18**, 468 (1969)
- 6) Anderson, A.W., H.C. Nordan, R.F. Cain, G. Parrish and D. Duggan: *Food. Technol.*, **10**, 575 (1956)
- 7) Krabbenhoft, K.L., A.W. Anderson and P. R. Elliker: *Appl. Microbiol.*, **13**, 1030 (1965)
- 8) Esty, J.R. and K.I. Meyer: *J. Infect. Dis.*, **31**, 60 (1922)
- 9) "Microbiological Specifications and Testing Methods for Irradiated Food", IAEA Tech. Rep. No. 104, IAEA, Vienna (1970)
- 10) Anellis, A.W., N. Grecz and D. Berkowitz: *Appl. Microbiol.*, **13**, 397 (1965)
- 11) 伊藤均, 飯塚広, 佐藤友太郎: JAERI Report JAERI-M 5249 (1973)
- 12) IAEA Intn. Symp. "The Use of High-Level Radiation in Waste Treatment—Status and Prospects", Munich, 1975, SM-194, IAEA, Vienna, (1975年秋出版予定)
- 13) 近藤宗平: "放射線分子生物学", 東大出版会, 東京 (1972)
- 14) Duggan, D.E., A. W. Anderson, P.R. Elliker and R. F. Cain: *Food Res.*, **24**, 376 (1959)
- 15) Anderson, A.W., K.E. Rash and P.R. Elliker: *Bact. Proc.*, p. 56 (1961)
- 16) Raj, H.D., F.L. Duryee, A.M. Deeney, C. H. Wang, A.W. Anderson and P.R. Elliker: *Cand. J. Microbiol.*, **6**, 289 (1960)
- 17) Duryee, F. L., H. D. Raj, C. H. Wang, A. W. Anderson and P. R. Elliker: *Cand. J. Microbiol.*, **7**, 799 (1961)
- 18) Duggan, D. E., A. W. Anderson and P. R. Elliker: *J. Food. Sci.*, **28**, 130 (1963)
- 19) Murry, R. G. E. and C. F. Robinow: *Proc. Intern. Congr. Microbiol.*, 7th, Stockholm, p.427 (1958)

- 20) Thornley, M.J., R.W. Horne and A. M. Glaupert: *Arch. Mikrobiol.*, **51**, 267 (1965)
- 21) Work, E., H. Griffiths: *J. Bact.*, **95**, 641 (1968)
- 22) Moseley, R.E.B. and H. Laser: *Proc. Roy. Soc.*, **162**, 210 (1965)
- 23) Driedger, A. A. and M. J. Grayston: *Can. J. Microbiol.*, **16**, 889 (1970)
- 24) Petit, J.F., E. Muñoz and J.M. Ghyen: *Biochem.*, **5**, 2764 (1966)
- 25) Nakamura, K., Y. Okazawa, M. Soejima and T. Masaki: *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 2667 (1973)
- 26) 吉仲妙子, 矢野圭司, 山口彦之: 投稿準備中
- 27) Serianni, R.W. and A.K. Bruce: *Rad. Res.*, **36**, 193 (1968)
- 28) Krabbenhoft, K.L., A.W. Anderson and P. R. Elliker: *Appl. Microbiol.*, **15**, 178(1967)
- 29) Okazawa, Y. and A. Matsuyama: *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 1505 (1967)
- 30) McCord, J.M., B.B. Keele, Jr. and I. Fridovich: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 1024 (1971)
- 31) Hariharan, P.V. and Cerutti, P.A.: *Nature New Biol.*, **229**, 247 (1971); *J. Mol. Biol.*, **66**, 65 (1972)
- 32) Matsuyama, A.: IPCR Cyclotron Progr. Report **2**, (1968) ~**6**, (1972)
- 33) Moseley, B.E.B. and A.H. Schein: *Nature (London)*, **203**, 1298 (1964)
- 34) Setlow, J.K. and D.E. Duggan: *Biochim. Biophys. Acta*, **87**, 664 (1964)
- 35) Driedger, A.A.: *Can. J. Microbiol.*, **16**, 1136 (1970)
- 36) Bruce, A.K.: *Rad. Res.*, **22**, 155 (1964)
- 37) Kilburn, R. E., W.D. Bellamy and S. A. Terni: *Rad. Res.*, **9**, 207 (1958)
- 38) Kitayama, S. and A. Matsuyama: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **33**, 418 (1968)
- 39) Kitayama, S., T. Karasawa and A. Matsuyama: *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 628 (1969)
- 40) Suhadi, F., S. Kitayama, Y. Okazawa, and A. Matsuyama: *Rad. Res.*, **49**, 197 (1972)
- 41) Little, J. G. and P.C. Hanawalt: *J. Bact.*, **113**, 233 (1973)
- 42) Moseley, B. E. B. and J. K. Setlow: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **61**, 176 (1968)
- 43) Moseley, B.E.B. and A. Mattingly: *J. Bact.*, **105**, 976 (1971)
- 44) *idem*: *J. Gen. Microbiol.*, **72**, 327 (1972)
- 45) Moseley, B. E. B. and H. J. R. Copland: *J. Bact.*, **121**, 422 (1975)
- 46) Sweet, D. M. and B. E. B. Moseley: *Mut. Res.*, **23**, 311 (1974)
- 47) Davis, N.S., G.J. Silverman and E.B. Masurovsky: *J. Bact.*, **86**, 294 (1963)
- 48) Lewis, N.F.: *J. Gen. Microbiol.*, **66**, 29 (1971)
- 49) Lewis, N.F., M.D. Alur, A.R. Nadkarni, S.G. Gaonkar, U.S. Kumta: IAEA Intn. Symp. "Radiation Preservation of Food" Bombay, SM-166/13, IAEA, Vienna, (1973)
- 50) Lewis, N.F., D.P. Nerkar, U.S. Kumta: → 12), IAEA-SM-194/307 (1975)
- 51) Lewis, N.F., U.S. Kumta: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **47**, 1100 (1971)
- 52) Kobatake, M., S. Tanabe and S. Hasegawa: *Compt. Rend. Sean. Soc. Biol.*, **167**, 1506 (1973)
- 53) 伊藤均: 日農化会昭50年大会(札幌)講演要旨集, p.276 (1975)
- 54) Yano, K., B. Cho, T. Yoshinaka and H. Yamaguchi: →12) IAEA-SM-194/202 (1975)
- 55) Matsuyama, A., Y. Okazawa, H. Arai and M. Mifune: *Sci. papers Inst. Phys. Chem. Res.*, **67**, 35 (1973)
- 56) Dean, C.J., M.G. Ormerod, R.W. Serianni and P. Alexander: *Nature*, **222**, 1042(1969)
- 57) Kitayama, S. and A. Matsuyama: *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 664 (1971)
- 58) 芦沢峻: 放射能泉研究報告, **3**, 27 (1950)
- 59) 大島良雄: *ibid.*, **2**, 1 (1949)
- 60) Yoshinaka, T., K. Yano and H. Yamaguchi: *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 2069 (1973)
- 61) 吉仲妙子, 矢野圭司: 未発表
- 62) 小島満子, 宇田川俊一, 倉田浩, 田代和治, 中川志郎: 日農化会昭49年度大会(東京)講演要旨, p.232 (1974)
- 63) 小島満子, 駒形和男, 倉田浩: 日農化会昭50年度大会(札幌)講演要旨, p.277 (1975)

- 64) Rash, K. E.: Thesis Oregon State College (1959) →65) より引用
- 65) Christensen, E. A., N. W. Holm and F. A. Juul: IAEA Intn. Symp. "Radiosterilization of Medical Products", Budapest, SM-92-22 IAEA, Vienna (1967)
- 66) Christensen, E.A.: *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **61**, 483 (1964)
- 67) Emborg, C.: *ibid.*, **80**, Section B, 367(1972)
- 68) Ito, H. and H. Iizuka: *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 1566 (1971)
- 69) Thornley, M. J.: *J. Appl. Bact.*, **26**, 334 (1963)
- 70) 飯塚広, 伊藤均: 日農化, **41**, 578 (1967)
- 71) 伊藤均, 飯塚広, 岡沢精茂, 渡辺宏: 日農化, **46**, 127 (1972)
- 72) Thornley, M.J., M. Ingram and E. M. Barnes: *J. Appl. Bact.*, **23**, 487 (1960)
- 73) Ito, H. and T. Sato: *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 233 (1973)
- 74) 矢野圭司, 田野茂光, 山口彦之: 未発表
- 75) Wright, S. J.L. and E.C. Hill: *J. Gen. Microbiol.*, **51**, 97 (1968)
- 76) Corry, J.E.L. and T.A. Roberts: *J. Appl. Bact.*, **33**, 733 (1970)
- 77) Licciardello, J.J., J.T.R. Nickerson and S. A. Goldblith: IAEA, Panel "Elimination of Harmful Organisms from Food and Feed by Irradiation" Zeist, 1967, PL-242/11, IAEA, Vienna (1968)
- 78) Davies, R. and A.J. Sinskey: *J. Bact.*, **113**, 133 (1973)
- 79) Davies, R., A.J. Sinskey and D. Botstein: *J. Bact.*, **114**, 357 (1973)
- 80) Dorn, E., M. Hellwig, W. Reineke and H. J. Knackmuss: *Arch. Microbiol.*, **99**, 61, (1974)
- 81) Novick, R. P.: *Bacteriol. Rev.*, **33**, 210 (1969)
- 81a) 中谷林太郎: 蛋, 核, 酵, **19**, 965 (1974)
- 82) Paterson, M.C. and R.B.: Setlow, *Proc. Nat. Acad. USA*, **69**, 2927 (1972)
- 83) Howarth, R.: *J. Gen. Microbiol.*, **40**, 48 (1965)
- 84) Howarth, S.: *Mutation Res.*, **3**, 129 (1966)
- 85) Fredericq, P.: *Ann. Rev. Microbiol.*, **11**, 7 (1957)
- 86) Drabble, W.T. and B.A.D. Stocker: *J. Gen. Microbiol.*, **53**, 109 (1968)
- 87) MacPhee, D. G.: *Mutation Res.*, **14**, 450 (1972)
- 88) *idem*: *Nature*, **251**, 432 (1974)
- 89) McCann, J., N. E. Spingarn, J. Kobori and B.N. Ames: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 979 (1975)
- 90) MacPhee: *Appl. Microbiol.*, **26**, 1004 (1973)
- 91) Cohen, S. N., A. C. Y. Chang: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **70**, 1293 (1973); —, —, H. W. Boyer and R. B. Helling: *ibid.*, **70**, 3240 (1973)
- 92) Sinskey, A.J.: 私信
- 93) 橋本一: 蛋, 核, 酵, **17**, 862 (1972); **19**, 978 (1974)
- 94) 寺脇良郎: *ibid.*, **19**, 970 (1974)
- 95) Hess, E. and Breer, C.: →12), IAEA-SM-194/308 (1975)
- 96) Wизigmann, I. and Wүrsching, F.: →12), IAEA-SM-194/606 (1975)
- 97) 手塚雅勝, 五島廉輔, 為政脩: *Radioisotopes*, **24**, 345 (1975)
- 98) 西武: 化学と生物, **12**, 589 (1974)
- 99) 岡市友利: *ibid.*, **9**, 566 (1971)
- 100) 宝月欣二: *ibid.*, **9**, 222 (1971)
- 101) 駒形和男: 私信
- 102) Maugh II, T.H.: *Science*, **182**, 44 (1973)
- 103) Gregory, E. M., S. A. Goscin and I. Fridovich: *J. Bact.*, **117**, 456 (1974)
- 104) Bacq, Z.M. and P. Alexander: "Fundamentals of Radiobiology" p. 211, Butterworths Sci. Publ., London (1955)
- 105) 吉仲妙子, 矢野圭司, 山口彦之: 未発表
- 106) Gregory, E.M. and J. Fridovich: *J. Bact.*, **114**, 543 (1973)
- 107) Freifelder, D., S.T. Donta and R. Goldstein: *Virology*, **50**, 516 (1972)
- 108) Gale, F.F., E. Cundliffe, P. E. Reynolds, M. H. Richmond and M. J. Waring: "The Molecular Basis of Antibiotic Action", p. 380 John Wiley & Sons, London (1972)

- 109) Lemke, H. S. and A. J. Sinskey: →12), IAEA-SM-194/203 (1975)
- 110) 松原謙一：蛋，核，酵，**20**, 574 (1975)
- 111) 新井俊彦：自然，**30**, (6) 56 (1975)
- 112) Campbell: "Evolution of Genetic Systems" p.534, Eds. H. H. Smith, et al., Gordon & Breach, New York (1972)
-