

KFK-50

KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE

APRIL 1961

KFK 50

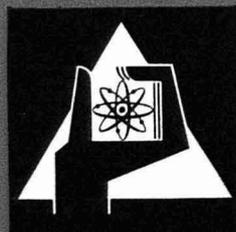
INSTITUT FÜR STRAHLENBIOLOGIE

ZUR SAUERSTOFFABHÄNGIGKEIT DER RATE STRAHLENINDUZIERTER
CHROMOSOMENABERRATIONEN IN OOZYTEN VON
DROSOPHILA MELANOGASTER

[Leitz E]
H. WIND UND H. TRAUT
[Leitz]

KERNREAKTOR
Bau- und Betriebs-Gesellschaft m. b. H.
Zentralbücherei

30. JUNI 1961



KERNREAKTOR

BAU- UND BETRIEBS-GESELLSCHAFT M. B. H.

KARLSRUHE

Zeitschrift für Vererbungslehre 92, 34—37 (1961)

Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe
ZUR SAUERSTOFFABHÄNGIGKEIT DER RATE STRAHLEN-
INDUZIERTER CHROMOSOMENABERRATIONEN IN OOZYTEN
VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Von

H. WIND und H. TRAUT

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 21. Januar 1961)

KERNREAKTOR
Bau- und Betriebs-Gesellschaft **m.b.H.**
Zentralbücherei

N11<09098808085

ABRAHAMSON (1956, 1959) untersuchte die Sauerstoffabhängigkeit der röntgen-induzierten Chromosomenaberrationsrate in *Drosophila*-Oozyten und fand neben Ergebnissen, die die allgemeine Vorstellung vom „Sauerstoffeffekt“ bestätigen, einen „inversen“ Sauerstoffeffekt: Anwesenheit von Stickstoff nach konzentriert verabreichter Dosis oder zwischen zwei Dosisfraktionen *vergrößert* die Chromosomenaberrationsrate gegenüber der durch konzentrierte Bestrahlung in Luft ausgelösten, im Intervall gebotener Sauerstoff *verkleinert* sie. Diese Befunde erscheinen, vor allem im Zusammenhang mit ähnlichen an pflanzlichen Objekten gewonnenen Resultaten (WOLFF und ATWOOD 1954; WOLFF und LUIPPOLD 1955, 1956a, b, 1958; BEATTY et al. 1956) von großem Interesse, so daß wir eine Reproduzierung für angebracht hielten. Da sich hierbei zwei neue Hinweise ergeben haben, sollen unsere Daten im folgenden kurz mitgeteilt werden.

Unsere Kreuzungs- und Bestrahlungsanordnung stimmt prinzipiell mit der von ABRAHAMSON (1959) verwendeten überein. Den mittels „*snoc*“-Technik¹ registrierten sog. Halbtranslokationen liegen Zweibruchereignisse zugrunde, die eine Trennung des attached-X-Verbandes zur Folge haben und sich dadurch in der F₁ der bestrahlten ♀♀ manifestieren. Wie ABRAHAMSON (1959) bezogen wir die Aberrationshäufigkeiten auf die vom 1. bis 4. Tag nach der Bestrahlung abgelegten Eier, ermittelten sie jedoch *getrennt* für den 1. und 2. Tag (Brut A) und 3. und 4. Tag (Brut B), um eine eventuelle Reifegradabhängigkeit zu berücksichtigen. (Vgl. auch die Untersuchungen von PARKER und HAMMOND 1958 an stage 7- und stage 14-Oozyten.) Die im Alter von 3—6 Tagen bestrahlten „*snoc*“-♀♀ (mit $y^+ sc^{r1} \cdot Y^S$) wurden mit $y sc^{S1} B In 49 v f$ ♂♂ angesetzt (2 Pärchen pro Glas). Die Bestrahlungsdosis betrug stets 2000 r; sie wurde entweder in 1 min oder in 1000 r-Fraktionen in je 1/2 min mit 1stündigem Intervall appliziert. Die Vor- bzw. Nachbehandlung dauerte 1 Stunde. Bestrahlungsbedingungen: 150 kV Röhrenspannung, 20 mA Stromstärke, 6 mm Al HWS. Die Entfernung von Sauerstoffspuren aus dem Stickstoff geschah durch „O₂-Multi-rapid“². Alles weitere geht aus Abb. 1 hervor.

Die verschiedenen Behandlungsweisen sind aus der Tabelle ersichtlich, die unsere Ergebnisse zusammen mit denen von ABRAHAMSON (1959) wiedergibt.

¹ Herrn Dr. I. OSTER (Philadelphia) danken wir für die Übersendung der erforderlichen Stämme.

² Union Apparatebaugesellschaft Karlsruhe.

ABRAHAMSONs Werte können dabei etwas von den realen Versuchsdaten abweichen, da sie als „standard weighted frequencies“ auf die jeweiligen Kontrollwerte (2000 r konzentriert, in Luft) bezogen sind gemäß einem von MULLER (1941) angegebenen statistischen Verfahren („harmonic mean method“). Hieraus dürfte sich auch die fehlende Angabe einer Rate für Serie 1 (Tabelle) erklären.

Wie die Tabelle zeigt, konnten wir ABRAHAMSONs Befunde weitgehend bestätigen. Die sich aus der vergleichenden Betrachtung der verschiedenen Serien

ergebenden Schlußfolgerungen sind bereits bei ABRAHAMSON (1959) diskutiert. Wir wollen uns daher darauf beschränken, zwei neue Gesichtspunkte hervorzuheben, die sich bei unseren Versuchen ergeben haben: 1. Die Raten der meisten Serien tendieren dazu, in Brut B (3. und 4. Tag) gegenüber Brut A (1. und 2. Tag) abzusinken; die Unterschiede sind in den Serien 6 und 10 durch $P < 0,05$, in den Serien 5 und 11 durch $P < 0,01$ gesichert. Somit besteht bereits bei Oozyten des 1. bis 4. Tages gegenüber den verschiedenen Behandlungsweisen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Reifegradabhängigkeit. 2. ABRAHAMSON betont, daß er keinen Einfluß der Stickstoffvorbehandlung auf die Halbtranslokationsrate feststellen konnte („... nor pretreatment with nitrogen [series 6] produce any significant alteration of the rearrangement frequency when compared with the concentrated air treatment ...“). Dies ist unserer Meinung nach darauf zurückzuführen, daß

bei dem erwähnten von ABRAHAMSON angewandten statistischen Verfahren zur Prüfung von Unterschieden der betreffende Kontrollwert besonders stark berücksichtigt wird, dieser im Falle der Stickstoffvorbehandlung — wohl zufällig — besonders hoch war (4,5%) und dadurch ein an sich existierender Unterschied verwischt wurde. Da bei unseren Versuchen die Prüfung auf Heterogenität in den einzelnen Serien stets negativ ausgefallen war, sehen wir keinen Grund, von der üblichen χ^2 -Methode zur Prüfung von Unterschieden abzusehen. Vergleichen wir nun Serie 6 (Stickstoffvorbehandlung) mit Serie 1 (konzentrierte Bestrahlung in Luft), so ergibt sich eine signifikante Erhöhung der Aberrationshäufigkeit ($P < 10^{-4}$ für Brut A, $P < 10^{-6}$ für Brut B) und außerdem gute Übereinstimmung mit Serie 2 (Bestrahlung in Sauerstoff; $P = 0,16$ für Brut A, $P = 0,86$ für Brut B).

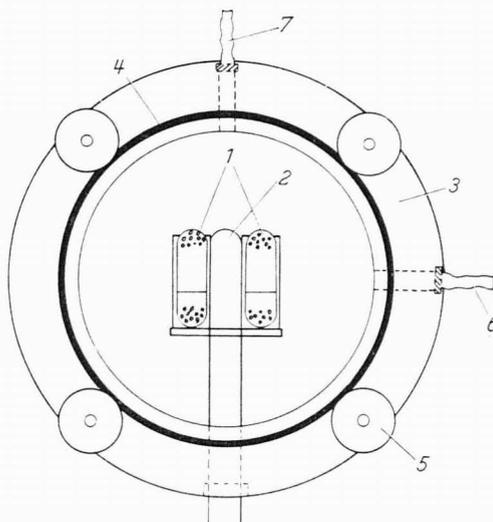


Abb. 1. Die bei unseren Untersuchungen verwendete Bestrahlungsanordnung (Aufsicht, leicht schematisiert). Die Fliegen befinden sich in perforierten Gelatine-kapseln 1, diese mit dem Dosimeter 2 (Schlauchionisationskammer; gasdicht zur Verhinderung von Diffusion) in einer aus Plexiglas gefertigten Kammer (äußere Abmessungen: 2,5 cm hoch, 8 cm Durchmesser), die bei Bestrahlungen in N_2 oder O_2 oben mit einer Zellophanfolie verschlossen wird. Hierzu Deckelring 3, Gummidichtung 4, Rändelmutter 5, Gaseinlaß- und -auslaßstutzen 6, 7. Ein Teil der Bestrahlungen wurde in einer im Vergleich zur dargestellten leicht modifizierten Kammer durchgeführt

Beim Versuch einer Deutung dieses Effekts wäre einmal daran zu denken, daß die Stickstoffvorbehandlung zu einer Atmungshemmung in den Oozyten führen könnte, die eine während der Bestrahlung wirksam werdende Anreicherung von (nicht veratmetem) Sauerstoff und somit Strahlensensibilisierung zur Folge hätte. Hierzu würde gut die erwähnte Übereinstimmung unserer Stickstoffvorbehandlungswerte mit den bei Bestrahlung in Sauerstoff erzielten Raten passen. SOBELS (1960) erwägt unter anderem dieses Prinzip der Atmungshemmung zur Interpretierung seiner Vorbehandlungsversuche mit Cyanid, die eine Erhöhung der strahleninduzierten Rate rezessiv geschlechtsgebundener Letalfaktoren in Spermatiden von *Drosophila* ergaben.

Andererseits bzw. ergänzend ließe sich vermuten, daß mit der Hemmung des Atmungssystems eine verringerte ATP-Produktion verbunden wäre. Da WOLFF und LUIPPOLD (1955, 1956, 1958) durch Untersuchungen an *Vicia* und

Tabelle

Serie	Versuchsordnung			Eigene Ergebnisse			ABRAHAMSON (1959)
	Bestrah- lung	Intervall, bzw. Vor- od. Nach- behandl.	Bestrah- lung	Brut A (1.—2. Tag)	Brut B (3.—4. Tag)	Unter- schied A/B (P)	1.—4.Tag
1	2000 r Luft	—	—	2,8% (64/2316)	2,2% (135/6162)	0,14	s. Erläute- rung im Text (1271/38273)
2	2000 r O ₂	—	—	4,3% (43/1003)	4,0% (95/2383)	0,76	4,6% (439/9474)
3	2000 r N ₂	—	—	1,0% (25/2626)	0,6% (55/8585)	0,13	0,6% (39/6222)
4	2000 r Luft	O ₂	—	nicht untersucht		—	3,1% (187/5994)
5	2000 r Luft	N ₂	—	4,8% (102/2103)	2,8% (156/5481)	< 10 ⁻⁴	5,3% (210/3981)
6	—	N ₂	2000 r Luft	5,8% (56/961)	4,1% (108/2621)	0,04	5,3% (64/1216)
7	1000 r O ₂	Luft	1000 r O ₂	2,0% (9/447)	2,5% (43/1694)	0,64	2,6% (211/8227)
8	1000 r N ₂	Luft	1000 r N ₂	0,9% (7/788)	0,5% (11/2291)	0,31	0,8% (106/12344)
9	1000 r Luft	Luft	1000 r Luft	2,4% (18/740)	1,8% (33/1863)	0,34	2,0% (450/25110)
10	1000 r Luft	O ₂	1000 r Luft	2,9% (16/546)	1,4% (17/1198)	0,05	2,3% (377/16600)
11	1000 r Luft	N ₂	1000 r Luft	4,2% (62/1478)	2,8% (191/6716)	0,009	4,8% (388/8131)
12		Spontanrate		0,0% (0/216)	0,2% (2/1056)	0,76	0,03% (9/27358)

Tradescantia eine Beteiligung des ATP bei der Restitution und Rekombination von Chromosomenbrüchen wahrscheinlich gemacht haben, blieben diese bei ATP-Mangel länger offen, die Wahrscheinlichkeit der Bildung einer Aberration an-

stelle Restitution nähme zu, und eine erhöhte Halbtranslokationsrate wäre die Folge. Auf diese Weise deutet auch SOBELS (1960) die von ihm erzielte Erhöhung der Translokationsrate in *Drosophila*-Spermatiden durch Cyanidnachbehandlung; hierbei wäre die ATP-Synthese durch Cyanidwirkung herabgesetzt.

Summary

ABRAHAMSON's (1959) results concerning the influence of oxygen on the frequency of X-ray induced structural changes (half-translocations) in *Drosophila* oocytes were generally reproduced, especially the demonstration of a "reverse" oxygen effect (under special experimental conditions protecting action of oxygen, sensitization by nitrogen). In the course of our investigations the following new findings were obtained: 1. The added aberration frequencies of the 3rd and 4th day after the various treatments generally tend to decrease as compared with those of the first two days (dependence on state of maturity of the treated oocytes). 2. Preirradiation treatment by nitrogen increases the aberration frequency significantly. Possible explanations of this effect are discussed.

Eine ausführlichere Darstellung der Ergebnisse erfolgt in der Diplomarbeit von H. WIND.

Literatur

- ABRAHAMSON, S.: The effects on rearrangement frequency of different oxygen tensions either during or between fractionated X-ray treatments of *Drosophila* oocytes. *Rec. Genet. Soc. Amer.* **25** (1956). — *Genetics* **41**, 631 (1956) (Abstr.).
- The influence of oxygen on the X-ray induction of structural changes in *Drosophila* oocytes. *Genetics* **44**, 173—185 (1959).
- BEATTY, A. V., J. W. BEATTY and C. COLLINS: Effects of various intensities of X-radiation on chromosomal aberrations. *Amer. J. Bot.* **43**, 328—332 (1956).
- MULLER, H. J.: On judging the significance of a difference obtained by averaging essentially different series. *Amer. Naturalist* **65**, 264—271 (1941).
- PARKER, D. R., and A. E. HAMMOND: The production of translocations in *Drosophila* oocytes. *Genetics* **43**, 92—100 (1958).
- SOBELS, F. H.: Chemical steps involved in the production of mutations and chromosome aberrations by X-irradiation in *Drosophila*. I. The effect of post-treatment with cyanide in relation to dose-rate and oxygen tension. *Int. J. Rad. Biol.* **2**, 68—90 (1960).
- WOLFF, S., and K. C. ATWOOD: Independent X-ray effects on chromosome breakage and reunion. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **40**, 188—192 (1954).
- , and H. E. LUIPPOLD: Metabolism and chromosome-break rejoining. *Science* **122**, 231—232 (1955).
- — The biochemical aspects of chromosome rejoining. *Progress in Radiobiology*. Edit. by J. S. MITCHELL, B. E. HOLMES and C. L. SMITH. Edinburgh: Oliver & Boyd (1956a).
- — The production of two chemically different types of chromosome breaks by ionizing radiations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **42**, 510—514 (1956b).
- — Modification of chromosomal aberration yield by postirradiation treatment. *Genetics* **43**, 493—501 (1958).

Dr. H. TRAUT und cand. rer. nat. H. WIND,
Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe,
Karlsruhe (Postfach)