

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM  
KARLSRUHE**

Dezember 1966

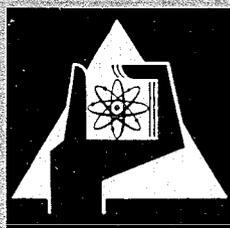
KFK 544

Institut für Strahlenbiologie

Zur biologischen Wirksamkeit elastischer Kernstöße II

Unbeeinflußbarkeit ihrer Wirkung auf Ribonuclease durch Cystamin  
und tiefe Temperaturen

H. Jung



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE



Zur biologischen Wirksamkeit elastischer Kernstöße II  
**Unbeeinflussbarkeit ihrer Wirkung auf Ribonuclease durch Cystamin  
und tiefe Temperaturen<sup>1</sup>**

H. JUNG

Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

(Z. Naturforschg. 21 b, 1165—1170 [1966]; eingegangen am 4. August 1966)

Slow protons having energies below 1.5 keV dissipate their kinetic energy in matter through elastic nuclear collisions. By this process atoms are displaced out from their original positions in macromolecules. This was recently shown to cause biological damage with high efficiency. Experiments are described to test the possibility of modifying the sensitivity of ribonuclease towards elastic collisions by protective agents and by low temperatures. When cystamine is present during irradiation dry ribonuclease is protected against the action of "ionizing" fast protons (2 MeV), the dose reduction factor being 1.8. But no protection is observed when inactivation is achieved by elastic nuclear collisions (proton energy 1 keV and 1.4 keV). Similar results were obtained when the irradiations were carried out at different temperatures. Using 2 MeV protons the radiosensitivity of ribonuclease was found to be 3 times higher at room temperature than at 125 °K, but when using slow protons of 1.4 keV energy the inactivation cross section turned out to be independent of temperature. This shows that the action of elastic nuclear collisions can be modified neither by cystamine nor by low temperatures.

Ein Teil der Energie bewegter geladener Teilchen wird in direktem Impuls an Atomkerne der durchstrahlten Materie abgegeben. In der Mehrzahl der Fälle reicht der übertragene Impuls aus, um die betreffenden Atomkerne aus ihrem Molekülverband herauszuschlagen, wobei diese einen kompletten Satz Elektronen mit sich führen. Da die Wechselwirkung über das Coulomb-Feld des Kerns verläuft, nennt man diesen Prozeß Kernstoß oder auch elastischen Kernstoß. In einer vorangegangenen Mitteilung<sup>1</sup> war der Nachweis geführt worden, daß elastische Kernstöße in der Lage sind, die enzymatische Aktivität von Ribonuclease mit großer Wirksamkeit zu zerstören. Diese Experimente wurden mit langsamen Protonen durchgeführt; denn im Energieintervall zwischen 0 und 60 keV nimmt die Ionisierungswahrscheinlichkeit nach kleinen Protonenenergien hin ab, während der Wirkungsquerschnitt für Kernstöße gleichzeitig ansteigt. Unterhalb von 1,5 keV wird die kinetische Energie von Protonen zum überwiegenden Teil in elastischen Kernstößen übertragen<sup>2,3</sup>. Durch Verwendung von sehr langsamen Protonen ist somit eine Möglichkeit gegeben, die biologischen Wirkungen von Kernstößen für sich zu untersuchen und dabei mögliche Unterschiede in der Wirkungsweise von elastischen Kernstößen und von

Ionisationen aufzuzeigen. Beispielsweise könnten sich Ionisationen und Kernstöße dadurch unterscheiden, daß die Wirkungen beider Primärprozesse durch verschiedene Parameter beeinflusst werden. Mit ionisierenden Strahlen wurde bisher eine ganze Reihe solcher Parameter ausführlich untersucht, wobei Schutzeffekt, Temperatureffekt und Sauerstoffeffekt besonderes Interesse fanden. Diese drei die Strahlenwirkung modifizierenden Parameter wurden an einer großen Zahl verschiedenartiger Systeme beobachtet, und zwar sowohl bei strahlenchemischen Experimenten als auch bei Bestrahlung von Makromolekülen, Viren und Zellen.

Die vorliegenden Experimente hatten zum Ziel, den Einfluß von Schutzstoffen und tiefen Temperaturen auf die Strahlenempfindlichkeit von Ribonuclease zu untersuchen, und zwar sowohl mit *schnellen* Protonen, die Ionisation auslösen können, als auch mit *langsamen* Protonen, die ihre Energie zum überwiegenden Teil in elastischen Kernstößen übertragen. Es konnte nicht geprüft werden, ob bei Strahlenschädigung durch Kernstöße ein Sauerstoffeffekt auftritt; denn die kurze Reichweite der verwendeten niederenergetischen Protonen erforderte, die Bestrahlungen im Hochvakuum auszuführen. Als Schutzstoff wählten wir Cystamin, das Disulfid des

<sup>1</sup> I. Mitt.: H. JUNG, Z. Naturforschg. 20 b, 764 [1965].

<sup>2</sup> W. S. SNYDER u. J. NEUFELD, Radiat. Res. 6, 67 [1957].

<sup>3</sup> J. NEUFELD u. W. S. SNYDER, in: „Selected Topics in Radiation Dosimetry“, S. 35. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna 1961.

$\beta$ -Mercaptoäthylamins, da verhältnismäßig geringe Mengen dieser Substanz bereits meßbare Schutzwirkungen hervorrufen. Dies ist beim Arbeiten mit langsamen Protonen, deren geringe Eindringtiefe von etwa 100 Å die Versuche auf Bestrahlung sehr dünner Schichten und damit kleinster Mengen beschränkt, von ausschlaggebender Bedeutung.

### 1. Methodik

**Reinigung der Ribonuclease:** Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Ribonuclease (RNase) von Sigma Chemical Company, St. Louis, USA, verwendet. Durch Chromatographie über eine Säule von Amberlite IRC-50 (XE-64) mit 0,2-m. Phosphatpuffer ( $p_H$  6,47) konnte reine Ribonuclease A<sup>4</sup> von Verunreinigungen und den übrigen RNase-Komponenten abgetrennt werden. Einzelheiten dieser Methode sowie die Prüfung der gereinigten RNase A auf Einheitlichkeit wurden bereits früher mitgeteilt<sup>5</sup>.

**Bereitung der Proben:** Die gereinigte Ribonuclease A wurde in doppelt-quarzdest. Wasser gelöst und, falls erforderlich, Cystamin  $\cdot$  2 HCl (Calbiochem, Los Angeles, USA) zugefügt. Jeweils 0,01 ml der für den betreffenden Versuch verwendeten Lösung wurden auf Goldplättchen von 10 mm  $\phi$  aufpipettiert und bei  $-78^\circ\text{C}$  gefriergetrocknet<sup>1</sup>.

**Bestrahlung:** Die Experimente mit langsamen Protonen wurden an einem Beschleuniger durchgeführt, der Protonen mit Energien zwischen 0,8 und 60 keV liefert<sup>1</sup>. Zum Bestrahlen mit 2 MeV-Protonen stand ein Van-de-Graff-Beschleuniger (High Voltage Eng. Corp.) zur Verfügung. Das Auffächern des Protonenstrahls, die Methoden der Dosimetrie sowie der Aufbau der Bestrahlungskammer sind von HERMANN<sup>6</sup> bereits beschrieben worden. Für die Bestrahlungen bei tiefen Temperaturen wurde an beiden Beschleunigern eine Kammer verwendet, deren Konstruktion gewährleistet, daß die Enzym-Proben praktisch allseitig von kalten Wänden umgeben waren<sup>6</sup>. Die Abkühlung erfolgte somit über Wärmestrahlung. Dadurch wurde sichergestellt, daß sich die Proben bei der gleichen Temperatur wie ihre Umgebung befanden; bei Kühlung durch Wärmeleitung ist dies infolge des hohen Isolationsvermögens der bestrahlten Substanzen nicht ohne weiteres zu erreichen<sup>7, 8</sup>.

**Enzymbestimmung:** Nach Ende der Bestrahlung wurde die Ribonuclease mit 1 ml 0,1-m. Acetatpuffer ( $p_H$  5,0) von den Goldplättchen abgelöst und durch Zugabe von 1 ml einer 1-proz. Lösung von Natriumnucleinat (Merck, Darmstadt) in 0,1-m. Acetatpuffer ( $p_H$  5,0) die Reaktion zwischen Enzym und Substrat eingeleitet. Im weiteren verlief die Enzymbestimmung

wie bereits beschrieben<sup>1</sup>. Die Verwendung von Natriumnucleinat hat gegenüber käuflicher RNS den Vorteil, daß sein Gehalt an Oligonucleotiden und damit die Eigenabsorption wesentlich geringer ist als bei RNS, so daß auf die früher angewandte Reinigungsmethode<sup>1</sup> verzichtet werden konnte.

### 2. Ergebnisse

Da die Abhängigkeit der Inaktivierung der Ribonuclease von der Strahlendosis einer Ein-Treffer-Kurve folgt, können Änderungen der Strahlenempfindlichkeit rein formal durch das Verhältnis der betreffenden 37%-Dosen ( $D_{37}$ ) beschrieben werden, obwohl bekannt ist<sup>5</sup>, daß es sich nicht um einen Eintreffervorgang handelt<sup>9</sup>. Verläuft eine Kurve flacher als die entsprechende Vergleichskurve, so spricht man von einem Schutzfaktor ( $p$ ), hat sie dagegen einen steileren Verlauf, von einem Sensibilisierungsfaktor ( $s$ ).

Werden 0,7  $\mu\text{g}$  Ribonuclease mit „ionisierenden“ Protonen von 2 MeV Energie bestrahlt, so ergibt

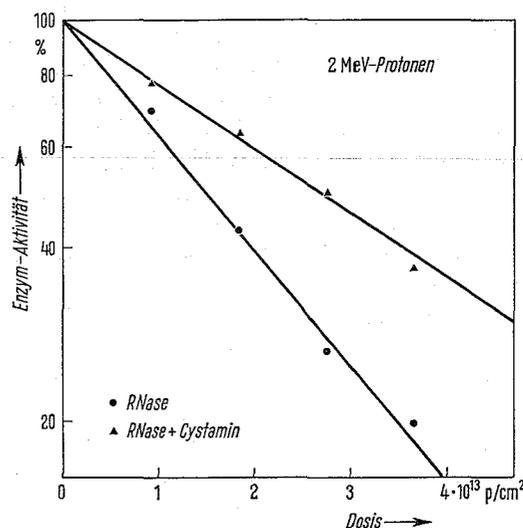


Abb. 1. Inaktivierung von 0,7  $\mu\text{g}$  Ribonuclease bzw. einer molekularen Mischung von 0,4  $\mu\text{g}$  Ribonuclease und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin mit 2 MeV-Protonen.

sich eine Inaktivierungskurve, deren Neigung einer  $D_{37}$  von  $2,1 \cdot 10^{13}$  Protonen/cm<sup>2</sup> entspricht (Abb. 1). Wird das gleiche Experiment mit einer molekularen

<sup>4</sup> C. H. W. HIRS, S. MOORE u. W. H. STEIN, J. biol. Chemistry **200**, 493 [1953].

<sup>5</sup> H. JUNG u. H. SCHÜSSLER, Z. Naturforschg. **21 b**, 224 [1966].

<sup>6</sup> K. O. HERMANN, Z. Naturforschg. **21 b**, 678 [1966].

<sup>7</sup> R. H. BUBY u. R. E. SHRADER, Rev. sci. Instr. **25**, 921 [1954].

<sup>8</sup> L. G. AUGENSTEIN, T. BRUSTAD u. R. MASON, in: Advances in Radiation Biology I (eds. AUGENSTEIN, MASON u. QUASTLER), S. 227. Academic Press, New York 1964.

<sup>9</sup> K. ZIMMER, Akad. Wiss. Lit. Mainz, Abh. math. naturwiss. Klasse 3, 107 [1960]; Radiat. Res. **28**, 830 [1966].

Mischung von 0,4  $\mu\text{g}$  RNase und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin wiederholt, dann verläuft die Inaktivierungskurve wesentlich flacher: Die 37%-Dosis beträgt  $3,8 \cdot 10^{13} \text{ p/cm}^2$ . Durch Beimischung von Cystamin wird somit die Strahlenresistenz der Ribonuclease um einen Faktor von  $p=1,8$  erhöht. Die Abhängigkeit des Schutzfaktors  $p$  von der Menge des zugesetzten Cystamins ist aus Abb. 2 ersichtlich. Bis zu einem Ge-

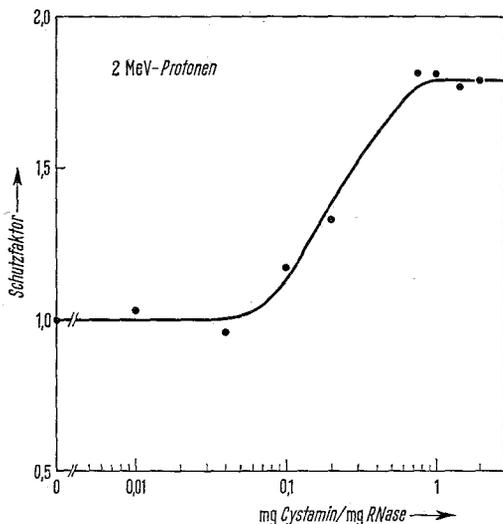


Abb. 2. Abhängigkeit des Schutzfaktors ( $p$ ) von der Cystamin-Konzentration bei der Inaktivierung von Ribonuclease mit 2 MeV-Protonen.

wichtsverhältnis Cystamin/Ribonuclease von etwa 0,05 ist keine Schutzwirkung zu beobachten. Mit steigender Konzentration nimmt die Schutzwirkung des Cystamins zu, um bei einem Gewichtsverhältnis von 0,7 bis 0,8 maximalen Schutz zu erreichen. Bei weiterer Erhöhung der Cystaminzugabe kann kein über  $p=1,8$  hinausgehender Schutz erzielt werden.

Bestrahlt man jedoch gleichwertige Proben, d. i. 0,7  $\mu\text{g}$  RNase, bzw. 0,4  $\mu\text{g}$  RNase und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin, mit langsamen Protonen von 1 keV Energie, so nimmt mit steigender Dosis die Enzym-Aktivität zunächst ab und strebt bei hohen Dosen einem Sättigungswert zu (Abb. 3). Dieses Verhalten rührt davon her, daß die Reichweite der eingestrahlten Protonen kleiner ist als die Schichtdicke des bestrahlten Materials. Nach Subtraktion der konstanten Anteile (Abb. 3, unterbrochene Geraden) nimmt die enzymatische Aktivität nach einer Ein-Treffer-Kurve ab (Abb. 4). Bemerkenswert ist, daß die in mehreren Versuchsreihen mit und ohne Cystamin erhaltenen Meßpunkte auf einer gemeinsamen Geraden lie-

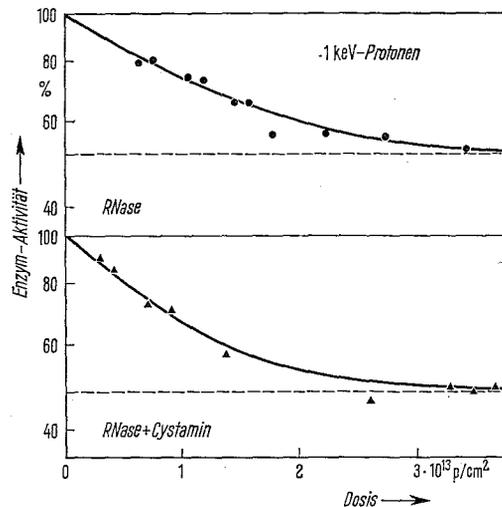


Abb. 3. Inaktivierung von 0,7  $\mu\text{g}$  Ribonuclease (oben) bzw. einer molekularen Mischung von 0,4  $\mu\text{g}$  Ribonuclease und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin (unten) mit 1 keV-Protonen.

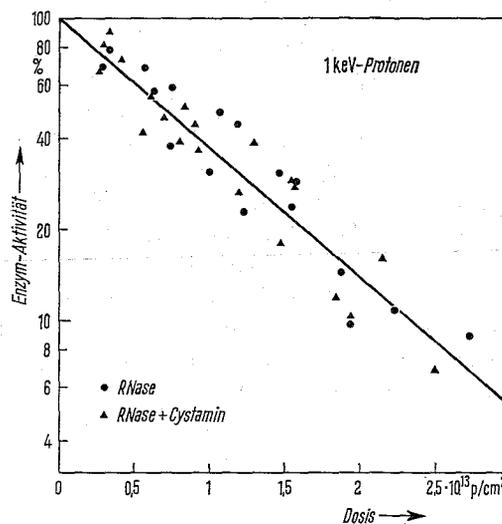


Abb. 4. Inaktivierung von 0,7  $\mu\text{g}$  Ribonuclease ( $\bullet$ ) bzw. einer molekularen Mischung von 0,4  $\mu\text{g}$  Ribonuclease und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin ( $\blacktriangle$ ) mit 1,4 keV-Protonen nach Abzug der konstanten „unzerstörbaren“ Anteile (Abb. 3, unterbrochene Geraden).

gen, deren  $D_{37} = (1,0 \pm 0,2) \cdot 10^{13} \text{ p/cm}^2$  beträgt; d. h. bei Inaktivierung von Ribonuclease durch 1 keV-Protonen entfaltet Cystamin keine Schutzwirkung. Da 1 keV-Protonen beim Durchgang durch ein Ribonuclease-Molekül dessen enzymatische Aktivität mit großer Wirksamkeit zerstören (vgl. Diskussion), wurde die Schutzwirkung von Cystamin auch bei einer Protonenenergie von 1,4 keV untersucht. 1,4 keV-Protonen können eine Enzymschicht von  $1 \mu\text{g/cm}^2$  völlig durchdringen, so daß bei hohen

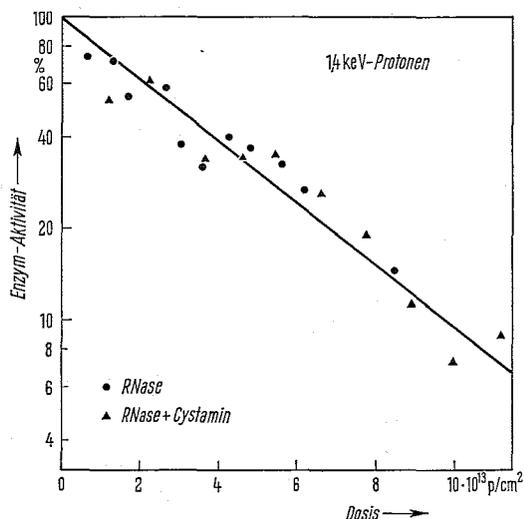


Abb. 5. Inaktivierung von 0,7  $\mu\text{g}$  Ribonuclease (●), bzw. einer molekularen Mischung von 0,4  $\mu\text{g}$  Ribonuclease und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin (▲) mit 1,4 keV-Protonen.

Dosen kein unzerstörbarer Anteil übrigbleibt. Wie Abb. 5 zeigt, liegen die mit 0,7  $\mu\text{g}$  RNase und die mit einer Mischung von 0,4  $\mu\text{g}$  RNase und 0,3  $\mu\text{g}$  Cystamin erhaltenen Meßpunkte ebenfalls auf einer gemeinsamen Geraden. Die Neigung dieser Geraden entspricht einer  $D_{37}$  von  $(4,1 \pm 0,4) \cdot 10^{13} \text{ p/cm}^2$ . Damit ist gezeigt, daß es auch bei einer Protonenenergie von 1,4 keV keinen Schutz durch Cystamin gibt.

Die Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von Ribonuclease von der während der Bestrahlung herrschenden Temperatur geht aus den beiden folgenden Abbildungen hervor. Abb. 6 zeigt Dosis-Effekt-Kurven für die Inaktivierung von RNase mit 2-MeV-Protonen. Bei Zimmertemperatur beträgt die  $D_{37} =$

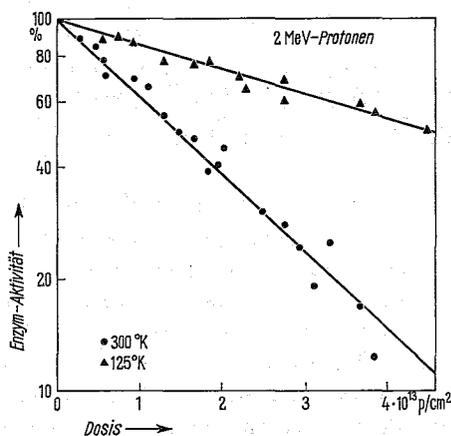


Abb. 6. Inaktivierung von 0,5  $\mu\text{g}$  Ribonuclease mit 2 MeV-Protonen bei verschiedenen Temperaturen.

$2,1 \cdot 10^{13} \text{ p/cm}^2$ , bei 125 °K jedoch  $D_{37} = 6,4 \cdot 10^{13} \text{ p/cm}^2$ . Danach ist bei Zimmertemperatur die Strahlenempfindlichkeit von Ribonuclease um einen Faktor von 3,0 höher als bei 125 °K. Bei Verwendung von 1,4 keV-Protonen führt ein entsprechendes Experiment zu dem Resultat, daß die Inaktivierungsrate von RNase nicht von der während der Bestrahlung herrschenden Temperatur abhängt. Sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 130 °K ergibt sich eine 37%-Dosis von  $(4,0 \pm 0,4) \cdot 10^{13} \text{ Protonen/cm}^2$  (Abb. 7).

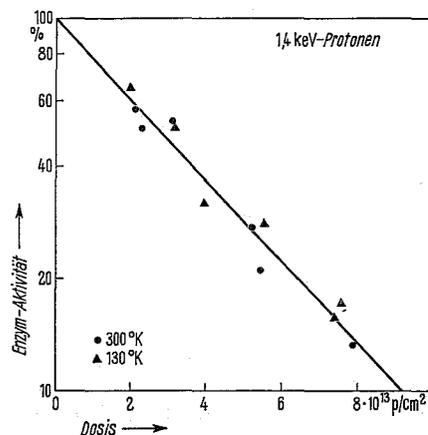


Abb. 7. Inaktivierung von 0,5  $\mu\text{g}$  Ribonuclease mit 1,4 keV-Protonen bei verschiedenen Temperaturen.

Die hier beschriebenen Experimente mit chromatographisch gereinigter RNase A schließen sich unseren früheren Versuchen mit käuflicher, nicht speziell gereinigter Ribonuclease gut an. Abb. 8 gibt einen Vergleich wieder zwischen den neuen an chromatographisch reiner RNase A erhaltenen 37%-Dosen und den früher<sup>1</sup> an käuflicher Ribonuclease ermittelten Werten. Innerhalb der Fehlergrenzen bestätigten die Meßwerte mit reiner RNase A den früher angegebenen Verlauf der  $D_{37}$  in Abhängigkeit von der Protonenenergie aufs beste, so daß die in allen Versuchsreihen erhaltenen Befunde durchaus vergleichbar sind.

### 3. Diskussion

Bei der Inaktivierung von Enzymen durch ionisierende Strahlen sind nach früheren Untersuchungen die Schutzfaktoren meist um so weniger von 1 verschieden, je höher der lineare Energietransfer (LET) der verwendeten Strahlung ist. Bei Bestrah-

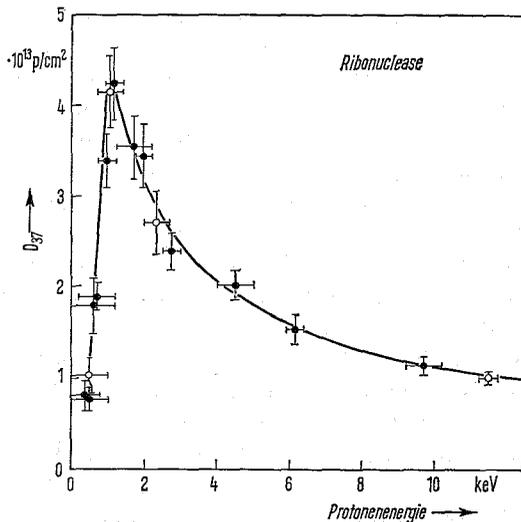


Abb. 8. Verlauf der 37%-Dosis ( $D_{37}$ ) für die Inaktivierung von käuflicher Ribonuclease (●) bzw. chromatographisch gereinigter Ribonuclease A (○) in Abhängigkeit von der Energie der eingestrahltten Protonen.

lung mit 1 keV-Protonen kann daher a priori die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß das Ausbleiben des Cystamin-Schutzes auf der hohen linearen Energieabgabe dieser Protonen beruht. Aus der experimentell ermittelten 37%-Dosis berechnet sich ein Inaktivierungsquerschnitt von  $S = 1/D_{37} = 1000 \text{ \AA}^2$ . Dieser Wert stimmt ungefähr mit dem geometrischen Querschnitt des RNase-Moleküls von  $820 \text{ \AA}^2$ <sup>10</sup> überein. Aus dieser Tatsache ist zu entnehmen, daß im Energiebereich unterhalb von 1 keV die Wechselwirkungs-Wahrscheinlichkeit so groß ist, daß praktisch jedes Proton, das ein RNase-Molekül durchquert, dessen enzymatische Aktivität zerstört. Deshalb erschien es notwendig, auch bei einer Protonenenergie von 1,4 keV die Schutzwirkung von Cystamin zu untersuchen. Der aus der  $D_{37}$  bestimmte Inaktivierungsquerschnitt ist dann mit  $240 \text{ \AA}^2$  um mehr als einen Faktor 3 kleiner als der geometrische Querschnitt des RNase-Moleküls; d. h. mehr als  $2/3$  aller eingestrahltten Protonen können eine monomolekulare RNase-Schicht durchqueren, ohne ein inaktivierendes Ereignis auszulösen. Somit ist es relativ unwahrscheinlich, daß ein Teilchen beim Durch-

gang durch ein RNase-Molekül mehrere inaktivierende Ereignisse hervorruft. Außerdem ist der mit 2 MeV-Protonen gemessene Inaktivierungsquerschnitt mit  $S = 480 \text{ \AA}^2$  doppelt so groß wie der bei 1,4 keV ermittelte. Da bei Bestrahlung mit Protonen von 2 MeV Energie Cystamin schützend wirkt, bei 1,4 keV aber nicht, so kann ein LET-Effekt als Ursache für das Ausbleiben der Schutzwirkung bei kleinen Protonenenergien mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Die gleichen Überlegungen treffen auch hinsichtlich des Temperatureffektes zu.

Unterhalb von etwa 1,5 keV Energie wird der Großteil der kinetischen Energie von Protonen in elastischen Kernstößen an die durchstrahlte Materie übertragen<sup>2, 11</sup>. Bei diesem Elementarprozeß werden unmittelbar vom einfallenden Teilchen ganze Atome aus den bestrahlten Enzym-Molekülen herausgeschlagen, während bei Verwendung von ionisierenden Strahlen primär eine Wechselwirkung mit den Atom-elektronen stattfindet, die erst nach innermolekularen Umlagerungen zur Abspaltung von Atomen und Atomgruppen führt<sup>12, 13</sup>. Aus unseren experimentellen Befunden ist somit der Schluß zu ziehen, daß Ribonuclease nur dann durch Cystamin, bzw. tiefe Temperaturen geschützt werden kann, wenn die Übertragung der Strahlungsenergie über Anregungen und Ionisationen erfolgt; Strahlenschädigungen, die durch elastische Kernstöße ausgelöst werden, können dagegen weder durch Beimischung von Cystamin noch durch tiefe Temperaturen modifiziert werden.

Während „in vivo“ und auch in wäßrigen Lösungen die Schutzwirkung von Cystamin mehrfach untersucht worden ist (Zusammenfassung bei BACQ<sup>14</sup>), sind bisher nur wenige Experimente an trockenen Systemen bekannt geworden. Bei Anwesenheit von Cystamin zeigen  $\gamma$ -bestrahlte T1-Bakteriophagen eine um einen Faktor  $p = 2,1$  erhöhte Strahlenresistenz (Hotz<sup>15</sup>), beim Bestrahlen mit 2 MeV-Protonen beläuft sich der entsprechende Wert für normale und für Bromuracil-substituierte T1-Phagen auf  $p = 2,5$  (HERMANN<sup>6</sup>). Die für den Einstrang-Phagen  $\Phi X 174$  beobachteten Schutzeffekte

<sup>10</sup> H. JUNG u. K. G. ZIMMER, in: „Current Topics in Radiation Research“ II (eds. EBERT u. HOWARD), S. 69. North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1966.

<sup>11</sup> J. KISTEMAKER, F. J. DE HEER, J. SANDERS u. C. SNOEK, in: „Proceedings of the Third International Congress of Radiation Research“. North-Holland Publ. Co., Amsterdam, in Druck.

<sup>12</sup> E. J. HART u. R. L. PLATZMAN, in: Mechanisms in Radiobiology I (eds. ERRERA u. FORSSBERG), S. 93. Academic Press, New York 1961.

<sup>13</sup> R. L. PLATZMAN, Vortex 23, 372 [1962].

<sup>14</sup> Z. M. BACQ, Chemical Protection against Ionizing Radiation. Charles C. Thomas Publ., Springfield, Illinois 1965.

<sup>15</sup> G. Hotz, Z. Naturforschg. 21 b, 148 [1966].

sind kleiner als die an T1 ermittelten: Experimente mit 2 MeV-Protonen ergaben einen Schutzfaktor von  $p = 1,26$  (GÜNTHER und HERMANN<sup>16</sup>), Versuche mit  $\gamma$ -Strahlung einen solchen von 1,6 (HOTZ<sup>17</sup>). Trocken bestrahlte infektiöse DNS von  $\Phi X 174$ -Phagen läßt sich ebenfalls durch Cystamin schützen ( $p = 2,1$ )<sup>17</sup>. Der in den vorliegenden Experimenten für Ribonuclease ermittelte Schutzfaktor von  $p = 1,8$  ist mit den an Bakteriophagen und freier DNS gefundenen Werten vergleichbar, doch kann aus dieser Übereinstimmung noch nicht auf einen gemeinsamen Inaktivierungs-Mechanismus geschlossen werden.

Auf Grund theoretischer Überlegungen vertrat PLATZMAN<sup>18</sup> bereits 1950 die Ansicht, daß elastische Kernstöße sich als biologisch wirksam erweisen könnten; außerdem hielt er es für viel weniger wahrscheinlich, daß ein Makromolekül sich vom Verlust eines Atoms erholt als vom Verlust eines Elektrons. Beide Voraussagen werden durch unsere experimentellen Befunde bestätigt. Dennoch ist es bisher nicht möglich, den Wirkungsmechanismus bei der Strahlenschädigung durch elastische Kernstöße genau anzugeben; ebensowenig sind die Ursachen für das Ausbleiben von Schutz- und Temperatureffekt beim Bestrahlen mit langsamen Protonen be-

kannt. Dies ist nicht verwunderlich; denn auch für ionisierende Strahlen, unter deren Verwendung eine große Anzahl von Schutzstoffen an verschiedenen Systemen und bei verschiedenen Temperaturen getestet wurde, liegt noch keine allgemein anerkannte Vorstellung über die bei der Modifizierung von Strahlenschäden ablaufenden Prozesse vor<sup>19</sup>. Gerade deshalb aber sind die von uns nachgewiesenen Unterschiede bezüglich der Modifizierbarkeit von Strahlenschäden, verursacht durch elastische Kernstöße oder aber durch Ionisationen, von großem Interesse. Denn die Gültigkeit der vorliegenden wie auch weiterer Hypothesen zum Mechanismus der Strahlenschäden und ihrer Modifizierbarkeit wird auch danach zu beurteilen sein, ob sie erklären können, warum zwar die Wirkungen ionisierender Strahlen durch Schutzstoffe und tiefe Temperaturen beeinflusst werden können, jedoch nicht die Strahlenschädigungen durch elastische Kernstöße.

Herrn Professor Dr. K. G. ZIMMER danke ich für zahlreiche anregende Diskussionen, Frau Dr. HELGA SCHÜSSLER für die Überlassung der chromatographisch gereinigten Ribonuclease und Herrn P. KINDERMANN für die Durchführung der Bestrahlungen am Van-der-Graff-Beschleuniger.

<sup>16</sup> H. H. GÜNTHER u. K. O. HERMANN, Z. Naturforschg. 21 b, im Druck.

<sup>17</sup> G. HOTZ, in: European Phage Meeting. Neapel 1966.

<sup>18</sup> R. L. PLATZMAN, in: „Symposium on Radiobiology“ (ed. NICKSON), S. 97. John Wiley & Sons, New York 1952.

<sup>19</sup> G. HOTZ u. K. G. ZIMMER, Int. J. Radiat. Biol. 7, 75 [1963].