

Agar eine viel kleinere Diffusionslänge besitzen. Die Vermutung liegt nahe, daß ihre Bewegung durch das feste Agargerüst behindert wird. Wir nehmen an, daß sie vorübergehend durch den Agar festgehalten werden, „g-Wert“ bei kleinen Dosen.

Unter der Annahme, daß die Ausbeute bei der Erzeugung der inaktivierenden Agarmoleküle durch Röntgenstrahlen die gleiche ist wie bei der Erzeugung durch α -Strahlen, folgt nach l. c.¹ aus allen Daten, daß bei äquivalenten Agarbestrahlungen rund 10-mal mehr inaktivierende Moleküle nach Röntgenbestrahlung des Agars zu den *Coli*-Zellen diffundie-

ren als nach α -Bestrahlung. Dabei wurden bei beiden Strahlenarten gleiche Diffusionslängen angenommen. Nachdem nun festgestellt ist, daß die Diffusionslänge bei Anwendung der α -Strahlen höchstens 30% der Diffusionslänge bei Anwendung der Röntgenstrahlen beträgt, können wir schließen, daß im ersteren Fall mindestens 30-mal mehr inaktivierende Agar-Moleküle zur *Coli*-Zelle diffundieren als im letzteren Fall.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung der Arbeit.

Über den Einfluß der Kulturbedingungen auf die Strahlenempfindlichkeit der Glucoseoxydation in *Bacterium cadaveris* *

Von H. PAULY

Aus dem Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. Dr. h. c. B. RAJEWSKY)
(Z. Naturforsch. **18 b**, 23—25 [1963]; eingegangen am 6. Juni 1962)

Bei *B. cadaveris*, die in einem an organischen Substanzen reichen Medium kultiviert wurden, nimmt der O₂-Verbrauch pro Zeiteinheit bei Glucoseveratmung mit der Röntgenstrahlendosis ab, während bei Bakterien, die in einem Salzmedium gewachsen sind, die Atmung bis zu einer Dosis von 2—3 Mr erst ansteigt, um erst bei höheren Dosen abzufallen. Die Atmung wird erst bei Dosen in der Größenordnung von 1 Million r merklich beeinflußt.

Die Atmung der Bakterien ist damit unter den hier untersuchten Bedingungen noch strahlenresistenter als die Gewebeatmung von Säugetierzellen^{4—12}.

- In einer früheren Mitteilung¹ wurde gezeigt, daß
1. die Glucoseveratmung von *E. coli* sehr röntgenstrahlenresistent ist und erst durch Dosen in der Größenordnung von 1 Million r gehemmt wird, und daß
 2. die Dosiseffektcurven von den Kulturbedingungen abhingen. Die Dosisabhängigkeit konnte interpretiert werden auf Grund der Annahme, daß die Röntgenstrahlen einige der bei der Glucoseoxydation beteiligten Enzyme inaktivieren.
- In einer weiteren Mitteilung^{2, 3} mußte jedoch auf

Grund einer Erhöhung der Atmung geschlossen werden, daß Röntgenstrahlen den Stoffumsatz sowohl durch die Inaktivierung der Enzymmoleküle selbst als auch durch Änderung des intrazellulären Milieus, d. h. der Geschwindigkeitskonstanten der beteiligten katalytischen Prozesse zu beeinflussen vermögen.

In dieser Arbeit wird gezeigt, daß man je nach Kulturbedingungen entweder eine Erhöhung oder eine Hemmung der Glucoseveratmung in *Bacterium cadaveris* nach Röntgenbestrahlung messen kann.

* Gewidmet Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Dr. h. c. B. RAJEWSKY zum 25-jährigen Bestehen des „Max-Planck-Instituts für Biophysik“.

¹ B. RAJEWSKY, G. GERBER u. H. PAULY, Naturwissenschaften **43**, 228 [1956].

² H. PAULY, Habilitationsschrift, Frankfurt/M. 1959.

³ B. RAJEWSKY u. H. PAULY, im Druck.

⁴ D. BILLEN, G. E. STAPLETON u. A. HOLLAENDER, J. Bacteriol. **65**, 131 [1953].

⁵ K. AURAND u. H. PAULY, Z. Naturforsch. **9 b**, 506 [1954].

⁶ M. L. MENDELSON, J. Physiol. **180**, 599 [1955].

⁷ H. MAASS, G. HÖHNE u. H. A. KÜNKEL, Z. Naturforsch. **11 b**, 593 [1956].

⁸ H. PAULY u. B. RAJEWSKY, Strahlentherapie **99**, 383 [1956].

⁹ H. PAULY u. B. RAJEWSKY, Progress in Radiobiology, Oliver and Boyd, Edinburgh—London 1956, 32—41.

¹⁰ B. RAJEWSKY, G. GERBER u. H. PAULY, Advances in Radiobiology, Oliver and Boyd, Edinburgh—London 1957, 25—32.

¹¹ K. DOSE, F. BRESCIANI u. B. RAJEWSKY, Strahlentherapie Sonderband **43**, 353 [1959].

¹² H. LANGENDORFF u. U. HAGEN, Experientia [Basel] **11**, 1 [1955].

Methodik

Bakterienstamm und Kulturbedingungen

Bacterium cadaveris (National Collection of Type Cultures, London, Nr. 6578) wurde in 2 verschiedenen Medien kultiviert.

1. Bacto-Tryptone

Das an organischen Stoffen (Peptone und andere Eiweißbauprodukte) reiche Medium enthielt in 1 l dest. Wasser 30 g DIFCO-Bacto-Tryptone, 3 g DIFCO-Yeast-Extract und 20 g Glucose, die separat sterilisiert und beim Beimpfen zugesetzt wurde.

2. Salz-Medium

Es handelt sich um ein von organischen Stoffen praktisch freies Salzmedium, das zur Untersuchung der Induktion der Lysin-Decarboxylase entwickelt wurde². Das Medium enthielt in 1 l 2 g NH_4Cl , 7,5 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 3 g KH_2PO_4 und 4 g Glucose. Außerdem wurde als Spender von Spurenstoffen 0,5 g DIFCO-Yeast-Extract zugesetzt.

Die Kulturen wurden 15 Std. bei 30 °C kräftig belüftet. Die Kultur befand sich dann am Ende der exponentiellen Wachstumsphase. Die Ausbeute betrug 5 mg Bakterien-Feuchtgewicht pro ml B-Tryptone und 1 mg Feuchtgewicht pro ml Salz-Medium. Die Bakterien wurden abzentrifugiert, 2-mal in der Kälte mit *m*/100-Phosphat-Puffer in 0,5-proz. NaCl gewaschen und als dicke Suspension (200 mg Feuchtgewicht pro ml) bestrahlt.

Bestrahlungsbedingungen

Die Bestrahlung wurde mit einer Berylliumfenster-Röhre (Dermopan von Siemens-Reiniger) vorgenommen, die bei 45 kV, 25 mA und einer zusätzlichen Filterung von 0,057 mm Al in einem Fokusabstand von 2 cm eine Dosisleistung von $3 \cdot 10^5$ r/Min. besaß.

Bestimmung der Sauerstoffaufnahme

Die O_2 -Aufnahme wurde in üblicher Weise bei 30 °C in der Warburg-Apparatur gemessen. Etwa 30 mg Bakterienfeuchtgewicht wurden in 3 ml *m*/15-Phosphatpuffer p_{H} 6,8 mit Zusatz von 100 μMol Glucose suspendiert. Zwischen Bestrahlung und Beginn der manometrischen Messung vergingen 30 Minuten. Im Anschluß daran wurde der O_2 -Verbrauch in 10-Minuten-Intervallen über 60 Min. abgelesen.

Die Atemgeschwindigkeit der unbestrahlten Bakterien in B-Tryptone betrug:

$$Q_{\text{O}_2} = 63 \pm 4,5 \text{ mm}^3 \text{ O}_2 \text{ pro mg}$$

Bakterientrockengewicht pro Stde. und in Salz-Medium

$$Q_{\text{O}_2} = 43 \pm 2,8 \text{ mm}^3 \text{ O}_2 \text{ pro mg}$$

Bakterientrockengewicht pro Stunde.

Als Fehler ist hier und in Abb. 2 der mittlere Fehler der Einzelmessung angegeben.

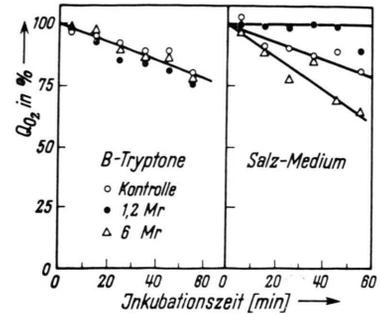


Abb. 1. O_2 -Verbrauch pro Zeiteinheit in Abhängigkeit von der Inkubationszeit im Reaktionsgefäß mit 100 μMol Glucose in 3 ml *m*/15-Phosphatpuffer p_{H} 6,8 bei 30 °C. Ordinate in % der für die jeweilige Dosis extrapolierten Anfangswerte (s. Text).

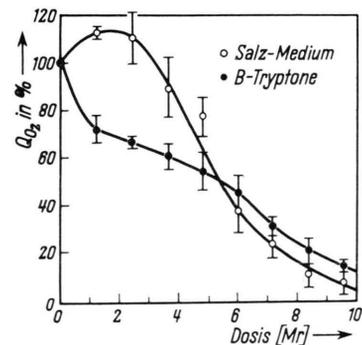


Abb. 2. Atmung in Abhängigkeit von der Dosis (s. Text).

Ergebnisse

Die in der Warburg-Apparatur im Abstand von 10 Min. gemessene Atmung wurde mit der Zeit kleiner. Der zeitliche Abfall hing sowohl vom Kulturmedium als auch von der Dosis ab. Abb. 1 zeigt den O_2 -Verbrauch pro Zeiteinheit für eine bestimmte Bakterienmenge in Abhängigkeit von der Inkubationszeit. Um die Zeitabhängigkeit besser vergleichen zu können, wurde als 100%-Wert der Atmung der für die jeweilige Dosis auf den Zeitpunkt 0 extrapolierte Wert eingesetzt. Man erkennt, daß bei den in Bacto-Tryptone kultivierten Bakterien sowohl die Atmung der unbestrahlten als auch die der mit 1,2 Mr und 6 Mr bestrahlten Bakterien abnimmt, und zwar in gleicher Weise. Die im Salzmedium kultivierten Bakterien zeigen dagegen bei der Kontrolle eine zeitlich konstante Atmung, während mit steigender Dosis die Atmung mehr und mehr abfällt.

Bildet man den Mittelwert des O₂-Verbrauchs während 60 Min. und trägt die Mittelwerte gegen die Dosis auf, so erhält man die in Abb. 2 dargestellten Dosiseffekt-Kurven. Während die Atmung der in Bacto-Tryptone kultivierten Bakterien nach 1 Million r auf 70% gefallen ist, wird der O₂-Verbrauch bei den im Salzmedium kultivierten Bakterien sogar bis 3 Mr größer als die Kontrolle. Eine Zeitmittlung über ein kleineres Intervall ändert diesen Befund praktisch nicht.

Die Versuche zeigen somit, daß die Abhängigkeit des Effektes von der Röntgenstrahlendosis von den

Kulturbedingungen und der dadurch beeinflussten Enzymausstattung und dem „inneren Milieu“ stark abhängt.

Im Hinblick auf die in dieser Untersuchung benötigten hohen Röntgenstrahlendosen ist es selbstverständlich nicht erlaubt, Rückschlüsse auf strahlenbiologische Effekte, die an Säugetieren mit Dosen im therapeutischen Bereich gewonnen wurden, zu ziehen. Immerhin ist es bemerkenswert, daß man schon bei so relativ einfachen Stoffwechselfunktionen in primitiven Organismen völlig verschiedene Strahlenreaktionen erzielen kann, je nach der „Reaktionslage“ der Zelle.

Schutzstoffe gegen ionisierende Strahlung

Mitt. III¹. Zerfallsgleichgewichte und Zerfallsgeschwindigkeiten von 2-substituierten Thiazolidin-4-carbonsäuren

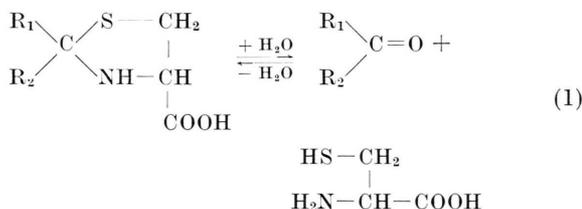
Von R. RIEMSCHNEIDER u. G.-A. HOYER

Aus dem Institut für Biochemie der Freien Universität Berlin-Dahlem²

(Z. Naturforschg. **18 b**, 25–30 [1963]; eingegangen am 13. September 1962)

In unsere Untersuchungen über Schutzstoffe gegen ionisierende Strahlung und über Antimutagen haben wir Derivate des Thiazolins bzw. Thiazolidins mit einbezogen, nachdem sich gezeigt hatte, daß auch Thiazolidin-4-carbonsäure (I) und Aminothiazolin einen gewissen Schutzeffekt besitzen, wenn sie Ratten kurzzeitig vor der Bestrahlung intraperitoneal verabreicht werden³. Um die Zahl der Tierversuche von vornherein einzuengen, stellten wir vor den Bestrahlungsversuchen qualitative und quantitative Stabilitätsprüfungen mit den synthetisierten 2-substituierten Thiazolidin-4-carbonsäuren (I-Derivaten) an. Von 10 wasserlöslichen I-Derivaten wurden die Zerfallsgleichgewichte und Zerfallsgeschwindigkeiten bestimmt.

Die untersuchten Thiazolidin-4-carbonsäuren (I–XXII⁴) sind in Lösung mehr oder weniger stabil. Speziell in wäßrigen Lösungsmitteln erfolgt Hydrolyse gemäß Gl. (1) bis zur Einstellung eines Gleichgewichts. Der hydrolytische Zerfall läßt sich



qualitativ durch Reaktion des gebildeten Cysteins mit FeCl₃ bzw. Nitroprussidnatrium (NPNa) nach-

weisen, wobei das zuletzt genannte Reagenz empfindlicher ist (vgl. Tab. 1). Die wichtigsten Ergebnisse sind:

1. Temperaturerhöhung fördert die hydrolytische Spaltung, denn die Farbreaktionen sind nach dem Aufkochen durchweg stärker als in der Kälte.
2. Die Farbreaktion vertieft sich, wenn das Hydrolysemittel länger einwirken kann.
3. Die 2.2-dialkyl-substituierten I-Derivate zerfallen unter vergleichbaren Verhältnissen durchweg stärker als die 2-alkyl- bzw. 2-aryl-substituierten. XVII verhält sich in dieser Beziehung wie ein 2.2-Dialkyl-Derivat.

¹ 1. Mitt.: Z. Naturforschg. **16 b**, 75 [1961].

² Anschrift für den Schriftverkehr: Prof. Dr. R. RIEMSCHNEIDER, Berlin-Charlottenburg 9, Bolivarallee 8.

³ I zeigt im Gegensatz zum Aminothiazolin bei Mäusen nur einen geringen Schutzeffekt: 2. Mitt. (bisher unveröffentlicht).

⁴ Bedeutung der römischen Ziffern s. Tab. 1; zur Synthese 4. Mitt., Z. Naturforschg. **17 b**, 765 [1962].