

KFK-56

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

APRIL 1961

KFK 56

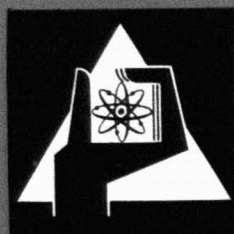
INSTITUT FÜR STRAHLENBIOLOGIE

STRAHLENBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
AM BAKTERIOPHAGEN $\phi X 174$

G. HOTZ UND A. MÜLLER

haft m. b. H.

26. JULI 1961



KERNREAKTOR

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

KARLSRUHE

Strahlenbiologische Untersuchungen am Bakteriophagen Φ X 174

Von GERHART HOTZ und ADOLF MÜLLER

Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum
 Karlsruhe

(Z. Naturforschg. 16 b, 282–283 [1961]; eingegangen am 1. März 1961)

Nach neueren Untersuchungen¹ besitzt der an sich lange bekannte² sehr kleine Phage Φ X 174 im Gegensatz zu fast allen anderen Phagen DNS in Einstrang-Form. Es erschien daher von Interesse, mit Φ X 174 über die vor längerer Zeit veröffentlichten Untersuchungen³ hinausgehende strahlenbiologische Versuche durchzuführen, wobei zur Erzielung quantitativ vergleichbarer Ergebnisse die gleiche Methodik anzuwenden war wie bei unseren Versuchen⁴ mit Phagen der T-Reihe.

Zur Bestrahlung wurden gereinigte Proben⁵ von Φ X 174, die etwa 10^{10} plaque-bildende Einheiten pro ml enthielten, in 9 Teilen Difco-Nährbouillon (4%) suspendiert und jeweils 0,6 ml der Suspension in Plexiglas-Schälchen von 20 mm Durchmesser verwandt. Da insbesondere der Einfluß zusätzlicher Faktoren auf die Strahlenwirkung geprüft werden sollte, wurde die Suspension vor und während der Bestrahlung durch einen feinen Strahl von Sauerstoff bzw. von sauerstofffreiem Stickstoff mit dem betreffenden Gas äquilibriert (und gleichzeitig gerührt), oder aber in der Suspension der „Strahlen-Schutzstoff“ Cysteamin (Fluka A.G.) gelöst. Unmittelbar nach Bestrahlung wurden die Suspensionen mit der hundertfachen Menge gekühlter Nährbouillon (0,8%) verdünnt und die Plaque-Bildung mittels der üblichen „top-layer“-Technik⁶ bestimmt. Als Strahlenquelle diente eine bei 100 kV_s und 25 mA betriebene Röntgenröhre mit 1,5 mm dickem Berylliumfenster. Die effektive Wellenlänge betrug 1,4 Å, die Dosisleistung 0,5 Mr/Minute. Zur Dosismessung benutzten wir das Fricke-Aktinometer ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$) in identischer Geometrie nach vorherigem Vergleich mit zwei unabhängig voneinander geeichten Ionisationsdosimetern.

Wie aus Abb. 1 ersichtlich, wird die Plaque-Bildung mit steigender Strahlendosis nach einer einfachen e-Funktion inaktiviert. Dabei besteht ebensowenig wie bei anderen Phagen^{4,7} ein signifikanter Unterschied zwischen der Strahlenwirkung in Sauerstoff und in Stickstoff. Für Φ X 174 beträgt die 37% Überlebensdosis 380 ± 18 kr, nach unseren früheren Messungen

für T 2 jedoch nur 63 kr in Luft und 52 kr in Stickstoff. Danach liegt der Wert des Verhältnisses der Überlebensdosen nahe bei den früher an verwandten Phagen⁸ gefundenen Werten:

$$\begin{aligned} D_{37}(\Phi \text{ X } 174)/D_{37}(\text{ T } 2) &= 6,7, \\ D_{37}(\text{ S } 13)/D_{37}(\text{ C } 16) &= 7,3^9, \\ D_{37}(\text{ S } 13)/D_{37}(\text{ T } 2) &= 6,4^{10}, \\ D_{37}(\text{ S } 13)/D_{37}(\text{ T } 2) &= 7,7^1, \\ D_{37}(\text{ S } 13)/D_{37}(\text{ T } 2) &= 5,7^{11}. \end{aligned}$$

Interessanterweise stehen dem somit etwa 7 : 1 betragenden Verhältnis der Strahlenwirkungen pro Dosis-einheit von T 2 und Φ X 174 T Verhältnisse der Phagen-gewichte von 40 : 1 und der DNS-Gehalte von 56 : 1 gegenüber. Die Inaktivierung von Φ X 174 ist also bezogen auf absorbierte Strahlenenergie pro g Phage etwa 6-mal und bezogen auf absorbierte Strahlenenergie pro g DNS etwa 8-mal größer als bei T 2.

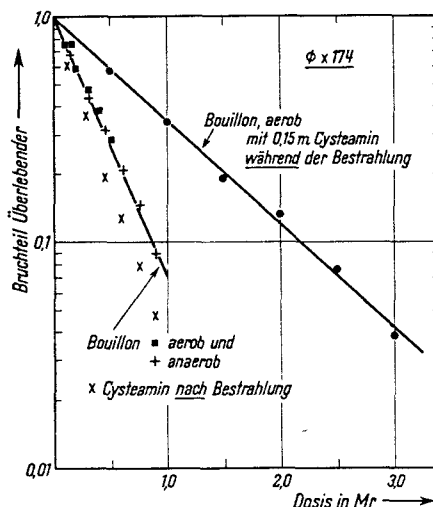


Abb. 1. Inaktivierung der Plaquebildungsfähigkeit von Φ X 174 nach Röntgenbestrahlung in Difco-Nährbouillon (4%).

Eine Berechnung des Treffbereichs für die Inaktivierung der Plaque-Bildung von Φ X 174 nach dem naiven (auch „klassisch“ genannten) Verfahren unter Zugrundelegung der Werte

$$\begin{aligned} 1 r &= 0,88 \text{ rad,} \\ 1 \text{ rad} &= 6,24 \cdot 10^{13} \text{ eV/g,} \\ \text{Dichte} &1,22 \text{ g/cm}^3, \end{aligned}$$

¹ I. TESSMAN, *Virology* 7, 263 [1959]; I. TESSMAN, E. S. TESSMAN u. G. S. SPENT, 4, 209 [1957]; R. L. SINSHEIMER, *J. Mol. Biol.* 1, 37 u. 43 [1959].

² V. SERTIC u. N. BOULGAROV, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales* 119, 1270 [1935].

³ M. FRILLEY, N. BOULGAROV u. P. BONÉT-MAURY, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales* 138, 726 [1944]; P. BONÉT-MAURY, *Brit. J. Radiol. Suppl.* 1, 23 [1947].

⁴ G. HOTZ u. A. MÜLLER, *Z. Naturforschg.* 15 b, 450 [1960].

⁵ Wir sind Dr. R. L. SINSHEIMER für die Überlassung der Stämme zu Dank verpflichtet.

⁶ M. H. ADAMS, *Methods of study of bacterial viruses*, in: *Methods in Medical Research*. Vol. 2, The Year Book Publishers, Chicago 1950.

⁷ H. B. HEWITT u. J. READ, *Brit. J. Radiol.* 23, 416 [1950]; H. MARCOVICH, *Radiation Research* 9, 149 [1958]; P. HOWARD-FLANDERS u. P. JOCKEY, *Int. J. Radiation Biol.* 2, 361 [1960].

⁸ S. A. ZÄHLER, *J. Bacteriol.* 75, 310 [1958].

⁹ E. WOLLMAN u. A. LACASSAGNE, *Ann. Inst. Pasteur* 64, 5 [1940].

¹⁰ R. LATARJET u. P. FRÉDÉRICQ, *Virology* 1, 100 [1955].

¹¹ G. BERTANI, *J. Bacteriol.* 79, 387 [1960].

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

Energieaufwand für 1 inaktivierendes Ereignis 110 eV, ergibt ein Volumen von $4,3 \cdot 10^{-18} \text{ cm}^3$ und bei Annahme von Kugelform einen Durchmesser von 200 Å. Dieser Durchmesser ist kleiner als der in neueren Untersuchungen^{1, 12} auf anderem Wege erhaltene Wert von 240 Å. Eine verfeinerte Berechnung würde zu einer Verkleinerung der Diskrepanz führen, doch halten wir deren Anwendung nicht für berechtigt, da Versuche nur mit einer Strahlenart (einem Wert der LET) vorliegen.

Abb. 1 zeigt weiter, daß wir auch bei $\Phi X 174$ das Phänomen des „Hyperschutzes“¹³ fanden, das ist einen Strahlenschutz durch die SH-haltige Verbindung Cysteamin, der über den durch Bouillon verursachten Schutz

hinausgeht. Der Hyperschutzfaktor durch Anwesenheit von 0,15-m. Cysteamin *während* der Bestrahlung beträgt 2,5 und liegt damit in dem früher bei anderen Phagen gefundenen Bereich^{4, 7, 14}. Zusatz von Cysteamin *nach* Bestrahlung ergab jedoch keinen Hyperschutz, wirkt also offenbar nicht auf eventuell vorhandene langlebige Zustände „latenter“ Schädigung.

Zusammengefaßt folgt aus unseren Versuchen, daß sich $\Phi X 174$ bezüglich des Einflusses von Begleitfaktoren (Sauerstoff, Stickstoff, Cysteamin) auf die Röntgenstrahlenwirkung ebenso verhält wie andere Phagen, jedoch bezogen auf die pro g absorbierte Strahlenenergie eine etwa um eine Größenordnung stärkere Inaktivierung zeigt.

¹² C. E. HALL, E. C. MACLEAN u. I. TESSMAN, J. Mol. Biol. 1, 192 [1959].

¹³ A. H. DOERMANN, zitiert in: J. D. WATSON, J. Bacteriol. 63, 474 [1952].

¹⁴ H. T. EPSTEIN u. D. SCHARDL, Nature [London] 179, 100 [1957].