

微生物의 細胞生理에 미치는 電離放射線의 影響에 關한 研究(第5報)
 “酵母細胞의 膜透過性에 對한 γ -線의 影響에 對하여”

金鍾協, 全世烈, 崔連淳, 金喜子

(原子力研究所 生物學研究室)

Studies on the cellular metabolism in microorganisms as influenced
 by gamma-irradiation. (V)

“On the membrane permeability changes and leakage of cellular constituents
 of irradiated yeast cell”

Kim, Jong Hyup., Chun, Sae Yul., Choi, Yun Soon., and Kim, Hee Ja.

(Div. of Biology, Atomic Energy Research Institute, Korea)

Abstract

The effect of gamma-ray on yeast cells *Sacch. cerevisiae*, and the leakage of cellular constituents such as carbohydrates, ribose, amino acids, inorganic phosphates and organic phosphates have been studied.

The samples of yeast cells had washed thoroughly and starved intensively, radiation effects were compared with those of control (un-starved), the irradiation dose rates are in the range from 24 Kr. up. to 480 Kr.

The loss of 260m μ . absorbing material are also observed. Mechanisms of membrane damage by gamma-irradiation are discussed correlating to permeability changes and loss of substances, then active and passive transport process are also under considerations in discussion.

The experimental results are as follows,

1. Carbohydrates of yeast cell leak out by gamma-irradiation, and amounts of loss increase proportionally as the increasing of radiation dose, curve of carbohydrates loss in starved cells is parallel with those of non-starved cells.
2. Ribose leak out less than that of carbohydrate from irradiated cell, the dose response curve of loss is straight and proportional to the increasing of radiation doses, slope of the curve is much lower than of carbohydrates.
3. Amino acids also leak out and the curve of losses to radiation is not proportional, it is revealed that there are little losses from yeast at lower doses of irradiation.
4. The losses of inorganic phosphates increase unproportionally to the increasing of irradiation doses, there are little leakage at the lower doses of irradiation. The losses of organic phosphates increase proportionally to the increasing of irradiation doses, and the amount of losses are much more than that of inorganic phosphate at lower doses of irradiation.
5. Leakage from irradiated yeast cells was shown to be due to passive transport process not an energy requiring process of ion transport.
6. Loss of 260 m μ . absorbing material is little more than that of control yeast by the gamma-irradiation dose of 120K.r. and 240K.r.

緒 論

前報에서(金, 1967, 1968) 報告한 바와 같이 生體細胞가 γ -線의 照射를 받은 後 外呼吸이 減少하고 內呼吸이 增加하는 要因을 原形質膜의 變化때문이라고 指摘하였다. 한편 放射線 被曝細胞의 乾燥物의 單位重量當 蛋白質含量이 增加된 것도 内部物質이 流出된 것으로 指摘한 바 있다. 放射線에 被曝된 酵母細胞로부터 内部物質인 carbohydrate가 流出되는 것을 前報(金, 1968)에서 報告하였다. Rothstein, 1959은 그의 綜說에서 紫外線照射 結果 酵母細胞로부터 많은 種類의 細胞物質, 即 amino 酸, nucleotides, phosphate esters 및 vitamin B group 등이 流出된다고 하였다. X-ray의 影響에 關해서는 紫外線의 境遇만큼 徹底하게 研究되지는 않았으나 potassium의 流出에 對해서는 여러 研究者로부터 報告된 것이 있다. Billen, 1953., 1957. 은 E. coli 菌에 X-ray를 照射하여 adenosine triphosphate의 流出를 밝힌 바 있고, O'Brien, 1960., 1966. 은 酵母菌의 透過性에 미치는 X-ray의 影響을 研究하여 細胞物質의 流出이 energy 要求過程이 아니고 擴散(passive transport) 過程에 基因함을 明白히 하였다. 또 ion-uptake의 過程은 放射線에 依하여 影響을 받지 않는다고 밝혔다. Emily, 1965.는 chick의 透過性에 미치는 γ -線의 影響을 研究하여 水溶性 albumin이 流出된다고 하였으며 Caputo, 1960.는 260 m μ 의 波長을 吸收하는 어떤 物質이 流出하고 있음을 報告하고 있다. Merrick, 1965.는 micrococcus에 X-ray를 照射하여 potassium ion의 流出을 詳細히 報告하였고, Spoerl, 1964.은 酵母細胞를 X-ray 照射한 後 starvation을 시키면서 透過性의 變化를 觀察하고 P³²와 260m μ 吸收物質의 流出을 starvation한 것과 比較하였다.

γ -線은 X-ray와 同一한 電離放射線이고 生物學的 效果가 類似하다고 보고 있으나 γ -線을 使用한 研究事例은 아직 드물다.

따라서 本 研究에 있어서는 電解性物質이고 ion transport와 關聯이 있는 phosphate 및 amino 酸의 流出狀況을 starvation과 結付시켜 放射線量을 段階의으로 높이면서 實驗하여, 膜透過性 및 膜構造의 變化를 考察하였다.

한편 非電解質物質인 Carbohydrate의 流出에 對하여 線量率, starvation 效果와의 關聯性을 考察함으로써, 膜透過性에 對한 γ -線의 影響을 追究코자 하였다.

本 研究遂行中 支援激勵하여 주신 原子力研究所 生物學研究室長 李根培博士께 謝意를 表합니다.

材料 및 方法

Saccharomyces cerevisiae (Baker's pressed yeast)의 前處理

酵母細胞를 Basket type centrifuge로서 4~5 회 洗滌과 沈澱을 反復하여 菌體에 附着되어있는 物質들을 除去하였다.

이것을 2次蒸溜水 適當量에 懸濁시킨 後 shaker로서 starvation을 16時間, 27°C 實施하고, 對照細胞와 比較實驗하였다. 이 때 兩區의 菌體 懸濁도는 同一濃度이고, 同一量을 分配하여 取하였다.

γ -線의 照射

γ -線의 照射는 本原子力研究所에 備置되어 있는 panoramic gamma-irradiator, Cobalt-60, 760 curies를 使用하여 實施하였으며, yeast suspension이 들어 있는 試驗管을 γ -source에 密着시켜 各各 24, 48, 72, 120, 240, 480 kilorentgen의 線量을 照射하였다.

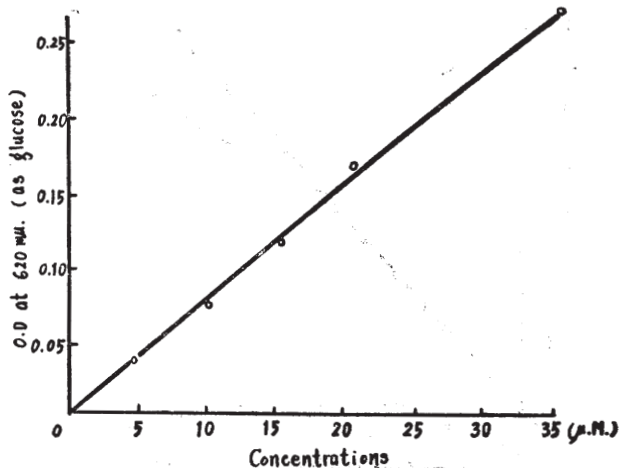
Carbohydrates의 calibration curve 作成

standard glucose의 各 稀釋溶液(1 μ M~35 μ M)에 Trevelyan, 1956.의 anthrone reagent를 混合시켜 靑色으로 發色된 反應液을 얻고 이것을 Spectrophotometer, Spectronic '20'를 使用하여 620m μ 波長으로 그 吸光度를 測定하였다. (Fig. 1 參照) Carbohydrate의 量은 glucose로서 表示하였다.

Ribose의 Calibration Curve 作成

Standard D-ribose의 稀釋溶液(5 μ M~30 μ M)에 Trevelyan, 1956.의 orcinol-HCl reagent를 混合시

Fig. 1 Calibration curve of carbohydrates.



켜 靑綠色으로 發色된 反應液을 얻고 이것을 上記의 Spectrophotometer 로서 $660m\mu$ 波長으로 그 吸光度를 測定하였다. (Fig. 2 參照)

Amino acid의 calibration curve 作成

Standard alanine 의 各 稀釋溶液 ($1\mu g \sim 20\mu g/ml$) 에 Fowden, 1951.의 ninhydrin reagent 를 混合시켜 紫色으로 發色된 反應液을 上記의 Spectrophotometer 로서 $570m\mu$ 波長으로 그 吸光度를 測定하였다. (Fig. 3 參照).

Phosphorous 의 calibration curve 作成

Standard Sodium dihydrogen phosphate (Merck, G.R.)의 稀釋溶液 ($1\mu g \sim 100\mu g$.)을 Martin-Doty, 1949 의 方法으로, phosphomolybdic acid 를 isobu-

Fig. 2 Calibration curve of D-ribose.

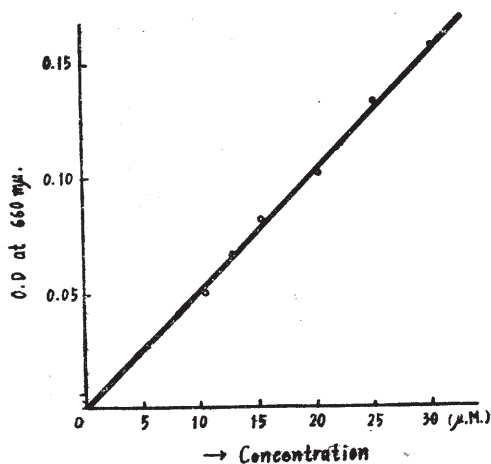
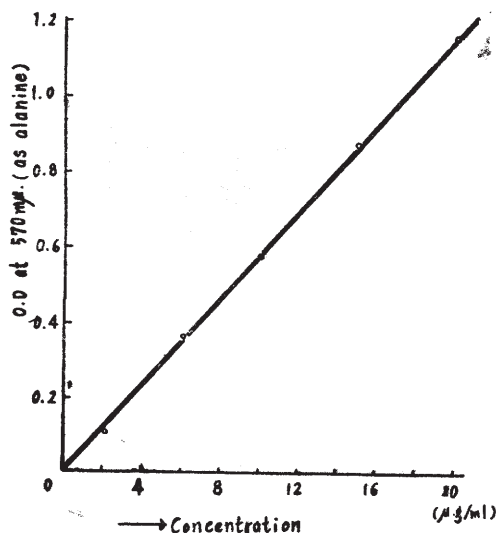


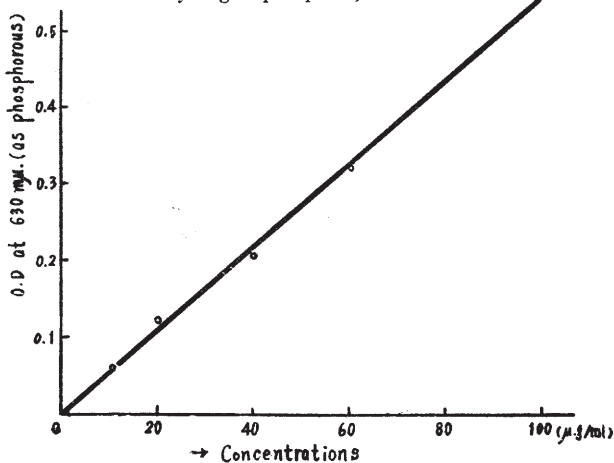
Fig. 3. Calibration curve of amino acid.



tanol-benzene 溶液으로 抽出하여 stannous chloride 로서 還元 發色시킨 溶液을 上記 Spectro-photometer 로서 $630m\mu$ 으로 比色定量하고 그 吸光度를 測定하였다. (Fig. 4 參照)

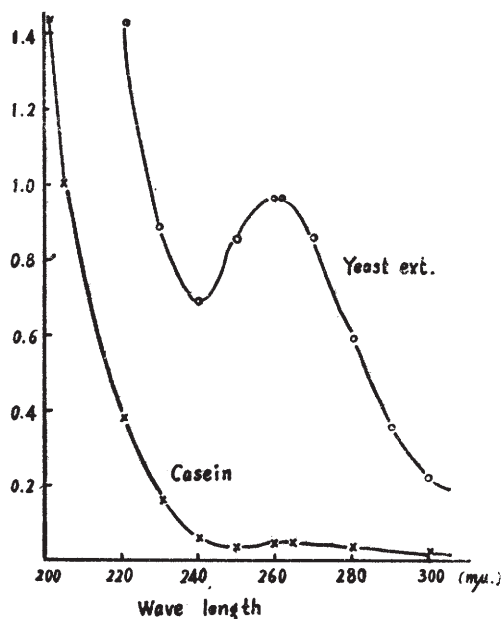
위의 方法에 依해서는 true inorganic phosphate 의 含量이 測定되었고, organic phosphate 의 含量을 求하기 爲하여 total phosphate 定量操作으로서 Fiske-Subbrow, 1925.의 acid combustion 을 實施하여 ortho-phosphate 를 얻고 이것을 Martin-Doty 法으로서 Phosphorus 를 定量하였다.

Fig. 4. Calibration curve of phosphorus. (Sod. dihydrogen phosphate).



260 mμ 吸收物質의 追跡

Fig. 5. Reference curve for 260mμ. absorbing material.



Starvation 을 시키지 않은 酵母에 120Kr.와 240 Kr.의 γ -線을 照射하고, 그 懸濁液의 遠心上澄部分을 200m μ ~300m μ 까지의 紫外線波長吸光度를 Spectrophotometer, Beckman DU2 로서 測定하였다. 對照物質로는 Difco Co. yeast extract 溶液과 Hammarsten casein(Merck)를 使用하였다. (Fig. 5 參照)

放射線被曝으로 인한 細胞物質流出量의 分析

上記한 線量의 放射線을 받은 酵母細胞(starvation, 16 時間과 non-starvation 의 兩者)의 懸濁液을 遠心分離(3,000 r.p.m. 20 min)한 後 上澄液을 一定量式을 取하여 그 内部에 包含된 炭水化合物, amino 酸, ribose, inorganic phosphate, organic phosphate, total phosphate 및 260m μ 吸收物質의 定量을 實施하였다.

酵母細胞의 乾燥

懸濁液 속에 들어있는 酵母細胞의 乾燥重量을 流出量에 對한 單位로 表示하기 위하여, 懸濁液 1ml 式을 各 實驗區로부터 取하여 vacuum dry oven 을 使用하여 90°C, 16 時間 乾燥하였다.

結果 및 考察

γ -線에 被曝된 酵母細胞로 부터 流出된 炭水化合物量과 線量과의 關係는 Table 1 및 Fig. 6 과 같다.

이 表에서 보는 바와 같이 24Kr.에서 漸次로 線量이 480Kr.까지 增加함에 따라서 正比例로 流出量이 增加하고 있다. 이 增加直線의 slope 는 starvation (16 時間)을 시킨 細胞와 starvation 을 시키지 않은 細胞를 比較할 때에 平行의으로 上昇하고 있다. 이것은 carbohydrate 와 같은 energy source 의 存在如何를 莫論하고 上昇度(流出比)에 差異가 없는 것으로 보아 放射線으로 인한 膜透過性의 變化 即 膜構造의 變化는 energy requiring mechanism 이 아니라

Table 1. Loss of total carbohydrates from gamma-irradiated yeast cell.

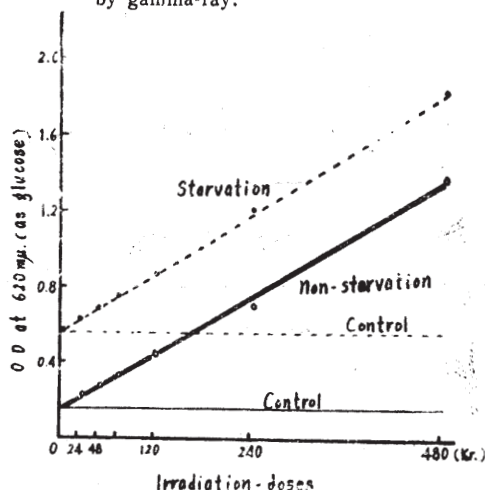
(u. moles and u.g./mg. of dried yeast in suspension of 1 ml)

Radiation dose.	Starvation Conc.		Control (Un-starved)		Starvation	
	μ .mole	μ .g.	μ .mole	μ .g.	μ .mole	μ .g.
Irradiation control	0.29	54.2	1.04	187.2		
24(Kr.)	0.44	79.2	1.14	205.2		
48	0.50	90.0	1.25	225.0		
72	0.55	99.0	1.37	246.6		
120	0.80	144.0	1.57	282.6		
240	1.28	230.4	2.20	396.0		
480	2.55	459.0	3.29	592.2		

는 것을 알 수 있다. 다시 말하면 passive transport (diffusion)의 site 가 障害를 받고 있음을 알 수 있다. (O'Brien, 1963)

炭水化合物에 對한 膜透過性은 starvation 을 시킨 細胞와 starvation 을 시키지 않은 細胞를 比較할 때 後者의 區에서 이미 流出이 若干 일어났다. 그러나 兩區에 있어서의 放射線被曝으로 인한 流出直線의 slope 는 同一한만큼, 放射線의 影響을 받은 後에 透過性이 莫甚하게 變化한 事實과 starvation 으로 인한 膜透過의 變化와는 그 次元이 다르다.

Fig. 6. Dose-response curve for total carbohydrates in supernatant of yeast suspension irradiated by gamma-ray.



Ribose 의 流出狀況은 Table 2 와 Fig. 7 에서 보는 바와 같다. Ribose 亦是 炭水化合物(anthrone 試藥으로 發色된)과 같은 流出傾向을 보여주고 있다.

Table 2. Loss of ribose from gamma-irradiated yeast cell.

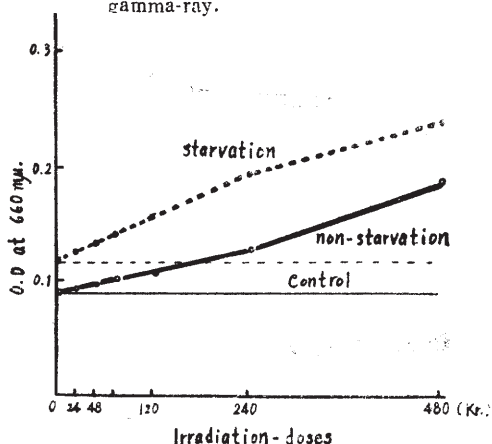
(μ . moles and μ .g./mg. of dried yeast in suspension of 1 ml)

Radiation dose.	Starvation Conc.		Control (Un-starved)		Starvation	
	μ .mole	μ .g.	μ .mole	μ .g.	μ .mole	μ .g.
Irradiation control	0.063	9.39	0.099	14.79		
24(Kr.)	0.067	10.06	0.110	16.52		
48	0.072	10.81	0.119	17.87		
72	0.078	11.75	0.130	19.52		
120	0.087	13.06	0.152	22.60		
240	0.112	16.82	0.203	30.48		
480	0.194	29.13	0.263	39.41		

*Remark: Ribose were measured with orcinol reagent, and colorimetric method.

線量變化에 따르는 流出曲線의 slope 는 炭水化合物보다 顯著하게 낮다. 이것은 ribose 가 遊離狀態로 存在하는 것도 있지만 大部分의 境遇 adenosine phosphate, nucleotide, nucleoside, adenilic acid 등과 같이 結合狀態로 存在하기 때문에 一般의 炭水化合物의 流出 傾向과는 樣相이 다를 것으로 思料되는 것이다.

Fig. 7. Dose-response curve for ribose in supernatant of yeast suspension irradiated by gamma-ray.



Amino 酸의 流出狀況은 Table 3 및 Fig. 8에 있는 바와 같다. 이 表에서 보는 바와 같이 amino 酸은 120kr.의 線量 以下의 照射區에 있어서는 流出量이 그다지 많지 않았다. 그러나 120kr.를 超過하는 240kr. 및 480kr.의 高線量에서는 많은 流出이 觀察되었다. 線量增加에 따르는 流出曲線은 一直線이 아니고 曲線型을 나타낸다. 이 點은 炭水化合物의

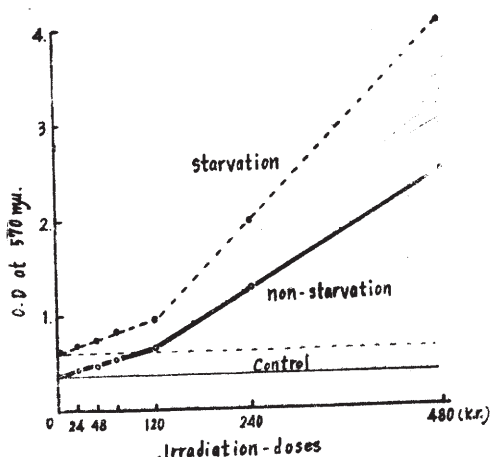
Table 3. Loss of total amino acid from gamma-irradiated yeast cell.

(μ . moles and μ .g./mg. of dried yeast in suspension of 1 ml)

Radiation dose	Starvation		Control (Un-starved)		Starvation	
	Conc.		μ .mole $\times 10^{-3}$	μ .g.	μ .mole $\times 10^{-3}$	μ .g.
Irradiation control			0.483	0.043	0.819	0.073
24(kr.)			0.569	0.051	0.881	0.079
48			0.668	0.060	0.977	0.087
72			0.730	0.065	1.067	0.095
120			0.875	0.078	1.234	0.110
240			1.690	0.152	2.694	0.240
480			3.352	0.299	5.517	0.492

*Remark: The amount of total amino acids were expressed as the alanine.

Fig. 8. Dose-response curve for total amino acids in supernatant of yeast suspension irradiated by gamma-ray.



境遇와는 다르다. 그 原因을 考察하건데 amino 酸은 electrolytic substance 로서 ion transport 의 group 에 屬하는 것으로 解釋된다. 따라서 放射線의 膜構造에 對한 影響은 ion transport 의 site 에 對한 것보다도 오히려 passive transport 의 site 에 심한 影響을 주는 것 같이 解釋된다. 이 解釋은 starvation 과 non-starvation 의 兩區의 流出量을 比較할 때 그 隔差가 작은 것으로 보아 더욱 明白하다.

Inorganic phosphate 의 流出狀況은 Table 4 와 Fig. 9에서 보는 바와 같다. 圖表에서 보는 바와 같이 inorganic phosphate(Fig. 9 參照)의 流出은 240kr.까지의 低線量에 있어서는 control 와 別差異가 없으며 流出量도 微量이다. 240kr.의 線量은 呼吸代謝에 相當한 影響을 주는 線量임에도 不拘하고

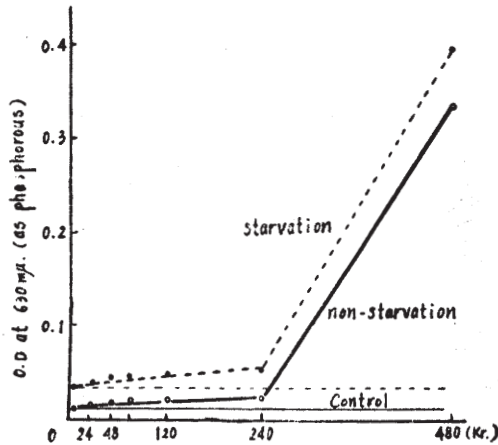
Table 4. Loss of inorganic phosphate from gamma-irradiated yeast cell.

(μ .moles and μ .g./mg. of dried yeast in suspension of 1 ml)

Radiation dose	Starvation		Control (Un-starved)		Starvation	
	Conc.		μ .mole $\times 10^{-3}$	μ .g. $\times 10^{-2}$	μ .mole $\times 10^{-3}$	μ .g. $\times 10^{-2}$
Irradiation control			0.34	1.06	0.52	1.6
24(kr.)			0.35	1.08	0.69	2.1
48			0.35	1.08	0.71	2.2
72			0.35	1.10	0.77	2.4
120			0.35	1.10	0.84	2.6
240			0.35	1.10	0.94	2.9
480			5.84	16.8	6.45	20.0

流出이 적다는 것은 ion transport 에 影響을 주지 못한 것으로 解釋되고, 240kr.로 부터 480kr.까지의 高線量에서는 急激한 增加를 보여주고 있다. 이것은 ion transport site 에서도 放射線障害가 莫甚하게

Fig. 9. Dose-response curve for inorganic P. in supernatant of yeast suspension irradiated by gamma-ray.



일어난 것으로 考察된다.

Organic phosphate 의 流出狀況은 Table 5 와 Fig. 10 에서 보는 바와 같다. organic phosphate 의 流出은 大體로 dose rate 에 比例하고 低線量(24kr.)에서 부터 直線的으로 流出量이 上昇하고 있다. 이것은 organic phosphate compound 가 生體細胞內에서 極히 流動的인 變化를 함으로써 ion transport 와 passive transport 의 두 site 에 걸쳐서 行動을 하는

Table 5. Loss of organic phosphate from gamma-irradiated yeast cell (μ .moles and μ .g./mg. of dried yeast in suspension of 1 ml)

Radiation dose	Starvation		Control (Un-starved)		Starvation	
	Conc.	μ .mole $\times 10^{-3}$	μ .g. $\times 10^{-2}$	μ .mole $\times 10^{-3}$	μ .g. $\times 10^{-2}$	μ .mole $\times 10^{-3}$
Irradiation control		3.71	1.1	0.52	1.6	
24(kr.)		3.71	1.1	0.71	2.2	
48		5.20	1.6	0.94	2.9	
72		5.89	1.8	1.19	3.7	
120		6.63	2.1	1.19	3.7	
240		10.32	3.2	1.48	4.6	
480		20.97	6.5	3.21	8.9	

Remark: The amount organic phosphate are expressed as phosphours.

것이 아닌가 生覺된다. 그 理由는 inorganic phosphate 의 流出傾向과는 顯著한 差異가 있기 때문이다.

放射線에 의한 膜透過性的 變化 機作이 passive transport 의 顯著한 障害에 있다고 보는 O'Brien,

Fig. 10. Dose-response curve for organic P. in supernatant of yeast suspension irradiated by gamma-ray.

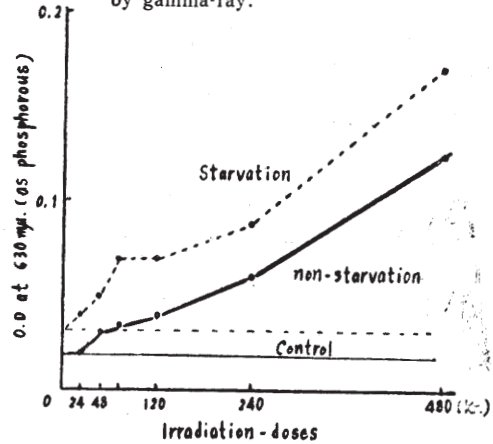
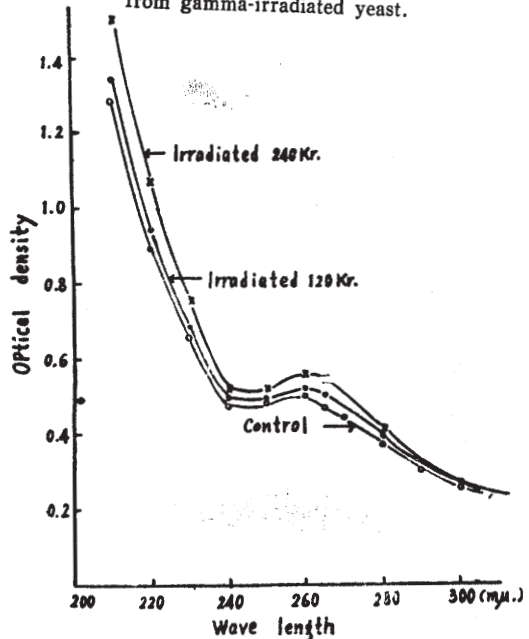


Fig. 11. Leakage of 260mμ. absorbing material from gamma-irradiated yeast.



1963. 의 解釋은 本 實驗結果와 一致한다.

Rothstein, 1959. 의 綜說에서도 論한 바 있는 phosphate buffer 의 放射線被曝 細胞에 對한 影響은 本 實驗에서의 phosphate 의 流出로 보아서 至大함을 알 수 있다.

Starvation 細胞의 透過性에 對한 X-ray의 影響은 Spoerl, 1954 이 指摘한 바와 같이 4,000r.의 X-ray 線量을 照射한 區에서 微量의 p^{32} 가 流出되었음은 本 實驗에서 얻어진 低線量區의 phosphate 流出結果와 一致한다.

低線量の 照射區(240kr. 以下)에서 이미 外呼吸이 低下하고 內呼吸이 增加하는(照射 直後)現象은 1967年, 1968年에 著者が 指摘한 바 있는데, 이 phosphate 및 炭水化物的의 流出狀況과 關聯性이 있는 것으로 生覺된다. 그 理由는 炭水化物的의 呼吸代謝는 酸化的 磷酸化를 介在시키는 過程이기 때문이다.

260m μ 吸收物質이 放射線照射로 말미암아 流出된다는 報告는 Rothstein, 1959.에 依하여 紹介된 바 있고 또 Caputo, 1960.의 癌細胞에 對한 X-ray 影響

研究, Spoerl, 1964.의 yeast 細胞에 對한 X-ray 照射後의 流出物 研究 등에서 이미 指摘된 바 있다. 本 實驗의 γ -ray 照射에 依해서도 이 物質의 流出을 觀察하였다. Fig. 11에서 보는 바와 같이 240kr.의 照射線量區에서 紫外線波長 200m μ .부터 300m μ .까지의 吸光度는 恒常 control 細胞보다 若干 컸다. 특히 260m μ . 波長部에서는 control 와 irradiation 區가 모두 鈍한 peak 를 보여주었다. 이것은 正常細胞에 있어서도 260m μ .의 波長吸收 物質이 透過되어 나옴을 意味하며 放射線照射에 依하여 若干 더 많이 流出된다는 것을 알았다. 이 流出量의 增加는 크지 않은 것으로 보아서, nucleic acid의 若干의 分解로 말미암아 purine 및 pyrimidine base의 物質들이 생긴 것이 아닌가 生覺된다.

摘 要

Saccharomyces cerevisiae (Baker's pressed yeast)의 洗滌된 菌細胞를 starvation 및 non-starvation의 區分으로 나누어서 Co-60으로부터 放出되는 γ -線을 24kr.으로부터 段階적으로 線量을 높이면서 480 kr.까지 照射하여 膜透過性의 變化에 따르는 carbohydrates, ribose fraction, amino acids, inorganic phosphates 및 organic phosphates의 流出狀況을 追究하였다.

260m μ 吸收物質에 對해서는 120kr. 및 240kr.의 兩線量區에 있어서의 流出狀況을 觀察하였다. 이와 같은 流出現象은 膜透性 및 膜構造의 變化部位를 로서 關聯지으면서 考察하였다. 研究結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 放射線被曝으로 因하여 酵母細胞의 炭水化物的의 流出은 照射線量에 比例하여 直線狀으로 增加하였다. starvation 區와 non-starvation 區의 增加直線은 平行을 이루고 있다.
2. Ribose의 流出狀況은 炭水化物的의 流出보다 甚大하지는 않으나 直線型으로 線量에 比例하여 增加하고 있다. 그 直線의 slope는 炭水化物的의 境遇보다는 낮다. 이것은 ribose가 nucleotide 또는 phosphate compound의 構成分子로서 存在하기 때문이다.
3. Amino 酸의 流出量은 線量增加에 따라 曲線型으로 比例 增加하고 있다. 低線量에 있어서는 流出量이 微少하였다.
4. Inorganic phosphate의 流出量은 線量增加에 따라 曲線型으로 比例增加한다. 低線量에 있어서는 流出量이 微少하였다.
5. Organic phosphate의 流出量은 線量增加에 따라 直線型으로 比例增加하고 있다. organic phosphate의 流出傾向은 炭水化物的의 것과 類似하게 甚한 流出을 나타내었다.
6. 炭水化物的의 流出量으로 보아 放射線의 膜構造에 對한 影響은 passive transport site에 있음을 確認하였다.
7. Inorganic phosphate와 amino acid는 그 流出狀況이 曲線임에 비추어, ion transport 部位에 對한 低線量の 放射線影響은 微弱하다.
8. 260m μ .吸收物質의 流出量은 放射線照射에 依하여 若干 增加하고 있다.

References

1. Ambe, K.S., and Tappel, L., 1961. Improved separation of amino acids with a new solvent system for two dimensional paper-chromatography. J. of Chromatography. 5:546-64. 6:548.
2. Bacchetti, S., 1965. Recovery from sublethal X-ray damage in surviving yeast cells. Radiation

- Res. 25;103.
3. Berenblum, I., and E. Chain. 1938. An improved method for the colorimetric determination of phosphate. *Biochem. J.* 32:295-298.
 4. Billen, D., et al., 1953. Postirradiation release of adenosine triphosphate from *E. coli* B/r., *Arch. Biochem. Biophys.* 43:1-10.
 5. Bair, W.J., 1954. The effects of X-radiation on the metabolism of Baker's yeast Univ. of Rochester, Report. U.R. 321-1-of-7.
 6. Billen, D., 1957. Modification of the release of cellular constituents by irradiated *E. coli*. *Arch. Biochem. Biophys.* 67:333-340.
 7. Billen, D., 1953. Postirradiation release of A.T.P. from *E. coli* B/r. *Arch. Biochem. Biophys.* 43:1.
 8. Caputo, A., and B. Giovannella., 1960. The action of ionizing radiations of the respiration, on the aerobic and anaerobic glycolysis of ehrlich mouse ascites cells. *Radiation Res.* 13:809-813.
 9. Carney, G.C., 1965. Swelling and shrinkage properties of house fly sarcosomes after in vivo exposure to X-rays. *Radiation Res.* 25:637-645.
 10. Conway, E.J., and Duggan, P.F., 1958. Use of K^{42} in the determination of the amount of K carrier in the yeast cell wall. *Peaceful uses of Atomic Energy.* vol. 25:52. I.A.E.A.
 11. Daniel, L.M., 1948. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagents. *Science.* 107; 254-255.
 12. Dexter. Rogers., 1964. Solubilization of protein accompanying loss of permeability of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 88:279-292.
 13. Dreywood, R., 1946. Quantitative test for carbohydrate material. *Ind. & Eng. Chem.* 18; 499.
 14. Dubois, M., et al. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28;350.
 15. Edward Spoerl., and Quiner. C.W., 1961. Glucose uptake and dissimilation by X-irradiated. Starved and division-inhibited yeast. *J. Bacteriol.* 82:764-9.
 16. Emily, J.B., Christian & S. Phyllis steamer., 1965. Gamma-ray-induced permeability changes in relation to early mortality in the chick. *Radiation. Res.* 25;146-157.
 17. Fiske, C.H., and Subbarow, Y., 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66:375.
 18. Fowden, L., 1951. The quantitative recovery and colorimetric estimation of amino acid by paper-chromatography. *Nature.* 195;846-847.
 19. Freeland, J.C., and Gale, E.F., 1947. The amino acid composition of certain bacteria and yeasts. *Biochem. J.* 41:1335.
 20. Gallsgher, et al., 1960. Effects of antihistamines on mitochondrial swelling and liver injury. *Nature* 185;390.
 21. Hatano, H., 1967. Radiation effects on amino acids, proteins and enzymes in various states. vol 2; No. 1 78-85. Food Irradiation Japan.
 22. Harold, F.M., 1962. Depletion and replenishment of the inorganic polyphosphate pool in *neurospora crassa*. *J. Bacteriol.* 83:1047-1057.
 23. Kaendl, K., 1966. International project on the irradiation of fruit and fruit juices. Food irradiation, proceedings of a symposium at karlsruhe, 6-10 June 1966. 701-729. I.A.E.A. Vienna.
 24. Kim, J.H., 1967. Studies on the cellular metabolism in microorganisms as influenced by gamma-irradiation, on the respiration rate and dehydrogenase activity in yeast cells. *Korean Journal of Microbiology*, vol. 5. No. 2 69-78.
 25. Kim, J.H., 1967. Studies on the changes of protein content and free amino acid pool in yeast cells irradiated by γ -ray. *Korean Journal Microbiol.* vol. 5. No. 2. 79.
 26. Kim, J.H. 1968. Studies on cellular metabolism in microorganism as influenced by gamma-irradiation (IV) *Kor. J. Microhiol.* 6. Vol. 2.
 27. Klein, H.P., 1967. Membranes of *saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 94:475-481.
 28. Maliovakil, O.V., Mityushova, N.M., 1967. Intensity of postradiational regeneration of yeast cell on various media in the period preceeding development of radiational damage to the multiplication process. *Nuclear. Science. Abstracts.* 21:26700.

29. Martin, J.B. and Doty, D.M., 1949. Determination of inorganic phosphate. Modification of isobutyl alcohol procedure. *Anal. Chem.* 21:965.
30. O'Brien, R.T., 1960. Radiation effects on membrane permeability in yeast. Hanford Biology Research Annual Report. 87p. HW-65000.
31. O'Brien, R.T., 1963. Effects of X-irradiation on the permeability of yeast. *Nuclear. Science Abstract* vol. 17. 21466.
32. Rothstein, A., et al., 1946. The relationship of potassium to carbohydrate metabolism in baker's yeast. *K. cell Comp. Phys.* 28:231-252.
33. Rothstein, A., 1959. Biochemical and physiological changes in irradiated yeast. Effects of radiation on specific cellular constituents. *Radiation Res.* suppl. 1:356-371.
34. Schonffeniels, E., 1966. A study of the effects of ionizing radiation and on their modification by chemical protectors on the permeability characteristics of living membranes. I.A.E.A. Research Contract Report. No 74:47.
35. Sheppare, C.W., 1951. New developments in potassium and cell physiology. *Science.* 114:85.
36. Spoerl, E. 1964. Permeability changes in yeast cells after X-irradiation and starvation, *Radiation Research*, 21, 86-90.
37. Trevelyan, W.E., and J.S. Harrison., 1952. Fractionations and microdetermination of cell carbohydrates *Biochem. J.* 50:298.
38. Trevelyan, W.E. and J.S. Harrison., 1956. Studies on yeast metabolism. Yeast carbohydrate fractions. Separation from nucleic acid analysis, and behaviour during anaerobic fermentation. *Biochemical. J.* 63; 23.
39. Wolstenholme, G.E.W., et al., 1956. Ionizing radiations and cell metabolism Ciba Foundation symposium. Brown and Co. Boston.
40. Yphantis, D.A., Dainko, J.L., and Shlenk, F., 1967. Effect of some proteins on the yeast cell membrane. *J. Bacteriol.* 94:1509.