

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

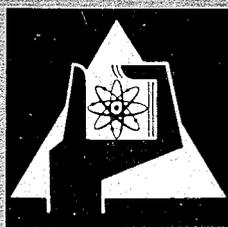
Januar 1968

KFK 711

Institut für Strahlenbiologie

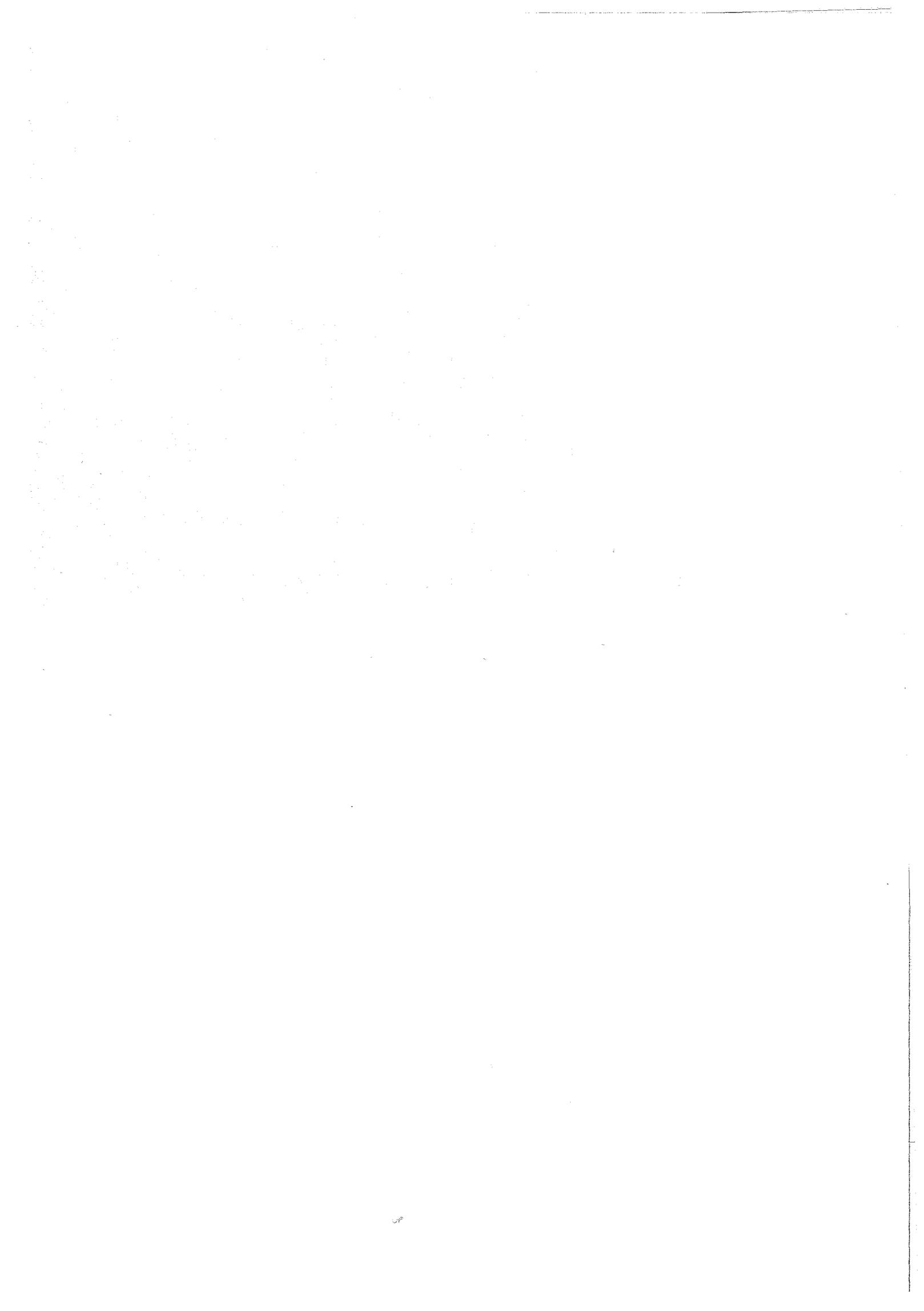
Der Einfluß physikalischer und chemischer Parameter
auf die Strahlenempfindlichkeit von T1-Phagen

J. Uenzelmann



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE



Kernforschungszentrum Karlsruhe

Januar 1968

KFK 711

Institut für Strahlenbiologie

Der Einfluss physikalischer und chemischer Parameter
auf die Strahlenempfindlichkeit von T1-Phagen

J. Uenzelmann

Gesellschaft für Kernforschung m.b.H., Karlsruhe

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Experimenteller Teil	8
1. Probenherstellung	8
2. Bestrahlungsanordnung	10
3. Dosimetrie	12
4. Temperatureinstellung und -messung	12
5. Titration der Phagen	13
6. Fehlerabschätzung	14
III. Versuchsauswertung und Ergebnisse	15
1. Einfluß der Temperatur	15
2. Einfluß von Cystamin und BUDR-Substitution	18
3. Strahlenempfindlichkeit bei An- und Abwesenheit von Wasser	20
4. Modifizierung der Strahlensensibilität durch Phagentiter und Methodik des Einfrierens	20
5. Einfluß von Vakuum und Dosisleistung	21
IV. Diskussion	22
1. Allgemeine Bemerkungen zur biologischen Strahlenschädigung	22
2. Der Einfluß des Wassers auf die gefundene Temperaturabhängigkeit	25
3. Interpretation der erhaltenen Temperatur- abhängigkeit	29
4. Temperatureinfluß auf Schutz- und Sensibilisierungsstoffe	41
V. Zusammenfassung	48
VI. Literaturverzeichnis	51
VII. Tabellen und Abbildungen	64

I. Einleitung

Die Wechselwirkung hochenergetischer Wellen- und Teilchenstrahlung mit Materie ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen mit dem Ziel, Einblick in die dabei ablaufenden Vorgänge zu gewinnen. Daß es sich bei der durch die Wechselwirkung bedingten Absorption dieser Strahlen um verschiedene Energieübertragungsprozesse handelt, ist bekannt. Für anorganische Materie sind die stattfindenden Elementarakte bei der Absorption sowie sich eventuell anschließende Folgereaktionen mit genügender Sicherheit aufgeklärt worden.

Anders verhält es sich mit der organischen Materie. Die bei Bestrahlung biologischer Objekte auftretenden Erscheinungen sind von außerordentlicher Vielfalt. Dies hat verschiedene Ursachen, denn sowohl die mit dem Lebensablauf verbundenen Zustandsänderungen als auch die Lebensäußerungen sind von großer Mannigfaltigkeit. Die Strahlenwirkung hängt ab von dem Zustand, in dem das Objekt bestrahlt wird, und kann sich in dessen Lebensäußerungen in verschiedenster Weise bemerkbar machen. Weiter variieren die Wirkungen mit den der Bestrahlung ausgesetzten Objekten. Wenn auch die primären Absorptionsvorgänge im wesentlichen in allen Objekten die gleichen sind und mit denen in anorganischer Materie wesensmäßig übereinstimmen, die Auswirkung des primären Schadens hängt doch ganz wesentlich von der individuellen Organisation des Objektes ab. So sind naturgemäß die Auswirkungsmöglichkeiten bei einem Einzeller oder bei Mikroorganismen wesentlich beschränkter als bei einem vielzelligen Lebewesen.

Unter den zahlreichen organischen Objekten, an denen der Einfluß energiereicher Strahlung untersucht wird, nehmen die Nucleinsäuren eine wichtige Stelle ein. Als Träger der genetischen Information können die durch Strahlenreaktionen induzierten Veränderungen in ihrem molekularen Aufbau zu entscheidenden Fehlern beim Ablesen des genetischen Code's führen.

Es ist inzwischen seit vielen Jahren bekannt, daß in der Desoxyribonucleinsäure (DNS) schwerwiegende Änderungen eintreten, sobald sie ionisierenden Strahlen ausgesetzt wird (W.R. Guild, 1963, R. Latarjet, B. Ekert and P. Demerseman, 1963, D. Freifelder, 1965). Aus diesem Grund sind bisher zahlreiche Versuche mit ionisierender Strahlung an dieser biologisch wichtigen Substanz angestellt worden, um Näheres über den oder die Prozesse zu erfahren, welche zu Änderungen am DNS-Molekül führen (Freifelder, 1966, Szybalski, 1966, Hotz und Müller, 1968).

Der zeitliche Ablauf der Strahlenschädigung stellt eine Aufeinanderfolge mehrerer Phasen mit jeweils charakteristischen Vorgängen dar (Platzman, 1958, 1962, Hart und Platzman, 1961):

1. Physikalische Phase ($\sim 10^{-13}$ sec)
2. Physiko-chemische Phase ($\sim 10^{-10}$ sec)
3. Chemische Phase ($\sim 10^{-6}$ sec)
4. Biologische Phase (bis zu mehreren Jahren)

Relativ genau ist man über die Vorgänge in der physikalischen Phase unterrichtet. Die Absorption der Strahlenergie erfolgt bei Partikelstrahlung im wesentlichen durch inelastische Zusammenstöße mit den Hüllenelektronen der bestrahlten Materie. Dies führt primär hauptsächlich zu Ionisationen und Anregungen (Lea, 1946), aber auch Auger-Effekt, elastische Kernstöße, simultane Mehrfachanregungen und -ionisationen sowie Ladungsaustausch sind an der primären Energieübertragung beteiligt. Bei energiereicher Wellenstrahlung werden zunächst durch Absorption der Quanten Elektronen freigesetzt (Photoeffekt, Compton-Prozeß, Paarerzeugung), die dann auf gleiche Weise wie bei der Partikelstrahlung ihre Energie in weitere Anregungen und Ionisationen etc. umsetzen.

Die nach der physikalischen Phase einsetzenden Reaktionen (Phase 2 bis 4) sind wegen ihrer Vielzahl und gegenseitigen Wechselwirkungen sehr schwer zu erfassen. Daher liegen

bisher auch nur wenig befriedigende Ergebnisse vor. Es erschien daher interessant, die Strahlenwirkung auf die Nucleinsäure an Bakteriophagen, die als einfachste biologische Elementareinheiten von allen Organismen den größten gewichtsmäßigen Anteil der DNS enthalten, zu untersuchen. Weitere Gründe, die Phagen als geeignetes Untersuchungsobjekt erscheinen zu lassen, sind

- a) Einfaches Arbeiten mit hohen Individuenzahlen und damit gute statistische Sicherung der Ergebnisse
- b) Kurze Generationszeit von etwa 20 min. (Weidel, 1964)
- c) Erhebliche Resistenz gegen Änderung der Umweltsbedingungen (z.B. tiefe Temperatur; Hochvakuum)

Für die hier aufgeführten Untersuchungen wurde der Phage T1 verwendet, der zu 45 % aus DNS besteht (Hotz, 1965). Diese DNS, die in Form eines sog. Doppelstranges vorliegt, wird von einer ca. 120 Å dicken Proteinhülle umgeben, die dem Phagen seine charakteristische Gestalt verleiht. Als Kriterium für die Strahlenempfindlichkeit des Phagen diene bei unseren Versuchen der Verlust der Vermehrungsfähigkeit in seinem Wirt, E.coli B. Man bezeichnet diesen Vorgang auch als Inaktivierung des Phagen. Sie wird mit großer Wahrscheinlichkeit auf einen Schaden an der DNS zurückgeführt (Hotz und Zimmer, 1963). Die Inaktivierung ist eine der strahlenempfindlichsten Reaktionen, die sich überdies noch mit relativ einfachen Mitteln nachweisen läßt.

Trägt man nun den Prozentsatz der Überlebenden nach Bestrahlung mit ionisierenden Strahlen der Dosis D im halb-logarithmischen Raster auf, so ergibt sich bis auf wenige hier nicht berücksichtigte Ausnahmen, eine Gerade. Dieser Befund kann mit der Treffertheorie (Zimmer, 1960) ausgewertet werden. Diese geht davon aus, daß die Absorption der Strahlung ein gequantelter Prozeß ist, dessen mathematische Beschreibung der Poissonstatistik genügt. Die nach Bestrahlung des T1-Phagen erhaltene Gerade wird nach

dieser Theorie als Ein-Treffer-Vorgang gedeutet. Als Treffer wird dabei die Absorption von Strahlenenergie bezeichnet, die z.B. zu angeregten oder ionisierten Zuständen im Untersuchungsobjekt führt. Im speziellen Fall des T1-Phagen genügt ein Treffer, um ihn zu inaktivieren. Man kann daher schreiben:

$$N/N_0 = \exp (- SD) \quad (1)$$

N_0 = Zahl der Phagen vor Bestrahlung (Titer)

N = " " " nach "

D = Dosis

S = $1/D_{37}$ Maß für die Strahlenempfindlichkeit

Diese Abhängigkeit ist von vielen Forschern (Watson, 1950, 1952, Adams und Pollard, 1951, Hermann, 1966, Bachofer, Ehret, Mayer und Powers, 1953) bei Verwendung unterschiedlichster Strahlungen (X, γ , e^- , pos. Ionen) bestätigt worden.

Die Größe S ist keine für den Phagen charakteristische Konstante, sondern hängt in ziemlich großem Umfang von vielen Faktoren ab. In unterschiedlichem Maße geht dabei ein, ob der Phage in Suspension oder im Trockenen bestrahlt wird, die An- oder Abwesenheit strahlensensibilisierender Stoffe, die Bestrahlungstemperatur, die Art der Strahlung, um nur einige zu nennen. Die Stärke des Einflusses dieser Parameter auf die Strahlenempfindlichkeit kommt in der oben erwähnten Darstellung in der unterschiedlichen Steigung der erhaltenen Geraden zum Ausdruck (Abb. 2 - 14).

Trotz der vielen strahlenbiologischen Untersuchungen an Phagen und anderen biologischen Elementareinheiten ist es bisher noch nicht gelungen, die Kette vom physikalischen Absorptionsereignis zum biologisch manifesten Schaden in einem einzigen Fall wirklich vollständig aufzuklären. Eine der Hauptursachen dürfte darin zu suchen sein, daß ein großer Teil der bisherigen Experimente bei zu sehr voneinander abweichenden Versuchsbedingungen durchgeführt

wurde, wodurch sich die gewonnenen Ergebnisse nur mit Vorsicht vergleichen und zu einem Ganzen zusammenfügen lassen. Aber auch experimentelle Gründe tragen dazu bei, daß über die physiko-chemischen und chemischen Vorgänge während der Bestrahlung wenig Informationen vorliegen. Die Schwierigkeit liegt darin, daß strahlenchemische Untersuchungen an Mikroorganismen nur in sehr beschränktem Rahmen ausgeführt werden können, ohne möglicherweise zusätzliche Veränderungen an den durch den Lebenslauf bedingten sowie durch Bestrahlung zusätzlich induzierten Reaktionen zu verursachen.

Daher gewinnen für das Studium dieser Vorgänge solche Untersuchungsmethoden an Interesse, die nicht unmittelbar in ihren Verlauf eingreifen können. Eine dieser Methoden stellt z.B. die ESR dar, die es gestattet, durch Bestrahlung entstandene freie Radikale auf Grund ihrer paramagnetischen Eigenschaften zu identifizieren. Allerdings ist es in den meisten Fällen nicht möglich, Angaben über die Natur der primär entstandenen Radikale zu machen, da sie einmal auf Grund ihrer Reaktionsfähigkeit sehr schnell verschwinden (z.B. H-Radikale) - sich damit der Beobachtung mittels ESR entziehen - und zum anderen bei tiefen Temperaturen, bei denen sie zwar in Traps festgehalten, aber auf Grund ihrer Vielgestaltigkeit häufig nicht aus den dadurch kompliziert zusammengesetzten ESR-Spektren identifiziert werden können (Patten & Gordy, 1961b). Um nun der Gefahr zu begegnen, daß Hypothesen über die nach Absorption der Strahlenenergie ablaufenden Reaktionen mit nur einer oder wenigen Methoden gebildet werden, ist es wünschenswert, quantitative strahlenbiologische Ergebnisse auf der Basis einer großen Zahl verschiedener Untersuchungsmethoden zu gewinnen.

Eine bisher wenig beachtete Möglichkeit, Informationen über diese Reaktionen (in vivo) zu gewinnen, ohne dabei die Reaktionspartner direkt durch chemische oder physiko-chemische Untersuchungen bestimmen zu müssen, besteht

darin, den Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit näher zu studieren. Die Wichtigkeit einer solchen Untersuchung findet im wesentlichen ihre Begründung in der Feststellung, daß die Wirkung ionisierender Strahlen auf verschiedene biologische Objekte (z.B. Enzyme, DNS, Phagen, Sporen) in mehr oder minder großem Umfang von der Bestrahlungstemperatur beeinflußt werden kann (Bachofer, Ehret, Mayer and Powers, 1953, Adams and Pollard, 1951, Houtermans, 1956, Webb, Ehret, Powers, 1958, Fluke, 1966, Hotz und Müller, 1968).

Obwohl eine große Anzahl von möglicherweise an der Strahlenschädigung beteiligten temperaturabhängigen Vorgängen sowohl physikalischer als auch chemischer Natur bekannt ist (chemische Reaktionen, Radikalreaktionen, Diffusion, Energieübertragung u.a.), sind bisher wenige Experimente dahingehend ausgeführt worden, durch Analyse der Temperaturabhängigkeit die Teilnahme dieser Vorgänge zu diskutieren. Umfangreichere Messungen über einen größeren Temperaturbereich ($10^{\circ}\text{K} - 350^{\circ}\text{K}$) liegen bisher an Enzymen (Brustad, 1964, Fluke, 1966, Günther und Jung, 1967) und in einem Fall an Sporen (Webb, Ehret and Powers, 1958) vor. Die Autoren finden übereinstimmend, daß bei Temperaturen oberhalb von 100°K die Strahlenempfindlichkeit mit steigender Temperatur zunimmt, während sie unter etwa 100°K einen konstanten und damit temperaturunabhängigen Wert besitzt. An Bakteriophagen liegen bisher ausführlichere Messungen nur im Temperaturintervall von $120^{\circ}\text{K} - 290^{\circ}\text{K}$ vor (Hermann, 1966, Günther und Hermann, 1967). Eine Auskunft darüber, ob auch an Phagen das gleiche Verhalten bei tiefen Temperaturen wie an Enzymen und Sporen beobachtet werden kann, konnte von diesen Autoren auf experimentellem Wege nicht gegeben werden. Auf Grund einer Extrapolation ihrer Meßdaten postulierten sie die Existenz dieses temperaturunabhängigen Anteils auch für T1- und ØX 174-Phagen.

Die experimentelle Erfassung des Tiefsttemperaturbereiches ist daher von großer theoretischer Bedeutung für die Auswertung der Meßergebnisse. Zunächst kann damit geprüft werden, ob an Phagen ein ähnliches Verhalten bei tiefen Temperaturen wie an anderen biologischen Elementareinheiten auftritt, wobei im Falle der Bestätigung damit die Möglichkeit diskutiert werden kann, die Temperaturunabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit in dem Bereich unter etwa $100\text{ }^{\circ}\text{K}$ als ein Charakteristikum für biologische Substanzen aufzufassen. Weiterhin konnten Hermann (1966) und Günther und Hermann (1967) zeigen, daß die Strahlenempfindlichkeit als Funktion der Temperatur durch Überlagerung eines temperaturunabhängigen Anteils beschrieben werden kann. Die Genauigkeit, mit der nach Separierung dieser Komponenten der temperaturabhängige Anteil bestimmt werden kann, hängt davon ab, innerhalb welcher (möglichst geringen) Fehlergrenzen der sich überlagernde Anteil bei tiefen Temperaturen definiert ist.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde daher das Temperaturintervall bis zur Temperatur des siedenden Heliums ($4,2\text{ }^{\circ}\text{K}$) ausgedehnt. Um eine möglichst quantitative Beschreibung der Temperaturabhängigkeit zu ermöglichen, wurde die höchste Bestrahlungstemperatur für Phagen so hoch gewählt, daß der durch rein thermische Inaktivierung bedingte Fehler noch nicht ins Gewicht fällt.

Die ausführlicheren an biologischen Elementareinheiten durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit wurden in allen Fällen bei Abwesenheit von Wasser vorgenommen. Lediglich bei T1-Phagen liegen einige Meßpunkte von Adams und Pollard (1951) bei etwa $300\text{ }^{\circ}\text{K}$ und von Hotz (1965) bei $300\text{ }^{\circ}\text{K}$ und $77\text{ }^{\circ}\text{K}$ vor. Da biologische Substanzen zu einem hohen Prozentsatz aus Wasser bestehen, die bisherigen Untersuchungen über den Temperatureinfluß auf die Strahlenempfindlichkeit jedoch diese Tatsache wenig beachten, soll diese Lücke durch eine Serie von Messungen unter Anwesenheit von Wasser wäh-

rend der Bestrahlung geschlossen werden. Derartige Experimente erfordern allerdings eine Strahlung mit ausreichender Durchdringungsfähigkeit, so daß in unserem Fall mit Co^{60} - γ -Strahlen sowie schnellen Elektronen gearbeitet wurde.

Um den Aussagewert der erhaltenen Informationen weiter zu steigern, sollen neben der Temperatur und dem Wassergehalt weitere Parameter - in unserem Fall Sensibilisierung durch Bromuracileinbau anstelle von Thymin in die DNS und/oder Desensibilisierung durch Zufügen des Schutzstoffes Cystamin- untersucht werden. Es wird erhofft, dadurch die Zahl der möglichen Modelle, die zur Klärung des Mechanismus der Strahlenschädigung herangezogen werden können, auf ein Mindestmaß zu reduzieren. Besonders Interesse erhalten auch Untersuchungen im Tiefsttemperaturbereich an BU-substituierten Phagen bei Anwesenheit des Schutzstoffes Cystamin. Aus der Arbeit von Hermann, 1966, kann geschlossen werden, daß bei Anwesenheit von Cystamin mit abnehmender Temperatur die allgemein nach BU-Einbau resultierende Empfindlichkeitssteigerung (Stahl et al., 1961) fast vollständig aufgehoben werden müßte. Durch die Untersuchung dieses Effektes können wir uns wertvolle Hinweise über die primären Reaktionen nach der Strahlenabsorption erhoffen. Durch zusätzliche Anwesenheit von Wasser in diesen Systemen kann dann das wichtige Problem untersucht werden, in welcher Weise und in welchem Ausmaß das Wasser bei Bestrahlung biologischer Objekte an der Schädigung der Substanzen beteiligt ist.

II. Experimenteller Teil

1. Probenherstellung

Der für die Untersuchungen benutzte Coliphage T1 und sein Wirt E.coli B wurden uns 1958 vom Institut für Genetik der Universität Köln zur Verfügung gestellt. Nach einer von Adams (1950) angegebenen Methode wurden daraus die Stammsuspensionen hergestellt, die, konserviert durch einige

Tropfen Chloroform, bei einigen Graden über dem Gefrierpunkt aufbewahrt wurden. Der Titer dieser Suspensionen betrug ca. 10^8 Phagen/ml.

Zur Steigerung der Empfindlichkeit war bei einem Teil der Phagensuspensionen 5-Bromdesoxyuridin anstelle des normalerweise enthaltenen Thymin in die Phagen-DNS eingebaut worden (nach Stahl et al., 1961). Aus Dichteuntersuchungen entnimmt man, daß bei den BUDR-Phagen bis zu 65 % Thymin durch Bromdesoxyuridin ersetzt sind.

Um an schon vorliegende Messungen (Hotz, 1965, Hermann, 1966) anzuschließen, wurden zur Bestrahlung jeweils 0,2 ml der jeweiligen Suspension 1:10 in 4 %iger Difco-NB verdünnt. Bei Versuchen mit dem Schutzstoff Cystamin (Hersteller: Calbiochem, Los Angeles) wurde die benötigte Menge in der 4 %igen Nährbouillon gelöst, bevor die Phagen hinzugegeben wurden. Als Cystaminkonzentration wurde 0,1 Mol/l gewählt, da bei dieser Konzentration von Hotz (1965) maximaler Schutzeffekt bei T1-Phagen beobachtet wurde. Alle Suspensionen wurden mit n-NaOH auf pH 7,0 eingestellt. Als Bestrahlungsgefäße dienten Glasampullen, in die 0,2 ml der zu bestrahlenden Phagensuspension pipettiert wurden. Da im suspendierten Zustand das Durchleiten von Luft und Sauerstoff in offenen Ampullen, sowie Anwesenheit dieser Gase in abgeschmolzenen Ampullen keinen Einfluß auf das Ergebnis hatte, wurden alle Bestrahlungen in offenen Ampullen unter Luftatmosphäre ausgeführt. Bei den Bestrahlungen im Trockenen wurden die Suspensionen eingefroren und anschließend aus der festen Phase bei 10^{-2} Torr ca. 30^h lang getrocknet (Gefriertrocknung). Ein Aktivitätsverlust durch das Trocknen und die anschließende Resuspension konnte in keinem Fall beobachtet werden. Die so hergestellten Proben wurden auf die gewünschte Bestrahlungstemperatur gebracht und bestrahlt. Dabei wurden die trockenen Proben ca. 120 min. vor der Bestrahlung bei der entsprechenden Temperatur aufbewahrt.

2. Bestrahlungsanordnung

Bei allen Temperaturen mit Ausnahme von $4,2\text{ }^{\circ}\text{K}$ wurden die Bestrahlungen an einer ^{60}Co -Gamma-Quelle (Gammacell 220; Atomic Energy of Canada Ltd.) ausgeführt. In dem zylindrischen Bestrahlungsraum der Quelle besteht eine nahezu homogene Dosisleistungsverteilung von etwa $1,8\text{ Mrad/h}$. Durch verschiedene Temperaturbäder konnten die Proben bei jeweils konstanter Temperatur bestrahlt werden. Die Bestrahlungen bei der tiefsten Temperatur ($4,2\text{ }^{\circ}\text{K}$) konnten an der Gammaquelle infolge technischer Schwierigkeiten nicht vorgenommen werden. Für diesen Zweck wurde eine Anordnung aufgebaut, die in Abb. 1 schematisch dargestellt ist. Als Strahlungsquelle diente ein 12 MeV -Linearbeschleuniger für Elektronen, der im Impulsbetrieb arbeitete. In etwa 1 m Abstand befand sich gegenüber dem Austrittsfenster der schnellen Elektronen aus dem Beschleuniger eine 5 mm starke, ölgekühlte Wolframplatte, die als Antikatode die Erzeugung hochenergetischer Röntgenstrahlen gestattete. Der Abstand von 1 m war notwendig, da der Elektronenstrahl am Austrittsfenster nur einen Querschnitt von wenigen Millimetern besitzt, für die Bestrahlung der Proben jedoch ein Strahlquerschnitt von ca. 20 cm^2 gefordert werden mußte. Durch Streuung der Elektronen an der Luftsäule von 1 m konnte diese Auffächerung des Strahles erreicht werden.

Die Umsetzung der Elektronenstrahlenergie in Röntgenstrahlenenergie erfolgt bei hochenergetischen Elektronen mit einem wesentlich höheren Wirkungsgrad als bei den konventionellen Röntgenanlagen mit einer Spannung von etwa 200 kV . Der Wirkungsgrad läßt sich nach Kohlrausch (1955) durch die Formel

$$\eta = \eta_0 \cdot Z \cdot V$$

bestimmen. Mit $\eta_0 = 10^{-9}\text{ V}^{-1}$; $Z_{\text{Wolfram}} = 74$ und $V = 12\text{ MeV}$ ergibt sich für $\eta = 9\%$. Auf Grund der hohen Elektronenenergien fällt das Maximum der erzeugten Röntgenstrahlen

in die Ausbreitungsrichtung der Elektronen (relativistische Voreilung).

Der LET-Wert der Röntgenstrahlung weicht in diesem Energiebereich maximal um 20 % von dem der ^{60}Co -Gamma-Strahlung ab. Da für Phagen in diesem LET-Bereich ($\sim 0,2 \text{ keV}/\mu$) keine LET-Abhängigkeit bei der Inaktivierungsrate beobachtet wurde (Brustad, 1961, Schambra u. Hutchinson, 1964), ist dieser geringfügige Unterschied belanglos.

Die zu bestrahlenden Proben befinden sich konzentrisch angeordnet am Boden eines mit flüssigem Helium gefüllten Dewargefäßes, welches von einem weiteren Dewargefäß, in dem sich flüssiger Stickstoff als Wärmeschutzmantel befindet, umgeben ist. Der innere Dewar mit den Proben wurde von dem Überhebern des Heliums auf 77°K vorgekühlt und evakuiert. Am oberen Ende des Heliumdewars konnte ein Blindflansch angesetzt werden, an dem sich ein Überdruckventil befand, welches das Einkondensieren von Luft in den Heliumraum verhinderte und das Entweichen des verdampften Heliums ermöglichte. Die als O-Ring-Dichtungen konstruierten Durchführungen für den Heliumheber und die Leitungen zum Widerstandsthermometer waren ebenfalls an diesem Flansch angebracht.

Die Außenwände der Dewargefäße wurden graphitisiert und leitend mit der Versilberung der Innenflächen auf Massepotential verbunden, um die sonst beobachteten statischen Aufladungen zu vermeiden, die gelegentlich zur Zerstörung der Dewargefäße führten (Funkendurchschläge).

Am Ort der Proben konnte mit dieser Anordnung eine homogene Dosisleistung von 6 Mrad/h erreicht werden. Der Linearbeschleuniger lieferte dabei einen Elektronenstrahl von $5 \mu\text{s}$ Impulsdauer, 100 Hz Folgefrequenz und einer mittleren Stromstärke von 100 mA während der Impulsdauer.

3. Dosimetrie

Die Dosisleistung der ^{60}Co -Gamma-Quelle wurde mit dem Fricke-Aktinometer ($\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{Fe}^{+++}$) und durch Messung der Änderung der optischen Dichte an geeichten Plexiglasproben (Perspex HX von Dr. Berry; Radiobiology Laboratory, Churchill Hospital, Oxford) bestimmt. Die Ergebnisse stimmten untereinander überein.

Plexiglas- und biologische Dosimetrie waren die Grundlage für die Dosisbestimmung der mit dem Linearbeschleuniger erzeugten Röntgenstrahlen. Für die biologische Dosimetrie dienten Dosiseffektcurven an T1-Phagen bei 273°K und 77°K , die statistisch recht gut gesichert sind, als Basis. Mit der so bestimmten Dosisleistung wurden einige an der Gamma-Quelle gefundene Dosis-Effekt-Beziehungen an T1-Phagen am Linearbeschleuniger wiederholt. Es ergab sich eine nahezu vollständige Übereinstimmung. Weiterhin stimmten auch Messungen mit einer Ionisationskammer an beiden Strahlungsquellen im Rahmen der Fehlergrenzen überein.

4. Temperatureinstellung und -messung

Um die Abhängigkeit der Inaktivierungsrate von der Temperatur zu bestimmen, mußte für jede Bestrahlung ein möglichst konstantes Temperaturbad zur Verfügung stehen. Im einzelnen dienten dazu:

Temperatur	Material
293-330 $^\circ\text{K}$	Wasser (+ Heizung)
273 $^\circ\text{K}$	Eis/Wasser (Tripelpunkt)
253 $^\circ\text{K}$	NaCl/Wasser (geeignete Konzentration)
233 $^\circ\text{K}$ 213 $^\circ\text{K}$)	KCl/Wasser (geeignete Konzentration)
195 $^\circ\text{K}$	Trockeneis/Aceton
143 $^\circ\text{K}$	Isopentan (mit flüssigem N_2 gekühlt)
113 $^\circ\text{K}$	Isopentan (Tripelpunkt)
77 $^\circ\text{K}$	flüssiger Stickstoff (Siedepunkt)
20 $^\circ\text{K}$	Kühlung mit flüssigem Helium
4,2 $^\circ\text{K}$	flüssiges Helium (Siedepunkt)

Im Bereich 77°K - 330°K erfolgte die Temperaturmessung mit einem Nickel-Chrom/Konstantan-Thermoelement, das bei verschiedenen Fixpunkten geeicht war.

Die beiden tiefsten Temperaturen $4,2^{\circ}\text{K}$ und 20°K wurden mit einem Allen & Bradley-Thermoresistor und einer Widerstandsbrücke kontrolliert. Die Eichung dieser Thermoresistoren erfolgte im 1. Physikalischen Institut der Universität Karlsruhe mittels eines Helium- und eines Wasserstoffdampfdruck-Thermometers.

Schwankungen der Temperatur wurden im wesentlichen durch Instabilitäten der Temperaturbäder verursacht. Der daraus resultierende Fehler liegt bei $\pm 2 - 5^{\circ}\text{C}$. In diesem Fehler ist der durch die Absorption der Strahlenenergie bedingte Temperaturanstieg von etwa $2,5^{\circ}\text{C/Mrad}$ (bei Zimmertemperatur) enthalten. Auch im Trockenen, wo ein großer Teil des Wärmeaustauschers durch Strahlung erfolgt, sollte die durch Absorption von Strahlenenergie bedingte Temperaturerhöhung zu keinem größeren Fehler führen. Abkühlung trockener Proben auf 77°K während 30 min. bzw. 48 Stunden ergab jeweils die gleiche D_{37} nach Bestrahlung, d.h. die Proben sind spätestens nach 30 min. um 200°C abgekühlt. Ein Temperaturanstieg durch absorbierte Strahlung, selbst wenn er auf Grund der mit abnehmender Temperatur sinkenden spezifischen Wärme größer als $2,5^{\circ}\text{C/Mrad}$ ist, wird also bei einer Dosisleistung von $1,8 \text{ Mrad/h}$ nicht ins Gewicht fallen. Außerdem müßte sich mit steigender Dosis wegen der damit verbundenen Temperaturerhöhung die Neigung der Dosis-Effekt-Kurven ändern, was in keinem Fall beobachtet wurde.

5. Titration der Phagen

Um die Zahl der die Bestrahlung überlebenden Phagen zu bestimmen, muß eine sog. Titration ausgeführt werden. Dazu werden die Phagen in 1 %iger Trypton-Nährbouillon bis auf eine Konzentration (Titer) von etwa $5 \cdot 10^3$ aktiven Phagen/ml verdünnt (Adams, 1959). 0,1 ml dieser verdünnten Phagensuspension werden zusammen mit der gleichen Menge Wirts-

bakterien (E.coli B) auf einem Indikatornährboden (Bresch, 1952) plattiert. Die Bakterien bilden auf dem Nährboden einen Rasen, in dem nach ca. 8-stündiger Bebrütung bei 37 °C überall dort plaques (Löcher) entstehen, wo ein nicht inaktivierter Phage ein Bakterium zur Lyse gebracht hat. Wie Ellis und Delbrück (1939) gezeigt haben, ist die Zahl dieser plaques dem Titer an aktiven Phagen proportional. Durch Bestimmung des Titers von unbestrahlten und bestrahlten Phagen kann auf diese Weise der Prozentsatz der durch die Bestrahlung nicht inaktivierten Phagen bestimmt werden. Um statistisch gesicherte Ergebnisse zu erhalten, wurde jede Probe zweimal plattiert. Auf diese Weise standen pro Dosiseffektkurve jeweils 16 Platten (Nährböden) zur Verfügung (für Messungen bei 4,2 °K = 12 Platten).

6. Fehlerabschätzung

Zahlreiche Parameter gehen bei der Bestimmung der Strahlenempfindlichkeit der T1-Phagen in die Meßgenauigkeit ein. Ebenso setzt sich der resultierende Gesamtfehler aus verschiedenen Komponenten zusammen. Mit unterschiedlichem Gewicht tragen hierzu bei: Temperaturbestimmung, Auszählen der Plaques, Pipettieren, Inhomogenität der Dosisverteilung und Dosimetrie. Der Beitrag der ersten 4 Komponenten kann durch die Streuung der erhaltenen Dosiseffektkurven auf maximal $\pm 10\%$ abgeschätzt werden. Der durch Unsicherheiten in der Dosimetrie verursachte Fehler kann getrennt behandelt werden, da er keine statistische Streuung aufweist, sondern nur eine Parallelverschiebung der erhaltenen Meßkurven (Strahlenempfindlichkeit gegen Temperatur) bewirkt. Da alle Resultate aus diesen Kurven abgeleitet werden können, werden die Ergebnisse von einem Fehler in der Dosimetrie nicht verändert.

III. Versuchsauswertung und Ergebnisse

1. Einfluß der Temperatur

Da a priori nicht nur eine Möglichkeit existiert, die ausgeführten Messungen graphisch darzustellen, sollen im Folgenden einige Verfahren zur graphischen Auswertung der erhaltenen Ergebnisse angeführt werden, aus welchen sich Informationen über den Temperatureinfluß während der Bestrahlung von Bakteriophagen entnehmen lassen.

Zunächst wird dazu die in Gleichung 1 definierte Strahlenempfindlichkeit ($1/D_{37}$) als Funktion der Bestrahlungstemperatur aufgetragen. Unabhängig von dem Einfluß zusätzlich veränderter Parameter ergab sich rein qualitativ für alle an T1-Phagen vorgenommenen Untersuchungen ein Verlauf, wie er in Abb. 15 zu sehen ist. Auffallend ist der große Unterschied in der Strahlenempfindlichkeit im Temperaturbereich von $4,2^{\circ}\text{K}$ bis 330°K , wenn die Phagen in Suspension bestrahlt werden. Die hier eintretende Änderung der Sensibilität erstreckt sich über ca. eine Größenordnung, während im gleichen Temperaturintervall an trockenen Phagen nur ein Faktor von etwa 2 beobachtet wird. Diese Temperaturabhängigkeit läßt sich nicht ohne weiteres in einen einfachen mathematischen Zusammenhang bringen; es scheint eine kompliziertere Abhängigkeit von Strahlenempfindlichkeit und Temperatur vorzuliegen. Besondere Bedeutung wird der Tatsache beigemessen, daß in beiden Fällen (Trocken und Suspension) unterhalb von etwa 100°K der Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit nahezu vollständig verschwindet.

Wird anstelle der Strahlenempfindlichkeit ihr reziproker Wert - die Strahlenresistenz (D_{37}) - als Funktion der Temperatur untersucht, so erhält man als Ergebnis den in den Abb. 16 - 18 gezeigten Verlauf. Dabei ergibt sich in Suspension eine lineare Abhängigkeit von D_{37} und Temperatur, die lediglich beim Phasenwechsel eine Unstetigkeit aufweist, indem die Strahlenresistenz beim Übergang von

der festen (Eis) zur flüssigen Phase mehr oder weniger stark abnimmt. Bei Abwesenheit von Cystamin wird sowohl bei T1- als auch bei T1-BUDR-Phagen ein erheblicher Phaseneinfluß bemerkbar, während bei den Proben mit Cystamin bei T1-Phagen ein geringerer und bei T1-BUDR-Phagen kein Phaseneffekt auftritt. Bei den gleichen Bestrahlungen im Trockenen tritt der lineare Verlauf nur im Tieftemperaturbereich auf, während mit zunehmender Temperatur eine Abweichung von der Linearität einsetzt.

Bei der weiteren Untersuchung unserer Meßergebnisse soll nun der Versuch unternommen werden, ob aus der gefundenen Temperaturabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit irgendwelche Anhaltspunkte über eventuell ablaufende Vorgänge, die zur Inaktivierung des Phagen führen, erhalten werden können. Eine Möglichkeit, Näheres über die Natur dieser Vorgänge zu erfahren, besteht darin, Erkenntnisse aus der chemischen Kinetik auf unser Problem zu übertragen. Wie Arrhenius gezeigt hat, kann der Temperaturverlauf chemischer Reaktionen und darüber hinaus auch der für viele physikalischen Prozesse durch Exponentialfunktionen, in die eine für den stattfindenden Vorgang charakteristische sogenannte Aktivierungsenergie eingeht, mathematisch beschrieben werden. Für die Geschwindigkeitskonstante V_K setzt man an:

$$V_K \sim e^{-E_a/kT}$$

wobei E_a für die Aktivierungsenergie in kcal/Mol, k für die Boltzmannkonstante und T für die absolute Temperatur stehen.

Eine mögliche Bedeutung der Aktivierungsenergie geht aus Abb. 19 hervor. Um eine Reaktion vom Ausgangs- in den Endzustand zu überführen, muß ein Potentialwall der Höhe E'_a überwunden werden. Für die Rückreaktion beträgt die Höhe $E''_a = E'_a - Q$, wobei Q die Wärmetönung der betrachteten Reaktion darstellt. Nimmt man den Temperaturverlauf eines Prozesses auf, so erhält man bei halblogarithmischer Auf-

tragung von $1/T$ gegen V_K (oder auch die Ausbeute) eine Gerade, aus deren Steigung sich die Aktivierungsenergie ermitteln läßt. Für verschiedene Klassen chemischer Umsetzungen ergeben sich oft charakteristische Temperaturverläufe, so daß in vielen Fällen bei bekannter T -Abhängigkeit eines unbekanntes Vorganges auf die Natur desselben geschlossen werden kann. Analog dazu sollten aus der Temperaturabhängigkeit bei der Inaktivierung von Phagen Angaben darüber gemacht werden können, ob der erhaltene T -Verlauf einem bekannten physikalischen oder chemischen Prozess zugeordnet werden kann. Dazu trägt man den Logarithmus der Strahlenempfindlichkeit $\ln S$ gegen $1/T$ auf (sog. Arrheniusplot). Man erhält in unserem Fall als Ergebnis Kurven, wie sie in den Abb. 20 und 21 dargestellt sind. Im folgenden wird geprüft, ob sich diese Kurven als Überlagerung möglichst weniger Exponentialfunktionen darstellen lassen, wobei man bei Bestätigung dieser Annahme auf mehrere an der Inaktivierung beteiligte Vorgänge mit verschiedenen Aktivierungsenergien schließen könnte.

Dazu wird von allen $1/D_{37}$ -Werten der bei tiefen Temperaturen erreichte konstante, temperaturunabhängige Anteil abgezogen. Die dadurch erhaltenen Werte werden wieder eingezeichnet und auf ihren linearen Verlauf überprüft. Dabei konnte durch die Punkte unterhalb etwa 200°K eine Gerade gelegt werden, aus der sich eine innerhalb 10 % übereinstimmende Aktivierungsenergie ($0,38 \text{ kcal/Mol}$) für in Suspension und im Trockenen bestrahlte Phagen errechnen läßt. Die Summe dieser Geraden und dem konstanten Anteil wird von den $1/D_{37}$ -Werten abgezogen. Man erhält in allen Fällen wieder Geraden. Die entsprechenden Aktivierungsenergien betragen im Trockenen unter allen Versuchsbedingungen 1 kcal/Mol , im Flüssigen liegen sie in einem Intervall von $2,8$ bis $5,3 \text{ kcal/Mol}$. In Tabelle I sind die erhaltenen Aktivierungsenergien eingetragen.

An Hand der erhaltenen Ergebnisse läßt sich nun ein analytischer Ausdruck für die Strahlenempfindlichkeit S als

Funktion der Temperatur angeben:

$$S = S_0 \exp(-E_a^{(0)}/kT) + S_1 \exp(-E_a^{(1)}/kT) + S_2 \exp(-E_a^{(2)}/kT) + S_3 \exp(-E_a^{(3)}/kT)$$

Die nach Bestimmung der Aktivierungsenergien berechneten Kurvenverläufe sind in Tabelle II enthalten. Sie wurden außerdem in den Abb. 20 und 21 mit den gefundenen $1/D_{37}$ -Werten eingezeichnet. Zur mathematischen Beschreibung der Inaktivierungskurven werden also jeweils nur zwei verschiedene Aktivierungsenergien sowie der konstante Anteil benötigt. Aus diesen Kurven läßt sich auch entnehmen, daß der konstante Anteil unterhalb von ca. 50 °K erreicht wird. Diese Annahme wird auch von einem Experiment bei 20 °K bestätigt, welches für diese Temperatur die gleiche D_{37} liefert wie für 4,2 °K (Abb. 24).

Sieht man von diesem Meßpunkt bei 20 °K ab, so besteht prinzipiell die Möglichkeit, in den verschiedenen Darstellungen die bei 4,2 °K und 77 °K erhaltenen Werte direkt miteinander zu verbinden. Die aus den Arrheniusdarstellungen zu entnehmenden Ergebnisse (Aktivierungsenergien) ändern sich dabei allerdings nur innerhalb der Fehlergrenzen. Dabei soll jedoch darauf hingewiesen werden, daß trotz der relativ geringfügigen quantitativen Veränderungen ein wichtiger qualitativer Unterschied zu den Ergebnissen der oben erwähnten Auswertung besteht: die Temperaturunabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit bei tiefen Temperaturen geht in diesem Fall in eine - wenn auch sehr geringe - Temperaturabhängigkeit (entsprechend einer Aktivierungsenergie von 0.002 ± 0.001 kcal/Mol) über. Welchem Auswertverfahren für die Interpretation unserer Messungen der Vorzug zu geben ist, soll in Kapitel IV diskutiert werden.

2. Einfluß von Cystamin und BUDR-Substitution

a) im Trockenen

Wird in der T1-DNS Thymin durch Bromuracil substituiert, so tritt eine Strahlensensibilisierung ein, die eine Temperaturabhängigkeit aufweist. Diese Sensibilisierung

steigt im Bereich 4,2 °K bis 330 °K um 50 % von 1,7 auf 2,4 an (Tabelle IV). Aus Abb. 10 und 20 und Tab. III ist zu entnehmen, daß sowohl an T1-Phagen wie auch an T1-BUDR-Phagen bei Anwesenheit von Cystamin eine Schutzwirkung zu beobachten ist, die für beide Phagen im Bereich von 4,2 °K-330 °K keine Temperaturabhängigkeit aufweist. Der beobachtete Schutzfaktor liegt jedoch mit 2,7 bei BUDR-Phagen um 50 % höher als bei normalen T1-Phagen (1,8); Cystamin zeigt also bei BUDR-Phagen eine zusätzlich zum normalen Schutz auftretende Desensibilisierung.

b) in Suspension

Die durch BUDR-Einbau in die DNS beobachtete Sensibilisierung weist bei Bestrahlung in Suspension eine etwas andere Temperaturabhängigkeit auf als im Trockenem. Von 4,2 °K bis ca. 230 °K tritt zunächst auch eine Steigerung der Empfindlichkeit ein, die jedoch mit weiter zunehmender Temperatur wieder absinkt und bis ca. 330 °K fast quantitativ verschwindet. Dieser Befund tritt sowohl bei Anwesenheit wie Abwesenheit von Cystamin auf (Tab. IV). Auch bei Bestrahlung in Suspension wird ein Schutzeffekt durch Anwesenheit von Cystamin festgestellt. Solange die Suspension im Eis bestrahlt wird, ist die schützende Wirkung analog zum trockenen Medium temperaturunabhängig. Der Schutzfaktor beträgt $1,7 \pm 15\%$. Nach Übergang in die flüssige Phase (~ 260 °K, Gefrierpunktserniedrigung!) steigt der Schutzfaktor um ca. einen Faktor 2 an (Tab. III). Während bei Zimmertemperatur der Schutzfaktor bei einer 0.1 mol Cystaminkonzentration unabhängig davon ist, ob die Bestrahlung unter Sauerstoff- oder Stickstoffatmosphäre stattfindet, wird bei tieferen Temperaturen (195 °K) ein ausgeprägter Schutz bei Bestrahlung unter Stickstoff-Atmosphäre beobachtet. Die D_{37} bei suspendierten T1-Phagen steigt von 510 kR (O_2) auf 700 kR (N_2).

3. Strahlenempfindlichkeit bei An- und Abwesenheit von Wasser

Wie man bereits aus den Abb. 12, 13 und 15 und der Tabelle V entnehmen kann, wird durch Entzug von Wasser (Bestrahlung der Proben unter Vakuum) die Resistenz der T1-Phagen gegenüber ionisierenden Strahlen wesentlich erhöht. Vor allem bei Temperaturen über dem Gefrierpunkt übt Anwesenheit von Wasser eine erhebliche Sensibilisierung aus. Die Schutzfaktoren durch Entzug von Wasser liegen bei 330 °K zwischen 3,1 und 10 (in Abhängigkeit davon, ob BUDR-Sensibilisierung und/oder Cystaminschutz vorliegen oder nicht), vermindern sich jedoch bei 4,2 °K unter sonst gleichen Verhältnissen auf 1,3 bis 1,9.

Im Zusammenhang damit geht auch der Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit zurück. Aus den Tabellen VI und VII läßt sich entnehmen, daß der durch Wechsel der Bestrahlungstemperatur von 330 °K auf 4,2 °K erhaltene Schutzfaktor sich von 5,5 bis 14 (Abhängigkeit siehe oben) in Suspension auf 2,1 bis 3,3 im Trockenen verringert.

Auf die schützende bzw. sensibilisierende Funktion von Cystamin und BUDR-Substitution hat Wasserentzug einen vergleichsweise vernachlässigbaren Einfluß (Tabelle III und IV).

4. Modifizierung der Strahlensensibilität durch Phagentiter und Methodik des Einfrierens

Bei den Versuchen an T1-Phagen in Suspension wurden noch zwei bemerkenswerte Effekte gefunden. Danach kann die Strahlenempfindlichkeit in unterschiedlichem Maße durch die Art des Einfrierens beeinflußt werden. Langsames Abkühlen (5 °C/min) auf die Bestrahlungstemperatur ergibt dabei eine größere Strahlenresistenz als schnelles Abkühlen auf tiefe Temperaturen und anschließende Erwärmung auf die gewünschte Bestrahlungstemperatur. Dieser Effekt tritt nur unterhalb von 250 °K in Erscheinung.

Während die durch langsames Abkühlen erhaltenen $1/D_{37}$ -Werte (L-Werte) auf einer normalen Arrheniuskurve liegen, weisen die bei schnellen resultierenden $1/D_{37}$ -Werte (S-Werte) in der gleichen Darstellung ein unregelmäßiges Verhalten auf. Die "S-Werte" durchlaufen bei ca. 230 °K ein lokales Minimum in der Strahlenempfindlichkeit, erreichen bei ca. 190 °K ein ebenfalls lokales Maximum und besitzen unterhalb dieser Temperatur die gleiche Temperaturabhängigkeit wie die "L-Werte", die jedoch zu höherer Strahlenempfindlichkeit parallel verschoben ist.

Weiterhin kann die Strahlenempfindlichkeit durch den Phagentiter bei Bestrahlung in Suspension beeinflusst werden. Dieser Effekt tritt ebenfalls nur in Suspension unterhalb von 250 °K auf. Phagensuspensionen mit höherem Titer sind dabei strahlenresistenter als solche mit niedrigem Titer. Interessant ist dabei, daß dieser "Titereffekt" sich besonders bei den "L-Werten" und kaum bei den "S-Werten" bemerkbar macht. Bei den Versuchen handelte es sich um Suspensionen mit 10^8 Ph/ml bzw. 10^{10} Ph/ml. Die beiden Effekte sind in Abb. 25 dargestellt. Bei den weiteren Versuchen wurde daher generell mit einem Titer von ca. $5 \cdot 10^8$ Ph/ml gearbeitet. Die Größe der Aktivierungsenergien sowie der Schutz- und Sensibilisierungsfaktoren von Cystamin und Bromuracil wurde durch diese Effekte nicht verändert.

5. Einfluß von Vakuum und Dosisleistung

Um die Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von der Güte des Vakuums bei Bestrahlung trockener Proben festzustellen, wurden Untersuchungen im Bereich $3 \cdot 10^{-1}$ Torr bis $1 \cdot 10^{-5}$ Torr ausgeführt. Im genannten Bereich konnte kein Einfluß auf die Strahlensensibilität gefunden werden.

Eine Änderung in der Strahlenempfindlichkeit der T1-Phagen beim Übergang von einer kontinuierlich emittierenden Strahlungsquelle ($^{60}\text{Co}-\gamma$) mit einer Dosisleistung von

$1,8 \cdot 10^6$ rad/h zu einer im Impulsbetrieb arbeitenden wurde nicht festgestellt. Die mittlere Dosisleistung während der Impulsdauer (5 μ s) betrug dabei $1,2 \cdot 10^{10}$ rad/h bei einer Folgefrequenz von 100 Hz. Daraus ergibt sich eine effektive Dosisleistung von $6 \cdot 10^6$ rad/h. Der Einfluß von Vakuum und Dosisleistung bei der Bestrahlung wird in den Abb. 26 und 27 gezeigt.

IV. Diskussion

1. Allgemeine Bemerkungen zur biologischen Strahlenschädigung

Der wesentliche Gesichtspunkt bei der Ausführung der vorliegenden Untersuchungen bestand darin, durch Variation der Temperatur bei Bestrahlung biologischer Elementareinheiten weitere Informationen über die zur Strahlenschädigung führenden Vorgänge zu gewinnen. Dabei hat sich gezeigt, daß die beobachtete Schädigung bereits bei Bestrahlung von T1-Phagen nach Wasserentzug (Vakuum) eine relativ komplizierte Temperaturabhängigkeit aufweist. Nähert man die Verhältnisse während der Bestrahlung denen im biologischen Milieu weiter an, d.h. bestrahlt man unter Anwesenheit von Wasser und Luft, so treten sofort eine Reihe zusätzlicher Parameter auf, die sich in ihrer Wirkung der des Temperatureinflusses auf den Strahlenschaden überlagern. Zum Verständnis dieser an T1-Phagen gewonnenen Resultate, sowie deren Beeinflussung durch Schutz- und Sensibilisierungstoffe in Abhängigkeit von der Temperatur, soll zunächst auf einige Vorstellungen bezüglich des Einwirkens ionisierender Strahlung auf organische Materie eingegangen werden.

Wird organische Materie ionisierenden Strahlen ausgesetzt, so wird zwischen den sogenannten direkten und indirekten Strahlenwirkungen unterschieden (Bacq und Alexander, 1961). Da in der Literatur recht unterschiedliche Auffassungen über die Definition von direkten und

indirekten Effekten vertreten werden, soll an dieser Stelle angegeben werden, was im Folgenden unter diesen Begriffen zu verstehen ist. Unter direkter Wirkung wird die Absorption der Strahlenenergie im biologischen Objekt verstanden. Hierzu zählen also Ionisationen, Anregungen, Auger-Effekt, simultane Mehrfachanregungen und andere primäre Prozesse der Energieübertragung. Bei der indirekten Wirkung sollen alle Formen der nach der primären Energieabsorption ablaufenden Vorgänge der Energieleitung eingeschlossen sein, die zu Veränderungen am untersuchten Objekt führen. Insbesondere gehören hierzu die bei Bestrahlung des biologischen Objektes sowie des umgebenden Mediums gebildeten Produkte, die auf den Organismus toxisch wirken. Weil in dieser Hinsicht die wichtigste Komponente das Wasser ist, wird hierbei in erster Linie die Wirkung der Strahlung auf das Wasser in Betracht gezogen. Die bei der Radiolyse des Wassers entstehenden reaktiven Spezies (zum größten Teil sind es Radikale) können durch Diffusion zum biologischen Molekül gelangen und dort durch Reaktionen mit diesem eine biologische Schädigung hervorrufen. Der Anteil der direkten und indirekten Wirkungen bei Bestrahlung ist sehr unterschiedlich; er hängt in großem Umfang vom Medium ab, in dem bestrahlt wird. Bei Bestrahlung von Phagen in verdünnten wässrigen Lösungen beträgt selbst bei einem Titer von 10^{10} Ph/ml das Massenverhältnis Phagen zu Wasser ca. $1:10^6$, d.h. der weitaus größte Teil der absorbierten Energie wird von den H_2O -Molekülen übernommen. Die indirekten Effekte können also gegenüber den direkten nicht vernachlässigt werden. Nach Zugabe von sogenannten Schutzsubstanzen (Eiweißstoffe, einige schwefelhaltige Verbindungen) kann der Anteil der indirekten Strahlenschäden jedoch wieder erheblich reduziert werden. Man nimmt an, daß die gebildeten diffusiblen Agentien bevorzugt mit diesen Schutzstoffen entsprechend deren hohem Gewichtsanteil und in geringerem Umfang mit den biologischen Molekülen reagieren (Watson, 1952, Braams, 1963, Latarjet u. Ephrati, 1952).

Eine weitere Reduktion des Beitrags indirekter Effekte läßt sich bei Bestrahlung trockener Phagen erreichen. Jedoch läßt sich auch durch sorgfältiges Trocknen der Beitrag indirekter Effekte nicht völlig eliminieren. Wie Zimmer (in Alexander, 1957) betont hat, sind z.B. durch gebundenes Wasser an Biomolekülen sowie durch Energieleitungsprozesse innerhalb dieser Moleküle auch im trockenen Zustand indirekte Effekte möglich. Eine weitere Bestätigung für die Mitwirkung indirekter Effekte im Trockenen erfolgt aus Untersuchungen von Jung und Kürzinger (1967), die eine starke Inaktivierung von T1-Phagen und RNase bei Einwirkung von Wasserstoffradikalen fanden. Die Entstehung dieser Radikale bei Bestrahlung organischen Materials wurde von Hart und Platzman (1961) und Jacobs (1962) gefunden. Außerdem werden durch die direkte Strahleneinwirkung auch Ionen, Radikationen und weitere Radikale gebildet, die über zahlreiche Sekundärreaktionen entweder harmlos rekombinieren oder aber zum biologischen Schaden beitragen können (Bolt und Carroll, 1963). Große Bedeutung bei der Entstehung des Strahlenschadens wird dabei der Bildung freier Radikale beigemessen (Ehrenberg, Ehrenberg u. Zimmer, 1957, Zimmer, 1960, Braams, 1963, Müller, 1964, Henriksen, 1966). Dies wird ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß die Radikale auf Grund ihres unpaaren Elektrons sehr reaktionsfähig sind. Auch wenn ihre Erzeugung noch zu keiner biologischen Schädigung führen sollte, Reaktionen mit organischen Substanzen zogen in den bisher untersuchten Fällen meistens schwerwiegende Veränderungen am jeweiligen Untersuchungsobjekt nach sich (Zimmer, 1959, 1960, Müller und Zimmer, 1959, Henriksen, 1966).

Die Bedeutung der Radikale als Zwischenstufe der Reaktionskette, die zur Veränderung des biologischen Materials führt, darf allerdings nicht überbewertet werden, solange der Anteil der außerdem während der Bestrahlung gebildeten Agentien nicht bekannt ist. Während Radikale wegen ihrer magnetischen Eigenschaften vergleichsweise einfach

nachgewiesen werden können (Elektronen-Spin-Resonanz), existiert für die anderen Bestrahlungsprodukte keine Nachweis-Methode, bei der nicht in das zu untersuchende System direkt eingegriffen werden muß, wodurch erhebliche Fehlerquellen, wenn nicht sogar falsche Ergebnisse, auftreten können.

2. Der Einfluß des Wassers auf die gefundene Temperaturabhängigkeit

Es wurde bereits im vorangehenden Abschnitt erwähnt, daß bei der Bestrahlung von Wasser eine ganze Reihe mehr oder weniger reaktiver Bestrahlungsprodukte entsteht, die bei gleichzeitiger Anwesenheit von biologischem Material den Anteil der indirekten Schädigungen wesentlich vergrößern können. Obwohl dieser Anteil durch Zugabe von Difco-NB reduziert werden kann (Watson, 1950, 1952, Hotz, 1965), zeigt die durch Wasserentzug im gesamten untersuchten Temperaturbereich gefundene erhöhte Strahlenresistenz von T1-Phagen (siehe Tabelle V), daß auch unter diesen Bedingungen indirekte Effekte beteiligt sind. Es konnte erstmalig an Phagen gezeigt werden, daß auch bei tiefsten Temperaturen (4.2 °K) noch indirekte Effekte bei Bestrahlung von Phagen in Suspension auftreten. Mit den in Tabelle V für verschiedene Temperaturen angegebenen Schutzfaktoren durch Wasserentzug läßt sich der Anteil der indirekten Effekte bei 4.2 °K auf 25 - 50 % (in Abhängigkeit von Schutz- und Sensibilisierungstoffen) abschätzen. Allerdings kann mit unserer Versuchstechnik nicht ermittelt werden, ob die den indirekten Effekten zuzuordnenden Vorgängen bei tiefen Temperaturen bereits bei der Bestrahlungstemperatur ablaufen oder erst während der zum Nachweis der Schädigung unumgänglichen Erwärmung auf Zimmertemperatur. ESR-Untersuchungen an trockenen biologischen Objekten von Patten und Gordy (1961a, 1961b) und Henriksen (1962, 1963) lassen uns die letztere Möglichkeit für wahrscheinlicher halten. Die Autoren fanden, daß die bei tiefen Temperaturen erhaltenen Spektren sich bei Erwärmen auf Zimmertemperatur ver-

ändern, es bilden sich die Spektren, die auch nach Bestrahlung bei Zimmertemperatur erhalten werden. Es wird angenommen, daß die während der Bestrahlung erzeugten primären Radikale bei tiefen Temperaturen getrappt werden. Für H-Radikale konnte dies z.B. von Patten und Gordy (1964) an wässriger DNS-Lösung bei 4.2°K , von Flournoy, Baum und Siegel (1962) in reinem Wasser unterhalb von 50°K nachgewiesen werden. Während des Erwärmens reagieren diese primären Radikale mit der untersuchten Substanz (indirekter Effekt) und erzeugen auf diesem Weg den letztlich beobachtbaren biologischen Schaden.

Ein interessantes Ergebnis kann aus Tabelle V entnommen werden: Die Schutzfaktoren durch Wasserentzug und damit auch der dazugehörige Anteil der indirekten Effekte bleiben jeweils bis zum Übergang von der festen (Eis) zur flüssigen Phase, also über einen Temperaturbereich von mehr als 200°C , konstant. Da jeder Phage von der ca. 10^8 -fachen Gewichtsmenge an Wassermolekülen umgeben ist, könnte dieses Ergebnis bedeuten, daß für den indirekten Effekt der Bestrahlungsprodukte des Wassers in diesem Temperaturbereich nur die unmittelbar den Phagen umgebenden Wassermoleküle verantwortlich sind. Die in den entfernteren Wassermolekülen gebildeten reaktiven Spezies können als Folge der geringen Diffusionslängen im Eis nicht zu den Phagen gelangen, sie rekombinieren vorher.

Nach dem Übergang in die flüssige Phase ist die Diffusion erleichtert, worauf auch der plötzliche Anstieg der Strahlensensibilität (siehe Abb. 16 u. 17) zurückgeführt werden könnte. Dieser Phaseneffekt wurde unter anderen auch von Shalek (1967) an Phagen-Bakterien-Komplexen und von Houtermans (1956) an Sporen von *Baz. subtilis* gefunden. Houtermans führt den Phaseneffekt ebenfalls auf Diffusionsvorgänge zurück.

Neben Diffusionsprozessen kann auch eine vermehrte Instabilität der Phagen-DNS im flüssigen Medium die Ursache für die mit dem Phasenwechsel eintretende Steigerung der Strah-

lenempfindlichkeit sein. Nach dem auf Seite 35 ausführlich beschriebenen Franck-Rabinowitsch-Effekt hängt die Dissoziationswahrscheinlichkeit von der Temperatur und dem Aggregatzustand des umgebenden Mediums ab. Die Dissoziationswahrscheinlichkeit steigt im Übergangsbereich von der festen zur flüssigen Phase vergleichsweise stark an, wodurch der nach der Ionisation ablaufende schädigende Vorgang der Dissoziation mit größerer Häufigkeit stattfinden kann. Andererseits können z.B. gegenüberliegende Ionisationen, die durch die im Flüssigen erleichterte Dissoziation zu Doppelstrangbrüchen und damit zur Inaktivierung führen, im Eis als Folge der erhöhten Rekombinationsrate repariert werden. Um die Inaktivierung der Plaquebildungsfähigkeit zu verhindern, genügt es sogar bereits, wenn nur einer der gegenüberliegenden Einzelstrangbrüche auf diese Weise rückgängig gemacht wird.

Mit dem unterschiedlichen Anteil indirekter Effekte werden auch der Einfluß des Titers und der Einfrieremethode bei Bestrahlung in Suspension bei Temperaturen unter 250 °K verständlich. Bei schnellem Einfrieren (S-Werte) bleibt die relative Anordnung von Wassermolekülen und Phagenpartikeln erhalten; die Inaktivierung der Phagen im Eis erfolgt nach dem oben erläuterten Modell. Bei langsamer Abkühlung der Suspension (L-Werte) können Eiskristalle gebildet werden. Das Wachsen von Eiskristallen erfolgt vorzugsweise in Richtung niedriger Konzentration, wodurch eine teilweise Entmischung von Wasser und Phagenpartikeln ermöglicht wird. Auf diese Weise entstehen lokale Phagenkonzentrate, bei welchen als Folge der Entmischung der Anteil der indirekten Schädigungen reduziert ist, die Strahlenempfindlichkeit nimmt ab. Weil eine vollkommene Trennung von Phagenpartikeln und Eiskristallen offenbar nicht möglich ist, sinkt die beobachtete Strahlenempfindlichkeit nach langsamen Abkühlen nicht ganz bis auf den Wert, der nach Wasserentzug erhalten werden kann.

Der gleiche Einfluß der Einfrieremethode auf die Strahlenempfindlichkeit wird von Wood (1959) an Hefezellen beschrie-

ben. Er erklärte dieses Verhalten mit der bei langsamem Einfrieren möglichen Dehydrierung des Zellinnern. Damit wird gleichzeitig der im Zellinnern entstehende Anteil an Wasserradikalen reduziert, die Strahlenempfindlichkeit sinkt. In unserem Fall kann die Dehydrierung als Ursache der S- und L-Werte ausgeschlossen werden, da sich andernfalls die zugehörigen D_{37} -Werte nach langsamem und schnellem Abkühlen bis zum Gefrierpunkt der Phagensuspension (-15°C) unterscheiden müßten. In unseren Messungen macht sich hingegen erst unterhalb von -40°C ein Einfluß der Einfrieremethode auf die Größe der D_{37} bemerkbar.

Mit dem gleichen Modell kann auch der Einfluß des Titors verstanden werden. Bei den S-Werten wird keine Änderung der Strahlenempfindlichkeit erwartet, da die Phagen bei einer Änderung des Titors von 10^8 Ph/ml auf 10^{10} Ph/ml immer noch von einer im Vergleich mehrere Größenordnungen übersteigenden Gewichtsmenge an Wassermolekülen umgeben sind.

Wird die Phagensuspension dagegen langsam abgekühlt, so können sich bei höherem Titer die lokalen Phagenkonzentrationen weiter vergrößern, was eine weitere Senkung der indirekten Effekte und damit der Strahlenempfindlichkeit zur Folge hat. In unserem Fall war es möglich, bei einer Konzentration von 10^{10} Ph/ml durch langsames Abkühlen fast die gleiche Resistenz gegen ionisierende Strahlen zu erhalten, wie sie unter sonst gleichen Bedingungen für trockene Phagen beobachtet wurde.

Das nach schnellem Abkühlen im Temperaturbereich von ca. 190°K - 230°K beobachtete Verhalten der Strahlenempfindlichkeit (lokales Minimum u. Maximum) kann mit dem Übergang von amorphem Eis in die hexagonale Modifikation in Zusammenhang gebracht werden. Nach schnellem Abkühlen von Wasser wurde in vielen Fällen und besonders bei Anwesenheit von Proteinverunreinigungen (in unserem Fall Difco-NB) die Bildung einer sogenannten amorphen Eisstruktur ("glassy state") beobachtet (Meryman, 1963, Sanner, 1965, Dainton

und Jones, 1962). Diese wandelt sich im Temperaturintervall von 140 °K - 220 °K in die hexagonale Modifikation ("polycrystalline state") um, die auch nach langsamer Abkühlung erhalten wird. Die Umwandlungszeiten betragen bei

140 °K	10 ⁵ min
200 °K	60 min
220 °K	10 min

Das Temperaturintervall, in dem diese Umwandlung eintritt, wird etwas durch die Anwesenheit von gelösten oder suspendierten Substanzen verschoben (Meryman, 1966), so daß wir die bei den S-Werten im Bereich von 190 °K - 230 °K beobachtete Empfindlichkeitsabnahme mit der Umwandlung von amorphem in hexagonales Eis (und damit steigender Entmischung) erklären können. Bei 230 °K wandelt sich das durch schnelles Abkühlen gebildete amorphe Eis innerhalb weniger Minuten in die hexagonale Struktur um, langsam und schnell abgekühlte Phagensuspensionen weisen daher oberhalb von ca. 230 °K gleiche Empfindlichkeit auf.

Ein ähnlicher Einfluß der Einfrieremethode auf die Strahlenempfindlichkeit wurde von Sanner (1965) gefunden. Er findet an Thiogel-Lösungen im "glassy state" eine höhere Radikalausbeute als im "polycrystalline state". Er führt den Effekt - nicht im Gegensatz zu unserer Deutung - darauf zurück, daß die verschiedenen Kristallformen des Wassers (glassy und polycrystalline bzw. amorph und hexagonal) die Rekombination der gebildeten Radikale in unterschiedlicher Weise beeinflussen.

3. Interpretation der erhaltenen Temperaturabhängigkeit

Die bei verschiedenen Temperaturen beobachtete Strahlenempfindlichkeit des T1-Phagen konnte bei allen untersuchten Bedingungen nach einer für temperaturabhängige Vorgänge üblichen Methode ausgewertet werden. Nach dieser Methode, die in Kap. III.1. ausführlich beschrieben wurde, deutet die resultierende Temperaturabhängigkeit auf Reak-

tionen hin, die nach der Absorption der Strahlung, d.h. nach Erzeugung der primären Anregungen und Ionisationen ablaufen und zum Effekt, z.B. der Inaktivierung des Phagen führen. Besonders interessant wird in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß die Auswertung temperaturabhängiger strahleninduzierter Veränderungen nach dem gleichen Prinzip an verschiedenen biologischen Substanzen (Enzyme: Brustad, 1964, Fluke, 1966, Günther und Jung, 1967; Sporen: Houtermans, 1956, Webb, Ehret und Powers, 1958; Phagen: Bachofer, Ehret, Mayer und Powers, 1953, Hermann, 1966; Phagen-Bakterien-Komplexe: Shalek, Smith and Hunter, 1967) und sogar an Kunststoffen (Chapiro, 1964) zu mit unseren Ergebnissen vergleichbaren Resultate führte (Tabelle VIII). Der Temperaturverlauf kann in allen diesen Fällen als Überlagerung von maximal drei Exponentialfunktionen der vorhin erläuterten Art verstanden werden. Bevor geprüft wird, ob sich die in diesen e-Funktionen eingehenden Aktivierungsenergien mit wahrscheinlichen, zur Inaktivierung führenden Vorgängen korrelieren lassen, sollen noch andere Darstellungen der Ergebnisse berücksichtigt werden, um dadurch weitere Informationen zu gewinnen. Es ist naheliegend, dafür die Strahlenempfindlichkeit ($1/D_{37}$) sowie ihren reziproken Wert, die Strahlenresistenz (D_{37}) als Funktion der Temperatur zu untersuchen.

Die Abhängigkeit der D_{37} von der Temperatur ist in den Abb. 16 - 18 aufgetragen. Während bei T1-Phagen mit und ohne Schutzstoff in Suspension der Übergang von der flüssigen in die feste Phase mit einer deutlichen Steigerung der Strahlenresistenz verbunden ist, verringert sich diese Änderung bei BU-substituierten Phagen und verschwindet bei diesen Phagen nach Zugabe des Schutzstoffes Cystamin.

Der Temperaturverlauf im Vakuum weist keine Besonderheiten auf. Für eine eingehende Diskussion der durch diese Auftragsweise erhaltenen Kurven sind auch Messungen bis zu sehr hohen Temperaturen (~ 500 °K) erforderlich. Untersuchungen dieser Art waren im Rahmen dieser Arbeit jedoch

nicht vorgesehen, da uns besonders das theoretisch wichtige Verhalten bei tiefen Temperaturen interessierte. Aufschlußreiche Hinweise können für das Tiefsttemperaturverhalten entnommen werden. Im Bereich unterhalb 200 °K findet in erster Näherung ein linearer Anstieg der D_{37} sowohl im Trockenem wie auch in Suspension statt. Dieses Ergebnis erlangt besondere Bedeutung bei der Diskussion des von vielen Autoren teils gefundenen (Webb, Ehret und Powers, 1958, Brustad, 1964) teils postulierten (Bachofer, Ehret, Mayer und Powers, 1953, Fluke, 1966, Hermann, 1966, Günther und Jung, 1967) konstanten temperaturunabhängigen Anteils bei tiefen Temperaturen. Eine Temperaturunabhängigkeit in diesem Bereich wurde von den meisten Autoren auf Grund der auch bei unserer Auswertung benutzten Arrheniusdarstellung gewonnen. Bei der im Kap. III.3. durchgeführten Auswertung wurde auf die mögliche Existenz des temperaturunabhängigen Terms auch bei unseren Messungen hingewiesen. Es ergab sich, daß diese Temperaturunabhängigkeit, falls sie in unserem Fall überhaupt erreicht wird, erst bei Temperaturen unter 50 °K auftritt. Es liegt in dem gerade für Untersuchungen im Tiefsttemperaturbereich ungünstigen Maßstab der Arrheniusdarstellung begründet, daß, wenn nicht eine dichte Folge von Messungen im Bereich von 4.2 °K bis ca. 25 °K vorliegt, eine Aussage über die Existenz dieses Terms ohne zusätzliche Information aus anderen Darstellungen nur mit ziemlicher Unsicherheit gemacht werden kann, sofern sich seine Existenz nicht schon bei Temperaturen von ca. 80 °K aufwärts bestätigen läßt (Webb, Ehret und Powers, 1958). Aus der linearen Darstellung D_{37} gegen die Temperatur ergibt sich nun, daß mit einem Verschwinden der Temperaturabhängigkeit mit großer Sicherheit nicht oberhalb von 20 °K zu rechnen ist, es sei, man postuliert einen Temperaturverlauf, der von dem nach Abb. 16 - 18 wahrscheinlichen Verlauf zwischen 4.2 °K und 77 °K stark abweicht.

Ein wichtiger Unterschied zwischen der eben diskutierten Darstellung (D_{37} gegen T) und der Arrheniusdarstellung muß jedoch noch betont werden. Während wir eben die Abhängigkeit der Strahlenresistenz (D_{37}) von der Temperatur betrachteten, wird in der Arrheniusdarstellung gewöhnlich die Strahlenempfindlichkeit, also die reziproke D_{37} , als Funktion der Temperatur untersucht. Steigt die D_{37} linear an, so geht diese Linearität bei der Betrachtung der Strahlenempfindlichkeit (D_{37}) natürlich verloren, wir erhalten in Abhängigkeit von der Temperatur eine Kurve, deren Steigung mit abnehmender Temperatur kleiner wird. Dies kommt in Abb. 14 (lineares Raster) und den Abb. 20 und 21 (halb-log. Raster, Arrheniusdarstellung) deutlich zum Ausdruck. Wie bereits in der linearen Darstellung (Abb. 15) zu sehen ist, kann die Änderung der Strahlenempfindlichkeit unter etwa 50°K vernachlässigt werden. Innerhalb der Fehlergrenzen von ca. 10 % kann in dieser Darstellung durchaus von einer Temperaturunabhängigkeit gesprochen werden, da die maximale Änderung in diesem Bereich (Verbindung von 4.2°K mit 77°K) nur ca. $1/4$ des Betrages des angegebenen Fehlers ausmacht. Die Tatsache, daß bei der Darstellung D_{37} gegen T eine lineare, bei der Darstellung $1/D_{37}$ gegen T eine zu tiefen Temperaturen fast verschwindende Temperaturabhängigkeit gefunden wird, mag zunächst widersprüchlich erscheinen. Dieser scheinbare Widerspruch wird dadurch bedingt, daß im ersten Fall die Absolutbeträge der mit der Temperatur sich ändernden D_{37} -Werte eingehen, während im zweiten Fall nur die relativen Änderungen eine Rolle spielen, die natürlich bei gleicher absoluter Änderung pro Temperaturintervall aber ansteigenden D_{37} -Werten immer kleiner werden.

Für die bei der Arrheniusdarstellung auftretenden Aktivierungsenergien ist es nun kaum von Bedeutung, ob sie auf der Basis einer bei tiefen Temperaturen verschwindenden oder vernachlässigbaren Temperaturabhängigkeit ermittelt werden. Im ersten Fall ergibt sich eine Komponente mit der

Aktivierungsenergie $E_a = 0$, im zweiten Fall erhält man einen zwar endlichen, aber sehr nahe bei Null gelegenen Wert. Dieser Wert beträgt maximal 2 ± 1 cal/Mol. Er wurde unter der Voraussetzung erhalten, daß sich die Temperaturabhängigkeit im Bereich $4.2^\circ\text{K} - 77^\circ\text{K}$ im Arrheniusplot durch eine Gerade, die die Punkte 4.2°K und 77°K verbindet, beschreiben läßt. Nach unseren Ergebnissen ist es jedoch sehr wahrscheinlich, daß diese Gerade durch eine konvexe Kurve ersetzt werden kann, wenn sie auch nicht notwendig in der Umgebung von 4.2°K in eine Gerade mit der Steigung Null übergeht, so weist sie jedoch sicher bei 4.2°K eine kleinere Steigung als die durch Verbindung von 4.2°K und 77°K erhaltene Gerade auf (dies kann aus der linearen Beziehung zwischen D_{37} und Temperatur in Abb. 16 - 17 gefolgert werden). Der Wert von maximal 2 cal/Mol liegt um etwa 2 Größenordnungen unter der in diesem Temperaturbereich verfügbaren thermischen Energie kT , ihm kann daher keine thermodynamische Bedeutung beigemessen werden.

Die großen und mittleren Aktivierungsenergien ändern sich selbst bei Ersetzen des konstanten Anteils durch die Gerade nur innerhalb ihrer Fehlergrenzen. Bei der kleinsten Aktivierungsenergie kann unter diesen Bedingungen im Trockenen keine Aussage über ihre Existenz gemacht werden, da zu wenig Meßpunkte vorliegen. In Suspension, wo mehrere Zwischentemperaturen untersucht wurden, bleibt sie erhalten; sie ist auf Grund der geringeren Anzahl von Punkten, durch welche sie definiert werden kann, mit einem Fehler von $\pm 50\%$ behaftet. Es ist daher durchaus möglich, daß im Trockenen bei Ausführung einiger weiterer Messungen diese kleine Aktivierungsenergie auch bei Fehlen des konstanten Anteils gefunden werden kann.

Die durch den Phaseneffekt bewirkten Abweichungen der Meßpunkte bei den in Suspension bestrahlten Phagen fallen in der Arrheniusdarstellung nicht ins Gewicht (Abb. 21). Der Einfluß auf die Größe der Aktivierungsenergie $E_a^{(3)}$ liegt innerhalb ihrer Fehlergrenzen und beträgt daher ± 1 kcal/Mol.

Es wurde bereits erwähnt, daß die Auswertung mittels des Arrheniusplots an unterschiedlichen Objekten zu bemerkenswert einheitlichen Ergebnissen führt. Wie aus Tabelle VIII ersichtlich wird, liegen die aus der Temperaturabhängigkeit bestimmbaren Aktivierungsenergien in allen untersuchten Fällen in einem Bereich von 0 bis 7 kcal/Mol.

Zur Beschreibung des Temperaturverlaufs werden ohne Ausnahme maximal drei verschiedene Aktivierungsenergien benötigt, ein Ergebnis, das auch bei unseren Untersuchungen am T1-Phagen bestätigt werden konnte. Diese Tatsache erlangt nun insofern Bedeutung, als man bisher festgestellt hat, daß die durch Strahlungen ausgelösten biologischen Wirkungen außerordentlich vielfältig sind und ihnen daher auch die verschiedensten Wirkungsmechanismen zugrunde gelegt worden sind. Mit diesen Ergebnissen erscheint es als nicht unwahrscheinlich, zumindest für einen Teil der an verschiedenen biologischen Substanzen entstandenen Veränderungen gemeinsame Wirkungsprozesse anzunehmen und damit die biologische Schädigung unter mehr einheitlichen Gesichtspunkten zu betrachten.

Im Folgenden soll nun untersucht werden, in welcher Weise sich die verschiedenen an T1-Phagen gefundenen Aktivierungsenergien auf bekannte Vorgänge mit ähnlicher Temperaturabhängigkeit zurückführen lassen. Daß bei tiefen Temperaturen im Bereich von 4.2 °K bis ungefähr 100 °K in guter Näherung keine Temperaturabhängigkeit beobachtet wird, steht durchaus im Einklang mit verschiedenen Vorstellungen über die Wechselwirkung ionisierender Strahlen mit organischer Materie. Im Hinblick auf die in Tabelle VIII aufgeführten Ergebnisse ist anzunehmen, daß das Tieftemperaturverhalten bei Bestrahlung von T1-Phagen eine charakteristische Eigenschaft von biologischem Material im allgemeinen ist.

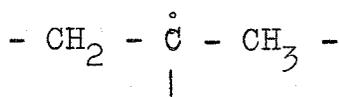
In erster Linie können daher die nach Absorption der Strahlung entstehenden Ionisationen und Anregungen bei tiefen Temperaturen für den Strahlenschaden verantwortlich gemacht werden. Da die Zahl der Ionisationen unabhängig von der Temperatur ist (Augenstein, Brustad u. Mason, 1964) und Anregungen nur mit sehr viel geringerer Wahrscheinlichkeit als Ionisationen biologische Wirkungen hervorrufen (Lea, 1946, Hutchinson, 1960), sollte bei einer durch diese Vorgänge hervorgerufenen Schädigung kein Temperatureinfluß erwartet werden. Die als Folge der Ionisation in vielen Fällen eintretende Dissoziation des organischen Moleküls in zum Teil reaktive, diffusible Bruchstücke - durch deren Reaktionen mit dem Biomolekül eine temperaturabhängige Strahlenempfindlichkeit auftreten kann - wird in diesem Temperaturintervall durch den Franck-Rabinowitsch-Effekt (Franck und Rabinowitsch, 1934) weitgehend verhindert. Nach diesem sog. "cage-effect" ist für das Eintreten der Dissoziation nicht nur die Bildungs- sondern auch die Rekombinationswahrscheinlichkeit maßgebend. Da den in großer Anzahl gebildeten Radikalen bei tiefen Temperaturen nicht genügend thermische Energie zur Verfügung steht, die zum Ausbrechen aus dem sie umgebenden Käfig von Molekülen ausreicht, steigt die Rekombinationswahrscheinlichkeit an, zumal für diesen Vorgang nach Casey, 1962, ein praktisch verschwindender Energiebetrag ausreicht. Da der absolute Betrag des konstanten Anteils nach Wasserentzug (Kapitel IV.2.) abnimmt, kann auch in diesem Bereich auf eine Beteiligung indirekter Effekte und damit eine nicht verschwindende Bildungswahrscheinlichkeit bei der Dissoziation geschlossen werden. Ihre Temperaturabhängigkeit kann von 4.2 °K bis 100 °K praktisch vernachlässigt werden, oberhalb 100 °K nimmt sie im Trockenen schwächer, im Eis stärker zu.

Eine andere Deutung für den konstanten Anteil ergibt sich auf der Grundlage des "thermal spike"-Modells (Norman u. Spiegler, 1962a, 1962b). Dieses Modell geht davon aus, daß die Absorption von Strahlenenergie zu lokalem Erhitzen von

kleinen Regionen führt. In einer Umgebung dieses Gebietes stellt sich für kurze Zeit eine höhere, sogenannte "effektive Temperatur" ein, bei welcher die durch Absorption der Strahlung induzierten sekundären Reaktionen ablaufen können. Bei unseren Messungen würde sich nach dieser Vorstellung eine effektive Temperatur in der Größenordnung von $100\text{ }^{\circ}\text{K}$ für die Zeit eingestellt haben, in welcher die sekundären Reaktionen ablaufen. Die effektive Temperatur ist von $4.2\text{ }^{\circ}\text{K}$ bis $100\text{ }^{\circ}\text{K}$ unabhängig von der Größe der Umgebungstemperatur.

Die im Temperaturbereich $100\text{ }^{\circ}\text{K}$ - $330\text{ }^{\circ}\text{K}$ gefundenen Aktivierungsenergien an T1-Phagen liegen etwa eine Größenordnung unter den für chemische Prozesse bekannten. Zur Erklärung müssen wir daher andere temperaturabhängige Vorgänge heranziehen. So wird z.B. von Semjonov (1961) angegeben, daß Reaktionen von freien Radikalen mit Molekülen Aktivierungsenergien benötigen, die kleiner als 10 kcal/Mol sind. Die Ansicht, daß strahleninduzierte Radikale bei der Bildung des biologischen Schadens eine wichtige Rolle spielen, wird u.a. von Powers und Kaleta (1960), Zimmer (1960), Braams (1963), Henriksen, Sanner und Pihl (1963) und Müller (1964) vertreten. Nach dem Franck-Rabinowitsch-Effekt müßten vor allem H-Radikale erzeugt werden, da sie sich am leichtesten durch Diffusion von ihrem Muttermolekül entfernen können. Dieser Vorgang wird auch dadurch unterstützt, daß bei H-Atomen die mitgegebene kinetische Energie besonders groß ist. Rowlands und Whiffen (1962) bestätigten diese Annahme, indem sie an verschiedenen organischen Substanzen gefundene Radikale mittels der ESR deuteten und zu dem Ergebnis kamen, daß in ca. 70 % der Fälle C-H-Bindungen unter Freisetzung eines H bei Bestrahlung zerstört worden sind. Diese H-Radikale sind besonders reaktionsfähig und reagieren nach Entstehung sofort weiter. Dabei können sie entweder zu molekularem Wasserstoff rekombinieren oder durch Abstraktions- und Anlagerungsreaktionen (Braams, 1963, Hart und Platzman, 1961, Voevodski und Molin, 1962) weitere Schäden verursachen. Besonders Anlagerungs-

reaktionen von H-Radikalen an Doppelbindungen weisen nach Semjonow Aktivierungsenergien in der Größenordnung von etwa 1 kcal/Mol auf. Die von uns im Trockenen gemessene Aktivierungsenergie von 1 kcal/Mol könnte möglicherweise auf das Stattfinden derartiger Reaktionen hinweisen, zumal diese Anlagerungsreaktionen über einen großen Temperaturbereich bis einschließlich 77 °K bei chemischen Umsetzungen beobachtet wurden. Eine Stütze in dieser Annahme erhielten wir durch ESR-Untersuchungen. Aus den ESR-Spektren des DNS-Bausteins Thymin konnten Shields und Gordy (1959) ein Radikal der folgenden Struktur



identifizieren, das durch eine Anlagerung von atomarem Wasserstoff an die 6-er Position im Thyminring entsteht. Auch den bei Bestrahlung in Suspension gefundenen Aktivierungsenergien könnten Radikalreaktionen zugrunde liegen. Nach Hart und Platzman (1961) kann die Schädigung im Flüssigen durch Abstraktions- und Anlagerungsreaktionen mit den H-Atomen der in der Lösung befindlichen organischen Substanzen durch die reaktiven H- und OH-Radikale erfolgen. Die dazu erforderlichen Aktivierungsenergien werden mit 4 - 6 kcal/Mol angegeben. Dieser Wert stimmt sehr gut mit den von uns gemessenen Daten überein.

Einer neueren Arbeit von Cercek (1966) zufolge erscheint es als durchaus möglich, dem Strahlenschaden in Suspension auch Reaktionen des Biomoleküls mit den bei der Radiolyse des Wassers ebenfalls gebildeten hydratisierten Elektronen zuzuordnen. Mit Hilfe der Puls-Radiolyse-Technik bestimmte Cercek für Reaktionen organischer Substanzen und hydratisierten Elektronen eine Aktivierungsenergie von $3,5 \pm 1$ kcal/Mol. Nachdem auch andere Autoren (Allen, Ebert und Willamowski, 1966) mit der gleichen Versuchstechnik an organischen und anorganischen Substanzen ebenfalls Werte um 3 - 4 kcal/Mol erhielten, könnte damit ein weiterer

Vorgang gefunden sein, der für strahleninduzierte Veränderungen in Suspensionen verantwortlich gemacht werden kann.

Die kleinste durch unsere Messungen gefundene Aktivierungsenergie von etwa 0.4 kcal/Mol wurde an den bisher untersuchten biologischen Objekten in keinem Fall beobachtet. Über das mögliche Auftreten dieser Komponente auch an diesen Objekten kann z.Zt. keine Aussage gemacht werden, da hierzu Messungen bis zu sehr tiefen Temperaturen vorliegen müssen, die tiefsten bislang untersuchten Temperaturen jedoch bis auf zwei Ausnahmen (Webb et al., 1958, Brustad, 1964) 77 °K nicht unterschreiten. Eine Analyse der Meßdaten von Webb et al. an Sporen des *B. megaterium* und von Brustad an Trypsin ergab, daß bei *B. megaterium* die Existenz dieser kleinen Aktivierungsenergie möglich erscheint, jedoch zur Bestätigung zusätzliche Messungen bei tiefen Temperaturen erforderlich sind, während an Trypsin diese Aktivierungsenergie sehr wahrscheinlich nicht auftritt. Daher ist es nach Vergleich der bisher in der Literatur vorliegenden Untersuchungen nicht auszuschließen, daß es sich bei den von uns beobachteten 0,4 kcal/Mol um eine für Bakteriophagen charakteristische Aktivierungsenergie handelt.

Zur Deutung dieser Komponente können physikalische Eigenschaften von Molekülverbänden herangezogen werden. Die obige Aktivierungsenergie von 0.4 kcal/Mol liegt in der Größenordnung des Abstandes von Schwingungsniveaus bei Molekülen. Damit besteht die Möglichkeit, Energie von z.B. angeregten Molekülen über Exciton-Phononen-Wechselwirkung auf Moleküle zu übertragen, die dadurch die Ionisierungsgrenze erreichen und damit zum biologischen Schaden beitragen können. Prozesse der Energiewanderung in ihren unterschiedlichsten Formen wurden bisher zur Erklärung der strahlenbedingten Veränderungen von vielen Autoren herangezogen (u.a. Timoféeff-Ressovsky, Zimmer und Delbrück, 1935, Alexander und Charlesby, 1954, Dote und Williams, 1959, Szent-Györgyi, 1957, Zimmer, 1960).

Mit der nachfolgenden Hypothese soll versucht werden, die Existenz von Potentialmulden in der biologischen Materie mit der beobachteten Temperaturabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit in Zusammenhang zu bringen. Die Wahrscheinlichkeit dafür, daß die während der Bestrahlung entstehenden reaktiven Agentien in Potentialmulden festgehalten werden, bevor sie mit dem biologischen Objekt reagieren können, steigt mit sinkender Temperatur exponentiell an. Es ist nun ohne weiteres denkbar, daß verschiedene Formen derartiger Senken im organischen Material existieren, wobei jeweils eine bestimmte Energie benötigt wird, um die darin festgehaltenen ("getrapten") primären Bestrahlungsprodukte wieder in Freiheit zu setzen. Unsere Ergebnisse und damit auch die Resultate an anderen bestrahlten Objekten, bei denen verschiedene Aktivierungsenergien ermittelt werden konnten, erlauben nach dieser Vorstellung die Annahme, die gefundenen Aktivierungsenergien mit dem Energiebetrag in Beziehung zu setzen, der für diesen Vorgang des "de trapping" benötigt wird. Es muß jedoch betont werden, daß in den gemessenen Aktivierungsenergien auch der Energiebetrag enthalten ist, der nach Freisetzung der getrapten Spezies für Reaktionen dieser mit den organischen Molekülen erforderlich ist.

Wir haben somit eine Reihe von Modellen zur Verfügung, die es uns ermöglichen, das gefundene Temperaturverhalten zu verstehen. Um jedoch eine eindeutige Zuordnung zwischen den auf Grund dieser Modelle möglichen Reaktionen und der auftretenden Temperaturabhängigkeit zu gewährleisten, muß durch strahlenchemische Untersuchungen bewiesen werden, daß diese Prozesse tatsächlich für den resultierenden Schaden verantwortlich sind. Da mit solchen Versuchen in den Ablauf der im Untersuchungsobjekt stattfindenden Lebensvorgänge eingegriffen werden muß, sind die Resultate entweder mit einem sehr großen Fehler behaftet oder können nur unter sehr großem meßtechnischen Aufwand erhalten werden. Selbst an so relativ einfach gebauten Organismen, wie es die Bakteriophagen darstellen, konnten

daher auf diesem Wege bisher keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden.

Die einzige Versuchstechnik, mit der es bisher gelang, in umfangreicherem Maße Informationen über einige der primären Bestrahlungsprodukte sowie deren Sekundärreaktionen zu erhalten, besteht in der Untersuchung der durch die Bestrahlung erzeugten freien Radikale.

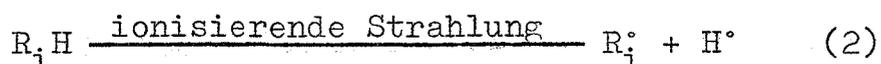
Erstaunlich ist dabei die Tatsache, daß unsere bei der Inaktivierung von T1-Phagen gewonnenen Ergebnisse sehr gut mit denen nach Auswertung von Radikalausbeutemessungen an verschiedenen biologischen Substanzen erhaltenen übereinstimmen. So konnten Müller und Köhnlein (1964) zeigen, daß die Radikalausbeute an bei Zimmertemperatur bestrahlten Nucleosiden um den Faktor 2 - 3 höher liegt als nach Bestrahlung bei 77 °K und anschließender Erwärmung auf 295 °K. Den gleichen Wert konnten wir für das Verhältnis der Inaktivierungskonstanten bei denselben Temperaturen an trockenen T1-Phagen finden.

Messungen von Henriksen (1963), Henriksen (1966), Setlow und Doyle (1953), Brustad (1964), Pollard, Powell und Reaume (1952), Müller (1964), Hotz (1965), Günther und Jung (1967), Hermann (1966) an weiteren verschiedenen biologischen Substanzen ergaben ebenfalls einen Wert von 2 - 3 für das Verhältnis der Radikalausbeuten bzw. der Inaktivierungskonstanten bei 295 °K und 77 °K. In Tabelle IX sind einige an T1- und ØX-Phagen von verschiedenen Autoren gefundenen Verhältnisse der Inaktivierungskonstanten zusammengestellt. Auch die aus den Temperaturverläufen der Inaktivierungskonstanten sowie der Radikalausbeuten errechneten Aktivierungsenergien stimmen bei einer Reihe von Enzymen und Bakteriophagen überein, wie dies in Tabelle VIII zum Ausdruck kommt. Damit erscheint es als nicht unwahrscheinlich, daß die den gefundenen Aktivierungsenergien zuzuordnenden Vorgänge bei Phagen, Enzymen und Sporen von gleicher Natur sind und die Beteiligung von Radikalprozessen möglicherweise eine große Rolle spielt.

4. Temperatureinfluß auf Schutz- und Sensibilisierungstoffe

Um weitere Anhaltspunkte über die durch ionisierende Strahlen ausgelösten Vorgänge zu gewinnen, wurde die Strahlenempfindlichkeit bei einigen Versuchsserien verändert. Die Desensibilisierung wurde durch Hinzufügen des Schutzstoffes Cystamin (Bacq, 1965, Hotz, 1965) erreicht; durch Einbau des basenanalogen Bromuracil anstelle von Thymin in die DNS des Phagen konnte die Empfindlichkeit gesteigert werden (Stahl et al., 1961). Bevor die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse diskutiert werden, soll kurz etwas zur Wirkungsweise dieser Substanzen gesagt werden.

Zur Erforschung des Schutzeffektes ist bisher eine Reihe von Modellen entwickelt worden (Gray, 1956, Eldjarn und Pihl, 1960, Prevot-Bernat, 1953, Alexander und Charlesby, 1955, Braams, 1963). Da die Modelle von Gray sowie Eldjarn und Pihl für unsere Untersuchungen weniger geeignet erschienen, sollen hier besonders das sogenannte Wasserstoffdonatormodell von Prevot-Bernat/Alexander und Charlesby und eine Hypothese von Braams skizziert werden. Nach dem Wasserstoffdonatormodell können die nach folgendem Schema entstehenden Strahlenschäden



durch SH-haltige Substanzen repariert werden, indem ein H-Atom von der Schutzsubstanz (SH) auf das Bioradikal (R^\bullet) übertragen wird:

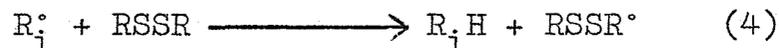


ESR-Untersuchungen von Ormerod und Alexander (1963) an Lachsspermien konnten die nach Gleichung 3 postulierte Reaktion nachweisen.

Nach Hotz (1965) ist auch der Vorgang der Elektronendonation von Schwefel an das Biomolekül als Schutzreaktion denkbar, dies besonders bei Anwesenheit von H^+ -Ionen.

Nach einer Deutung von Braams (1963) beruht die Schutzwirkung SH-haltiger Substanzen auf der Tatsache, daß sie als Radikalscavanger fungieren. Dabei reagieren nach seiner Hypothese fast ausschließlich Wasserstoff- und andere kleine diffusible Radikale mit der SH-Verbindung, wodurch ein maximaler Schutzeffekt von etwa 2 zu erwarten ist.

Da die angegebenen Modelle für die Schutzwirkung sich auf SH-Substanzen als Schutzstoffe beziehen, wurde von Hotz (1966) auf Grund von Arbeiten der Gruppe Pryor und Mitarbeiter (1963) die Möglichkeit aufgezeigt, daß die H-Donation nicht nur bei SH-haltigen Verbindungen, sondern auch bei Disulfiden wie Cystamin stattfinden kann. Die Schutzreaktionen würden dann beim Wasserstoffdonatormodell durch die Gleichung



und für den Schutzmechanismus nach Braams durch die Gleichung: $\dot{H} + RSSR \longrightarrow RSSR^\cdot + H_2 \quad (5)$

beschrieben werden können.

Für die sensibilisierende Wirkung der BU-Substitution (Djordjevic und Szybalski, 1960, Opara-Kubinska, Kurylo-Boravska und Szybalski, 1963) ist bisher noch kein befriedigendes Modell entstanden. Von Lochmann (1963) wurde festgestellt, daß der prozentuale BU-Abbau in BU-haltigen Enterococcus Stei-Zellen um den Faktor 5 - 10 höher liegt als der des Thymins in normalen Zellen. Als Umwandlungsprodukt des BU fand er Uracil. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch das Ergebnis von ESR-Untersuchungen an Thymin und BU. Müller, Köhnlein und Zimmer (1963) fanden, daß für die Bildung freier Radikale im Thymin 1400 eV, im Bromuracil dagegen nur 160 eV erforderlich sind. Summers

und Szybalski (1965) geben an, daß sich bei Bestrahlung von BU-substituierter Einstrang-DNS die Zahl der Einstrangbrüche im Vergleich zu normaler DNS nicht verändert, jedoch Basenschäden am BU in vielen Fällen beobachtet wurden (Wacker, Mennigmann und Szybalski, 1962, Wacker, 1963). Bromuracil in wässriger Lösung wurde von Reuschl (1966) untersucht mit dem Ergebnis, daß die H- und OH-Radikale mit dem BU ein relativ stabiles Radikal bilden (Hydrouracilradikal), während durch Reaktion des BU mit dem hydratisierten Elektron ein reaktives Radikal (Uracilradikal) gebildet wird, das jeweils ein weiteres BU-Molekül angreift. Eine entsprechende Reaktion des auf diese Weise gebildeten Thyminradikals ($\text{Thymin} + e^{-aq}$) wurde bisher nicht beobachtet.

Während man bisher der Überzeugung war, daß die BU-Sensibilisierung keine Temperaturabhängigkeit aufweist (Tanooka, 1964, Hotz, 1965, Hermann, 1966) und daher mit direkter Strahlenwirkung gedeutet wurde, ist aus unseren Ergebnissen ein deutlicher Temperatureinfluß erkennbar. Es kann somit auch die Teilnahme indirekter Effekte bei der BU-Sensibilisierung nicht ausgeschlossen werden. Mit der Annahme, daß die von Reuschl (1966) beschriebenen Radikalreaktionen für BU in wässriger Lösung auch in BU-substituierten Phagen bei Anwesenheit von Wasser ablaufen, kann sogar eine T-Abhängigkeit erwartet werden. Daß von Hotz (1965) diese Abhängigkeit nicht gefunden wurde, liegt vermutlich daran, daß seine Untersuchungen nur bei 77 °K und 293 °K ausgeführt wurden, bei Temperaturen also, wo in Suspension auch bei unseren Messungen gleiche Strahlenempfindlichkeit vorliegt (Tabelle IV).

Unsere Temperaturabhängigkeit kann jedoch nicht mit den von Reuschl (1966) gefundenen Vorgängen erklärt werden, da aus unseren Messungen auf einen desensibilisierenden Einfluß des Wassers und/oder der Wasserradikale geschlossen werden kann; denn im Flüssigen ($T > \sim 250$ °K) wird eine

mit steigender Temperatur zunehmende Desensibilisierung beobachtet, die bei etwa 330 °K die BU-Sensibilisierung fast vollständig aufhebt und praktisch unabhängig von Cystaminan- bzw. Cystaminabwesenheit ist. Es ist daher denkbar, daß die bei der Radiolyse des Wassers entstehenden Radikale bei höheren Temperaturen ($\sim > 300$ °K) vorzugsweise mit den durch die BU-Substitution zusätzlich gebildeten schädigenden Bestrahlungsprodukten reagieren und somit die BU-Sensibilisierung aufheben. Eine Stütze dieser Annahme kann in dem unterschiedlichen Verlauf der durch Cystaminanwesenheit bedingten Schutzfaktoren bei T1- und T1-BU-Phagen gesehen werden. Wie weiter unten gezeigt werden wird, ist der bei T1-Phagen oberhalb des Gefrierpunktes beobachtete Anstieg des Schutzfaktors mit der Temperatur auf die größeren Diffusionslängen speziell der Wasserradikale zurückzuführen. Daß dieser Anstieg bei Cystamin-geschützten BU-Phagen jedoch nicht auftritt - der Schutzfaktor nimmt sogar leicht ab - kann mit der oben herangezogenen Hypothese zur Deutung der BU-Desensibilisierung im Wasser verstanden werden. Die schädigenden und für den Temperatureffekt mit verantwortlichen Wasserradikale reagieren bei T1-BU-Phagen und ansteigender Temperatur mit größerer Wahrscheinlichkeit mit den Bestrahlungsprodukten des BU als mit dem Biomolekül. Dadurch ist der Prozentsatz an Wasserradikalen, der durch Reaktion mit Cystamin unschädlich gemacht wird (Schutzmechanismus) bei BU-Phagen kleiner als bei T1-Phagen, wie es auch aus Tabelle III ersichtlich wird. Dieser interessante Effekt wurde bisher noch nicht gemessen, da er erst oberhalb von 300 °K merklich in Erscheinung tritt und die in der Literatur angegebenen Temperaturen für Untersuchungen an T1 und T1-BU-Phagen 300 °K nicht überschreiten.

Der im Eis und im Trockenen auftretende Temperatureinfluß bei der Sensibilisierung kann auf temperaturabhängigen Reaktionen von Radikalen beruhen, die bei der direkten Wirkung der Strahlung auf das Bromuracil entstehen

und entweder weiter reagieren (zusätzliche indirekte Schädigung) oder rekombinieren. Bei den tiefsten Temperaturen kann die Sensibilisierung mit dem Auftreten zusätzlicher direkter Effekte am Bromuracil im Vergleich zum Thymin der normalen Phagen verstanden werden. Dies steht auch im Einklang mit den vorhin erwähnten Ergebnissen von Müller, Köhnlein und Zimmer (1963), wonach für die Radikalerzeugung am Bromuracil ein wesentlich geringerer Energiebetrag erforderlich ist als bei Thymin.

Für die Erklärung der bei Anwesenheit von Cystamin eintretenden Schutzwirkung gegenüber ionisierender Strahlen soll auf die Radikalfänger-Eigenschaften von schwefelhaltigen Substanzen (Braams, 1963, Hotz, 1965) hingewiesen werden. Um das Modell von Braams (1963) zur Erklärung unserer Ergebnisse anzuwenden, muß seine Gültigkeit erweitert werden, da es ursprünglich für trockene Enzyme und SH-haltige Schutzsubstanzen entwickelt wurde. Da es nach Hotz (1965) wahrscheinlich ist, daß Cystamin (-SS-) und Cysteamin (-SH) nach dem gleichen Mechanismus schützen und Braams die Gültigkeit seiner Modelle auch bei Anwesenheit von Wasser für möglich hält, soll versucht werden, den Cystaminschutz im Trockenem und in Suspension nach diesem "verallgemeinerten Modell" zu diskutieren.

Die Schutzwirkung im Trockenem bei normalen T1-Phagen kann mit der Reaktion nach Gleichung (5) verstanden werden. Dabei müssen nicht notwendig alle erzeugten H-Radikale beseitigt werden, was nach dem bei einer 0.1 m Cystaminkonzentration beobachteten maximalen Schutzeffekt (Hotz, 1966) theoretisch zu erwarten wäre, denn es ist auch denkbar, daß die Cystaminmoleküle aus sterischen Gründen nicht an alle strahlenempfindlichen Stellen im Phagen gelangen können, wobei es dann den dort erzeugten H-Radikalen trotz Cystaminanwesenheit gelingen kann, durch Diffusion weiteren Schaden zu verursachen. Diese H-Radikale, sowie die weiteren nicht durch Cystamin schützbaeren radikalischen und nicht-

radikalischen Spezies sollen dann mit für den Temperatureffekt verantwortlich sein.

Für den im Eis an normalen Phagen gemessenen Schutzfaktor wird der gleiche Mechanismus angenommen, jedoch mit dem Zusatz, daß ein großer Teil des Cystamins auch mit den im Wasser zusätzlich neben den am Biomolekül gebildeten H-Radikalen reagiert, die normalerweise rekombinieren, da sie wegen der kurzen Diffusionslängen im Eis nicht bis zu den Phagen gelangen können. Zum ermittelten Schutzfaktor tragen daher diese im Eis zusätzlich ablaufenden Reaktionen nicht bei, da die bei der Wasserradiolyse gebildeten Radikale auch bei Anwesenheit von Cystamin zum größten Teil vor der zum Nachweis der Strahlenschädigung erforderlichen Erwärmung der Untersuchungsobjekte bereits rekombiniert haben. Findet die Bestrahlung jedoch oberhalb des Gefrierpunktes statt, so steigt die Diffusionslänge der Wasserradikale mit zunehmender Temperatur an, die Phagen können also bei ansteigender Temperatur in zunehmendem Maße auch von weiter entfernt gebildeten Radikalen angegriffen werden, womit der auch beobachtete Anstieg der Strahlenempfindlichkeit erklärt werden kann. Bei Anwesenheit von Cystamin tragen dann in diesem Temperaturbereich mit wachsendem Anteil auch die Reaktionen von Cystamin mit den Wasserradikalen zum Schutzfaktor bei, die im Eis keinen Beitrag geben (begrenzte Diffusionslänge, siehe oben).

Bei Anwesenheit von Bromuracil (BU) in der Phagen-DNS wird im Trockenen durch Cystamin ein um 50 % größerer Schutzfaktor als bei Abwesenheit dieser Substanz erreicht. Zur Klärung dieses Ergebnisses kann angenommen werden, daß nach BU-Einbau zusätzliche Radikale erzeugt werden, die bei Zugabe von Cystamin durch eine Reaktion mit diesem Schutzstoff unschädlich gemacht werden. Es besteht weiterhin die Möglichkeit, daß die gebildeten H-Radikale mit einer größeren Reaktionsrate mit dem eingebauten BU reagieren, als wenn sich an seiner Stelle Thymin in der DNS

befindet. Bei dieser Annahme würden prozentual mehr H-Radikale für auftretende Schäden bei T1-BUDR-Phagen als bei normalen T1-Phagen verantwortlich sein. Daher kann durch Hinzufügen des H-scavengers Cystamin ein im Vergleich mit normalen Phagen erhöhter Schutzfaktor erwartet werden, da mehr weggefangene H-Radikale potentielle Schädiger sind.

Im Eis tritt dieser zusätzliche Schutz (BU-Desensibilisierung) nicht oder nur in stark reduziertem Ausmaß auf. Als Folge der soeben postulierten hohen Reaktionsrate zwischen H und BU und der durch den großen Überschuß an Wassermolekülen reduzierten Cystaminkonzentration tritt im Eis die Schutzreaktion $H + CSSC$ gegenüber der schädigenden Reaktion $H + BU$ in den Hintergrund.

Bei T1-BUDR-Phagen im Flüssigen wird im Gegensatz zum Eis bei Anwesenheit von Cystamin eine zusätzliche Desensibilisierung gefunden. Oben wurde dieser Effekt damit erklärt, daß eine oberhalb des Gefrierpunktes einsetzende Reaktion der Bestrahlungsprodukte des Wassers mit den durch die BU-Substitution zusätzlich gebildeten schädigenden Bestrahlungsprodukten angenommen wurde.

Mit Cysteamin beschreiben Hotz und Zimmer (1963) einen ähnlichen Effekt an T1-BUDR-Phagen. Die Autoren nehmen an, daß offenbar nur im Flüssigen ein Produkt entsteht, welches durch eine chemische Reaktion mit Cysteamin für eine Schädigung unwirksam gemacht wird.

Zum Schluß soll noch auf ein interessantes Ergebnis über den Einfluß des Sauerstoffs bei der Bestrahlung von Phagen in Suspension hingewiesen werden. In Arbeiten von Howard-Flanders et al. (1963) und Hotz (1966) wurde festgestellt, daß die sensibilisierende Wirkung von Sauerstoff bei der Bestrahlung von T1-Phagen mit Schutzstoff nach Überschreiten einer Mindestkonzentration dieses Schutzstoffes (Mercaptoethanol, Cysteamin, Cystamin) aufgehoben werden kann. Howard-Flanders et al. geben an, daß auf Grund der unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten von Schutz-

stoff- und Sauerstoffmolekülen mit den gebildeten Radikalen das molare Verhältnis von Schutzstoff zu Sauerstoff im Bestrahlungsmedium 30:1 betragen muß, wenn beide Reaktionen mit gleicher Wahrscheinlichkeit ablaufen sollen. Soll die Reaktion des Sauerstoffs mit den Radikalen unterdrückt werden, muß ein größerer Überschuß (> 30:1) an Schutzstoffmolekülen vorhanden sein. In unserem Fall wird ein derartiger Überschuß mit einer 0.1-molaren Cystaminkonzentration bei T1-Phagen in 4 % NB bei Zimmertemperatur erreicht. Bestrahlungen mit und ohne Sauerstoffatmosphäre bedingen in diesem Medium keine Änderung der D_{37} -Werte. Beim Übergang zu tieferen Temperaturen (195 °K) wird allerdings bei unseren Messungen wieder ein Sauerstoffeffekt an cystamingeschützten T1-Phagen beobachtet. Die Strahlenempfindlichkeit steigt beim Übergang von einer N_2 -gesättigten T1-Phagensuspension zu einer O_2 -gesättigten bei 0.1-molarer Cystaminkonzentration um 40 % an. Dies ist ohne weiteres einzusehen, wenn man berücksichtigt, daß sich die Reaktionsraten von Cystamin mit den schädigenden Radikalen sowie die entsprechende Reaktion mit Sauerstoff beim Übergang zu tiefen Temperaturen verschieden stark ändern. Die Cystaminmoleküle sind wesentlich größer als die Schutzstoffmoleküle, letztere können daher auch bei tieferen Temperaturen leichter diffundieren als dies den Schutzstoffmolekülen möglich ist. Eine entsprechende Erhöhung der Cystaminkonzentration sollte auch in diesem Temperaturbereich die sensibilisierende Wirkung des Schutzstoffes kompensieren können.

V. Zusammenfassung

Es wurden mit ^{60}Co - γ -Strahlen Untersuchungen am Coli-Phagen T1 ausgeführt. In Abhängigkeit von der Temperatur, die im Bereich von 4.2 °K bis 330 °K variiert werden konnte, wurde untersucht, in welcher Weise die Strahlenempfindlichkeit durch die An- und Abwesenheit von Wasser, die An- und Abwesenheit des Schutzstoffes Cystamin und

die Sensibilisierung durch BU-Einbau in die Phagen-DNS beeinflusst werden kann.

Im genannten Temperaturbereich ändert sich bei Abwesenheit von Wasser (Trocken) die Strahlenempfindlichkeit um ca. einen Faktor 2, während bei Anwesenheit von Wasser (Suspension) diese Änderung im Durchschnitt fast eine Größenordnung beträgt. Die höhere Empfindlichkeit im zweiten Fall wurde mit der zusätzlich schädigenden Wirkung der bei der Radiolyse des Wassers entstehenden Bestrahlungsprodukte erklärt. In Suspension wurde gefunden, daß die Strahlenempfindlichkeit unterhalb des Gefrierpunktes davon abhängt, auf welche Art die Bestrahlungstemperatur erreicht wird, wobei ebenfalls der Titer der Phagensuspension eingeht. Die Ursache dieses Effektes wurde auf die verschiedenen Kristallstrukturen des Eises und die begrenzten Diffusionslängen der Bestrahlungsprodukte des Wassers zurückgeführt.

Wird die Temperaturabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit S in Form des sogenannten Arrheniusplots ausgewertet, so erhält man Aktivierungsenergien im Bereich 0 bis 6 kcal/Mol, denen verschiedene für die Inaktivierung des Phagen verantwortliche Reaktionen zugeordnet werden können. In allen untersuchten Fällen kann die Strahlenempfindlichkeit als Funktion der Temperatur durch Überlagerung eines temperaturunabhängigen und eines aus zwei Komponenten bestehenden temperaturabhängigen Anteils dargestellt werden:

$$S = S_0 \left(1 + F' e^{-E'_1/RT} + F'' e^{-E''_2/RT} \right) \text{ Mrad}^{-1}$$

Es wurde zum ersten Mal gezeigt, daß diese Abhängigkeit auch bei Anwesenheit von Wasser gilt.

Durch die Untersuchungen bis zu Temperaturen des flüssigen Heliums (4.2 °K) konnte sowohl im Trockenen als auch in Suspension das mögliche Vorliegen einer bisher an keinem organischen Objekt beobachteten kleinsten Aktivierungsenergie von 0.38 kcal/Mol gezeigt werden.

Die 1 kcal-Komponente im Trockenen sowie die in Suspension auftretenden 2,8 - 5,3 kcal/Mol stimmen sehr gut mit den von verschiedenen Autoren an einer Reihe von organischen Objekten gemessenen Aktivierungsenergien überein. Es besteht daher Grund zur Annahme, daß unseren Resultaten eine über den speziellen Fall des T1-Phagen hinausgehende allgemeine Bedeutung für den Mechanismus der Strahlenschädigung an organischer Materie beigegeben werden kann.

Bei Anwesenheit von Cystamin wird unter allen Versuchsbedingungen eine Schutzwirkung erhalten, die mit einem verallgemeinerten Modell von Braams (1963) qualitativ gedeutet werden kann.

Wird in der T1-DNS das Thymin durch Bromuracil (BU) ersetzt, so tritt eine Sensibilisierung gegenüber γ -Strahlen auf, die durch Cystaminanwesenheit während der Bestrahlung teilweise reduziert wird. Oberhalb Zimmertemperatur geht die Sensibilisierung bei suspendierten T1-BU-Phagen sowohl bei An- als auch bei Abwesenheit von Cystamin nahezu vollständig zurück. Diese Ergebnisse werden mit dem Ablaufen spezieller Radikalprozesse gedeutet.

VI. Literaturverzeichnis

Adams, M.H. (1950)

Methods of study of bacterial viruses. In: "Methods in medical research". (ed.: I.H. Comroe).

The year book publish. Inc., Chicago, Vol. II

Adams, M.H. (1959)

Bacteriophages.

Interscience Publish. Inc. New York

Adams, W. and E. Pollard (1951)

Combined thermal and primary ionization on a bacterial virus.

Arch. Biochem. Biophys. 36, 311

Alexander, P. (1957)

The relative importance of direct and indirect radiochemical processes in radiobiology.

In "Advances in Radiobiology" (ed.: G. Hevesy, A. Forssberg and I. Abbat), Oliver and Boyd, Edinburgh/London.

Alexander, P. and A. Charlesby (1954)

Energy transfer in macromolecules exposed to ionizing radiations.

Nature 173, 578

Alexander, P. and A. Charlesby (1955)

Physico-chemical methods of protection against ionizing radiations.

In: "Radiology Symposium" 1954

(ed. Bacq und Alexander), Butterworth, London

Allen, A., M. Ebert and K.-U. Willamowski (1966)

Activation energies of reactions of the hydrated electron.

In: Paterson Laboratories, Annual Report 1966.

Christie Hospital & Holt Radium Institute Manchester

Augenstein, L., T. Brustad and R. Mason (1964)
The relative roles of ionization and excitation processes
in the radiation inactivation of enzymes.

In: "Advances in radiation biology".

(ed.: Augenstein, Mason and Quastler) Academic Press
New York and London

Bachofer, C., C. Ehret, S. Mayer and E. Powers (1953)
The influence of temperature upon the inactivation of a
bacterial virus by X-rays.

Proc. Nat. Acad. Sci. 39, 744

Bacq, Z.M. (1965)

Chemical protection against ionizing radiation.

Charles C. Thomas Publ., Springfield, Illinois.

Bacq, Z.M. and P. Alexander (1961)

Fundamentals of Radiobiology.

Pergamon Press, London, New York

Bolt, R.O. and J.G. Carroll (1963)

Radiation effects on organic materials.

Academic Press, New York and London

Braams, R. (1963)

A mechanism for the direct action of ionizing radiation.

Nature 200, 752

Bresch, C. (1952)

Unterscheidung verschiedener Bakteriophagentypen durch
Farbindikatornährboden.

Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektions-
krankheiten und Hygiene I Org. 159, 47

Brustad, T. (1961)

Molecular and cellular effects of fast charged particles.

Rad. Res. 15, 139

Brustad, T. (1964)

Heat as a modifying factor in enzyme inactivation by ionizing radiation.

In: "The biological effects of Neutron irradiations"
International atomic energy agency, Vienna

Casey, E. (1962)

Biophysics.

Reinhold Publishing Corporations, New York, Chapman & Hall,
London

Cercek, B. (1966)

Activation energies and entropy changes for hydrated electron reactions.

In: "Paterson Laboratories", Annual Report 1966

Christie Hospital & Holt Radium Institute Manchester

Chapiro, A. (1964)

Radiation chemistry of polymers.

Rad. Res. Suppl. 4, 179

Dainton, F. and F. Jones (1962)

Aspects of the radiation chemistry of fluid and rigid aqueous solutions containing nitrous oxide and ferrous ions.

Rad. Res. 17, 388

Djordjevic, B. and W. Szybalski (1960)

Genetics of human cell lines. III. Incorporation of 5-bromo and 5-iododeoxyuridine into the deoxyribonucleic acid of human cells and its effect on radiation sensitivity.

J. Exptl. Med. 112, 509

Dote, H. und T. Williams (1959)

Energy-transfer in polyethylene and polyethylene-polybutadiene mixtures during γ -irradiation.

Discussions Faraday Soc. 27, 74

Ehrenberg, A., L. Ehrenberg and K.G. Zimmer (1957)
On the production of magnetic centres in glycine.
Acta Chem. Scand. 11, 199

Eldjarn, L. and A. Pihl (1960)
Mechanisms of protective and sensibilizing action.
In: "Mechanisms in Radiobiology". (ed.: M. Errera and
A. Forsberg).
Academic Press New York, Vol. 2

Ellis, E.L. and M. Delbrück (1939)
The growth of bacteriophage.
J. Gen. Physiol. 22, 365

Flournoy, J., L. Baum and H. Siegel (1962)
Disappearance of trapped hydrogen atoms in gamma-irradiated
ice.
J. Chem. Phys. 36, 2229

Fluke, D. (1966)
Temperature dependence of ionizing radiation effect on
dry lysozyme and ribonuclease.
Rad. Res. 28, 677

Franck, J. and E. Rabinowitsch (1934)
Some remarks about free radicals and the photochemistry
of solutions.
Trans. Farad. Soc. 30, 120

Freifelder, D. (1965)
Mechanism of inactivation of coliphage T7 by X-rays.
Proc. Nat. Acad. Sci. US 54, 128

Freifelder, D. (1966)
Lethal changes in bacteriophage DNA by X-rays.
Rad. Res. Suppl. 6, 80

Gray, L. (1956)

A method of oxygen assay applied to a study of the removal of dissolved oxygen by cysteine and cysteamine.

In: "Progress of Radiobiology" (ed. I.S. Mitchell, B.E. Holmes and C.L. Smith)

Oliver and Boyd, Edinburgh and London

Günther, H. und K.O. Hermann (1967)

Temperatur- und Schutzstoffeffekte bei der Inaktivierung von ØX-174 Phagen mit Protonen.

Z. Naturforschg. 22b, 53

Günther, W. und H. Jung (1967)

Der Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit von Ribonuclease.

Z. Naturforschg. 22b, 313

Guild, W.R. (1963)

The radiation sensitivity of DNA.

Rad. Res. Suppl. 3, 257

Hart, E.I. and R.L. Platzman (1961)

Radiation Chemistry.

In: "Mechanisms in Radiobiology" (ed.: Errera and Forrsberg)
Academic Press, New York and London

Henriksen, T. (1962)

Radiation induced free radicals in sulfur compounds. ESR studies in the polycrystalline state.

J. Chem. Phys. 37, 2189

Henriksen, T. (1963)

ESR-studies on the formation and properties of free radicals in irradiated sulfur-containing substances.

University Press Oslo

Henriksen, T., T. Sanner and A. Pihl (1963a)

Transfer of radiation induced unpaired spins from protein to sulfur compounds.

Rad. Res. 18, 163

Henriksen, T., T. Sanner and A. Pihl (1963b)
Secondary processes in proteins irradiated in the dry state.
Rad. Res. 18, 147

Henriksen, T. (1966)
Effect of the irradiation temperature on the production of
free radicals in solid biological compounds exposed to
various ionizing radiation.
Rad. Res. 27, 694

Hermann, K.O. (1966)
Der Einfluß der Temperatur auf die Strahlenempfindlichkeit
von T1-Phagen.
Z. Naturforschg. 21b, 678

Hotz, G. (1965)
Chemische und physikalische Beeinflussung der Strahlen-
wirkung auf Coliphagen.
Habilitationsschrift TH Karlsruhe

Hotz, G. (1966)
Untersuchungen über den Mechanismus des Strahlenschutzes
von Thiol- und Disulfidverbindungen am Modell biologischer
Elementareinheiten.
Z. f. Naturforschg. 21b, 148

Hotz, G. and A. Müller (1968)
The action of heat and ionizing radiation on the
infectivity of isolated ØX-174 DNA.
Proc. Nat. Acad. Sci. (im Druck)

Hotz, G. and K.G. Zimmer (1963)
Experiments in radiation chemistry of T1-phage.
Int. J. Rad. Biol. 7, 75

Houtermans, T. (1956)
Über den Einfluß von Temperatur auf biologische Strahlen-
wirkungen. 2. Mitteilung. Inaktivierung von trockenen und
feuchten Sporen von Bac. subtilis durch α - und X-Strahlen.
Z. Naturf. 11b, 636

Howard-Flanders, P., J. Levin and L. Theriot (1963)
Reactions of deoxyribonucleic acid radicals with
sulfhydryl compounds in X-irradiated bacteriophage-
systems.

Rad. Res. 18, 593

Hutchinson, F. (1960)

Modifying factors in the inactivation of biological
macromolecules.

Rad. Res. Suppl. 2, 49

Jacobs, S. (1962)

The solid state gamma irradiation of crystalline amino
acids and sugars.

Dissertation - University of Colorado

Jung, H. und K. Kürzinger (1967)

Private Mitteilung.

Kohlrausch, F.

Praktische Physik, Band 2.

(ed.: B.G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart)

Kürzinger, K. und H. Jung (1968)

Strahleninaktivierung von Ribonuclease bei erhöhten
Temperaturen und unterschiedlichen Dosisraten.

Z. Naturforschg. (im Druck)

Latarjet, R. and E. Ephrati (1948)

Influence protectrice de certaines substances contre
l'inactivation d'un bacteriophage par les rayons X.

Compt. rend. Soc. Biol. 142, 497

Latarjet, R., B. Ekert and P. Demerseman (1963)

Peroxydation of nucleic acids by radiation: biological
implications.

Rad. Res. 3, 247

Lea, D.E. (1962)

Actions of radiations on living cells.

Cambridge - University Press

Lochmann, E.R. (1963)

Die Umwandlung von 5-BU-2-¹⁴C durch Röntgenstrahlen in vivo und in vitro.

Naturwissenschaften 50, 520

Meryman, H.T. (1966)

Cryobiology.

Academic Press, London and New York

Müller, A. (1964)

Spektrographische Untersuchungen mittels paramagnetischer Elektronenresonanz über die Wirkung ionisierender Strahlen auf elementare biologische Objekte.

Akad. Wiss. Lit. (Mainz)

Abh. Math. Naturw. Klasse 5, 140

Müller, A. und K.G. Zimmer (1959)

Einige Anwendungsmöglichkeiten der Mikrowellenspektroskopie in der quantitativen Strahlenbiologie.

Strahlentherapie 109, 12

Müller, A. and W. Köhnlein (1964)

Quantitative ESR-measurements of radiation induced radicals in nucleosides.

Int. J. Rad. Biol. 8, 121

Müller, A., W. Köhnlein and K.G. Zimmer (1963)

X-ray-induced unpaired spins in nucleic acid bases.

J. Mol. Biol. 7, 92

Norman, A. and P. Spiegler (1962a)

A thermal decomposition model for radiation damage in solids.

Rad. Res. 16, 599

Norman, A. and P. Spiegler (1962b)

Thermal spikes in protein.

J. Appl. Phys. 33, 2658

Opara-Kubinska, Z., Z. Kurylo-Borowska and W. Szybalski (1963)
Genetic transformation studies. III. Effect of UV-light on
the molecular properties of normal and halogenated deoxyribo-
nucleic acid.

Biochem. Biophys. Acta 72, 298

Ormerod, M. and P. Alexander (1963)

On the mechanism of radiation protection by cysteamine:
An investigation by means of ESR.

Rad. Res. 18, 495

Patten, F. and W. Gordy (1961a)

Temperature effects on the free radical formation and
electron migration in irradiated proteins.

Proc. Nat. Acad. Sci. US 46, 1137

Patten, F. and W. Gordy (1961b)

Temperature effects on the formation of free radicals in
the amino acids.

Rad. Res. 14, 573

Patten, F. and W. Gordy (1964)

ESR-investigations of radiation induced free radicals in
DNA and RNA at low temperatures: Effect of water.

Nature 201, 361

Platzman, F.L. (1958)

The physical and chemical basis of mechanisms in radiation
biology. In: "Radiation Biology and Medicine"

(ed.: W.D. Claus)

Addison-Wesley Publ. Co., Reading, Mass.

Platzman, R.L. (1962)

Superexcited states of molecules and the primary action
of ionizing radiation.

The Vortex (University of California) 23, No. 8

Pollard, E., W. Powell und S. Reaume (1952)

The physical inactivation of invertase.

Proc. Nat. Acad. Sci. US 38, 173

Powers, E.L. and S.F. Kaleta (1960)

Reduction of radiation sensitivity of dry bact. spores with hydrogen disulfide.

Science 132, 959

Prevot-Bernas, A. (1953)

Agents de transfert et protection chimique contre les rayonnements ionisants.

J. Chim. Phys. 50, 445

Pryor, W. and K. Platt (1963)

Reactions of radicals. V. Reaction of phenyl radicals with aliphatic disulfides.

J. Am. Chem. Soc. 85, 1496

Reuschl, H. (1965)

Kinetische Untersuchungen zur Gammarradiolyse von 5-Bromuracil in wässriger Lösung.

Z. Naturforschg. 21b, 643

Rowlands, J.R. und D.H. Whiffen (1962)

Commun at Second Intern. Conf. on Rad. Res. Harrogate.

Sanner, T. (1965)

Transfer of radiation energy to solute molecules in irradiated frozen aqueous solutions.

Rad. Res. 25, 586

Schambra, P. and F. Hutchinson (1964)

The action of fast heavy ions on biological material.

II. Effects on T1 and ØX-174 bacteriophage and double-strand and single-strand DNA.

Rad. Res. 23, 514

Setlow, R. und B. Doyle (1957)

The effect of temperature on the direct action of ionizing radiation on catalase.

Arch. Biochem. Biophys. 46, 46

Semjonov, N. (1961)

Einige Probleme der chemischen Kinetik und Reaktionsfähigkeit.

Akademie Verlag Berlin 1961

Shalek, R., C. Smith and J. Hunter (1967)

T-Dependence and effect of Glycerol on the radiation sensitivity of bacteriophage-Escherichia coli complexes related to direct and indirect radiation effect.

Rad. Res. 31, 467

Shields, H. and W. Gordy (1959)

ESR studies of radiation damage to the nucleic acids and their constituents.

Proc. Nat. Acad. Sci. 45, 269

Stahl, F. et al. (1961)

Radiation sensitivity of bacteriophage containing 5-bromo-deoxyuridine.

Virology 13, 98

Summers, W.C. and W. Szybalski (1965)

A sensitive assay for single-strand breaks in DNA molecules.

Rad. Res. 25, 76

Szent-Györgyi, A. (1957)

Bioenergetics.

Academic Press N.Y.

Szybalski, W. (1966)

Molecular events resulting in radiaticn injury, repair and sensitization of DNA.

J. Arkansas Med. Soc. 62, 488

Tanooka, H. (1964)

Direct and indirect inactivation of bacteriophage T6 containing halogenated DNA.

Rad. Res. 21, 26

Timoféeff-Ressovski, N., K.G. Zimmer und M. Delbrück (1935)
Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur.
Nachr. Ges. Wiss. Göttingen VI, N.F. 1, 189

Voevodski, V.V. and Yu. N. Molin (1962)
On the radiation stability of solid organic compounds.
Rad. Res. 17, 366

Wacker, A. (1963)
Molecular mechanisms of radiation effects.
Progr. in Nucl. Acid Res. 1, 369

Wacker, A., H.D. Mennigmann, W. Szybalski (1962)
Effect of "visible" light on 5-BU-labelled DNA.
Nature 196, 685

Watson, J. (1950)
The properties of X-ray inactivated bacteriophages
I. Inactivation by direct effects.
J. Bacteriol. 60, 697

Watson, J. (1952)
The properties of X-ray inactivated bacteriophages
II. Inactivation by indirect effects.
J. Bacteriol. 63, 473

Webb, R., C. Ehret and E. Powers (1958)
A study of the temperature dependence of radiation
sensitivity of dry spores of Bac. megaterium between 5 °K
and 309 °K.
Experientia 14, 324

Weidel, W. (1964)
Virus und Molekularbiologie.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

Wood, T. (1959)
Some aspects of cellular radiobiology.
Rev. Mod. Phys. 31, 282

Zimmer, K.G. (1959)

Evidence for free radical production in living cells
exposed to ionizing radiation.

Rad. Res. Suppl. 1, 519

Zimmer, K.G. (1960)

Studien zur quantitativen Strahlenbiologie.

Akad. Wiss. Lit. (Mainz), Abh. Math. Naturw. Klasse 3, 107

Zimmer, K.G. (1963)

Quantitative Strahlenbiologie - ein aktueller Zweig der
Grundlagenforschung.

Die Therapie des Monats 13, 102

Tabellen und Abbildungen

Tabelle I: Zusammenstellung der an T1-Phagen im Temperaturbereich 4,2 °K - 330 °K ermittelten Aktivierungsenergien.

Suspension	kcal/Mol			
	$E_a^{(0)}$	$E_a^{(1)}$	$E_a^{(2)}$	$E_a^{(3)}$
T1 (S,L)	0	0.42	-	4.1
T1-CSSC (S,L)	0	0.42	-	2.8
T1-BUDR (S,L)	0	0.42	-	3.0
T1-BUDR-CSSC (S,L)	0	0.42	-	5.3
Trocken				
T1	0	0.35	1.0	-
T1-CSSC	0	0.35	1.0	-
T1-BUDR	0	0.35	1.0	-
T1-BUDR-CSSC	0	0.35	1.0	-

Tabelle II: Mathematische Beschreibung der Temperaturabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit $S = 1/D_{37}$ nach der Arrheniusdarstellung.

		Suspension		
T1-BUDR	(S)	$S = 3,2$	$(1 + 4,0 e^{-420/RT} + 0$	$+ 210 e^{-3000/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-BUDR	(L)	$S = 2,8$	$(1 + 2,4 e^{-420/RT} + 0$	$+ 630 e^{-3000/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-BUDR-CSSC	(S)	$S = 1,7$	$(1 + 4,0 e^{-420/RT} + c$	$+ 4000 e^{-5300/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-BUDR-CSSC	(L)	$S = 1,4$	$(1 + 3,9 e^{-420/RT} + 0$	$+ 7000 e^{-5300/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1	(S)	$S = 2,2$	$(1 + 4,1 e^{-420/RT} + 0$	$+ 3400 e^{-4100/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1	(L)	$S = 1,9$	$(1 + 1,8 e^{-420/RT} + 0$	$+ 4900 e^{-4100/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-CSSC	(S)	$S = 1,4$	$(1 + 2,4 e^{-420/RT} + 0$	$+ 160 e^{-2800/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-CSSC	(L)	$S = 1,1$	$(1 + 2,2 e^{-420/RT} + 0$	$+ 300 e^{-2800/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$
		Trocken		
T1-BUDR		$S = 2,0$	$(1 + 1,7 e^{-350/RT} + 5,6 e^{-1000/RT} + 0$	$) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-BUDR-CSSC		$S = 0,75$	$(1 + 2,2 e^{-350/RT} + 4,5 e^{-1000/RT} + 0$	$) \text{ Mrad}^{-1}$
T1		$S = 1,2$	$(1 + 0,85 e^{-350/RT} + 2,2 e^{-1000/RT} + 0$	$) \text{ Mrad}^{-1}$
T1-CSSC		$S = 0,70$	$(1 + 0,86 e^{-350/RT} + 3,0 e^{-1000/RT} + 0$	$) \text{ Mrad}^{-1}$

Tabelle III: Schutzfaktoren bei Anwesenheit von Cystamin (0.1 Mol) während der Bestrahlung von T1-Phagen.

Quotienten der D_{37} -Dosen	T [$^{\circ}$ K]	Suspension (Mittelwert aus L, S)	Trocken
<u>T1-CSSC</u> T1	4.2	1.60	1.70
	77	1.60	1.80
	113	1.75	1.90
	195	1.65	1.70
	253	1.80	1.90
	273	2.5	1.80
	300	3.0	1.80
	330	3.7	1.90
<u>T1-BUDR-CSSC</u> T1-BUDR	4.2	1.90	2.70
	77	1.90	2.70
	113	1.85	2.50
	195	1.60	2.60
	253	2.10	2.80
	273	3.40	2.80
	310	3.20	2.50
	330	3.20	2.40

Tabelle IV: Sensibilisierungsfaktoren bei Bestrahlung
BU-substituierter T1-Phagen.

Quotienten der D_{37} -Dosen	T [$^{\circ}$ K]	Suspension (Mittelwert aus L, S)	Trocken
<u>T1</u> T1-BUDR	4.2	1.50	1.70
	77	1.50	1.80
	113	1.65	1.80
	195	1.80	2.20
	233	1.90	2.20
	273	1.50	2.40
	293	1.35	2.30
	323	1.10	2.30
330	~1.0	2.40	
<u>T1-CSSC</u> T1-BUDR-CSSC	4.2	1.25	1.08
	77	1.25	1.20
	113	1.60	1.40
	195	1.75	1.45
	233	1.55	1.50
	273	1.10	1.50
330	1.10	1.80	

Tabelle V: Schutzfaktoren durch Wasserentzug.

T [°K]	$\frac{D_{37} \text{ bei Abwesenheit von Wasser}}{D_{37} \text{ bei Anwesenheit von Wasser}}$			
	T1	T1-CSSC	T1-BUDR	T1-BUDR-CSSC
330	10	5	4.2	3.1
293	5.2	3.7	3.0	2.5
232	1.4	2.0	1.1	2.1
195	1.5	1.7	1.1	2.1
77	1.5	1.7	1.2	1.9
4.2	1.5	1.6	1.3	1.9

Tabelle VI: D_{37} für die Inaktivierung von T1-Phagen
in Suspension.

T [°K]	D_{37} [krad]			
	T1	T1-CSSC	T1-BUDR	T1-BUDR-CSSC
	L - Werte (S - Werte)			
330	38	140		126
323			44	
313	65	171		163
303			53	
293	77	198	57	180
273	93	233	61	213
253	190	340	111	247
233	306 (320)	400 (385)	174 (158)	257 (248)
213	341 (272)	490 (465)	182 (162)	276 (240)
195	332 (240)	520 (410)	200 (126)	284 (237)
113	435 (275)	680 (555)	245 (178)	409 (360)
77	480 (360)	750 (600)	320 (242)	580 (488)
20			(315)	
4.2	540 (460)	890 (720)	360 (315)	695 (590)

Tabelle VII: D_{37} für die Inaktivierung von T1-Phagen
im Trockenem.

T [°K]	D_{37} [krad]			
	T1	T1-CSSC	T1-BUDR	T1-BUDR-CSSC
	T r o c k e n			
325	385	710	168	395
300	395			
273	412	750	174	498
232	435	815	194	545
195	510	870	233	600
144	610	1070	325	847
114	660	1240	365	895
77	720	1310	406	1110
4.2	820	1420	490	1310

Tabella VIII: Zusammenstellung der an biologischen Objekten ermittelten Aktivierungsenergien.

(fehlt = untersucht, tritt jedoch nicht auf; - = Angaben wegen fehlender Meßpunkte nicht möglich).

Objekt	Strahlung	Messung	Aktivierungsenergien kcal/Mol				Referenz
			E_0	E_1	E_2	E_3	
<u>Trocken</u>							
Glycin	33-MeV- α	Radikale	o	-	0.8	-	Henriksen 66
"	100-MeV-C	"	o	-	1.2	-	"
"	330-MeV-Ar	"	o	-	0.9	-	"
Ribonuclease	60-Co- γ	Inakt.	fehlt	-	1	-	Günther u. Jung 67
"	60-Co- γ	"	"	-	1	-	" "
"	2-MeV-p	"	o	-	1	6.5	(Günther u. Jung 67; Kürzinger u. Jung 68
"	2-MeV-d	"	o	-	1.05	-	Günther u. Jung 67
"	1,4-keV-p	"	o	fehlt	fehlt	-	Jung 66
"	3-MeV-e ⁻	"	o	-	1.06	6.1	Fluke 65
"	6,5-MeV-e ⁻	Radikale	o	-	1.1	-	Henriksen 65
Lysozym	3-MeV-e ⁻	Inakt.	o	-	0.62	2.54	Fluke 65
"	6,5-MeV-e ⁻	Radikale	o	-	1.2	6.6	Henriksen 65
"	33-MeV- α	"	o	-	1	5	" 66
"	100-MeV-C	"	o	-	1	4	" 66
Trypsin	6,5-MeV-e ⁻	"	o	-	1.45	-	" 65
"	18-MeV-d	Inakt.	o	fehlt	1.1	4.5	Brustad 64
"	33-MeV- α	"	o	"	1.2	5	"

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung Tabelle VIII

Trypsin	90-MeV-B	Inakt.	o	fehlt	0.9	2.9	Brustad 64
"	100-MeV-C	"	o	"	1	3.1	"
"	116-MeV-Ne	"	o	"	1	3.7	"
"	330-MeV-Ar	"	o	-	1	3	"
"	330-MeV-Ar	Radikale	o	-	1.3	-	Henriksen 66
Invertase	4-MeV-d	Inakt.	o	-	1	6	Pollard et al. 52
"	8-MeV- α	"	o	-	0.96	6	" " "
ϕ X-174-Phagen	2-MeV-p	"	o	-	1	-	Günther u. Hermann 67
" + CSSC	2-MeV-p	"	o	-	1	-	" "
T1-Phagen	3,8-MeV-d	"	o	-	fehlt	5.4	Adams u. Pollard 52
"	2-MeV-p	"	o	-	1	-	Hermann 66
" + CSSC	2-MeV-p	"	o	-	1	-	"
T1-BUDR-Phagen	2-MeV-p	"	o	-	1	-	"
" + CSSC	2-MeV-p	"	o	-	1	-	"
T1-Phagen	60-Co- γ	"	o	0.35	1	-	diese Arbeit
" + CSSC	60-Co- γ	"	o	0.35	1	-	" "
T1-BUDR-Phagen	60-Ci- γ	"	o	0.35	1	-	" "
" + CSSC	60-Co- γ	"	o	0.35	1	-	" "
Sporen v.B.megaterium	50-kV-X	"	o	-	1.06	-	Webb et al. 58
Polyäthylen	60-Co- γ	cross- links	o	-	1	-	Chapiro 64
Hyaluronidase	1-3-MeV-e ⁻	Inakt.	o	-	1,12	-	Vollmer-Fluke 67

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung Tabelle VIII

<u>Suspension</u>								
T2r-Phagen-E.coli-Komplex	60-Co- γ	Inakt.	c	-	0.72	5.6	Shalek et al. 67	
T1-Phagen	60-Co- γ	"	o	0.42	fehlt	4.1	diese Arbeit	
" + CSSC	60-Co- γ	"	o	0.42	"	2.8	" "	
T1-BUDR-Phagen	60-Co- γ	"	o	0.42	"	3.0	" "	
" + CSSC	60-Co- γ	"	o	0.42	"	5.3	" "	

Tabelle IX: Verhältnisse der Inaktivierungskonstanten S bei zwei verschiedenen Temperaturen für trockene T1- und ϕ X-174-Phagen.

Phage	Strahlung	Nachweis	Strahlenempf.		Referenz
			295°K	77°K	
T1	2 MeV-Protonen	Inaktivierung	1.8		Hermann (1966)
	γ -Strahlen	"	1.8		diese Arbeit
	"	"	1.8		Hotz u. Zimmer (1963)
T1+CSSC	2 MeV-Protonen	"	1.9		Hermann (1966)
	γ -Strahlen	"	1.8		diese Arbeit
	"	"	1.65		Hotz u. Zimmer (1963)
T1-BUDR	2 MeV-Protonen	"	2.0		Hermann (1966)
	γ -Strahlen	"	2.4		diese Arbeit
	"	"	2.2		Hotz u. Zimmer (1963)
T1-BUDR + CSSC	2 MeV-Protonen	"	2.6		Hermann (1966)
	γ -Strahlen	"	2.4		diese Arbeit
	"	"	2.0		Hotz u. Zimmer (1963)
ϕ X-174	2 MeV-Protonen	"	1.6		Günther u. Hermann
ϕ X-174+CSSC	"	"	1.6		(1967)
ϕ X-174	γ -Strahlen	"	2.4		Hotz (1965)

Abb. 1: Anordnung für Bestrahlungen am Linearbeschleuniger.

Heliumheber zum Überleiten
von flüssigem Helium

Temperatur-
messbrücke

zur Vacuumpumpe

Überdruckventil für Heliumabgas

flüssiger Stickstoff

flüssiges Helium

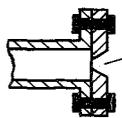
A & B-Thermoresistor

Bestrahlungsprobe

Wärmeschutzfilter

Wolframantikatode

Austrittsfenster für schnelle
Elektronen aus dem
Linearbeschleuniger



1000

100

1500

Bestrahlungsanordnung bei 4.2°K

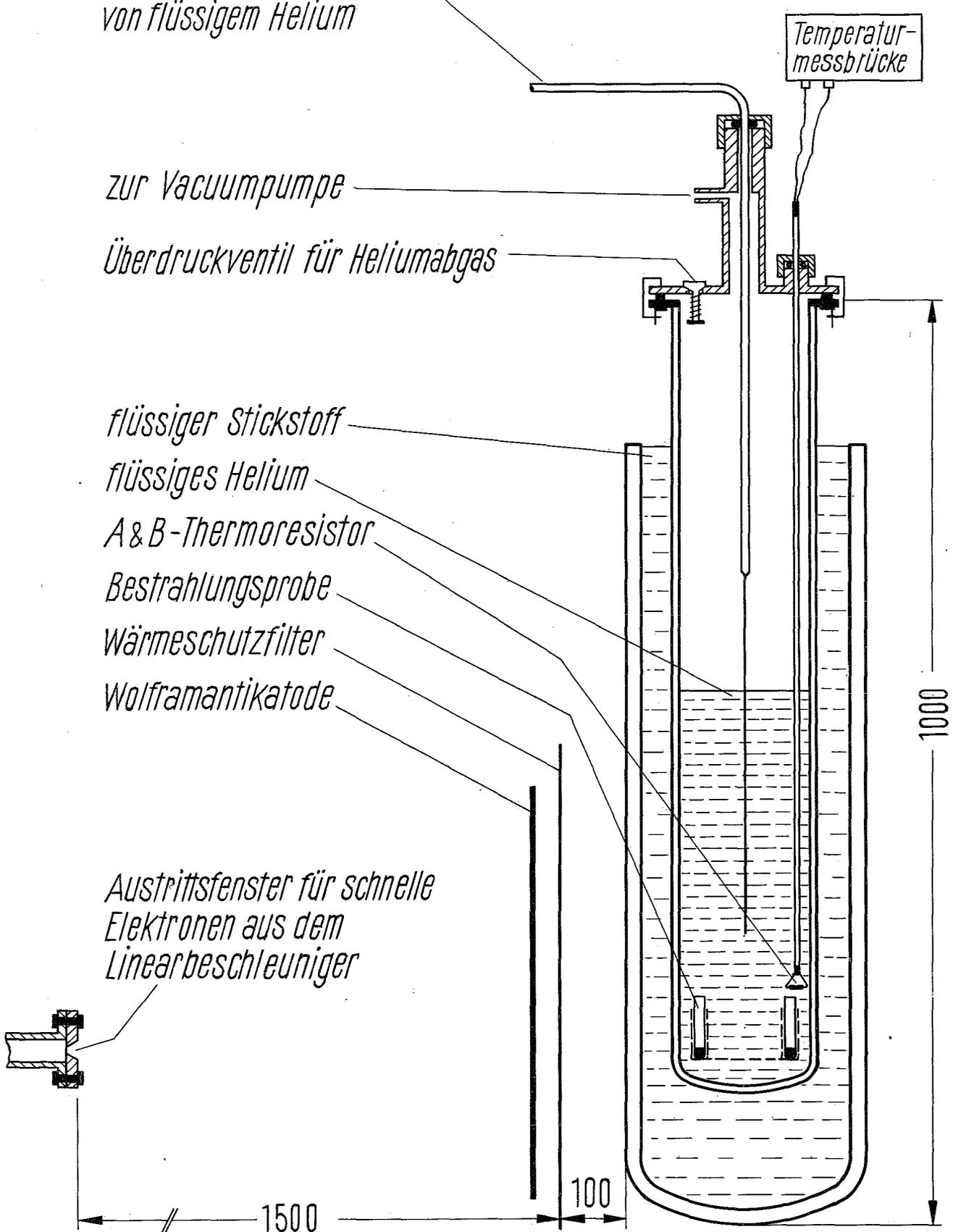


Abb. 2: Inaktivierung von trockenen T1-Phagen mit
 γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.

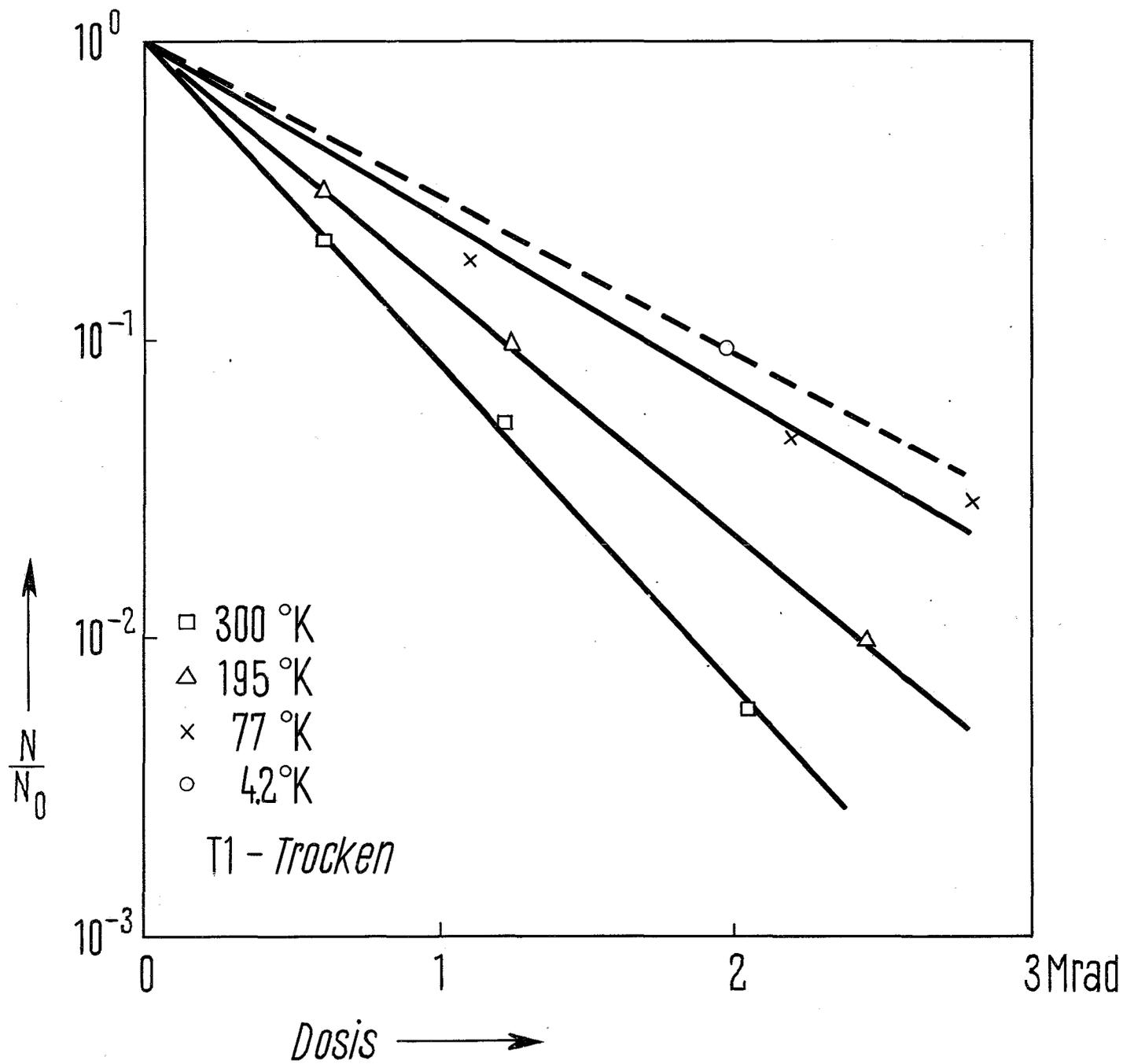


Abb. 3: Inaktivierung von trockenen T1-BUDR-Phagen
mit γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.

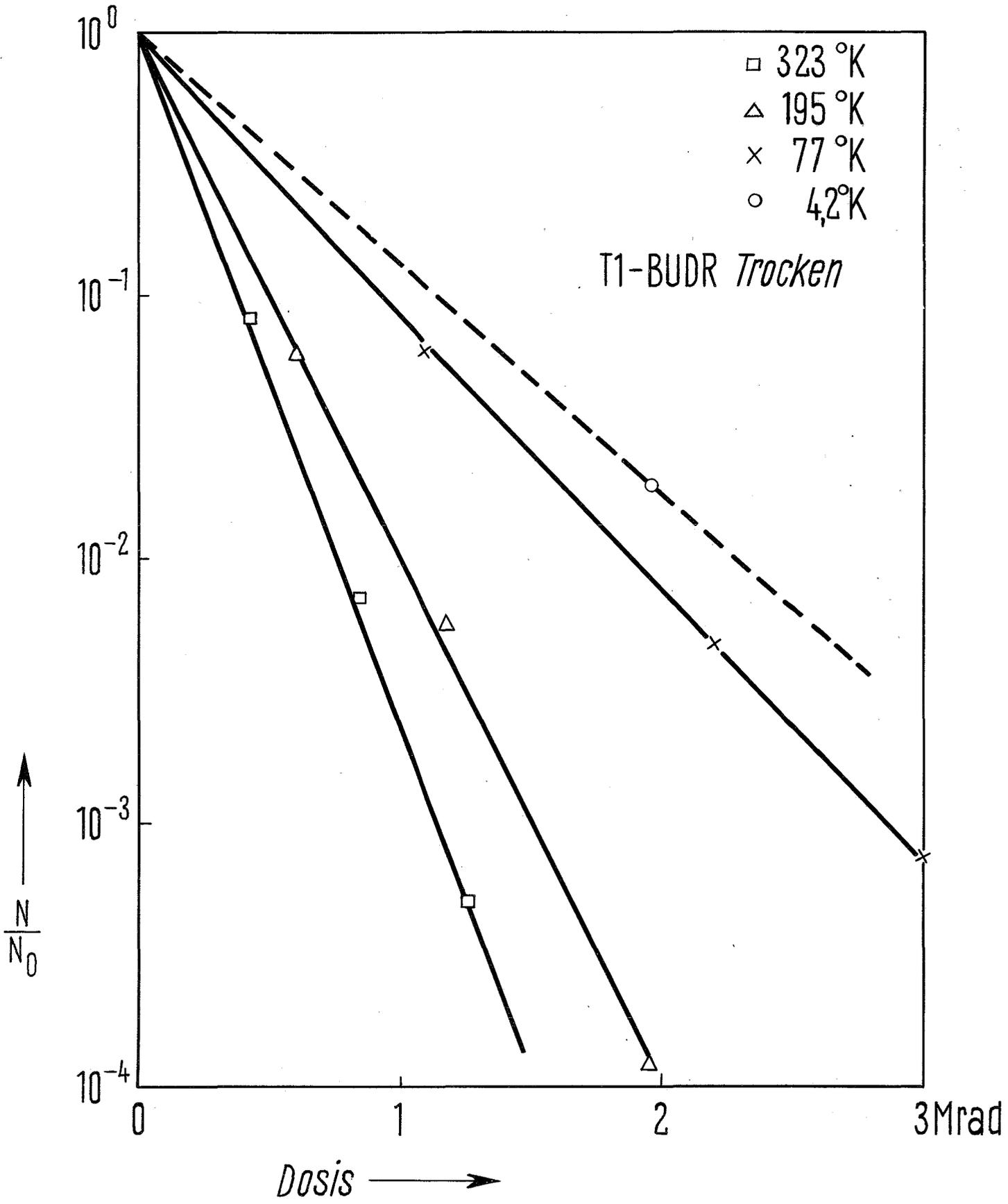


Abb. 4: Inaktivierung von trockenen T1-Phagen mit γ -Strahlen unter Zusatz von Cystamin bei verschiedenen Temperaturen.

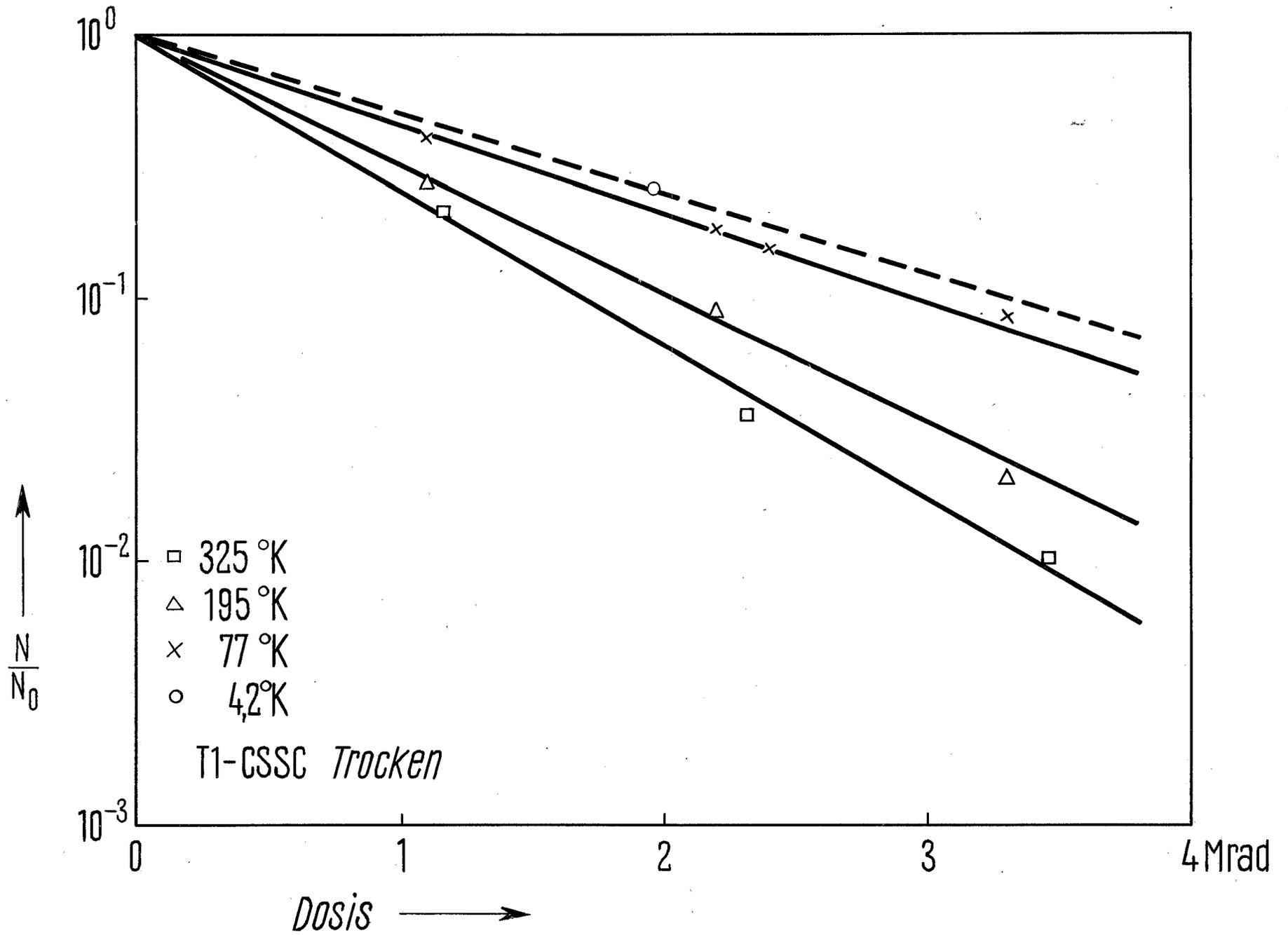


Abb. 5: Inaktivierung von trockenen T1-BUDR-Phagen mit γ -Strahlen unter Zusatz von Cystamin bei verschiedenen Temperaturen.

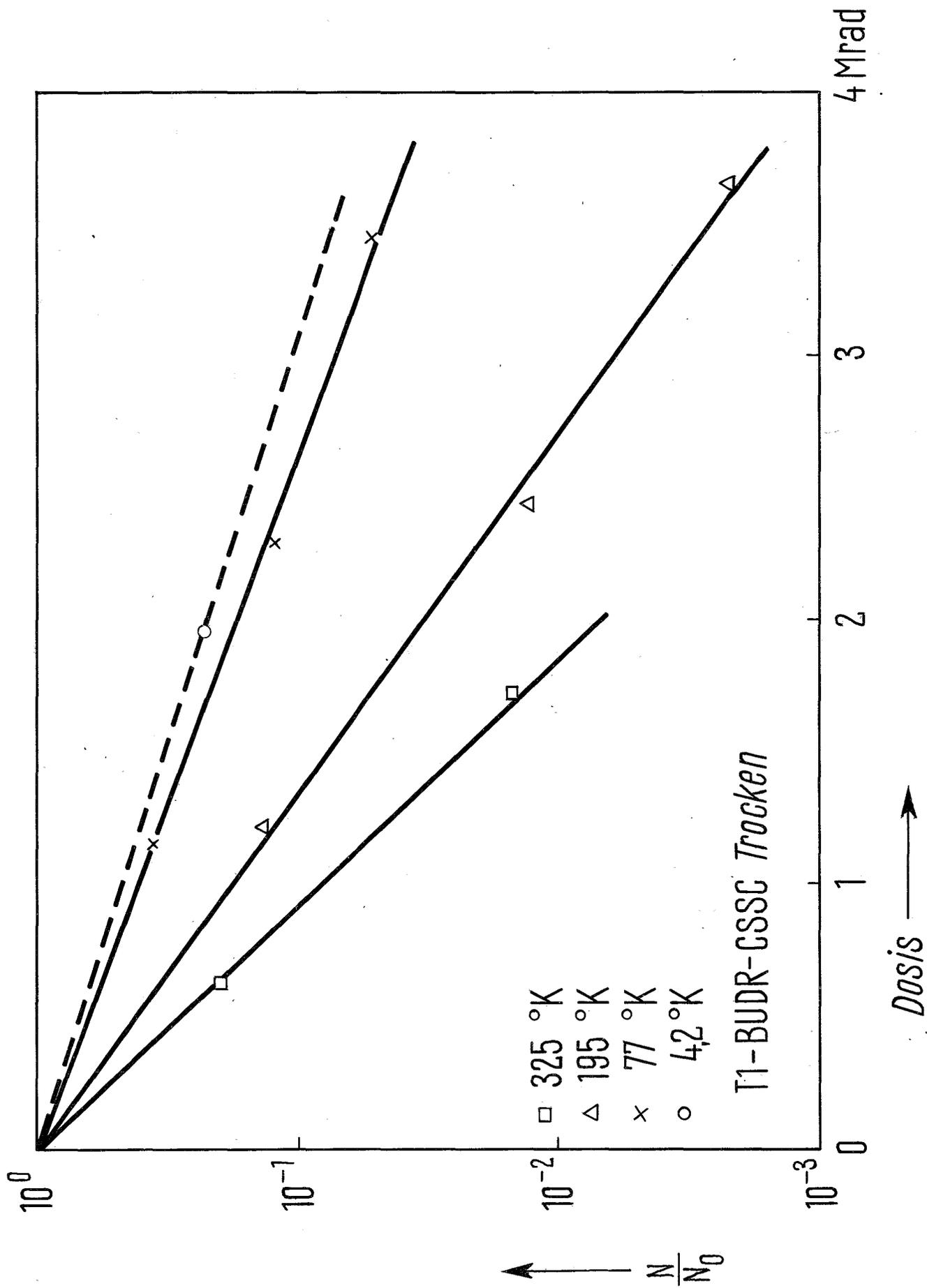


Abb. 6: Inaktivierung von suspendierten T1-Phagen mit γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.

L = langsames Abkühlen auf die Bestrahlungstemperatur

S = schnelles Abkühlen auf 77 °K und anschließende Bestrahlung bei angegebener Temperatur

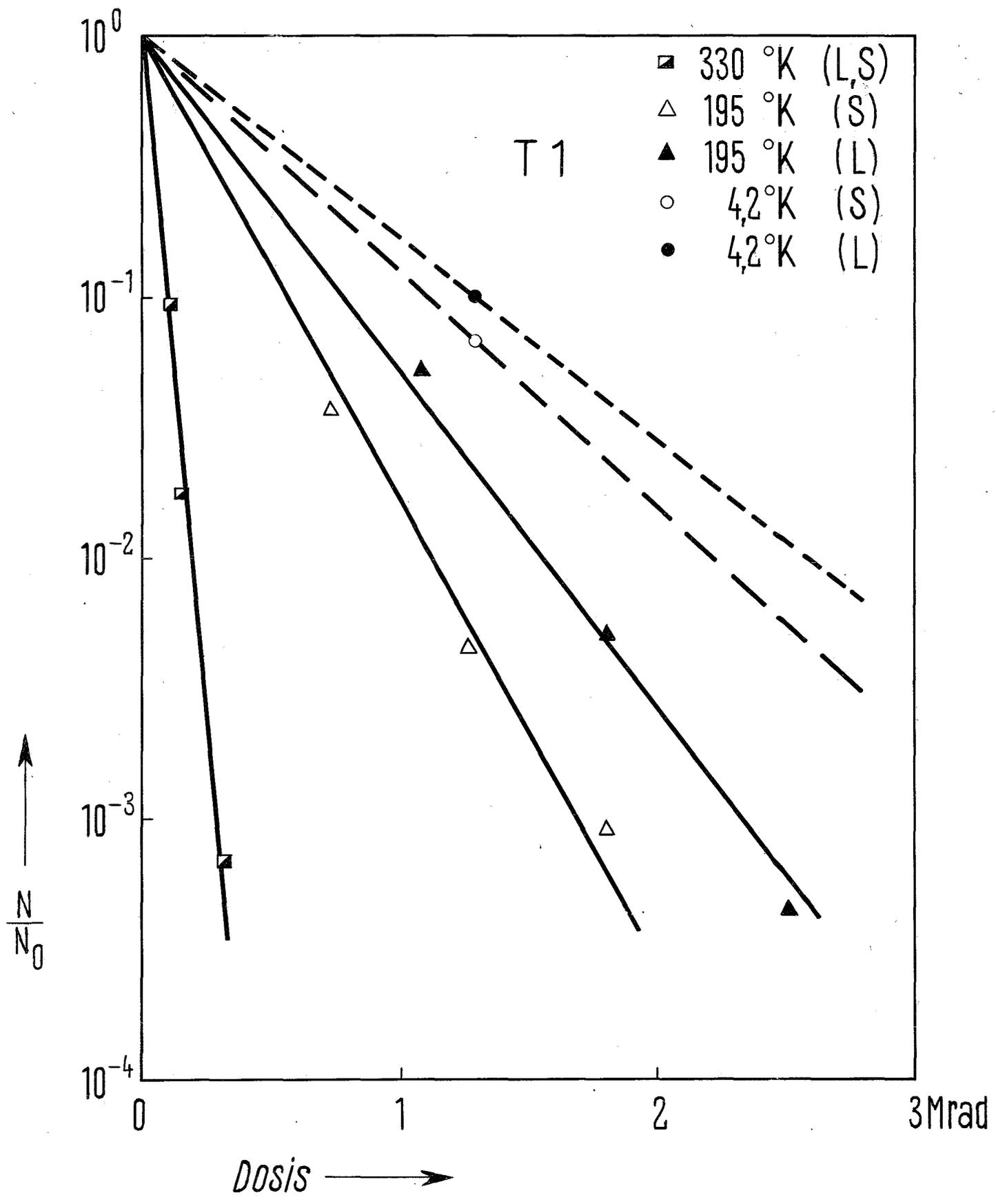


Abb. 7: Inaktivierung von suspendierten T1-BUDR-Phagen mit γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.
L = langsames Abkühlen auf die Bestrahlungstemperatur
S = schnelles Abkühlen auf 77 °K und anschließende Bestrahlung bei angegebener Temperatur

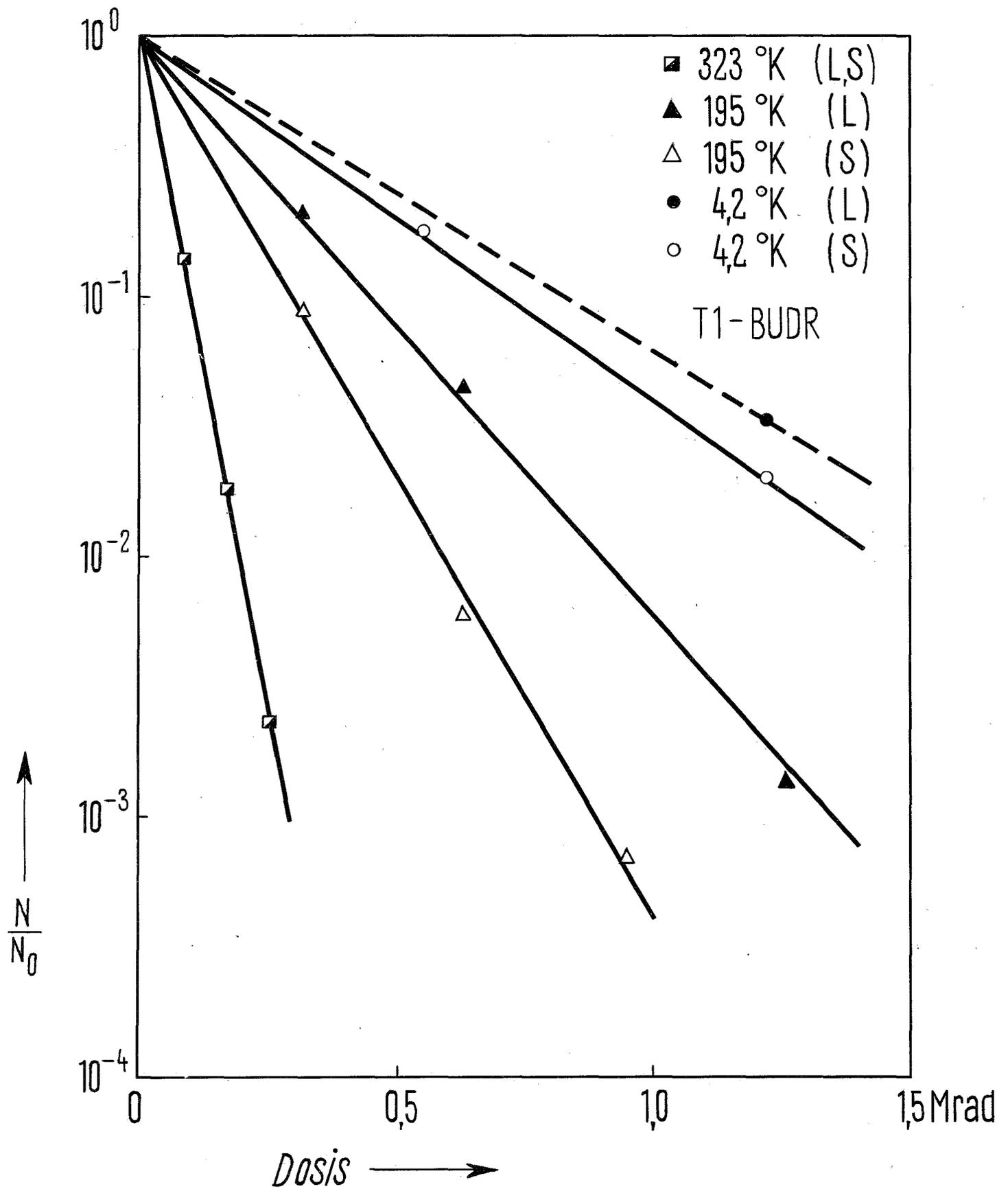


Abb. 8: Inaktivierung von suspendierten T1-Phagen mit γ -Strahlen unter Zusatz von Cystamin bei verschiedenen Temperaturen.

L = langsames Abkühlen auf die Bestrahlungstemperatur

S = schnelles Abkühlen auf 77 °K und anschließende Bestrahlung bei angegebener Temperatur

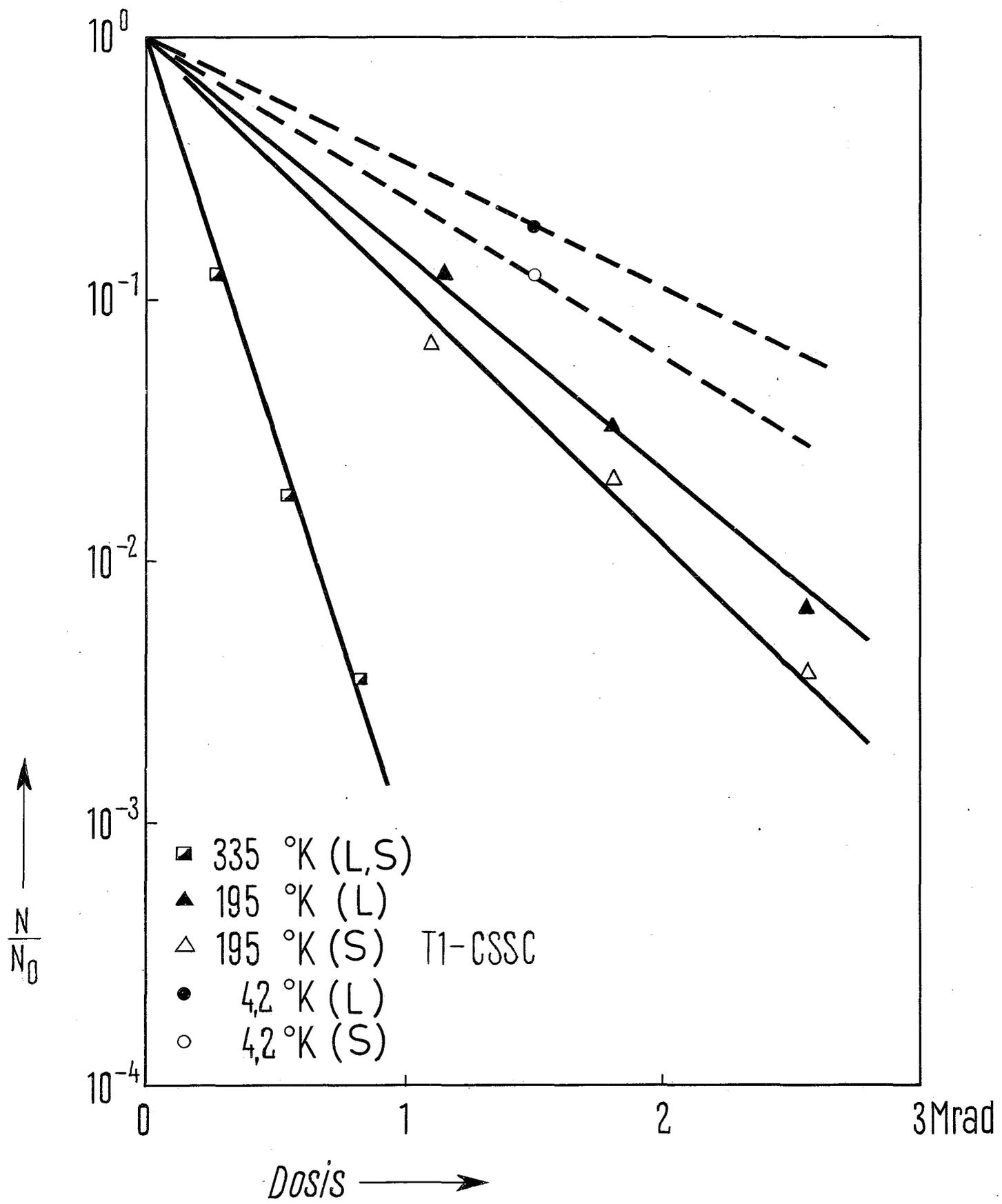


Abb. 9: Inaktivierung von suspendierten T1-BUDR-Phagen mit γ -Strahlen unter Zusatz von Cystamin bei verschiedenen Temperaturen.

L = langsames Abkühlen auf die Bestrahlungstemperatur

S = schnelles Abkühlen auf 77 °K und anschließende Bestrahlung bei angegebener Temperatur

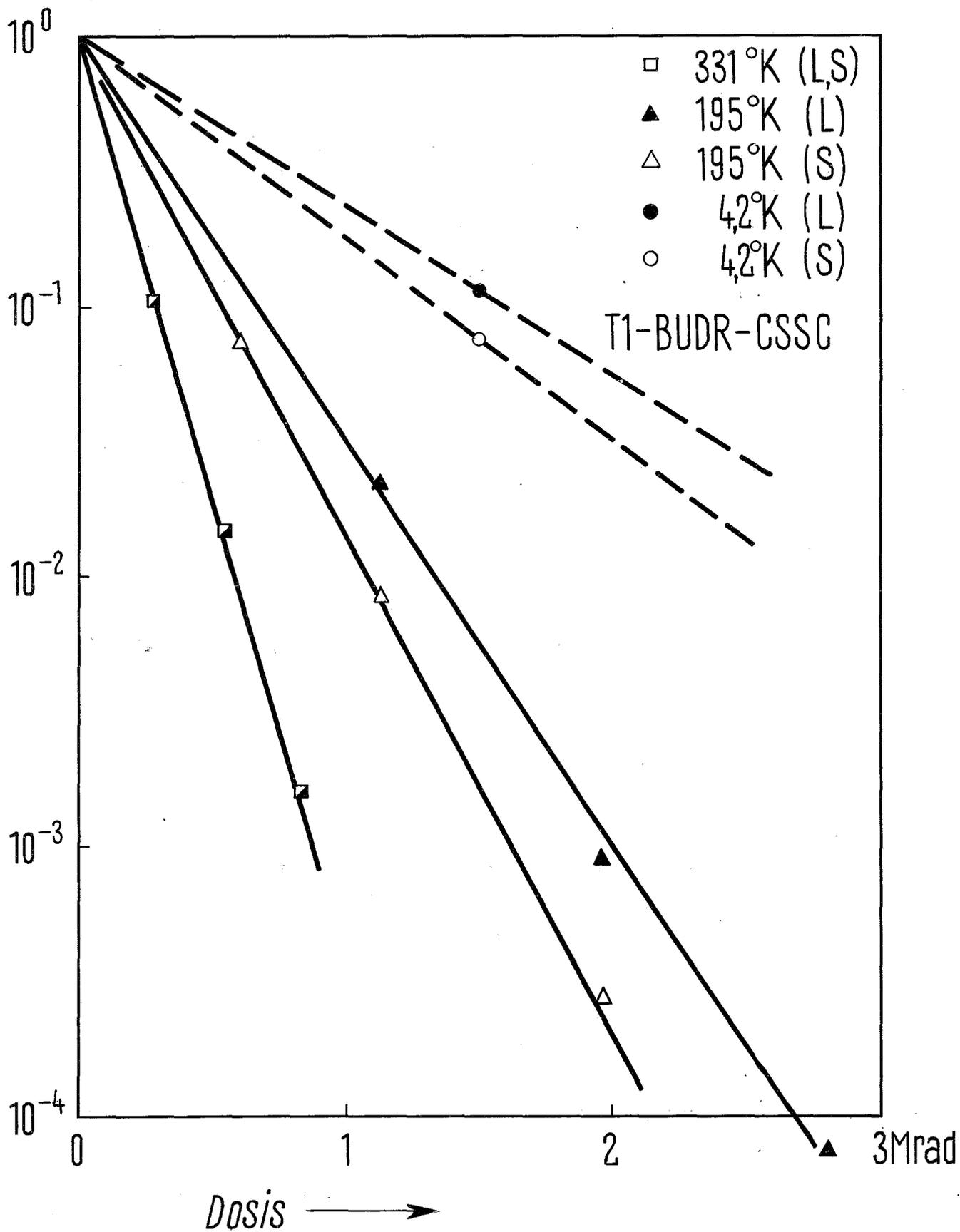


Abb. 10: Einfluß des Schutzstoffes Cystamin auf die Inaktivierung trockener T1-Phagen durch γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.

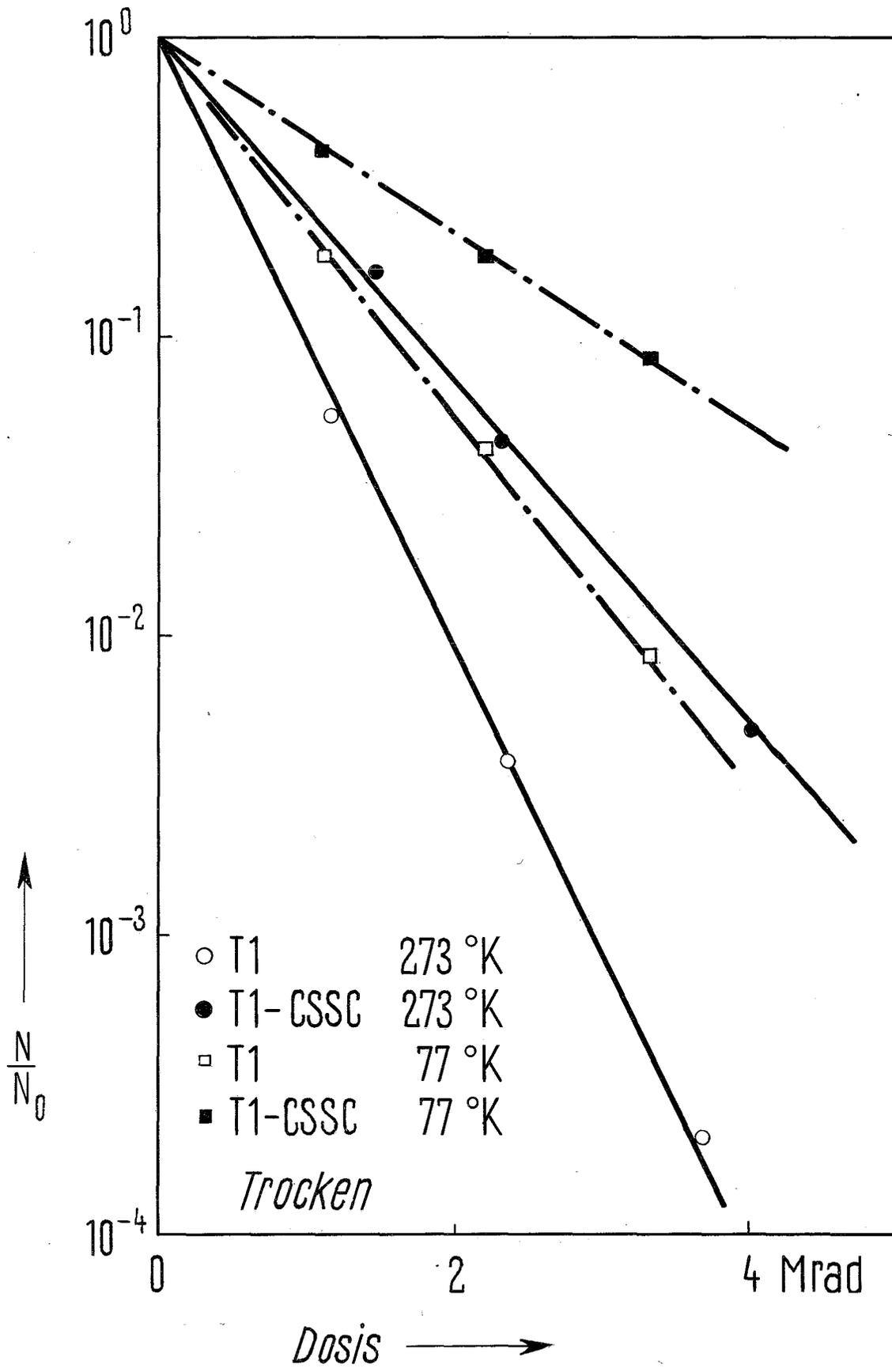


Abb. 11: Einfluß des Schutzstoffes Cystamin auf die Inaktivierung suspendierter T1-Phagen durch γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.

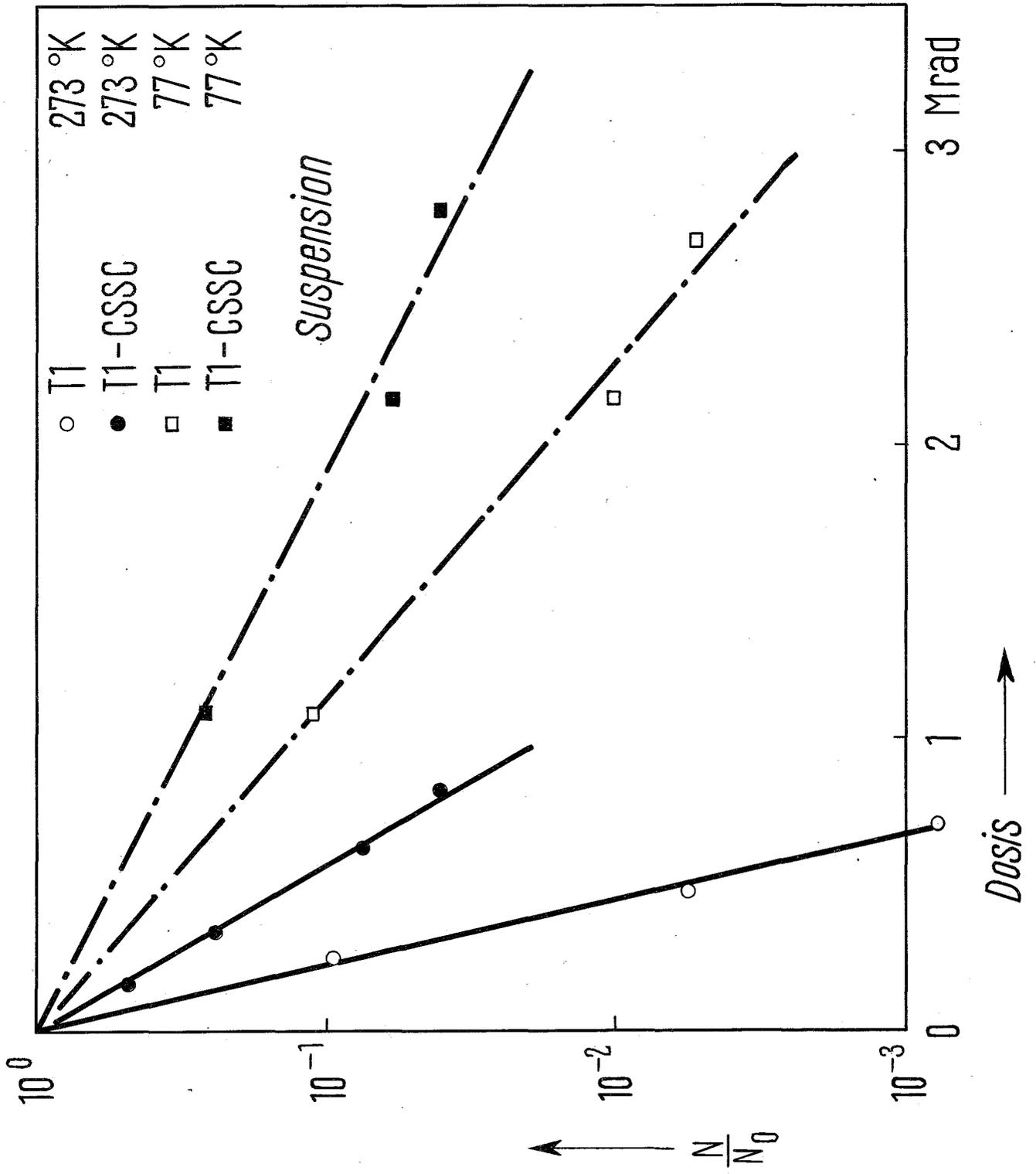


Abb. 12: Einfluß des Wasserentzuges auf die Inaktivierung von T1-Phagen durch γ -Strahlen bei verschiedenen Temperaturen.

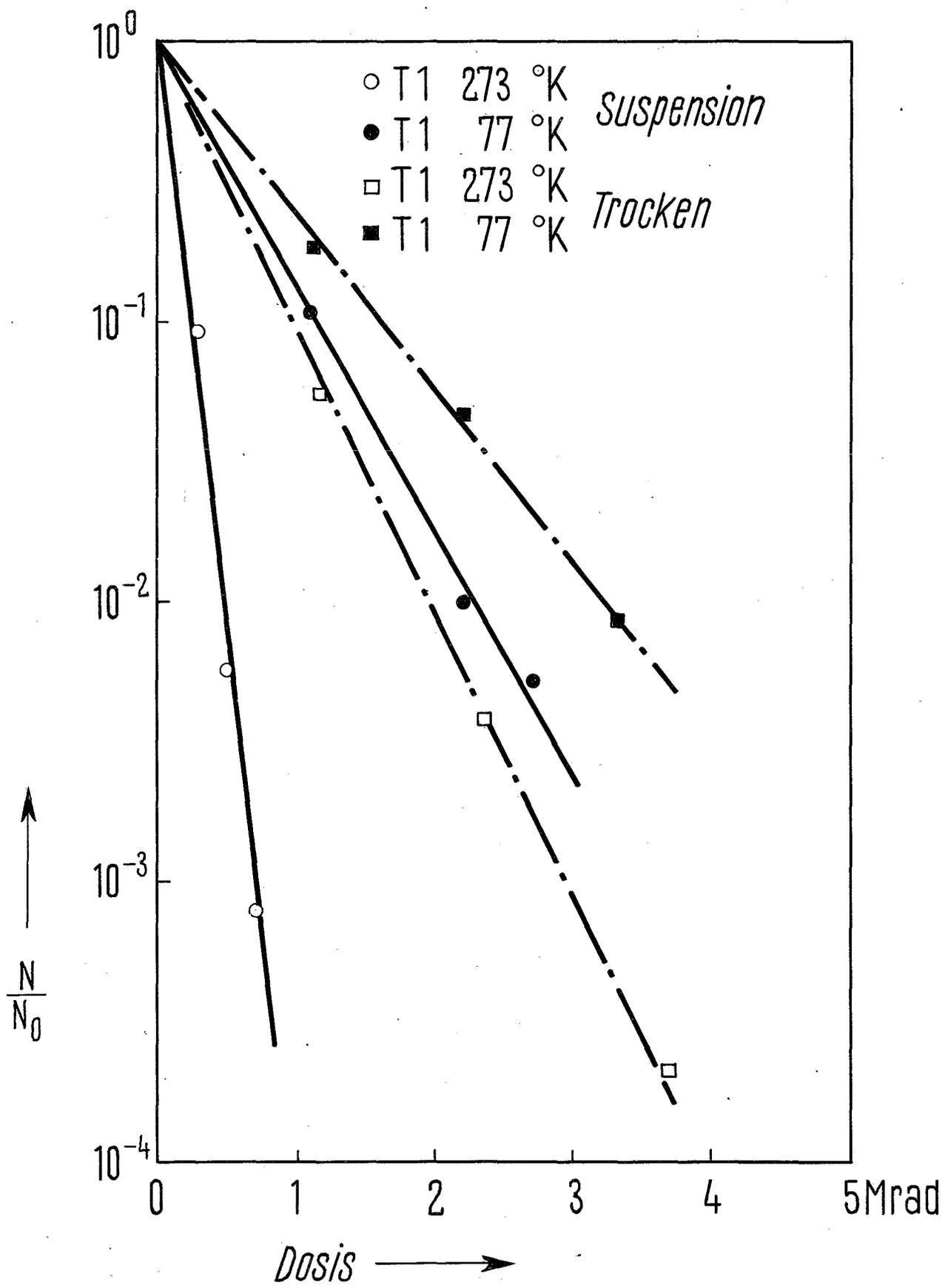


Abb. 13: Einfluß des Wasserentzuges auf die Inaktivierung von T1-Phagen durch γ -Strahlen unter Anwesenheit von Cystamin bei verschiedenen Temperaturen.

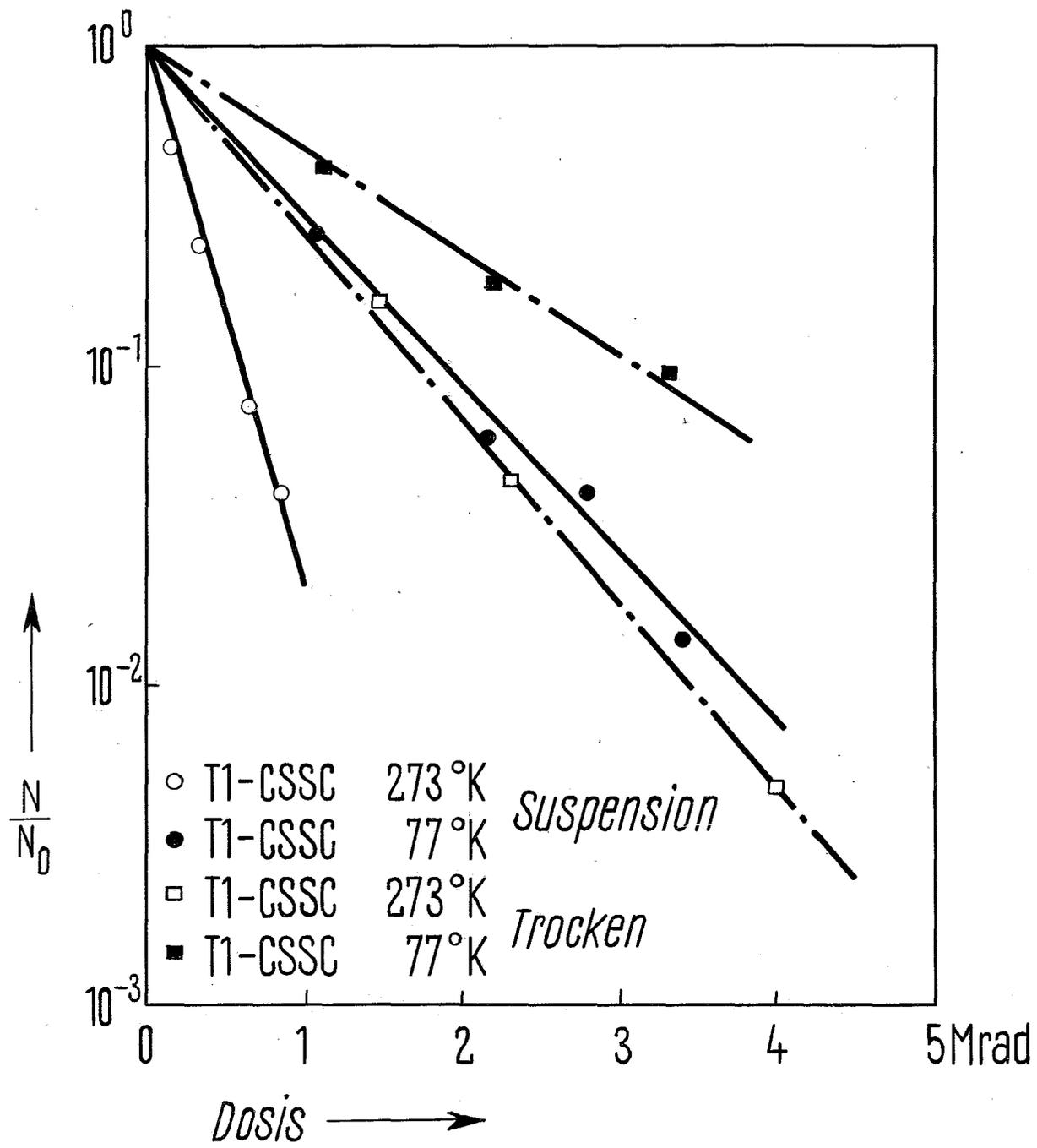


Abb. 14: Strahlensensibilisierung durch BU-Einbau in die Phagen-DNS am Beispiel suspendierter T1-Phagen (L-Wert).

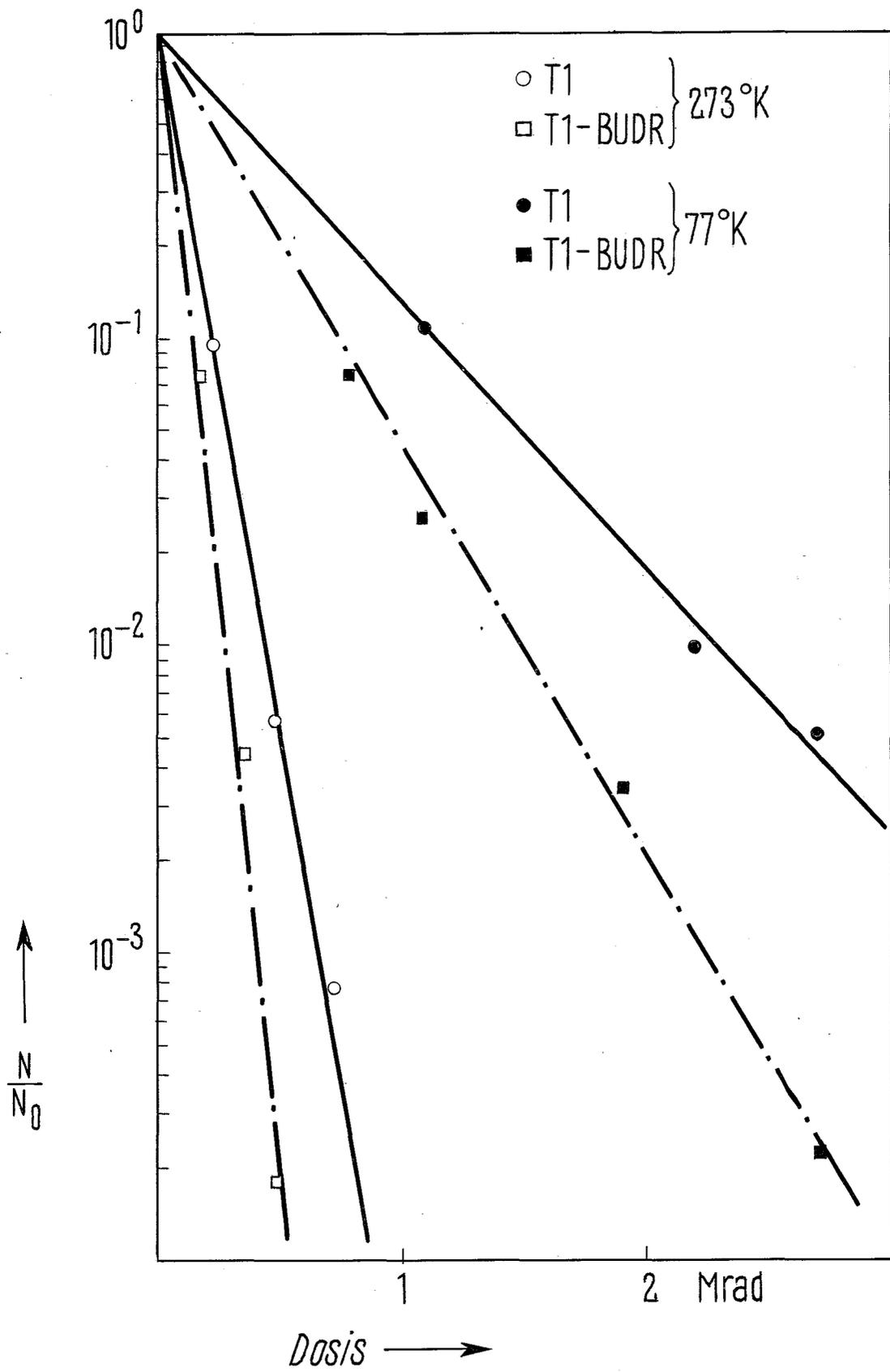


Abb. 15: Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit ($S=1/D_{37}$)
von der Temperatur bei γ -bestrahlten T1-
Phagen unter Anwesenheit von Cystamin.

S-Wert: schnelles Abkühlen der Suspension auf
77 °K, anschließende Bestrahlung bei
angegebener Temperatur

L-Wert: langsames Abkühlen der Suspension auf
Bestrahlungstemperatur

Trocken: Entzug von Wasser aus suspendierten
T1-Phagen durch Gefriertrocknen
(36 Std. bei 10^{-2} Torr)

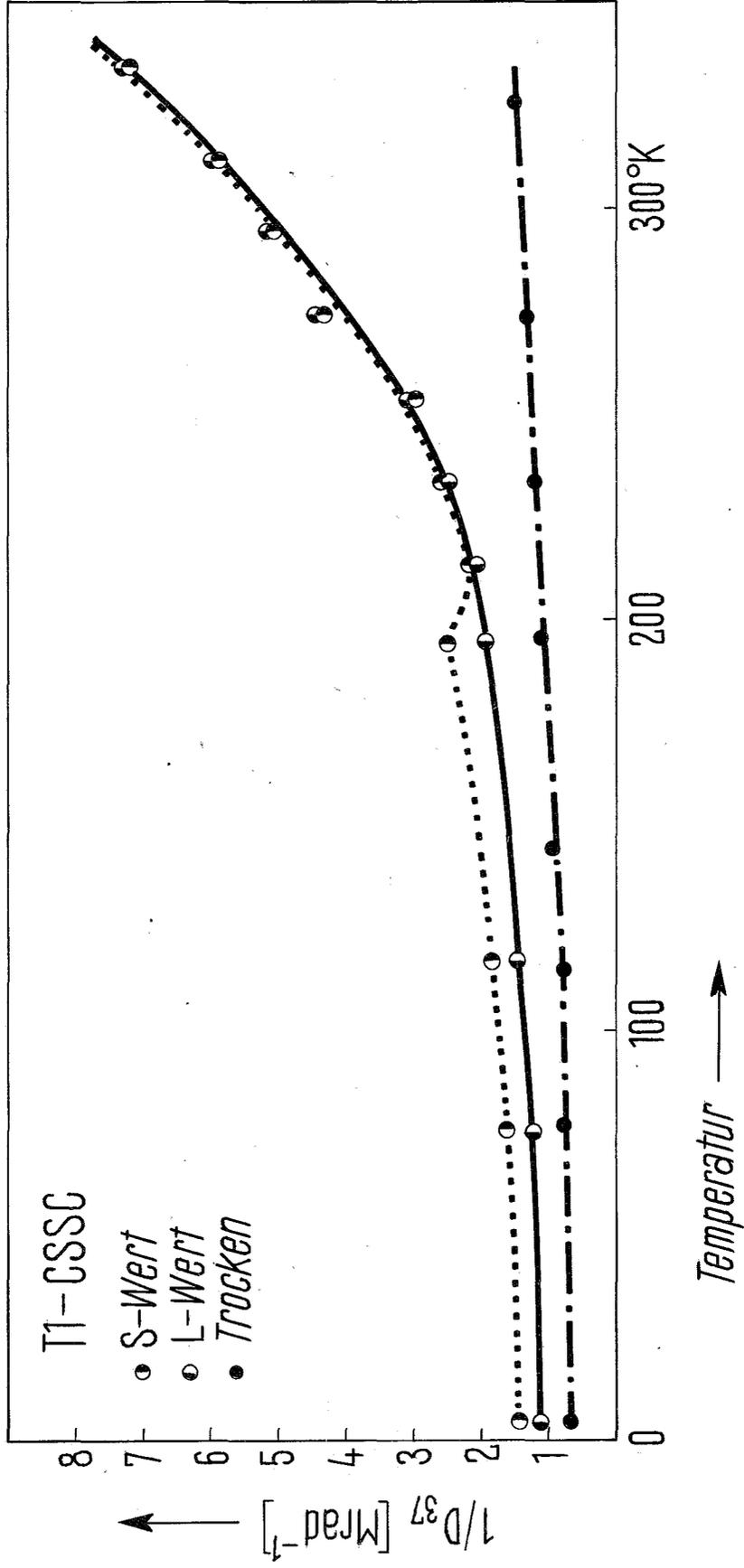
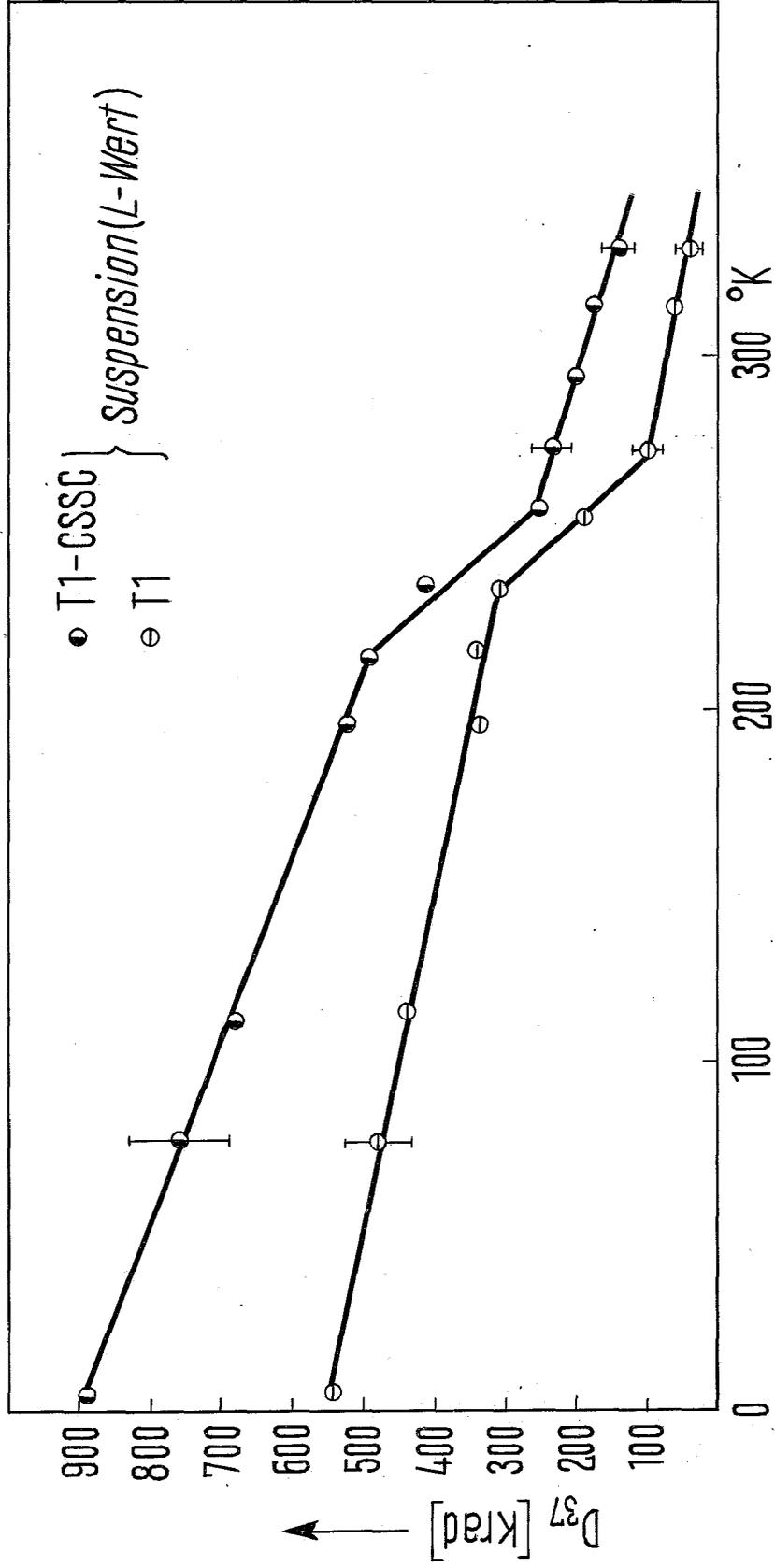


Abb. 16: Abhängigkeit der D_{37} bei suspendierten T1-Phagen
von der Temperatur. Bestrahlung mit γ -Strahlen
bei An- und Abwesenheit von Cystamin.



Temperatur →

Abb. 17: Abhängigkeit der D_{37} bei suspendierten T1-BUDR-
Phagen von der Temperatur. Bestrahlung mit
 γ -Strahlen bei An- und Abwesenheit von Cystamin.

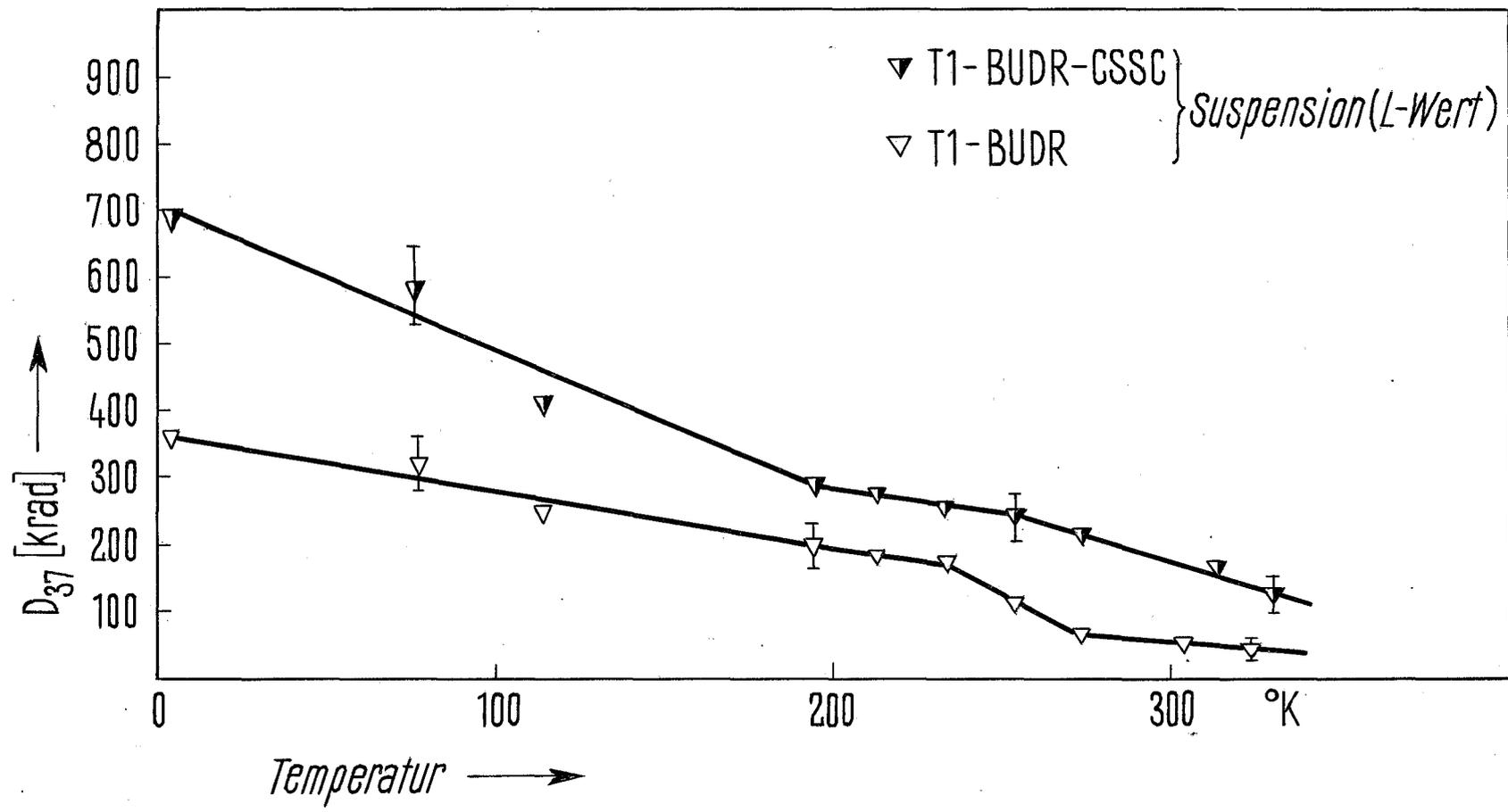


Abb. 18: Abhängigkeit der D_{37} bei trockenen T1-Phagen
von der Temperatur. Bestrahlung mit γ -Strahlen
bei An- und Abwesenheit von Cystamin.

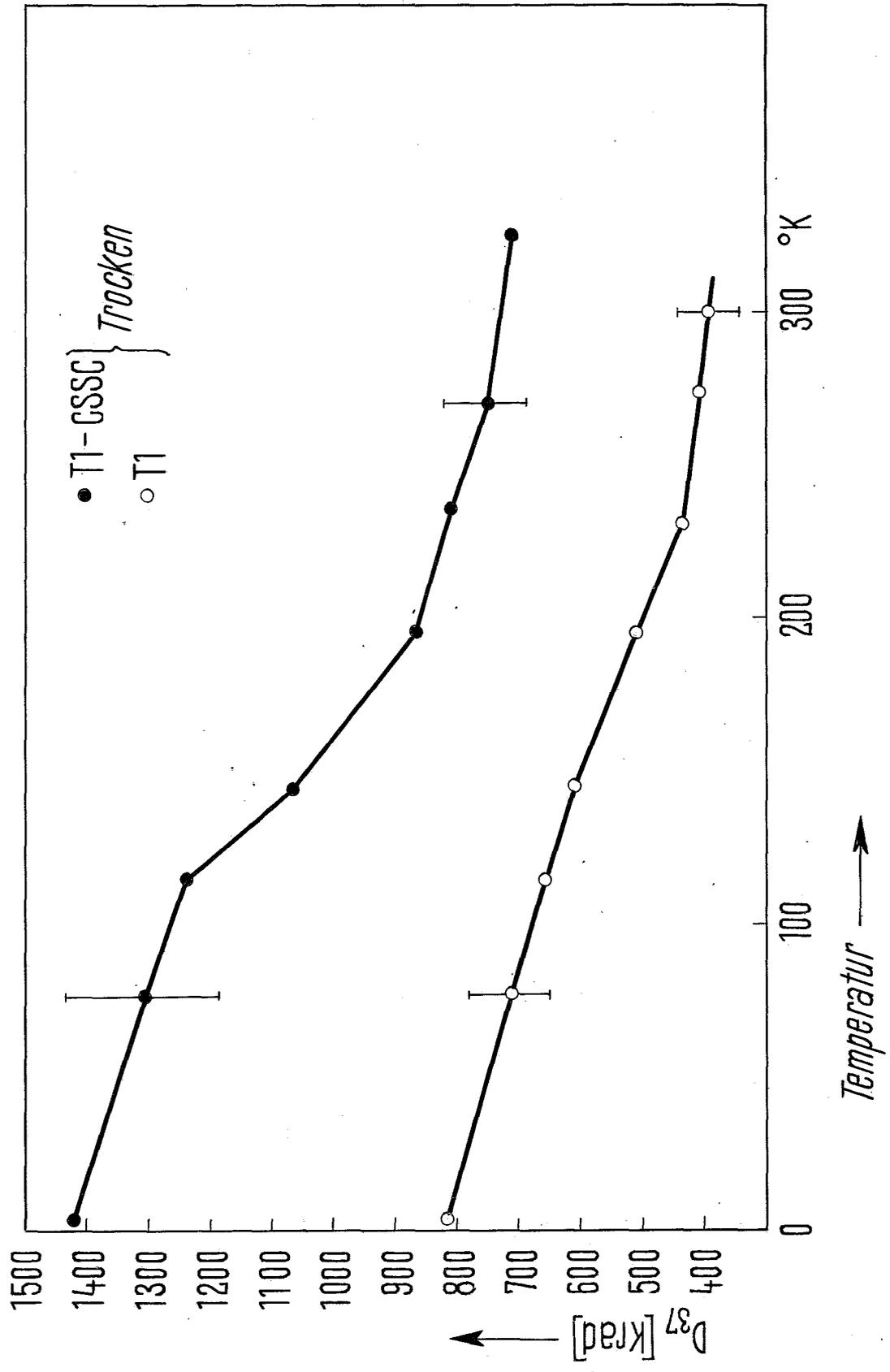


Abb. 19: Potentialverlauf bei Reaktionen mit exponentieller Temperaturabhängigkeit. Bedeutung der Aktivierungsenergie

E'_A = Aktivierungsenergie für Hinreaktion
(Anfangszustand \longrightarrow Endzustand)

E''_A = Aktivierungsenergie für Rückreaktion
(Endzustand \longrightarrow Ausgangszustand)

Q = Wärmetönung der Reaktion

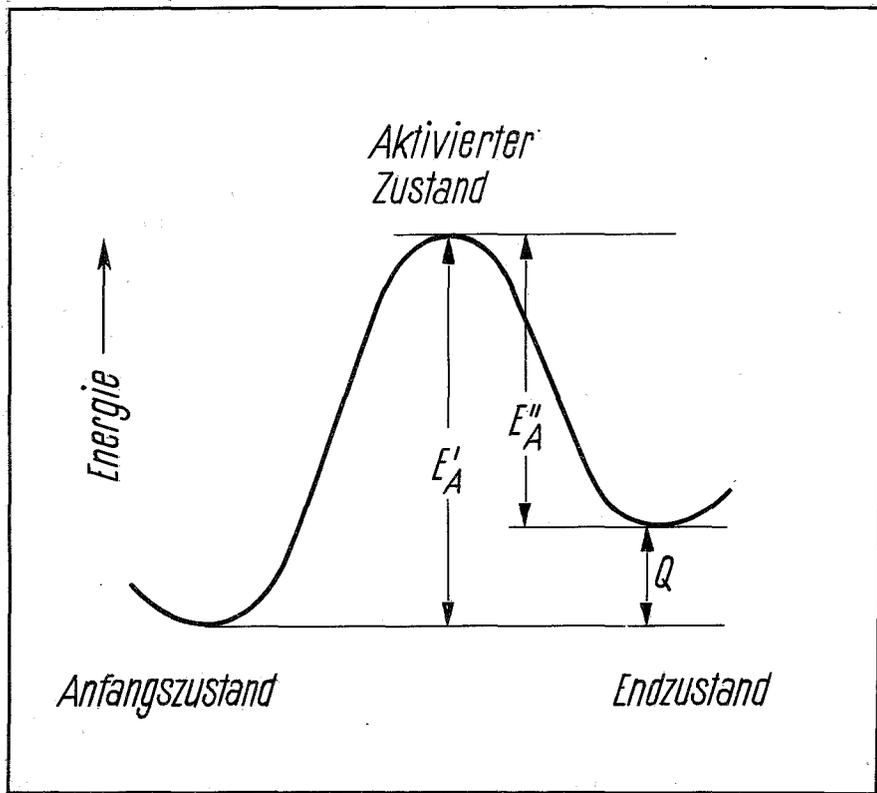


Abb. 20: Verlauf der Strahlenempfindlichkeit ($S = 1/D_{37}$)
mit der Temperatur (Arrheniusdarstellung) bei
trockenen T1-Phagen.

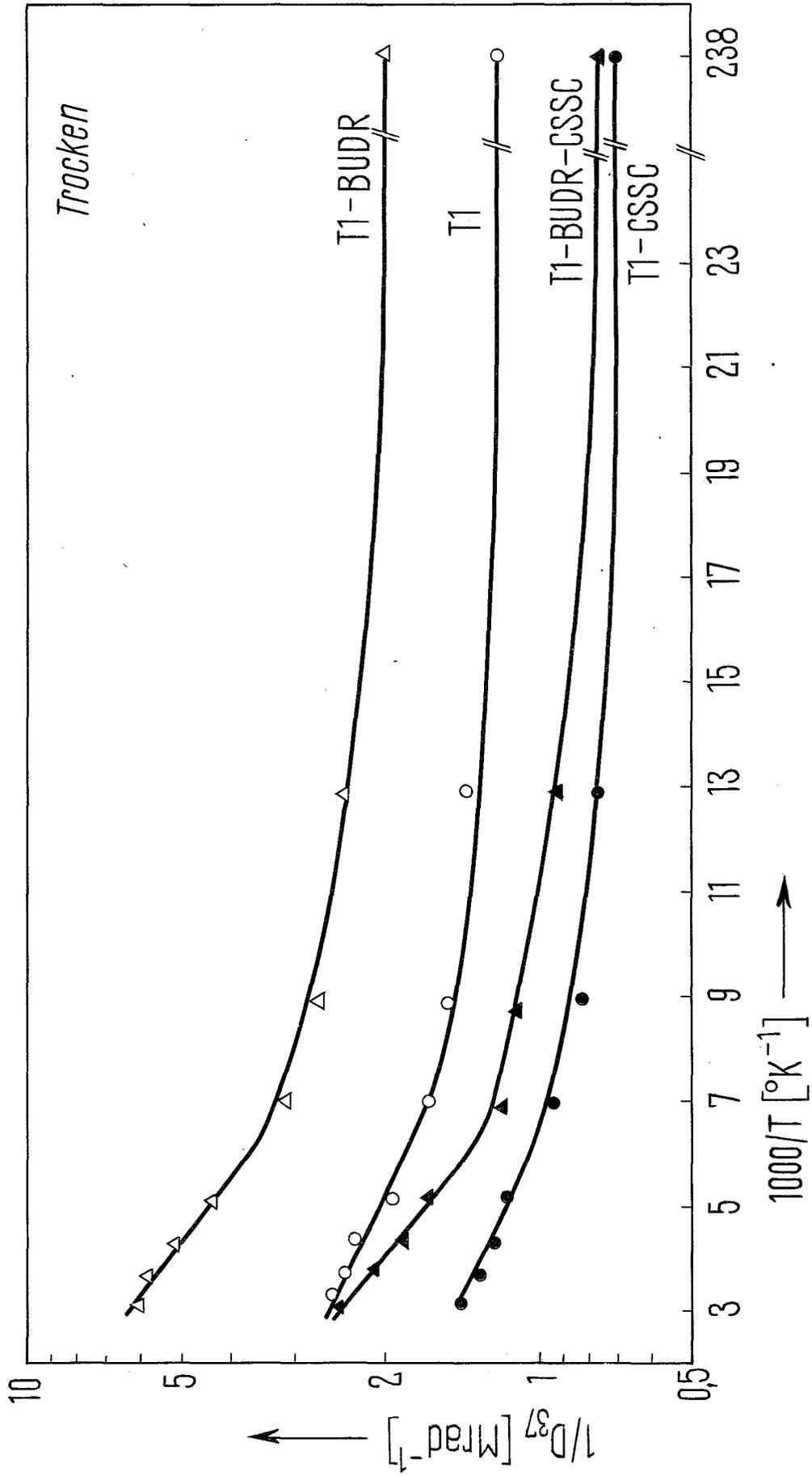


Abb. 21: Verlauf der Strahlenempfindlichkeit ($S = 1/D_{37}$)
mit der Temperatur (Arrheniusdarstellung) bei
suspendierten T1-Phagen (L-Werte).

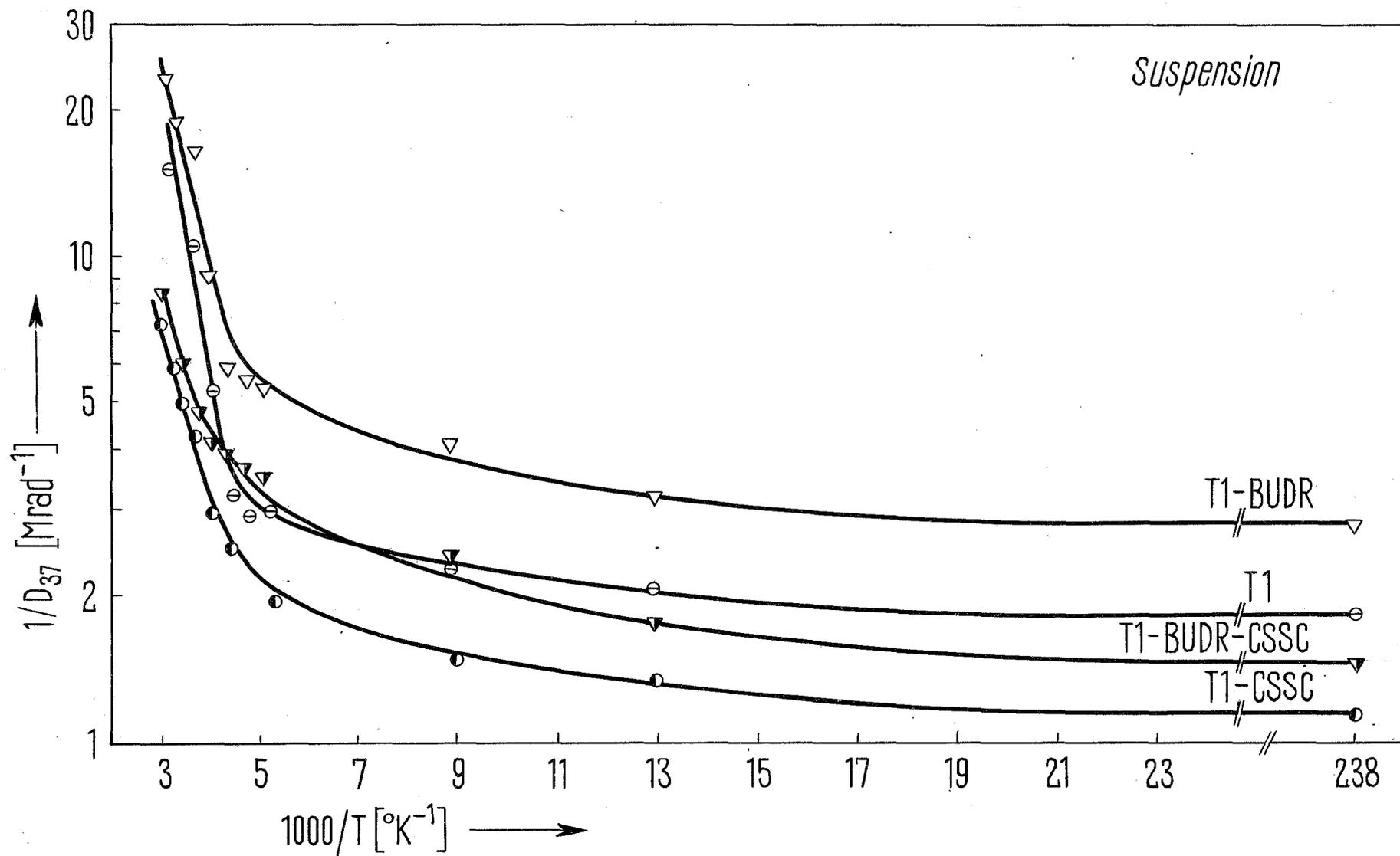


Abb. 22: Separierung der die Temperaturabhängigkeit bestimmenden Anteile bei der Arrheniusdarstellung gemäß der Gleichung:

$$S = S_0 (1 + F' e^{-E'_a/RT} + F'' e^{-E''_a/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$$

für trockene T1-BU-Phagen.

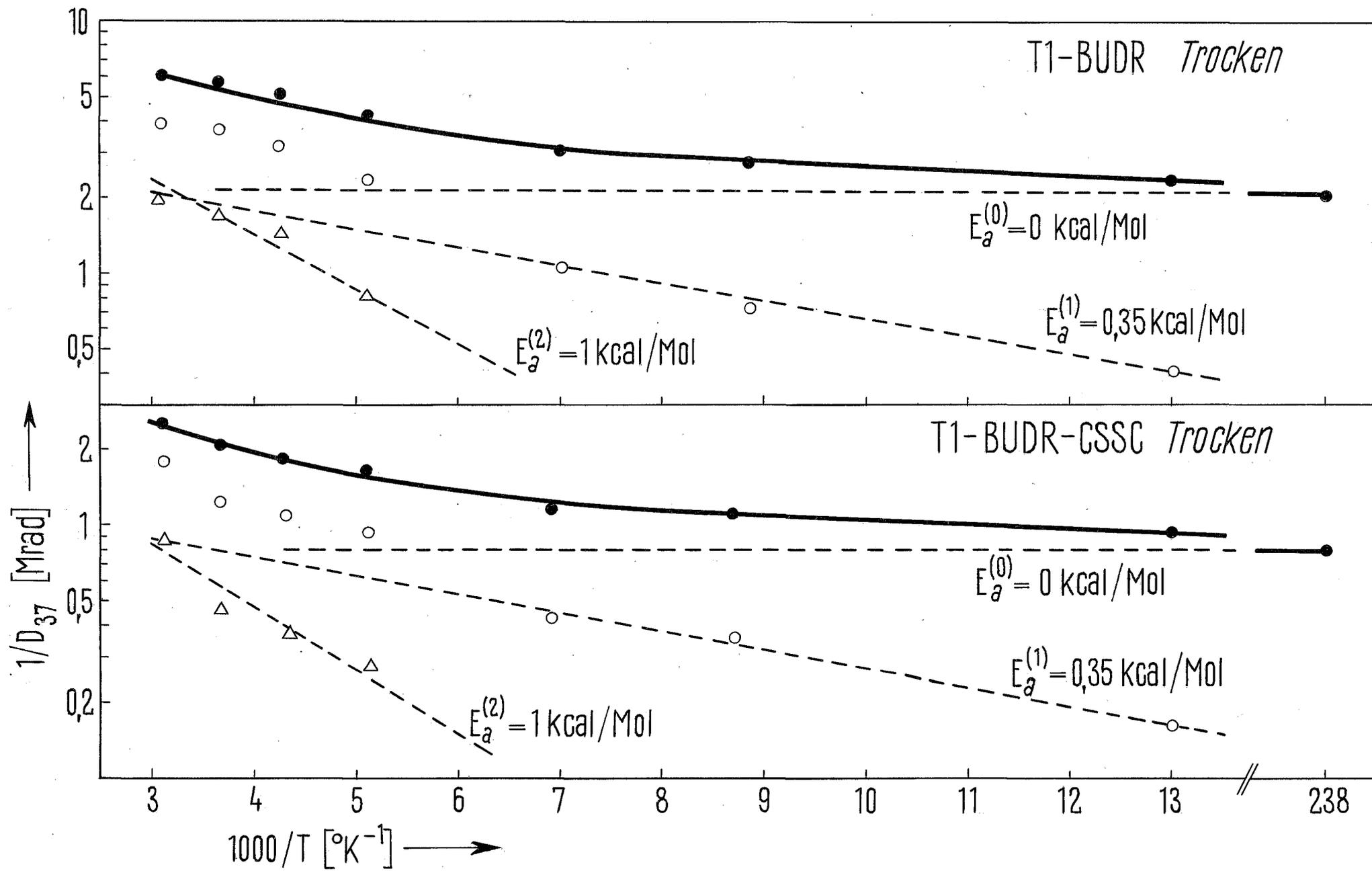


Abb. 23: Separierung der die Temperaturabhängigkeit bestimmenden Anteile bei der Arrheniusdarstellung gemäß der Gleichung:

$$S = S_0 (1 + F' e^{-E'/RT} + F'' e^{-E''/RT}) \text{ Mrad}^{-1}$$

für suspendierte T1-Phagen bei Anwesenheit von Cystamin.

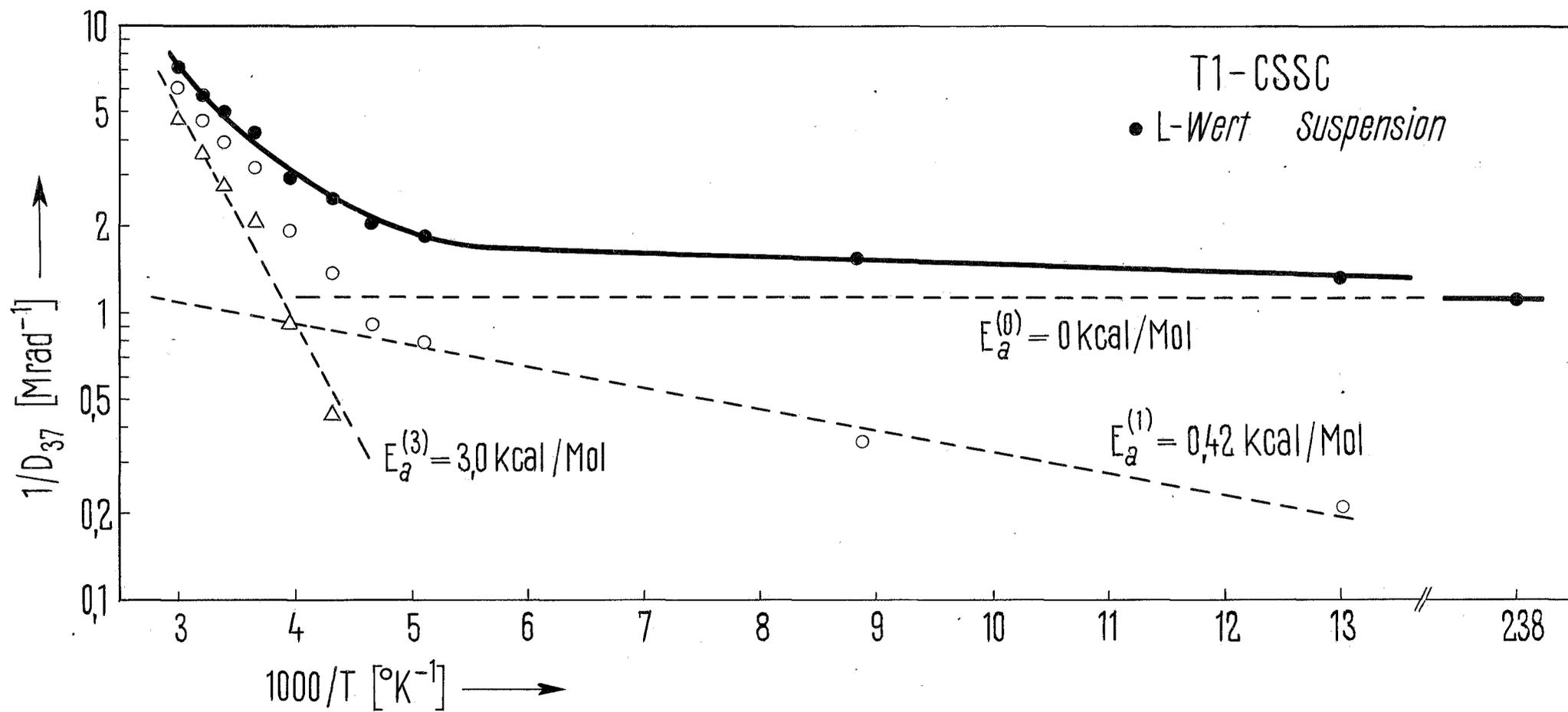


Abb. 24: Arrheniusdarstellung für suspendierte T1-Phagen.

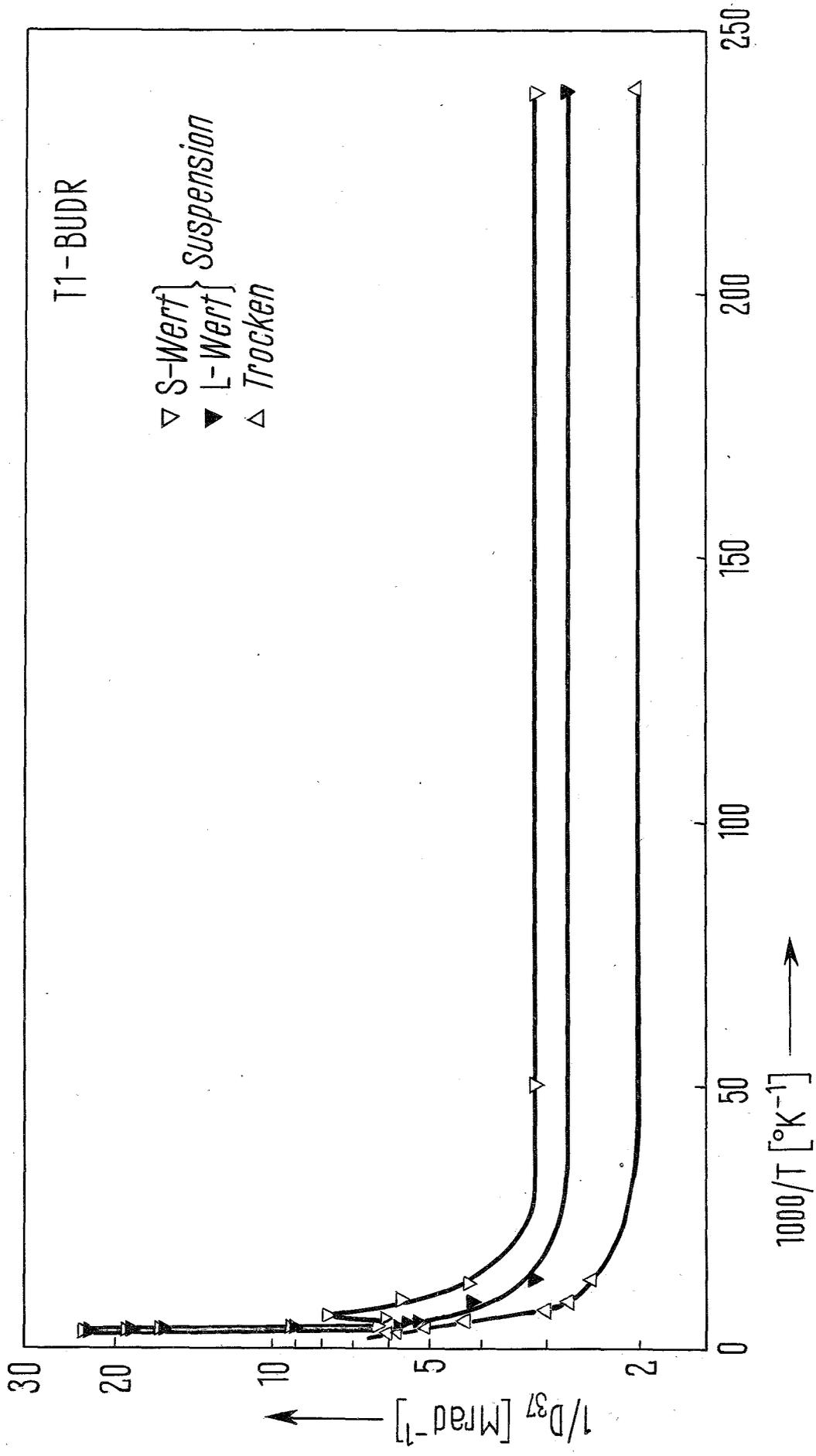


Abb. 25: Arrheniusdarstellung für trockene und suspendierte T1-Phagen. Einfluß des Phagentiters bei Bestrahlung.

L = langsames Abkühlen auf die Bestrahlungstemperatur

S = schnelles Abkühlen auf 77 °K und anschließende Bestrahlung bei angegebener Temperatur

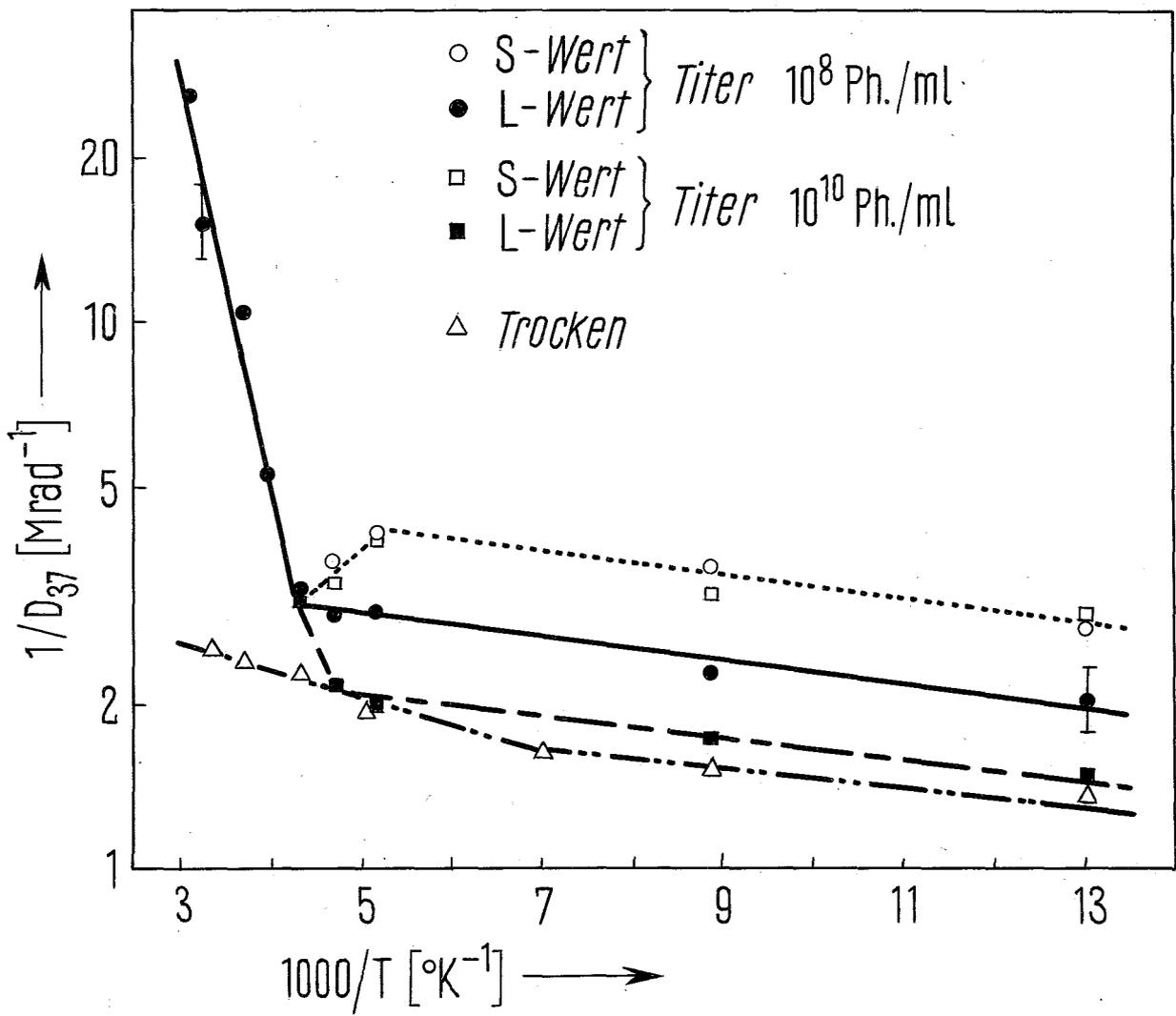


Abb. 26: Unabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von der Dosisleistung bei T1-Phagen (Beispiel: suspendierte T1-BU-Phagen).

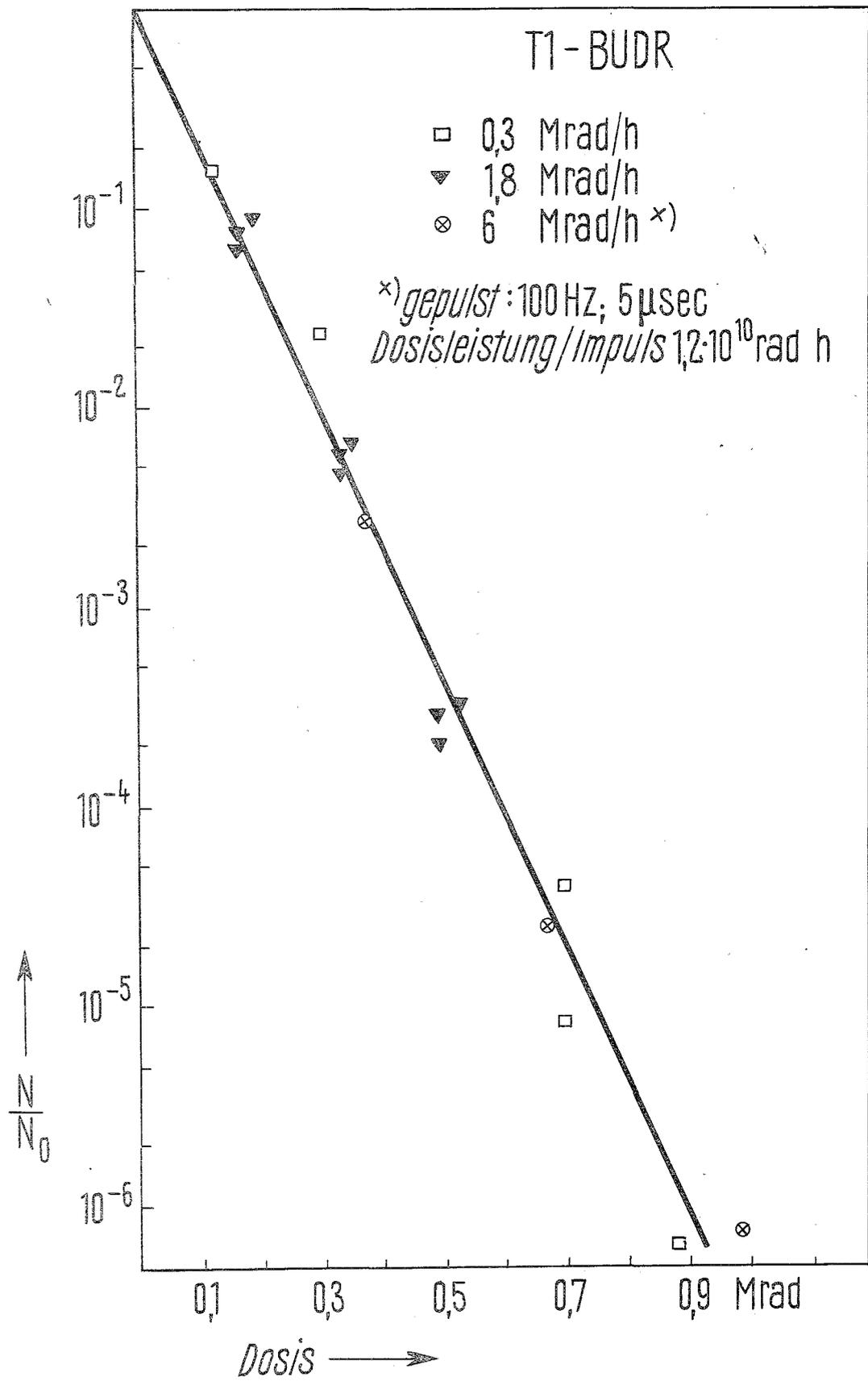


Abb. 27: Unabhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von
der Güte des Vakuums bei trockenen T1-Phagen.

