

酵母細胞의 紫外線阻害效果에 對한 各種 波長 光線의 作用

李 敏 載 · 李 光 雄
(서울大學校 文理科大學 植物學科)

Action of various wavelengths of visible light on U.V.-radiation damage to yeast cells.

Lee, Min Jai, and Kwang-Woong Lee
(Dept. of Botany, Seoul National University)

ABSTRACT

Action of various wavelengths of visible light on ultraviolet-radiation damage to haploid yeast cells, *Saccharomyces cerevisiae* 23971, was studied. The results were obtained on the basis of the survival and respiration rates by pre- and post-illuminations of various wavelengths before and after U.V.-irradiations on the yeast cells. Among the wavelengths tested, 635 m μ , 429 m μ and white light which caused increase of respiration in pre-treatment alone, induced less resistance to the U. V.-damage than in the control, in both pre- and U.V.-treatment. On the contrary, such wavelengths as 574 m μ and 530 m μ , showing a weak effect on respiration in pre-treatment increased the susceptibility to U.V.-radiation. Photoinactivation was generally obtained by both pre- and post- illuminations along with U.V.-treatment. At 635 m μ the PI rate was the lowest and also a low PI rate was shown at 429 m μ . But 429 m μ , in the post-treatment of the yeast cells pre-treated by the white light and the darkness respectively, showed the highest PI rate.

In both pre- and post- treatment of 574, 530 and 473 m μ , the PI rates were high to the same degree. Post-treatments of the wavelengths on U.V.-treated yeasts incubated rather under the white light than the darkness induced lower PI rate. It is assumed that there are great differences in action even of the same wavelength, depending upon the various combination of pre- and post-treatments, and that, moreover, the action of various wavelengths of visible light on U.V.-damage on the cells are concerned with the doses and dose rates of U.V. and visible lights. These observations led to an interpretation that each wavelength of visible light might exert distinctively different effects on U. V.-damage, mainly causing the inhibition or stimulation of enzymes in the yeast cells.

緒 論

光線과 生物과의 關係에서 光線은 各種의 反應을 일으켜 주고 있는데 이들 作用은 光波長이 갖는 光化學的인 現象으로 因하여 主로 惹起되고 있다.

各種 波長의 放射線이 細胞의 活性에 미치는 影響을 研究함으로써 그 機作을 究明코자 한 試圖는 일찌기 1877 年에 Downes 와 Blunt 가 3,100 Å 以下

의 波長으로써 紫外線에 依한 bacteria 와 其他 microbes, protozoa, 海洋動物의 卵, algae 및 fungi 等, 各種 細胞에 미치는 致死效果를 觀察한 以後, 여러가지 波長과, 生長, 呼吸, 突然變異, 機能, 特別 合成過程等 諸 影響과의 相互關係는 여러 學者들 間에 꾸준히 進行되어 왔다.

더우기 自然狀態에서 太陽의 紫外線으로 傷害받 은 작은 生體 또는 細胞가 可視光線으로써 그 傷害

작용을 減少시킨다는 事實과 特別 最近의 宇宙生物學에 있어서 宇宙線에 依한 光適應(photoadaptation) 및 光再活性化(photoreactivation)의 意義가 至大하기에 紫外線단의 重複處理(Halldal, 1961) 및 紫外線과 可視光線과의 二重處理(Kelner, 1949)로써 紫外線前處理에 依하여 誘發된 阻害 效果를 紫外線 또는 可視光線으로의 後處理로써 回復시키는 光再活性化(PR)에 對한 研究는 더욱 活潑히 追求되고 있는 中이다.

그런데 Halldal(1961)에 依하면, Jagger(1958)의 PR의 定義("PR 이란, 生體機構(biological system)에 惹起된 傷害效果를, 그 惹起시킨 紫外線보다 더 긴 波長의 紫外線에 依해서 일어나는 傷害回復")를 修正하여, PR은 500~800 μ 에서도 일어날 수 있는 것이며, 阻害를 誘發한 放射線보다 더 짧은 波長으로써도 招來될 수 있다고 하였다(Halldal, 1961).

그러나 한편 Hirshfield, et al.(1953)이 *Pharisma undulans*에서, Smith(1954)는 *Tradescantia* 花粉에서, Brum, et al.(1954)이 바다성계에서 各各 PR을 觀察하지 못하였을 뿐 아니라, 紫外線處理後, 可視光線을 照射함으로써, 酵母細胞에서 PI (photoinactivation)를 보았던 實驗도 보고 되었다(Lee, et al., 1965).

이에 本 實驗에서는 紫外線照射를 中間處理로 하여 그 前後에 各種의 可視光線波長으로 前處理와 後處理를 하는 連續的 三重處理를 實施함으로써 紫外線阻害效果에 關聯된 이들 各 波長의 作用性的 差異를 多角的으로 究明코자 試圖하였다.

이 實驗을 도와 주신 여러분께 甚深한 謝意를 表한다.

材料 및 方法

實驗材料는 Lindegren Lab.에서 分讓받은 haploid 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 23971을 使用하였으며, 이의 培地는 Lindegren의 glucose nutrient broth와 同 agar medium을 採擇하였다.

前培養 14時間後 즉시 4°C에서 1,500 rpm으로 10分間 원심분리기로 集菌하고 M/15 인산완충액(pH 5.6)으로 2회 세척하였다. 총균수를 Spencer bright-line hemacytometer로써 산출한 후 전기 인산완충액에 희석하여 세포농도 1×10^7 cells/ml은 평판배지용으로 하고 1.5×10^8 cells/ml은 Warburg respirometer용 試料로 각각 사용하였다. 前照射와 後照射時의 光波長은 同一光源에 各種 filter를 써서 이를 處理하였는데, 그 處理는 前照射處理, 前

照射後 紫外線處理, 前照射 및 紫外線處理後 一定한 光波長의 處理, 綜合光線과 無光處理를 各各 前處理로 하고 紫外線處理 後에 다시 各種 波長照射, 그리고 전조사와 자외선으로 中間조사후 다시 各光波長을 同一試料에 各各 거듭 조사함으로써 多角的인 검토를 實施하였다.

前照射時는 FL 20 D 晝光色 螢光燈을 장치한 shaker에서 29~30°C를 유지하여 14시간 동안 진탕배양하였으며 光量은 2,000 lucies로 조정하였고 control은 black cover로 光線을 完全히 차단하였다.

紫外線處理는 15 w Toshiba germicidal lamp(2,537 Å, 95%)로써 점등후 10~30分 경과 이후부터의 자외선을 사용하였고 線源試料間의 距離는 42 cm였다. 조사구간은 1/2, 1, 2, 3, 4, 5分으로 하여 이를 자외선量으로 하였으며, 조사시 온도는 27°C~30°C로 유지하였다.

후조사처리는 incandescent lamp 500 w로써 27°C~30°C의 온도에서 60分間 계속 진탕해 주면서 실시하였는데 이때 光源과 試料間의 距離는 15~33 cm로 하여 파장에 따른 光量을 조절하였다.

위와 같이 하여 처리완료된 각각의 시료는 즉시 平板培地에 接種함으로써 그 生存率을 보았으며, 同時에 Warburg의 manometric method로써 呼吸率을 測定, 調査하였다. 이 때의 反應 chamber의 組成은, main chamber, 세포현탁액 1 ml과 인산 완충액 1.7 ml; center well, 15% KOH 0.2 ml; side arm, 2% glucose substrate 0.3 ml; gas, air였으며 Vf는 3.2였다. 측정은 반응온도 30°C에서 150分間 실시하였는데 30分 후에 substrate를 넣어 주었다.

結 果

上記의 材料와 方法으로써 可視光線 및 紫外線과 효모세포의 呼吸 및 生長關係에 關해서 얻은 결과는 다음과 같은데 이들 결과들은 control에 대한 백분율로 산정한 것이다.

實驗 A: 各種 波長 光線으로의 前處理만으로써 효모세포의 호흡에 미치는 영향은 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 635 μ 과 429 μ 로 처리된 것들의 호흡량이 가장 많아 control에 대하여 131%와 129%에 각각 해당하였고, 574 μ 으로 처리된 것은 77%에 해당하는 호흡율을 보여주고 있다. 종합光線인 白色光으로 처리했을 때 역시 120%의 호흡율을 나타냄으로써 암소(暗所)에서 배양된 세포들보다

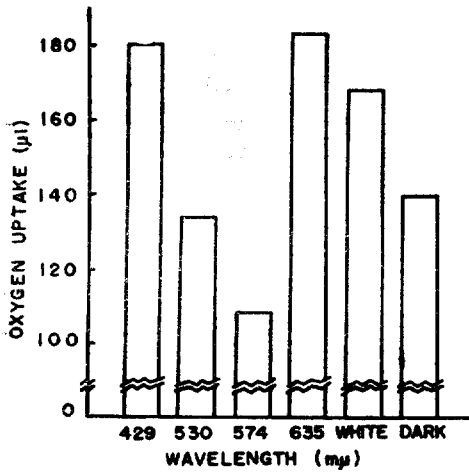


Fig. 1. Effects of visible lights on respiration of yeast cells. Glucose tipped in 30 minutes.

양성한 호흡 즉, 생존율이 컸음을 알 수 있다.

實驗 B: 諸 波長光線으로 前處理한 試料에 紫外線을 照射하여, 各各의 波長에 따른 生長 및 呼吸의 變化를 Fig. 2 및 3에서 볼 수 있다. Control에 비하여 역시 白色, 429 mμ, 635 mμ을 전차리로 받은 세포들은 자외선의 致死效果를 574 mμ, 530

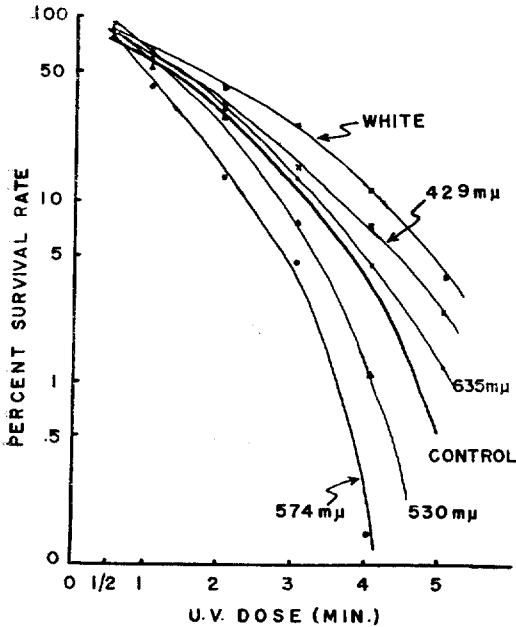


Fig. 2. Effects of U. V. on growth of yeast cells cultured under various wavelengths of visible light. Control curve was obtained by U.V.-treatment on yeasts grown without light.

mμ의 것보다 덜 받는데 이러한 결과는 생존과 호흡에서 일치함을 보여주고 있다.

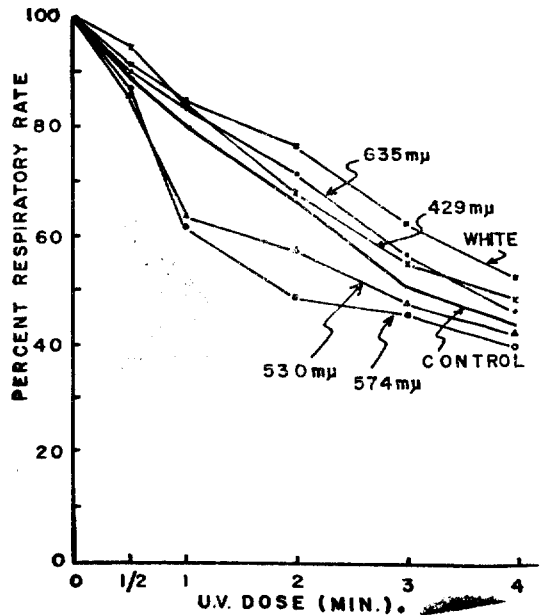


Fig. 3. Effects of U.V. on respiration of yeast cells grown under various wavelengths.

實驗 C: 前照射 및 紫外線處理를 실시한 후 다시 473 mμ 波長을 照射함으로써 前照射의 紫外線處理를 받은 細胞에 對하여 靑色波長이 주는 影響을

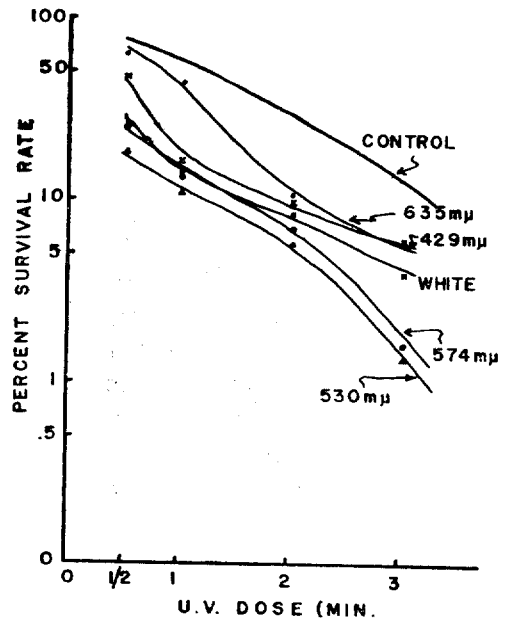


Fig. 4. Effects of a wavelength, 473 mμ, on growth of U.V.-treated yeast cells cultured under various wavelengths.

본 이 실험에서는 Fig. 4 및 5에서 보이는 바와 같이 全般的으로 PI를 나타내고 있는데, 그 程度에 있어서는 역시 635 m μ 이 가장 적은 PI를 일으켰고 530 m μ 에서 가장 큰 PI를 나타냄으로써 자외선에 의한 피해를 각각 加重시켰다. 429 m μ , white 574 m μ 順으로 PI의 정도가 많아짐은 前實驗區의 결과로 볼 때 유사한 결과라고 사료된다.

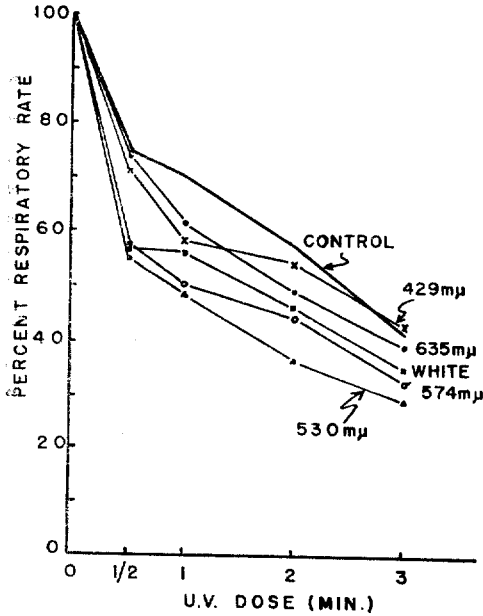


Fig. 5. Effects of 473 m μ -illumination on respiration of U.V.-treated yeast cells grown under various wavelengths.

實驗 D: Fig. 6 및 7은 白色光下에서의 前處理로 배양된 후 자외선을 받은 세포에 미치는 각종 파장광선의 영향을 역시 생존과 호흡으로 조사한 것이고, Fig. 8 및 9는 無光下에서 배양된 세포에 자외선처리를 행한 후 위와 같은 각종 파장의 광선으로 후처리하였을 때의 결과를 각각 표시하고 있다. 자외선으로의 中間처리까지는 control보다 더 많은 생존율을 보이던 세포도 후처리로 다시 광파장을 처리했을 때에는 일반적으로 PI를 나타내고 있으며 635 m μ 은 가장 적게 나타내고 있는데 반하여 특히 429 m μ 에서는 이러한 PI현상을 가장 현저하게 나타냈다. 또 전처리를 白色光線으로 실시했던 것은 無光으로 했던 것보다 더 높은 생존율 및 호흡율을 보여주고 있음을 알 수 있다. 이는 光을 遮斷한 상태에서 배양되었던 세포의 자외선 저항효과가 더 컸었던 실험 B의 결과와 一致되는 결과로 볼 수 있다.

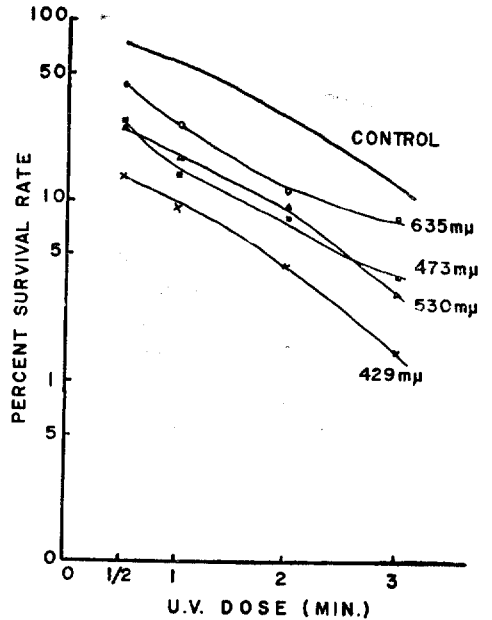


Fig. 6. Effects of several visible lights on growth of U.V.-treated yeast cells cultured under white light.

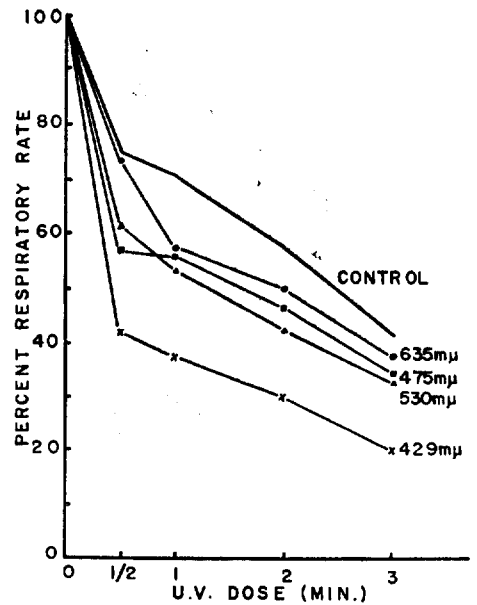


Fig. 7. Effects of several visible lights on respiration of U.V.-treated yeast cells grown under white condition.

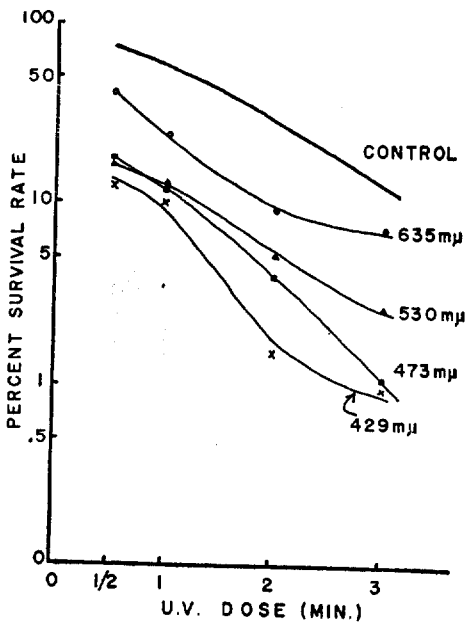


Fig. 8. Effects of various wavelengths on growth of U.V.-treated yeasts cultured under darkness.

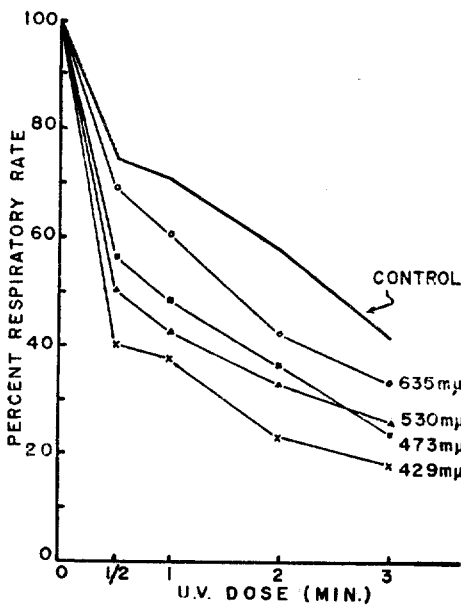


Fig. 9. Effects of several visible lights on respiration of U.V.-treated yeasts grown under dark condition.

實驗 E: 前照射와 中間處理인 紫外線處理를 實施하고 난 細胞에 前照射處理와 同一한 波長으로 各各 거듭하여 처리한 後處理를 실시해 준 이 실험에서는, 그 生存率과 호흡율에 있어서, 574 mμ으로 前後 처리된 세포가 가장 낮았고, 530 mμ 처리가 그 다음으로 그 率들이 낮아졌는데, 429 mμ을 전후 처리받은 세포에서는 다시 높아졌으며, 더우기 635 mμ을 前後 처리한 것에서는 가장 높아, control에 대하여 1/2分과 3分의 紫外線量에서 각각 보다 上昇함으로써 약간의 부분적인 PR을 나타내었다. 이들 결과는 Fig. 10 및 11에 표시되어 있는 바와 같다.

각 실험區의 호흡량에 있어서 紫外線量에 따른, control에 대한 처리 결과의 백분율을 나타낸 것은 Fig. 12, 13, 14 및 15와 같은데, 일반적으로 紫外線量 3分의 호흡량이 상승하고 있음을 표시하고 있다. 이러한 경향은 生存率에 있어서도 同一하였다.

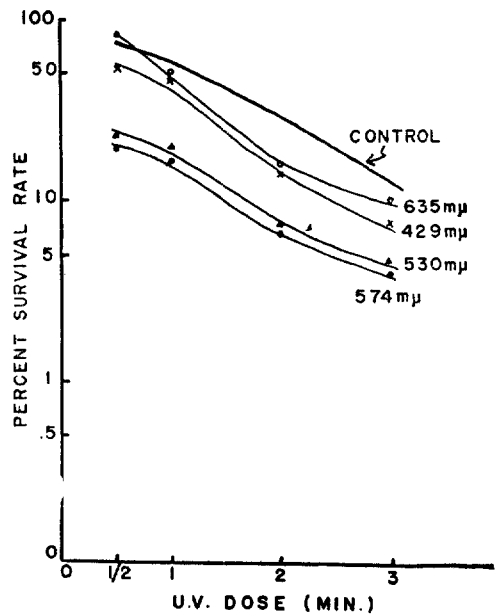


Fig. 10. Effects of visible lights on growth of U.V.-treated yeasts cultured under the same wavelengths as those of post-illumination treatment.

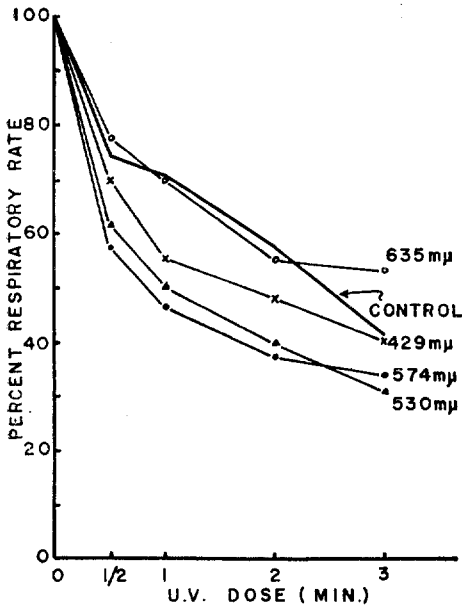


Fig. 11. Effects of various wavelengths on respiration of U.V.-treated yeast cells grown under the same wavelengths as those of post-illumination treatment.

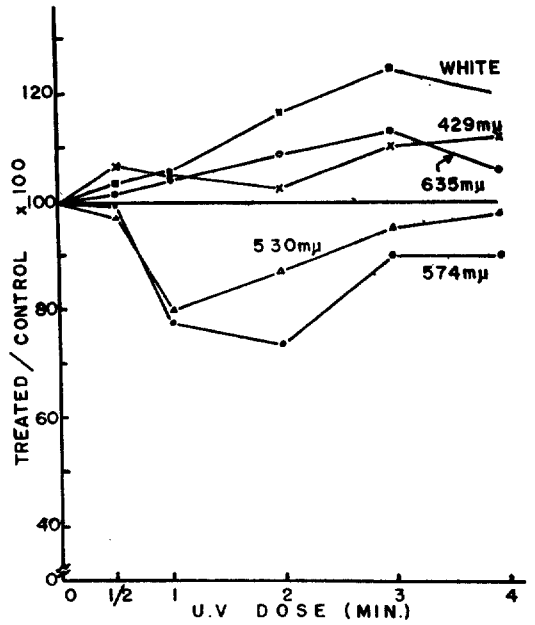


Fig. 12. Percent values of treatment to the control in Experiment B (Fig. 3).

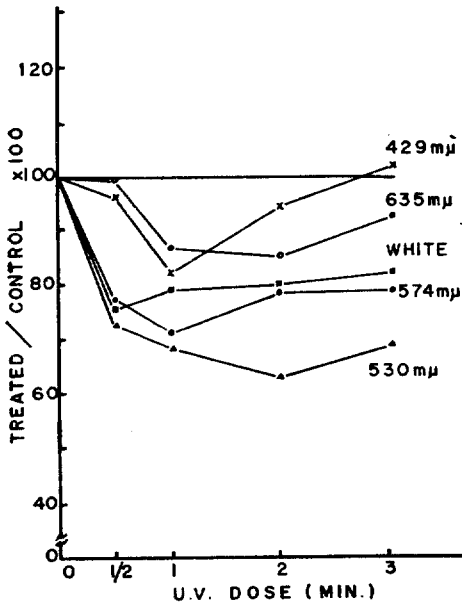


Fig. 13. Percent values of treatment to the control in Experiment C (Fig. 5).

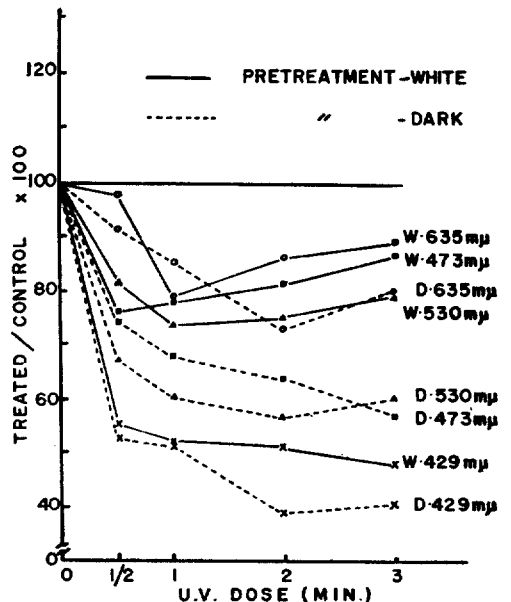


Fig. 14. Percent values of treatment to control in Experiment D (Fig. 7, 9).

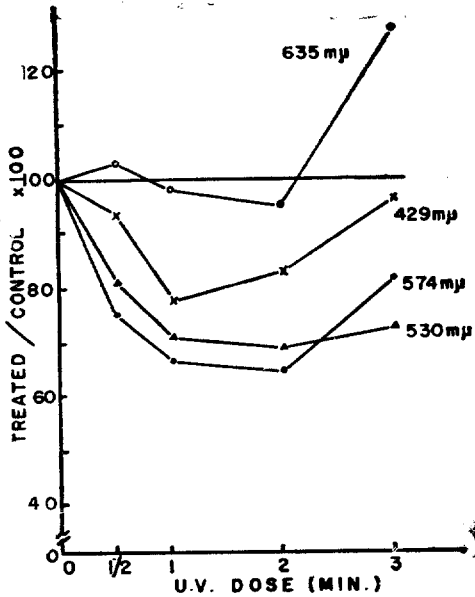


Fig. 15. Percent values of treatment to control in Experiment E(Fig. 11).

考 察

放射線을 生物體에 處理함으로써 惹起되는 各種의 生物學的 效果에 對하여 그 作用機構는 標的說(Target theory), 間接作用說, 遊離基說, 酸素效果說, 低溫度說等等, 이미 여러가지 說로서 報告된 바 있다. 細胞의 生命을 左右하는 多數의 酵素는 그 細胞內에서 일어나는 合成과 分解의 모든 生化學的 過程에 各々 特正하게 關係하고 있는데, 이들 효소가 방사선 的 作用으로 그 作用성이 變하거나, 不활性화하게 됨으로써 結果적으로 치사, 저해등이 나타나게 된다는 것이나, 기타 그 生物體內의 重要한 位置에 있는 구조나 구성성분이 變조되거나 不활性화 됨으로써 生物學的 저해효과를 일으키게 된다는 것이다. 生物體에 함유되어 있는 水分은 방사선으로 인하여 H·, OH·, HO₂·, H₂O₂를 生成시키며, 이들에 의한 化學作用으로, 감수성이 비교적 큰 phosphoglyceraldehyde dehydrogenase adenosine triphosphatase 등의 SH-group 효소를 비롯한 各種 효소의 不활性化, 세포막의 투과성을 높임으로써, 세포질내 물결의 이달, 단백질質을 coagulation 시킴으로써 세포내에서 물리, 화학적 變質의 變화를 초래하여, 그들의 粘性을 감소시키고, 따라서 sugar, ascorbic acid 등의 含量감소를 일으킨다든가, DNA

등 핵산에 作用하여 pyrimidine base의 dimerization의 원인이 되기도 하는등, 各種의 生物效果를 일으키고 있다(Ginoza, et al., 1965, Freifelder, 1965, Pittman, et al., 1960, and Setlow, et al., 1962).

위와 같은 諸 效果에 對한 回復 즉 光再活性化(photoreactivation, PR)에 關해서는 cytochrome 과 catalase의 세포내 含量과, flavoprotein의 光 energy 흡수, DNA의 光에 의한 enzyme의 회복, 즉 monomerization 등이 알려져 있다(Beaur, et al., 1954, Halldal, 1961, Jagger, et al., 1965, and Setlow, et al., 1966).

本 實驗의 結果는, 자외선을 처리한 후 靑色光 波長을 照射함으로써 photoinactivation을 관찰한 실험(Lee, et al., 1965)의 結果와 유사하게 일반적으로 諸 光波長에 依한 PI의 現象을 보았지만 本 實驗區를 通하여 各 波長別로 살펴보면 各 波長에 따른 자외선 害效과에 미치는 光波長의 영향력 에 차이 가 뚜렷하게 있음 을 알 수 있다. 전 처 리 와 中 間 처 리 인 자 외 선 처 리 까 지 만 실 시 한 실험 구 에 서 는 Fig. 1, 2 및 3 에 서 보 인 바 와 같 이 전 처 리 만 의 실험 에 서 control 보 다 호 흡 량 을 많 게 한 635 mμ, 429 mμ 및 白 色 光 은 실험 B 의 자 외 선 과 의 關 계 에 있 어 서 도, 574 mμ 및 530 mμ 과 는 달 리, 역 시 control 보 다 生 存 率 과 呼 吸 率 을 많 게 했 는 데, 이 는 635 mμ, 429 mμ 및 白 色 光 이 효 모 세 포 의 生 長 을 강 화 하 는, 즉 이 들 세 포 의 호 흡 과 生 長 에 關 계 되 는 효 소 계 를 자 극 하 여 증 으 으 써 방 사 선 에 대 한 저 항 성 을 높 여 준 것 으 로 보 인 다(O'Brien, 1961, and Setlow & Setlow, 1966).

실험 A 區에서 나타난 호 흡 량의 차이는 효 모 세 포 의 배 양 방 법 에 있 어 서 통 상 어 두 운 항 은 기 안 에 서 배 양 하 거 나, 보 통 의 실 내 에 서 배 양 하 는 것 보 다 는 붉 은 등 이 나, 白 光 下 에 서 기 르 는 것 이 더 효 과 적 임 을 말 해 준다. 外 國 에 서 는 밝 은 室 內 에 서 보 통 배 양 하 고 있 음 이 수 금 된 다.

574 mμ, 530 mμ 및 473 mμ 은 635 mμ, 429 mμ 및 白 色 光 에 比 해 서 보 다 많 은 PI 를 보 여 주 고 있 는 데 이 는 후 자 의 光 波 長 이 前 배 양 시 에 조 사 된 때 호 흡 및 기타 酵 素 類 에 자 극 을 주 었 던 것 으 로 생 각 된 다(Setlow, et al., 1965). 한편 429 mμ 波 長 은 이 를 전 처 리 했 을 때 와 전 후 처 리 를 하 였 을 때 에 는 535 mμ 과 거 의 비 수 한 경 도 의 적 은 PI 를 보 여 준 반 면 白 色 光 및 암 소 에 서 배 양 되 고 그 중 간 처 리 로 자 외 선 을 받 은 세 포 에 후 조 사 로 처 리 되 었 을 때 는 현 저 히 큰 PI 를 나 타 내 었 다 는 것 은 이 光 波 長 이 그 처

리방식 즉 전후처리에 있어서 그 작용성에 차이가 있어 자각 다른 부위에 작용하거나 백색광 또는 압소에서 자라면서 약화되었던 효소가 그 관계요소에 끼친 자외선의 상태를 강화하는데 작용하는 것으로 추측된다(Halldal, 1961, and Setlow, 1965).

실험 E의 결과와 백색광과 압소에서 자각 전 처리를 하고 후처리를 한 결과에서도 일치하는 경향을 볼 수 있는 바와 같이 위와 같은 제 광과장의 작용성의 차이가 존재함은 명백하며 이는 자 과장에 의한 몇몇 효소 및 아미노산에 있어서 흡광의 차이로

볼 수 있겠다(Kim, 1966).

한편 Fig. 12, 13, 14, 15에서 보이는 결과에 의하면 대체로 자외선 照射선량 1/2분보다 3분이 처리되 세포가 control에 비하여 PI가 적어지는 경향을 나타내고 있는데 이러한 사실에 대해서는 세포내 대사와 자외선처리량, 전후광처리에 의한 영향과의 사이에는 어떠한 관계가 있는 것으로 추측할 수 있다. 이러한 영향 依存性 관계뿐 아니라 자외선 dose와 dose rate, 그리고 온도등에의 의존성차이 관계는 앞으로 구명될 과제들이라고 본다.

摘 要

Saccharomyces cerevisiae 23971을 材料로 하고 그의 生存率과 呼吸率을 基礎로, 可視光線의 各種 波長을 紫外線處理 前後에 照射함으로써 紫外線阻害效果에 對한 各 波長의 作用性을 檢討하였다. 그 結果에 依하면, 前處理와 紫外線處理實驗에서는, 前處理만으로 呼吸이 보다 旺盛하게 했던 635 m μ , 429 m μ 및 白色光은, control보다 紫外線阻害에 對하여 약간의 저항성을 부여하나, 前處理에서 弱한 呼吸能을 보였던 574 m μ , 530 m μ 은 感受性을 上昇시켰다. 前照射와 紫外線 및 後處理로서는 一般의 所以 PI를 시키는 경향이나 635 m μ 에 依해서는 그 정도가 가장 낮았고, 429 m μ 도 적었다. 그러나 429 m μ 의 경우 白色光과 暗所에서 培養된 細胞에의 後處理에서는 가장 큰 PI를 보였다. 그리고 574 m μ , 530 m μ 및 473 m μ 에서는 PI 정도가 상호 類似하게 컸다. 한편 白色光에서 培養되고 紫外線處理를 받은 細胞의 後照射結果는 暗所의 것보다 PI를 적게 시켰다. 可視光線의 前後處理間에는 波長에 따라 그 作用性 범위가 다른 것으로 추측되며, 더우기 紫外線阻害效果에 對한 影響은 紫外線線량과 可視光線의 dose rate에 依存性이 있는 것으로 보인다.

上記의 諸 結果는 可視光線의 各 波長에 따라 紫外線 阻害效果에 明白한 差異를 나타낸 것이며 이는 主로 酵母細胞가 가지고 있는 諸 酵素의 波長에 依한 抑制 또는 촉진 現象과 관계있는 것으로 推論된다.

REFERENCES

1. Beur, C.A., R.K. Mortimer, R.G. Wolfe, and C.A. Tobias, 1954. The relation of radioresistance to budding in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Biochem. Biophysics*, **49**: 110-122.
2. Ginoza, et al., Setlow, et al., and Muhammed, 1965. *Biophysical Society Abstracts*, pp. 45, 111, 112,
3. Donnellan, J. E. Jr., and R.B. Setlow, 1965. Thymine photoproducts but not thymine dimers found in U.V.irradiated bacteria spores. *Science*, **149**: 308-310.
4. Freifelder, D., 1965. Mechanism of inactivation of Coliphage T 7 by X-rays. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **54**: 128-134.
5. Halldal, P., 1961. Photoreactivation at 223 m μ in *Platymonas*. *Physiol. Plant.*, **14**: 890-895.
6. Jagger, J., and R.S. Stafford, 1965. Evidence for two mechanisms of photoreactivation in *E. coli* B. *Biophys. J.*, **5**: 75-88.
7. Karabaev, E.M., 1962. Relationship of radiation injury of yeasts to their physiological condition. *Radiobiologiya*(trans.), **2**: 414-417.
8. Kelner, A., 1949. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **35**: 73.
9. Kim, S.S., 1966. Photoinactivation of Takamylase A. *J. Nat. Acad. Sci. ROK*, **6**: 9-36.
10. Lee, M.J., and Y.J. Lee, 1965. Effects of visible light, pH and sugar on U.V. sensitivity of yeast cells. (Unpublished).
11. Lieberman, E.M., and P.A. Swenson, 1963. U.V. radiation effects on low molecular weight inorganic phosphates of yeast. *Science*, **142**: 1315-1316.
12. Lindegren, C.C., 1946. The yeast cells, its:

- genetics and cytology. 1st ed. Educational Publishers, Inc., Saint Louis.
13. Lindenmayer, A., 1959. Oxidative metabolism and absorption spectra of anaerobically grown yeast. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **53** : 93-117.
 14. Loginova, L.G., and I.V. Marchenko, 1963. Catalase and peroxidase activity in thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae*. *Mikrobiologiya* (trans.), **32** : 416-418.
 15. O'Brien, R.T., 1961. Radiation sensitivity studies on related fermenting and respiring yeasts. *Radiation Botany*, **1** : 61-68.
 16. Pittman, D., J.M. Webb, A. Roshanmonesh, and L.E. Cocker, 1960. Evidence for the genetic control of photoreactivation. *Genetics*, **45** (8).
 17. Setlow, R.B., W.L. Carrier, and E.J. Bollum, 1965. Pyrimidine dimers in U.V.-irradiated poly dI: dC. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **53** : 1111-1117.
 18. Setlow, J.K., and R.B. Setlow, 1966. Reactivation of U.V.-inactivated transferring DNA by U.V.-irradiation in the presence of proflavin. *Biophysical Society Abstracts*, p. 72.
 19. Setlow, R.B., and J.K. Setlow, 1962. Evidence that U.V.-induced thymine dimers in DNA cause biological damage. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **48** : 1250-1259.
 20. Umbreit, W.W., R.H. Burris, and J.F. Stauffer, 1959. Manometric techniques. 2nd Prt., Burgess Publ. Co., Minne., Minn., pp. 1-93.