

keit von unbestrahlten Kontrollen) mit zunehmender Dosis ab, nach Röntgenbestrahlung jedoch stärker als nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen. Aus den Halbwertdosen der Fig. 2 (225 r/315 r) ergibt sich eine relative biologische Wirksamkeit schneller Elektronen im Vergleich zu Röntgenstrahlen von 0,7.

In der Fig. 3 ist die Häufigkeit pathologisch veränderter Mitosezellen, die sich während der Bestrahlung noch in Teilungsruhe befanden, dargestellt, wobei nur die Schädigungsformen des Sekundäreffektes (Chromosomenfragmente und

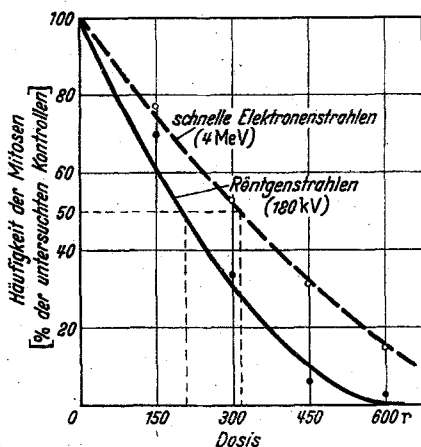


Fig. 2. Mitoseraten 72 Std nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen und schnellen Elektronen.

Chromosomenbrücken) in den späten Anaphasen und frühen Telophasen ausgewertet wurden. Je höher die Dosis ist, um so größer ist die Häufigkeit geschädigter Mitosen. Wiederum

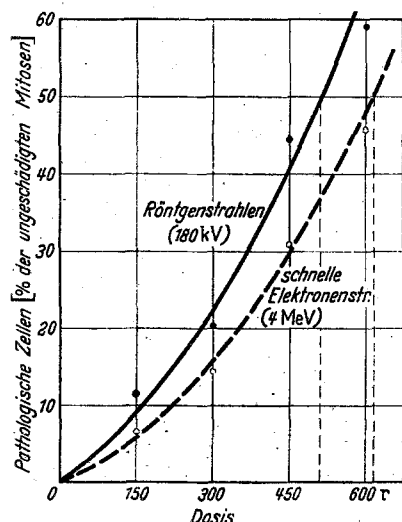


Fig. 3. Häufigkeit pathologischer Mitosen in Anaphase- und Telophasezellen 72 Std nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen oder schnellen Elektronen.

hat sich gezeigt, daß schnelle Elektronen je Doseinheit weniger wirksam sind als Röntgenstrahlen von 180 kV. Die Halbwertdosis für Röntgenstrahlen liegt bei 490 r, diejenige für schnelle Elektronen bei 610 r. Danach errechnet sich die relative biologische Wirksamkeit der schnellen Elektronen (4 MeV) gegenüber Röntgenstrahlen (180 kV) zu 0,8. Der Verlauf der Dosiseffekturven macht bei der vorliegenden Reaktion ein Mehrtreffergeschehen wahrscheinlich.

Die Auswertungen der Präparate wurden von G. BUNNE-MANN, H. L. HEINRICH, K. H. OEHNE und B. SCHWAB vorgenommen.

Aus der Strahlenbiologischen Abteilung (Leiter: Prof. G. SCHUBERT) der Universitäts-Frauenklinik Göttingen (Direktor: Prof. H. MARTIUS) und dem II. Physikalischen Institut (Direktor: Prof. H. KOPFERMANN) der Universität Göttingen.

H. L. HEINRICH, W. PAUL und G. SCHUBERT.

Eingegangen am 6. September 1950.

Naturwiss. 1950.

Über die Auslösung rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei Drosophila durch schnelle Elektronen eines 6 MeV-Betatröns.

Für einen Vergleich der biologischen Wirkungen von schnellen Elektronen (2 bis 6 MeV) und Röntgenstrahlen (200 kV) erschien es notwendig, die elektroneninduzierte Rate rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei Drosophila melanogaster zu bestimmen und mit der gut bekannten Mutationsrate des Röntgen-Radiumgebietes zu vergleichen.

Bestrahlt wurden Drosophila-Männchen mit schnellen Elektronen einer 6 MeV-Elektronenschleuder der Siemens-Reiniger-AG. Die Elektronenenergie betrug 3 MeV, die Größe des Bestrahlungsfeldes in 10 cm Entfernung vom Austrittsfenster etwa 2×5 cm. Die Ausleuchtung des Feldes durch den Elektronenstrahl wurde mit photographischen Filmen kontrolliert. Zur Messung der Dosis diente eine dünnwandige, innen graphitisierte Fingerhutkammer (0,2 mm Cellon), die sich zwischen den zu bestrahlenden, die Fliegen enthaltenden Zellophantütchen befand. Die mit einer Genauigkeit von $\pm 10\%$ mit Hilfe eines Siemens-Momentandosismessers gemessenen Dosen lagen zwischen 1000 und 5000 r, die Dosisleistung betrug stets 1000 r/min. Da bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen ein Dosisanstieg nach der Tiefe zu vorhanden ist, wurde dieser entsprechend der Tiefenausdehnung des Objekts dadurch berücksichtigt, daß eine Korrektur der gemessenen Dosiswerte um $+5\%$ vorgenommen wurde¹⁾. Die Ermittlung der Mutationsrate erfolgte mit der CIB-Methode. Die bestrahlten, 3 bis 6 Tage alten P-Männchen wurden im Anschluß an die Bestrahlung für 3 Tage mit gleichaltrigen unbefruchteten CIB-Weibchen zusammengebracht, die F₁-CIB-Weibchen dann mit ihren Brüdern gepaart. Am Fehlen bzw. der weitgehenden Verminderung der Anzahl von F₂-Männchen konnten die rezessiv-letalen Mutationen, die unter der Bestrahlung im X-Chromosom der Spermien entstanden waren, nachgewiesen werden. Ausgewertet wurden in der F₂-Generation nur solche Kulturgläser, die mit mehr

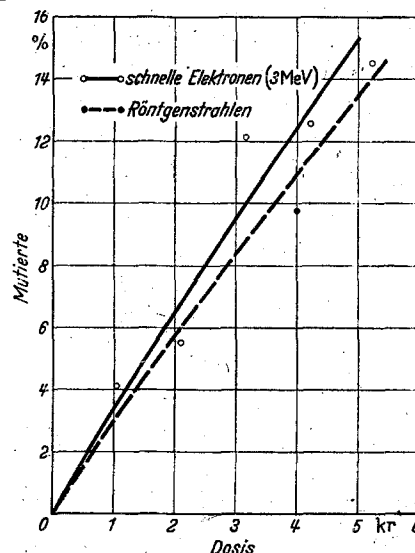


Fig. 1. Raten rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen (nach TIMOFEEFF-RESSOVSKY) und schnellen Elektronen von 3 MeV.

als 15 Weibchen besiedelt waren. Als beweisend für das Vorliegen einer Mutation galt eine Verminderung der Männchenzahl auf weniger als 10% der Anzahl der im Kulturglas vorhandenen Weibchen. Je Dosis wurden bis zu 4 Einzelversuche durchgeführt. Die Zahl der je Dosis insgesamt geprüften Gameten, d. h. die Zahl der ausgewerteten F₂-Kulturen, lag zwischen 1200 und 2000.

Die Fig. 1 zeigt die Abhängigkeit der Mutationsraten von der Elektronendosis. Ein Kontrollversuch mit 1400 F₂-Gläsern ergab keine Spontanmutation. Nach Bestrahlung mit 4000 r dagegen fand sich z. B. als Mittelwert aus 3 Versuchen eine Mutationsrate von 12,5%. In Fig. 1 ist ferner die von TIMOFEEFF-RESSOVSKY²⁾ auf Grund eigener Untersuchungen und der in der Literatur vorliegenden Ergebnisse anderer Autoren berechnete Dosiseffekturven dieser strahlenbiologischen Reaktion für sehr weiche bis harte Röntgen- und Gammastrahlung sowie für die Betastrahlung des Radiums dargestellt. Sie zeigt für die genannten ionisierenden Strahlenarten den gleichen Verlauf. Der von uns gefundene Kontrollpunkt für

4000 r Röntgenstrahlung (180 kV, 6 mA, HWS 0,25 mm Cu) paßt sich dieser Kurve gut an.

Nach der vorherrschenden Ansicht über die Natur des Mutationsprozesses³⁾ tritt bei Bestrahlung der Gameten mit verschiedenen dicht ionisierenden Strahlungen ein Wirkungsunterschied gleicher r-Dosen nur dann in Erscheinung, wenn eine Strahlenart so dicht ionisiert, daß je Teilchendurchgang gleichzeitig mehrere Ionisationen innerhalb des Gens wirksam werden. Da die Reaktion bereits durch eine einzige Ionisation hervorgerufen werden kann, ist die dicht ionisierende Strahlenart in diesem Falle weniger wirksam (Sättigungseffekt). Schnelle Elektronen sind nun durch eine besonders geringe differentiale Ionisation ausgezeichnet und unterscheiden sich in dieser Hinsicht sehr wenig von energiereichen COMPTON-Elektronen, die bei Gammabestrahlung im Gewebe auftreten. Es war deshalb zu erwarten, daß die relative Wirksamkeit schneller Elektronen im Vergleich zu Röntgen- bzw. Gammabestrahlung bei der geprüften strahlenbiologischen Reaktion keinen merklich von 1 abweichenden Wert besitzt. Die beobachteten Mutationsraten sind vereinbar mit der Annahme einer Eintrefferreaktion. Die in der Figur gezeichnete Eintrefferkurve, die sich den gefundenen Elektronenwerten am besten angleicht, verläuft um ein geringes über der TIMOFÉEFFschen Kurve, doch ist die Realität eines Unterschiedes im Hinblick auf die Fehlerbreite der Methode und der angewandten Versuchstechnik nicht erwiesen.

Aus der Strahlenbiologischen Abteilung (Leiter: Prof. G. SCHUBERT) der Universitäts-Frauenklinik Göttingen (Direktor: Prof. H. MARTIUS) und dem II. Physikalischen Institut (Direktor: Prof. H. KOPFERMANN) der Universität Göttingen.

W. DITTRICH, G. HÖHNE, W. PAUL und G. SCHUBERT.

Eingegangen am 6. September 1950.

¹⁾ BERGER, H., u. W. PAUL: Z. Physik 126, 422 (1949).

²⁾ TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Strahlenther. 74, 183 (1944).

³⁾ ZIMMER, K. G., u. N. W. TIMOFÉEFF-RESSOVSKY: Z. Vererbgslehre 80, 352 (1942). — SOMMERMEYER, K.: Strahlenther. 77, 63 (1948).

Zur Frage des Unterschiedes zwischen Chromosomen- und Gen-Mutationen.

Schon vor längerer Zeit wurde an die Möglichkeit gedacht¹⁾, daß die mendelnden Genmutationen letztlich nichts anderes seien als winzige, eventuell submikroskopische, Chromosomenmutationen, z. B. kleine Defizienzen, Duplikationen u. ä. Die biophysikalische und zytologische Analyse vor allem bei *Drosophila* in der Folgezeit ließ jedoch diese Annahme unwahrscheinlich erscheinen, da sie die Eintreffernatur jener (Dosisproportionalität)²⁾ und bei diesen die Zweitreffernatur (Dosisquadrat-Proportionalität) sowie die nach der Entstehung der Chromosomenbrüche ablaufenden Rekombinationsvorgänge der Bruchflächen aufdeckte³⁾. Neuere Ergebnisse der Zytogenetik, z. B. die Neutronen-Dosis-Proportionalität der Chromosomenumbauten bei *Tradescantia*⁴⁾, der erhebliche Anteil von zytologisch sichtbaren kleinen und großen Chromosomenaberrationen an den geschlechtsgebundenen Letalfaktoren (nicht an den „sichtbaren“ Vitalfaktoren!) von *Drosophila*⁵⁾, Analogien zwischen der chemikalien-induzierten Gen- und Chromosomenmutabilität⁶⁾ u. a. ließen in letzter Zeit die alten Zweifel an der Verschiedenheit beider Mutationstypen wieder aufleben⁷⁾. Nach der oben umrissenen „Heterogenitäts-Hypothese“ besteht die Hauptdifferenz zwischen Gen- und Chromosomenmutationen darin, daß diese mindestens zwei Brüche des Chromonemas (die eventuell auch beide durch das gleiche Elementarpartikel, also einen Treffer entstehen können) erfordern, deren Bruchflächen anschließend vertauscht zusammenheilen (rekombinieren) müssen; die Gen- oder Punktmutationen werden dagegen nur durch ein Primäreignis (das ein Bruch oder Bruchvorstadium sein kann, aber nicht

sein muß) erzeugt, dessen Folgereaktionen nicht unbedingt Rekombination voraussetzen, sich aber natürlich auch an einer rekombinierten oder restituierten (d. h. zur Ausgangsanordnung verheilten) Bruchstelle abspielen können. Zur Entscheidung dieser Heterogenitäts- und jener Identitätshypothese der beiden Mutationsarten kann unter anderem die Folgerung dienen, daß bei Heterogenität von Gen- und Chromosomenmutationen eventuell verschiedene Primärakte, jedenfalls aber unterschiedliche und daher in verschiedener Weise beeinflussbare Folgereaktionen vorliegen, bei Identität jedoch nicht. Im ersten Falle wäre also beim gleichen Objekt unter gewissen unterschiedlichen Auslösungsbedingungen ein abweichendes Verhältnis beider Mutationstypen zu erwarten, im zweiten Falle müßten diese immer gleich antworten.

Für diese Alternative sind Versuchsergebnisse bedeutsam, welche durch Röntgenbestrahlung von Gerstenkörnern unter verschiedenen Bedingungen erhalten wurden. Als Test für Chromosomenmutationen wurde neben der mikroskopischen Analyse von Wurzelspitzenmitosen die Sterilität⁸⁾ der aus den Körnern aufgezogenen Pflanzen („F₁“), als Genmutationen die in der nächsten Selbstungsgeneration („F₂“) herausspaltenden neuen Erbcharaktere der Keimpflanzen gewählt. In der einen Versuchsserie (Tabelle 1) wurden die Körner nach 6stündiger Quellung in Wasser bzw. Lösungen mit 7500 r bestrahlt (130 kVs, 120 min).

Der Unterschied im Verhalten der chromosomenmutativ bedingten⁸⁾ Sterilen (Pflanzen mit > 17 tauben Ährchen in der Ähre des längsten Halmes) und der F₂-Faktormutationen ist durch Ähnlichkeitstest⁹⁾ statistisch gesichert ($P = 6,10^{-4}$). Er beruht vor allem auf dem erheblich geringeren Prozentsatz Steriler bzw. Chromosomenbrücken bei etwas höherem Anteil Faktormutationen nach CO₂-Behandlung gegenüber der Quellung in Wasser ($P = 2,5 \cdot 10^{-4}$), weniger auf dem relativ viel höheren Sterilengehalt bei nur wenig mehr Genmutationen nach Essigsäurevorbehandlung ($P = 0,042$). Schon in früheren Untersuchungen am Löwenmaul¹⁰⁾ war eine Verminderung der Sterilitäts- gegenüber den Keimpflanzen-F₂-Mutationen bei Vorquellung des Samens unter dicker Wasserschicht angedeutet gewesen. Verminderung der Chromosomenaberrationen durch anaerobe Bedingungen während der Bestrahlung wurde auch von anderer Seite festgestellt¹¹⁾. Ob der nun an Gerste gesicherte Unterschied zwischen Chromosomen- und Genmutationen durch verschiedene Primärakte oder Nachprozesse verursacht ist, bleibt vorerst offen.

Auf differente Folgeprozesse, vermutlich das Fehlen von Rekombinationen der Bruchflächen bei den Genmutationen, dürfte der in Tabelle 2 ersichtliche Unterschied in der Antwort beider Mutationstypen auf Dosisfraktionierung zurückgehen. Denn die noch längere Zeit nach der Bestrahlung ablaufende Bewegung und Vereinigung der Bruchflächen zu Chromosomenumbauten bedingt ja den Einfluß des zeitlichen Abstandes der Brüche auf das Ergebnis gedehnter Bestrahlung. Trockene Gerstenkörner erhielten 2 Röntgendosen von je 3000 r (150 kVs, 2mal 56 min) bei einer Zwischenpause von 48, 24, 15 bzw. 0 Std. Die zytologische Analyse unterblieb hier. Als Sterile wurden F₁-Pflanzen gezählt, deren Hauptähre > 11 taube Ährchen enthielt.

Tabelle 2.

Fraktionspause	F ₂ -Spaltungen	Sterile
48 Std	40/922 = 4,34 %	120/987 = 12,2 %
24 Std	39/995 = 3,92 %	111/1047 = 10,6 %
15 Std	40/976 = 4,10 %	99/1024 = 9,67 %
Keine Pause	42/915 = 4,59 %	81/975 = 8,31 %

Wenn in dieser Versuchsreihe auch der Unterschied der Reaktion beider Mutationsarten nicht durch Ähnlichkeitstest gesichert ist, so ist doch die Zunahme an Sterilen mit der Pausenlänge real (0 gegen 48 h: $P = 5,10^{-3}$), während die F₂-Mutationen keinerlei Abhängigkeit von der Fraktionierung zeigen. Die hier gefundene Zunahme und nicht wie bei anderen Objekten¹²⁾ bekannte Abnahme der Chromosomenmutationen zeigt eine Besonderheit des Ablaufes der Rekombination im trockenen Samen an, der im ausführlichen Bericht¹³⁾ näher analysiert wird. Die mitgeteilten Befunde sind mit der Identität von Gen- und

Tabelle 1.

Vorbehandlung	F ₂ -Spaltungen	Sterile F ₁ -Pflanzen	Wurzelzellen mit Chromosomenbrücken
Wasser	55/905 = 6,08 %	244/1177 = 20,8 %	18/126 = 14,3 %
CO ₂ -gesättigtes Wasser . .	77/941 = 8,18 %	145/1019 = 14,2 %	23/297 = 7,7 %
Essigsäure, 0,5 %	15/177 = 8,48 %	94/248 = 37,9 %	(nicht geprüft)
NH ₃ -Lösung, 0,063 % . . .	76/1006 = 7,56 %	184/1087 = 16,9 %	14/166 = 12,1 %