

KFK-195

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM**

**KARLSRUHE**

November 1963

KFK 195

Institut für Strahlenbiologie

Elektron-Spin-Resonanzen in bestrahlten Bakteriophagen

und deren Bestandteilen. II.

Wolfgang Köhnlein



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.  
KARLSRUHE

*Sonderdruck aus*

**STRAHLENTHERAPIE Band 122, Heft 3 (1963)**

Herausgegeben von J. Becker, R. Birkner, H. Langendorff, H. Meyer

VERLAG URBAN & SCHWARZENBERG / MÜNCHEN UND BERLIN

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

**Elektron-Spin-Resonanzen in bestrahlten Bakteriophagen  
und deren Bestandteilen**

**II. Mitteilung**

Von

**Wolfgang Köhnlein**

Mit 11 Abbildungen

*Einleitung*

In der vorhergehenden Mitteilung (*Zimmer, Köhnlein, Hotz u. Müller, 1963*) wurde gezeigt, daß und in welcher Weise Versuche an Bakteriophagen und deren Bestandteilen über die Bildung freier Radikale durch ionisierende Strahlungen geeignet sind, Aufschlüsse über die ersten physikochemischen Reaktionen zu erhalten, die sich an die Absorption von Strahlungsenergie in biologischem Material anschließen. Dort wurde auch über Messungen an Aminosäuren berichtet. Gegenstand der vorliegenden II. Mitteilung sind analoge Untersuchungen (Aufnahme von Mikrowellen-Absorptions-Spektren und Bestimmung des Energieverbrauchs zur Erzeugung eines ungepaarten Spins) an Nukleinsäurebasen. Unsere Ergebnisse stellen eine wesentliche Erweiterung früherer rein qualitativer Untersuchungen zum gleichen Thema (*Shields u. Gordy, 1959*) in quantitativer, aber auch in qualitativer Hinsicht dar.

*Versuchstechnik*

Die zu untersuchenden Substanzen wurden von der Firma California Corporation for Biochemical Research, USA, in polykristalliner Form bezogen und ohne weitere Behandlung verwendet. Bestrahlungen und ESR-Messungen führten wir für alle Substanzen sowohl an Luft als auch im Vakuum durch. Vor der Bestrahlung im Vakuum wurden die Substanzen in dünnwandige Quarzröhren mit einem Außendurchmesser von 4,5 mm gefüllt, 10 bis 15 Stunden lang bei einem Druck von  $10^{-4}$  bis  $10^{-5}$  Torr evakuiert, um möglichst allen Sauerstoff zu entfernen, und anschließend die evakuierten Proberöhrchen abgeschmolzen.

Die Bestrahlung der Proben erfolgte bei allen hier beschriebenen Versuchen bei Zimmertemperatur. (Über Untersuchungen bei tiefer Temperatur wird an anderer Stelle berichtet werden.) Als Strahlenquellen standen uns zwei Röntgenröhren (100 kV, 25 mA, HWS 0,065 mm Al, maximale Dosisleistung 0,5 MR/min und 150 kV, 20 mA, HWS 6 mm Al, maximale Dosisleistung 8 kR/min) sowie eine Co- $\gamma$ -Quelle (Dosisleistung 6,5 kR/min) zur Verfügung. Die Bestrahlungen an Luft wurden meistens mit der 100-kV-Röhre durchgeführt, für die quantitative Bestimmung des Energieaufwandes

pro Radikal aber auch Kontrollbestrahlungen mit der 150-kV-Röhre und der Co- $\gamma$ -Strahlung vorgenommen. Die evakuierten Proben wurden dagegen nur mit der harten Strahlung der Co- $\gamma$ -Quelle oder mit der 150-kV-Röhre bestrahlt. Zur Bestimmung der Bestrahlungsdosis verwendeten wir verschiedene, bereits früher ausführlich beschriebene Methoden (Köhnlein u. Müller, 1962). Nach der Bestrahlung entfernten wir die im Quarz gebildeten Farbzentren an einem Ende der Röhren durch Erwärmen in einer Bunsenflamme. Dabei wurde das andere Ende, das die Probe enthielt, auf Zimmertemperatur gehalten. Danach brachten wir zur Messung die bestrahlte Substanz durch Schütteln in das F-Zentren-freie Ende des Proberohrs, um anschließend mit einem ESR-Spektrometer die Resonanzspektren zu registrieren. Die an Luft bestrahlten Proben wurden sofort nach Bestrahlungsende in Quarzrohre gefüllt und die Spektren aufgenommen. Bei sämtlichen Messungen versuchten wir, möglichst kurze Zeit nach Bestrahlungsende die ersten Resonanzspektren zu registrieren. Im allgemeinen gelang es, 4 bis 6 Minuten nach Ende einer Bestrahlung das erste Spektrum aufzunehmen. Auf diese Weise konnte auch bei schnell zerfallenden Radikalen (Halbwertszeit zwischen 10 und 20 Minuten) recht genau auf die ursprüngliche Radikalkonzentration extrapoliert werden.

Zur Aufnahme quantitativ auswertbarer ESR-Spektren benutzten wir ein X-Band (9500 MHz) Mikrowellenspektrometer der Firma Hilger und Watts, London, mit 100 KHz Feldmodulation und einem Doppelprobenresonator (Köhnlein u. Müller, 1960, 1961, 1962). Dieses ESR-Spektrometer erlaubt, auch bei kleinen Mikrowellenleistungen (0,01 mW) noch mit ausreichender Empfindlichkeit ESR-Spektren aufzunehmen. Zur quantitativen Bestimmung des Energieaufwandes pro Radikal wurde das erste Moment ( $M_1$ ) der Spektren mit Hilfe einer Momentenwaage bestimmt (Köhnlein u. Müller, 1962). Von allen untersuchten Substanzen wurden Dosiseffektkurven aufgenommen, die Mikrowellensättigung registriert und die Änderung des Resonanzsignals nach der Bestrahlung verfolgt. Dadurch vermieden wir mögliche Fehler bei der Ermittlung des Energieaufwandes pro Radikal, die durch nicht lineare Dosiseffektkurven, durch Mikrowellensättigung infolge von großer Spin-Gitter-Relaxationszeiten und durch Radikalzerfall vortäuscht werden.

### *Ergebnisse und Diskussion*

Es wurden die Purinbasen Adenin, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin, die Pyrimidinbasen Cytosin, Methylcytosin, Uracil und Thymin sowie das Basen-Analog Bromouracil untersucht. Bei den unbestrahlten Substanzen konnten keine Resonanzspektren beobachtet werden. Die Spektren der bestrahlten Purine und Pyrimidine haben gleiche Form, unabhängig davon, ob die Bestrahlung an Luft oder im Vakuum erfolgte. Eine Änderung der Form der Spektren mit wachsender Dosis wurde bei den 8 „natürlichen“ Basen nicht beobachtet, jedoch bei dem Basen-Analog Bromouracil, das daher getrennt besprochen wird.

Bei den Purinen fanden wir bereits bei relativ kleinen Dosen eine Resonanzlinie mit zwei Satelliten geringer Intensität im Gegensatz zu Shields und Gordy (1959), die auch nach Bestrahlungsdosen von 5 MR noch keine Spektren erhielten. Der Abstand der Seitenlinien zur Hauptlinie beträgt 30 Gauß. Die Nebenlinie in Richtung kleinerer magnetischer Feldstärke ist durchweg stärker ausgebildet. Die Intensität der Seitenlinie zur Hauptlinie, die bei dem g-Wert des freien Elektrons liegt, verhalten sich etwa wie 1:10. In Abbildung 1 sind die differenzierten ESR-Spektren der Purine dargestellt. Der Pfeil markiert die Lage der maximalen Elektronenresonanz für DPPH, entspricht also einem g-Wert von 2,0036.

Bei den Pyrimidinen Cytosin und Uracil erhielten wir 3 bis 4 nicht sehr gut aufgelöste Linien im Gegensatz zu Shields und Gordy (1959), die im allgemeinen

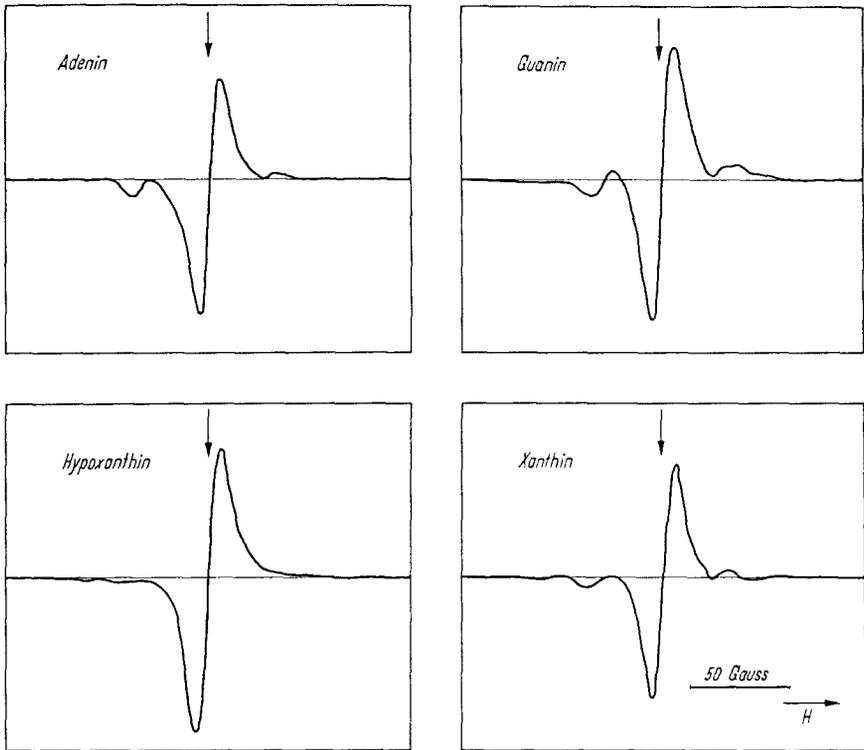


Abb. 1. Elektronen-Spin-Resonanzspektren der bestrahlten Purinbasen. Es ist die erste Ableitung des eigentlichen Resonanzspektrums dargestellt. Der Pfeil entspricht einem  $g$ -Wert von 2,0036

linienärmere Spektren beschreiben, und bei den Pyrimidinen Methylcytosin und Thymin, die eine Methylgruppe besitzen, sehr linienreiche Spektren: Bei Methylcytosin erhielten wir 11 Linien, bei Thymin 12. Das Resonanzspektrum von Methylcytosin setzt sich zusammen aus einem Dublett und einem Triplett. Der Linienabstand des Dubletts beträgt 27 Gauß, der des Triplett 42 Gauß. Jede Triplettlinie ist noch einmal in 3 Linien aufgespalten. Hier beträgt der Linienabstand 14,5 Gauß. Beim Thyminspektrum ist ebenfalls eine Zuordnung der 12 Spektrallinien in mehrere Untergruppen möglich. Wir finden hier ein Quintett und ein dazu etwas verschobenes Oktett. Der Linienabstand beträgt in beiden Fällen 14 Gauß. Eine Aussage über die Art der erzeugten Radikale in den bestrahlten Nucleinsäurebasen kann noch nicht gemacht werden, zumal nur polykristalline Proben untersucht wurden. Jedoch scheint die Methylgruppe im Thymin und Methylcytosin für die starke Hyperfeinstruktur verantwortlich zu sein. Diese Annahme wird gestützt durch die Tatsache, daß die analogen Verbindungen Uracil und Cytosin, die keine  $\text{CH}_3$ -Gruppe enthalten, auch keine so ausgeprägte Hyperfeinstruktur in den Resonanzspektren zeigen. In Abbildung 2 sind die Spektren der Purinbasen zusammengestellt.

Im Gegensatz zum Uracilspektrum zeigt Bromouracil vor dem Hauptsignal, das bei dem  $g$ -Wert 2,0046 erscheint, ein um 60 Gauß in Richtung kleinerer

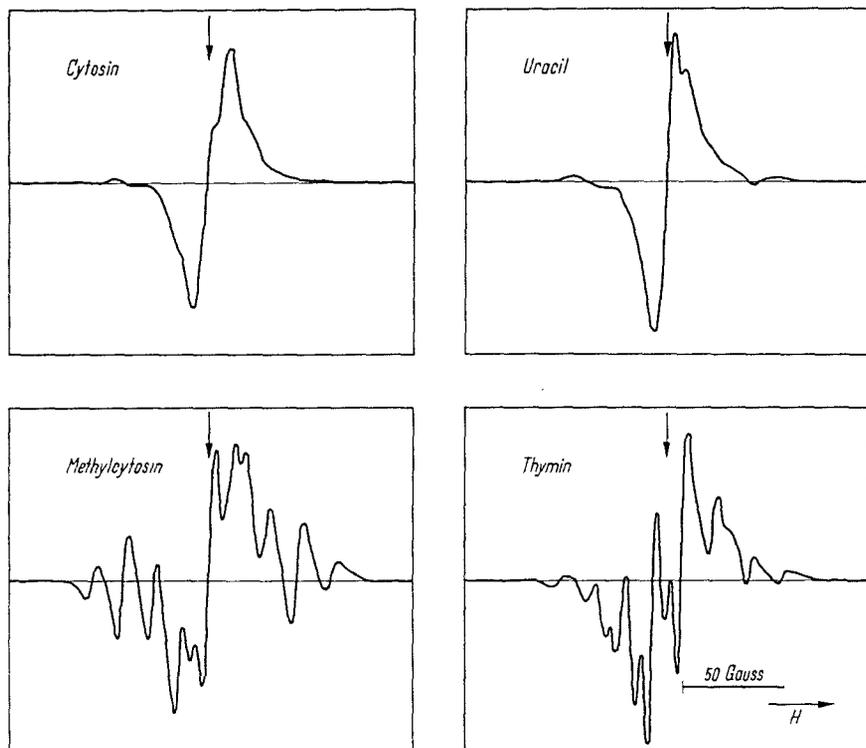


Abb. 2. Elektronen-Spin-Resonanzspektren der bestrahlten Pyrimidinbasen. Es ist die erste Ableitung des eigentlichen Resonanzspektrums dargestellt. Der Pfeil entspricht einem  $g$ -Wert von 2,0036.

magnetischer Feldstärken verschobenes unsymmetrisches Spektrum mit ausgeprägter Hyperfeinstruktur. In Abbildung 3 ist das Gesamtspektrum von Bromuracil nach Bestrahlung mit verschiedenen Dosen von Röntgenstrahlen dargestellt. Wie man aus der Abbildung entnehmen kann, ändert sich das Spektrum mit wachsender Dosis. Das Verhältnis der Amplituden des Nebensignals (B) zum Hauptsignal (A) ist in Abhängigkeit von der Dosis sowohl für Proben, die mit  $\text{Co-}\gamma$ -Strahlung, als auch für solche, die mit der weichen 100-kV-Strahlung bestrahlt wurden, in Abbildung 4 aufgetragen. Die recht unterschiedliche Dosisabhängigkeit des Verhältnisses B/A legt nahe, das Resonanzsignal (B) am niederfrequenten Ende des Gesamtspektrums einem ungepaarten Elektron zuzuschreiben, das an einem Bromatom lokalisiert ist. Diese Annahme ist aus folgenden Grunde wahrscheinlich: Ein am Bromatom lokalisiertes freies Elektron unterliegt einer starken Spin-Bahn-Kopplung. Der  $g$ -Wert wird also größer oder kleiner als der des freien, ungekoppelten Elektrons sein. Wir finden in der Tat mit  $g = 2,047$  für das Signal (B) einen merklich über dem des freien Elektrons liegenden  $g$ -Wert. Der Photoabsorptionskoeffizient von Brom besitzt ein sehr stark ausgeprägtes Maximum bei 13,8 kV (K-Kante). Die nur durch ein 1,5 mm starkes Berylliumfenster gefilterte Strahlung der 100-kV-Röhre liefert zwischen 10 und 15 kV eine erhebliche Intensität. Die weiche Strahlung der Röntgenröhre

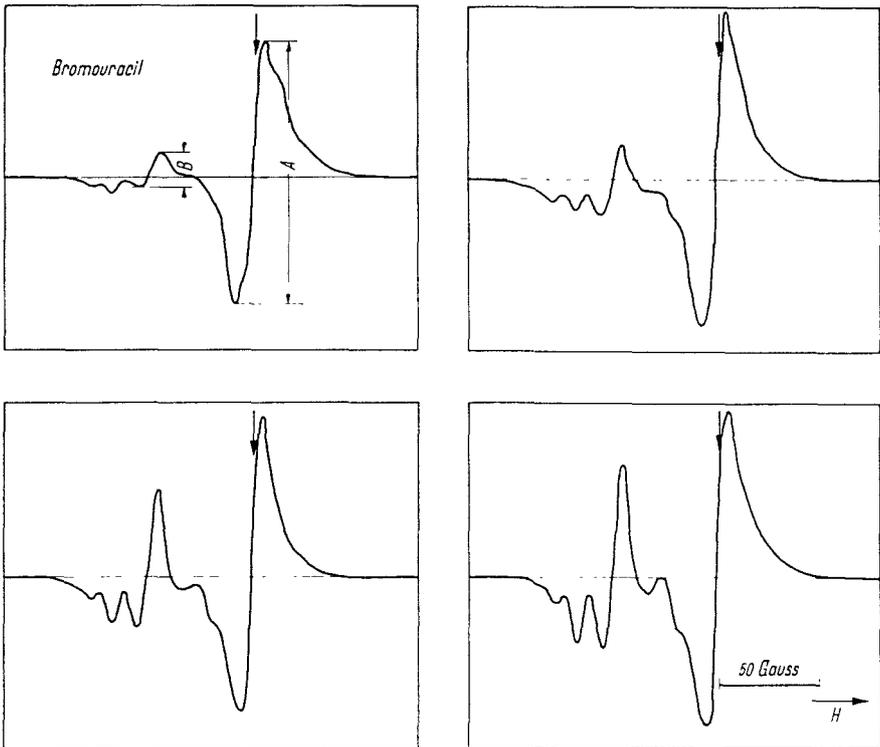


Abb. 3. Elektronen-Spin-Resonanzspektren von bestrahltem Bromouracil. Es ist die erste Ableitung des eigentlichen Resonanzspektrums dargestellt. Der Pfeil entspricht einem  $g$ -Wert von 2,0036. Als Strahlenquelle diente eine 100-kV-Röhre. Die Bestrahlungsdosen verhalten sich wie 1:4:19:44.

wird also bevorzugt vom Bromatom durch Photoabsorption absorbiert, zumal der Gewichtsanteil von Brom im Bromouracil 42% beträgt. Bei der harten  $\text{Co-}\gamma$ -Strahlung (1,17 MeV und 1,33 MeV) findet keine bevorzugte Photoabsorption am Brom mehr statt (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1. Einfluß der Photoabsorption bei der Bildung von freien Radikalen in 5-Bromouracil nach Bestrahlung mit Röntgen- und  $\text{Co-}\gamma$ -Strahlung an Luft.

Strahlenart	Bruchteil der Moleküle, die nach einer Bestrahlungsdosis (exposure dose) von $10^4$ R ein ungepaartes Elektron besitzen
Röntgenstrahlung 150 kV	$21 \cdot 10^{-6}$
$\text{Co-}\gamma$ -Strahlung	$1,1 \cdot 10^{-6}$

Die Dosiseffektcurven der bestrahlten Purine und Pyrimidine (Abb. 5 bis 7) zeigen einen ganz anderen Verlauf als die Dosiseffektcurven der bestrahlten Aminosäuren (Köhnelein, 1962). Dort besteht bis zu Bestrahlungsdosen von 3 MR eine lineare Beziehung zwischen Radikalkonzentration und Dosis. Hier

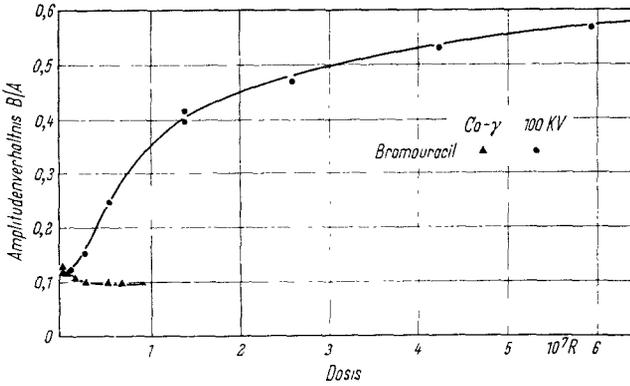


Abb. 4. Verhältnis der ESR-Signal-Amplituden B zu A in Abhängigkeit von der Dosis für Bromouracil, nach Bestrahlung mit 100-kV-Röntgen- und mit Co-Gamma-Strahlung.

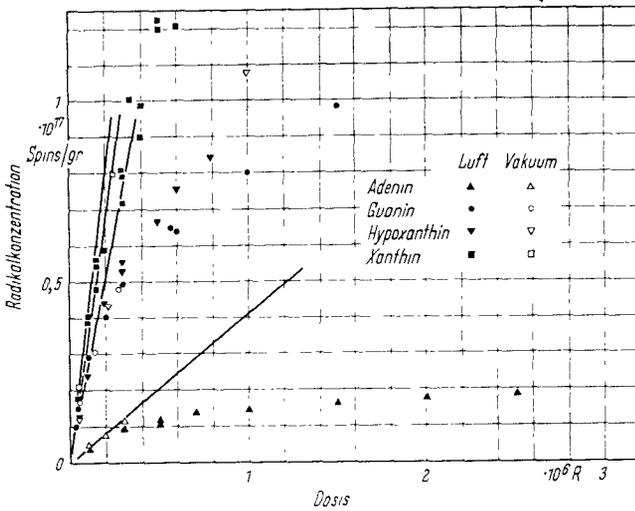


Abb. 5. Dosis-Effekt-Kurven der bestrahlten Purinbasen.

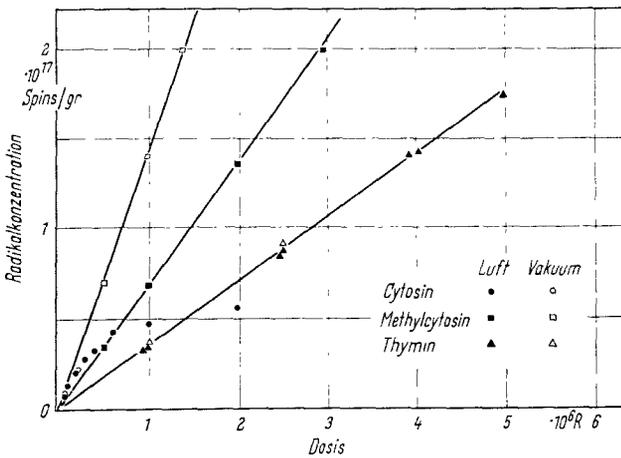


Abb. 6. Dosis-Effekt-Kurven von bestrahltem Cytosin, Methylcytosin und Thymin.

Abb. 7. Dosis-Effekt-Kurven von bestrahltem Thymin, Bromouracil und Uracil.

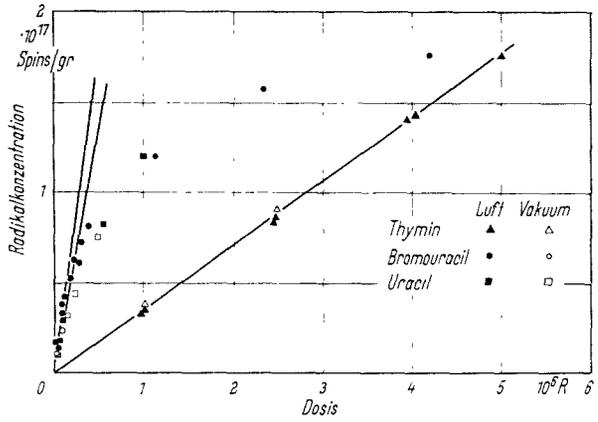


Abb. 8. Dosis-Effekt-Kurven der Purine in halblogarithmischer Darstellung.  $N_{max}$  ist die Sättigungskonzentration. Die Pfeile bezeichnen die Lage der  $D_{37}$ .

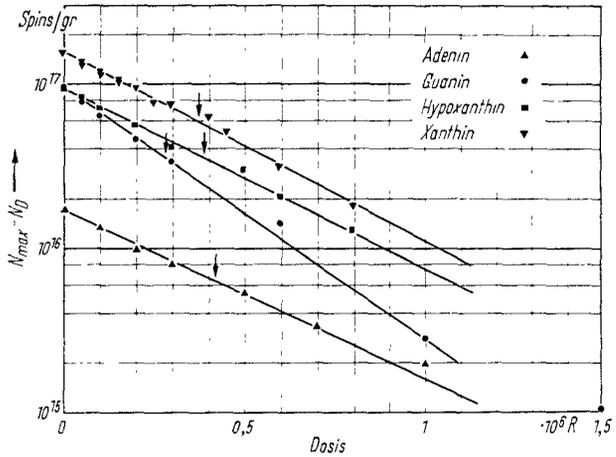
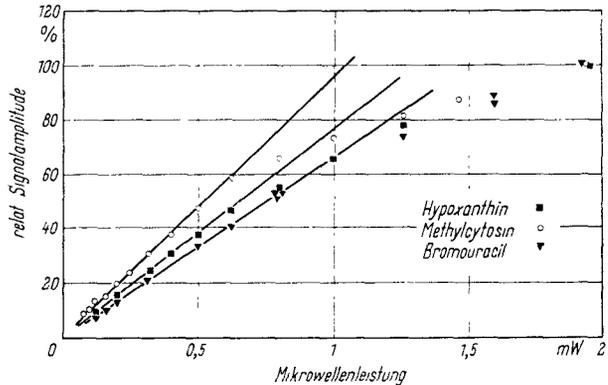


Abb. 9. Mikrowellensättigung für verschiedene Nukleinsäurebasen.



tritt eine Abweichung von der Linearität bereits zwischen 0,1 und 0,3 MR auf. Trägt man die Radikalkonzentration über der Dosis auf, so ergeben sich Kurven, die einem Sättigungswert zustreben. Bei Bestrahlungsdosen größer als 3 MR konnte im allgemeinen die Radikalkonzentration durch Weiterbestrahlen nicht erhöht werden. Eine Ausnahme machen wieder Methylcytosin und Thymin. Hier bleibt die Linearität zwischen Dosis und Spin-Konzentration bis zu Dosen von 10 MR erhalten. Eine weitere Ausnahme macht Bromouracil. Nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen findet man bereits bei 0,01 MR eine Abweichung von der Linearität. Bestrahlt man dagegen Bromouracil mit Co- $\gamma$ -Strahlung, so ist das Dosissättigungsverhalten ähnlich wie bei den anderen Basen.

Der Energieaufwand pro Radikal kann grundsätzlich aus der Tangente an die Dosiseffektkurve im Nullpunkt bestimmt werden, wobei man auf die ersten Punkte der Dosiseffektkurve angewiesen ist. Aber gerade diese Meßpunkte sind nicht sehr genau, da die Radikalkonzentration noch gering ist. Die mit kleineren Meßfehlern behafteten Werte bei größerer Spin-Konzentration können bei diesem Verfahren nicht zur Bestimmung des Energieaufwandes herangezogen werden. Eine andere Methode ergibt sich aus folgender Überlegung. Das Sättigungsverhalten der Dosiseffektkurve legt es nahe, die Kurven halblogarithmisch aufzutragen. Wie nehmen an, es gelte folgende Beziehung:

$$N_D/N_{\max} = 1 - \exp(-D/D_{37}).$$

Hier bedeutet  $N_D$  die Anzahl der Radikale nach Bestrahlung mit der Dosis  $D$ ,  $N_{\max}$  ist die Sättigungskonzentration. Tragen wir  $\log(N_{\max} - N_D)$  über der Dosis auf, so ergeben sich bei exponentiell verlaufenden Sättigungskurven Gerade. Nun können alle Meßpunkte benutzt werden, um die Anfangssteigung zu bestimmen. Durch Reihenentwicklung des Exponentialausdrucks und Abbruch nach dem linearen Glied erhält man für kleine Dosen:

$$N_D/N_{\max} = D/D_{37}.$$

Aus der Zeichnung kann  $N_{\max}$  und  $D_{37}$  entnommen und für beliebige Dosen  $D$  die Spin-Konzentration  $N_D$  errechnet werden, die ohne Dosissättigung vorhanden wäre.

Für einige Nukleinsäurebasen ist in Abbildung 8 die Dosiseffektkurve in halblogarithmischer Darstellung angegeben. Eine solche Darstellung gelingt jedoch nicht für alle untersuchten Basen. Auch ist die gute Darstellbarkeit der Dosiseffektkurven durch Exponentialausdrücke nur schwer zu erklären. Eine Deutung als Dosissättigung der Eintrefferreaktion ist unwahrscheinlich; denn bei Sättigungskonzentration zwischen  $10^{16}$  und  $10^{17}$  ist die Zahl der radikalisierten Moleküle gegenüber der noch intakten verschwindend klein. Eine Erklärungsmöglichkeit für das Sättigungsverhalten bildet die Annahme, daß die erzeugten Radikale während der Bestrahlung teilweise rekombinieren oder daß durch Bestrahlung gebildete Wasserstoffatome am Rekombinationsmechanismus Anteil haben, indem sie verhältnismäßig lange im Kristallgitter umherdiffundieren, bevor sie aus dem Gitter entweichen, und so ihre Wahrscheinlichkeit, mit einem Radikal zu reagieren, relativ groß wird. Ähnliche Dosissättigung wurde bereits an Nukleinsäuren beobachtet (Müller, 1962, 1963). Auch an Aminosäuren wurden nach Bestrahlung mit sehr hohen Dosen (10 bis 200 MR) in einigen Fällen exponentielle Dosiseffektkurven erhalten (Rotblat u. Simmons, 1963).

Abb. 10. Verhältnis der Signalamplitude B zu A bei Bromouracil in Abhängigkeit von der Zeit nach der Bestrahlung. Strahlenquelle: 100-kV-Röhre, Dosis 25 MR. Die Bestrahlung und Aufbewahrung der Probe erfolgten an Luft.

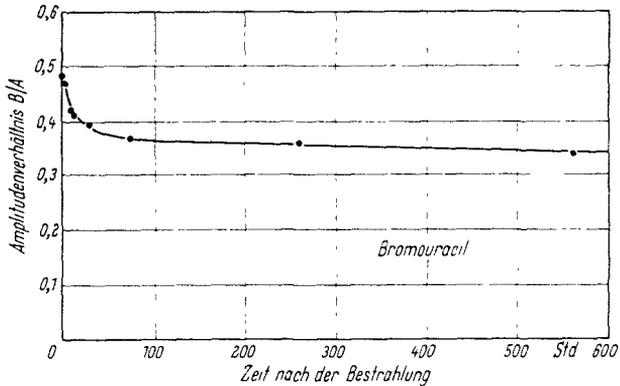
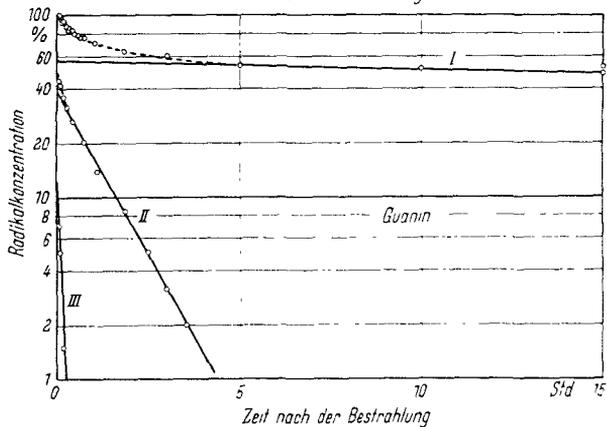


Abb. 11. Zerlegung der zeitlichen Abfallkurve der Radikalkonzentration in röntgenbestrahltem Guanin (obere gestrichelte Kurve) in drei Exponentialfunktionen mit 600 Std. (I), 45 min (II) und 4 min (III) Halbwertszeit. Die Kurven II und III werden durch Subtraktion der Exponentialfunktionen I und II aus den experimentellen Werten erhalten.



Eine Untersuchung der Mikrowellensättigung ergab, daß schon bei sehr kleinen Mikrowellenleistungen eine Abweichung von der linearen Beziehung zwischen einfallender Leistung und erhaltenem Signal auftritt. Für die untersuchten Basen findet bereits bei 0,5 mW einfallender Leistung teilweise Sättigung statt. In Abbildung 9 ist das Sättigungsverhalten für verschiedene bestrahlte Nukleinsäurebasen dargestellt. Die Mikrowellensättigung ist nicht von der Radikalkonzentration abhängig. Dies war schon früher bei den Aminosäuren festgestellt worden (Zimmer, Köhnlein, Hotz u. Müller, 1963).

Die Radikalkonzentration nimmt in den meisten Nukleinsäurebasen nach der Bestrahlung nur sehr langsam ab, und es tritt im allgemeinen auch keine Änderung der Form des Resonanzspektrums ein. Nur bei Bromouracil wurde eine Änderung des Amplitudenverhältnisses B/A nach der Bestrahlung festgestellt (Abb. 10) und beim Guanin eine schnelle Abnahme der Zahl der Radikale nach der Bestrahlung beobachtet (Abb. 11). Nach schnellem anfänglichem Abfall auf etwa 50% ändert sich die Spin-Konzentration nur noch wenig. Es gelang, die Zerfallskurve in drei Exponentialfunktionen mit verschiedenen Halbwertszeiten zu zerlegen. Wir erhalten eine sehr langlebige Komponente (Halbwertszeit etwa 500 Stunden) mit einem Anteil von 52%, eine Komponente (HWZ 45 min) mit 37% und eine sehr kurzlebige Komponente (HWZ 4 min) mit 11%.

Tabelle 2. Energieaufwand pro strahleninduziertes freies Radikal in den untersuchten Nukleinsäurebasen nach Röntgen- bzw. Gammastrahlung.

Material	Strahlenart	Bedingung während Bestrahlung und Messung	Energieaufwand pro ungepaartes Elektron
Cytosin	100 kV	Luft	350 eV
	150 kV	Vakuum	350 eV
5-Methylcytosin	100 kV	Luft	750 eV
	Co- $\gamma$	Vakuum	400 eV
Uracil	100 kV	Luft	190 eV
	150 kV	Vakuum	190 eV
5-Bromouracil	Co- $\gamma$	Luft	160 eV
	Co- $\gamma$	Vakuum	220 eV
Thymin	100 kV	Luft	1400 eV
	Co- $\gamma$	Vakuum	1400 eV
Adenin	100 kV	Luft	1200 eV
	150 kV	Vakuum	1200 eV
Hypoxanthin	100 kV	Luft	190 eV
	150 kV	Vakuum	190 eV
Guanin	100 kV	Luft	150 eV
	150 kV	Vakuum	150 eV
Xanthin	100 kV	Luft	120 eV
	150 kV	Vakuum	120 eV

Die unter Berücksichtigung der erwähnten möglichen Fehlerquellen berechneten Werte des Energieaufwandes für die Erzeugung eines ungepaarten Spins (freien Radikals) in den untersuchten Verbindungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Für alle bis auf zwei der untersuchten Substanzen erhielten wir gleichen Energieaufwand pro Radikal für Messungen an Luft und im Vakuum. Eine Ausnahme machen nur Methylcytosin und Bromouracil. Bei Methylcytosin wurde die Radikalausbeute im Vakuum etwa um den Faktor 2 größer als in Luft gefunden, und bei Bromouracil erhielten wir etwa 35% mehr Radikale bei Bestrahlung an Luft. Die Energie, die für die Erzeugung eines ungepaarten Elektrons in den Nukleinsäurebasen benötigt wird, liegt zwischen 120 eV und 1400 eV. Diese Werte sind vergleichbar mit den Energieaufwandswerten, die für Aminosäuren mit aromatischem Ring erhalten wurden (170 eV bis 2500 eV), während die Werte für einfache Aminosäuren zwischen 20 eV und 80 eV liegen (Köhnlein u. Müller, 1962; Zimmer, Köhnlein, Hotz u. Müller, 1963). Von den gefundenen Energieaufwandswerten scheinen uns für die Strahlenbiologie folgende besonders interessant. 1. Das Basenpaar Guanin-Cytosin, das nach dem Nukleinsäuremodell von Watson und Crick ein korrespondierendes Basenpaar ist, besitzt eine kleinere Strahlenresistenz (G: 150 eV und C: 350 eV) als das andere Basenpaar Adenin-Thymin (A: 1200 eV und T: 1400 eV). Dieser Befund ist eine bemerkenswerte Parallele für die von Kaplan und Zavarine (1962) beobachtete

Tatsache, daß die Halbwertsdosis für röntgenbestrahlte Bakterien mit wachsendem GC/AT-Verhältnis abnimmt. 2. Die erforderliche Energie zur Erzeugung eines Radikals in Bromouracil ist mit 160 eV etwa um den Faktor 9 kleiner als im Thymin (T: 1400 eV). In Parallele hierzu beobachtet man bei Phagen, Mikroorganismen und Zellkulturen von Säugetieren eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit, wenn die natürliche Base Thymin durch ihr Analog Bromouracil ersetzt wird. 3. Die Strahlenempfindlichkeit der Nukleinsäurebasen ist geringer als die der ganzen Nukleinsäure. Hier liegen die Werte bei 110 eV für Hefe-RNS, 160 eV für DNS-Proben aus Kalbsthymus und zwischen 8 eV und 30 eV für verschiedene Phagen-DNS-Präparationen (Müller, 1962, 1963).

### Übersicht

1. Mit Hilfe der ESR-Technik wurden die Nukleinsäurebasen Adenin, Guanin, Hypoxanthin, Xanthin, Cytosin, Methylcytosin, Uracil und Thymin sowie das Basenalog Bromouracil nach Bestrahlung mit Röntgen- und Co- $\gamma$ -Strahlung untersucht.
2. Die erhaltenen Resonanzspektren zeigen zum Teil eine ausgeprägte Hyperfeinstruktur (Methylcytosin und Thymin).
3. Bei den Purinbasen und bei Cytosin, Uracil und Bromouracil wurden nicht lineare Dosiseffektkurven, bei Methylcytosin und Thymin jedoch lineare Dosiseffektkurven gefunden.
4. Die durch Bestrahlung erzeugten Radikale sind sehr stabil, nur bei Guanin ist ein schneller Radikalzerfall zu beobachten.
5. Der Energieaufwand pro freies Radikal liegt bei den Nukleinsäurebasen zwischen 120 eV und 1400 eV.
6. Hinsichtlich der Erzeugung eines Radikals ist das Basenpaar Adenin-Thymin um den Faktor 5 strahlenresistenter als das Basenpaar Guanin-Cytosin. Die Tatsache, daß Bakterienstämme mit höherem Adenin-Thymin-Gehalt eine größere Strahlenresistenz zeigen, kann möglicherweise durch unseren Befund erklärt werden.
7. Das Bromouracil, das an Stelle von Thymin unter Erhaltung der Funktion in Nukleinsäuren lebender Objekte eingebaut werden kann, zeigt hinsichtlich der Erzeugung freier Radikale eine um den Faktor 9 größere Strahlenempfindlichkeit als das normalerweise vorkommende analoge Thymin. Auch hier liegt eine Parallele zu der in biologischem Material gefundenen erhöhten Strahlenempfindlichkeit vor, wenn in diesem Thymin durch Bromouracil ersetzt wird.

### Zusammenfassung

Die Mikrowellenabsorptionsspektren von Nukleinsäurebasen nach Bestrahlung mit Röntgen- und Gammastrahlen wurden untersucht und der Energieverbrauch zur Bildung eines ungepaarten Spins bestimmt. Dabei ergaben sich interessante Parallelen zu strahlenbiologischen Ergebnissen am lebenden Material.

### Summary

Electron spin resonance spectra of nucleic acid bases were investigated. Yields of unpaired spins per unit dose absorbed show interesting analogies to radiobiological results obtained in living materials.

*Résumé*

L'auteur étudie les spectres d'absorption de micro-ondes des bases d'acide nucléique, après une irradiation roentgen ou gamma; il détermine ensuite l'énergie utilisée pour la formation d'un Spin non-couplé. Il constate d'importants parallèles avec les observations radiobiologiques sur matériel vivant.

*Schrifttum*

*Kaplan, H. S.*, u. *R. Zavarine*: Biochem. biophys. Res. Commun. 8 (1962): 432. — *Köhnlein, W.*: Diss. Heidelberg 1962. — *Köhnlein, W.*, u. *A. Müller*: Z. Naturforsch. 15 b (1960): 138; Phys. in Med. Biol. 6 (1962): 599; In: Free Radicals in Biological Systems. Ed. *M. S. Blois* et al., S. 113. New York 1961. — *Müller, A.*: Int. J. Radiat. Biol. 5 (1962): 199; 6 (1963): 137. — *Müller, A.*, *W. Köhnlein* u. *K. G. Zimmer*: J. molec. Biol. 7 (1963): 92. — *Rotblat, J.*, u. *J. A. Simmons*: Phys. in Med. Biol. 7 (1963): 489. — *Shields, H.*, u. *W. Gordy*: Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 45 (1959): 269. — *Zimmer, K. G.*: Studies on Quantitative Radiation Biology. Edinburgh and London 1961; Radiat. Res. Suppl. 1 (1959): 519. — *Zimmer, K. G.*, *W. Köhnlein*, *G. Hotz* u. *A. Müller*: Strahlentherapie 120 (1963): 162.

Herrn Prof. Dr. *K. G. Zimmer* danke ich für sein stets förderndes Interesse, das er der Arbeit entgegengebracht hat, Herrn Dr. *A. Müller* und Herrn Dr. *S. Bhaskaran* für zahlreiche Diskussionen und Anregungen.

*Anmerkung bei der Korrektur*: Eine kritische Überprüfung der Eichmethoden im internationalen Vergleich hat ergeben, daß die Absolutwerte des Energieaufwands pro Radikal etwas tiefer liegen als hier, besonders in Tabelle 1, angegeben. Relativwerte und Schlußfolgerungen der Arbeit werden dadurch in keiner Weise berührt.