

Einfluß von Cysteamin auf die UV-Empfindlichkeit von λ -Phagen mit variablem Bromuracil-Gehalt

Influence of Cysteamine on the UV-Sensitivity of λ -Phages with Various BU-Contents

Friedrich Mönkehaus

Institut für Strahlenbiologie, Universität Münster

(Z. Naturforsch. **29 c**, 286–288 [1974] ; eingegangen am 14. Dezember 1973)

Cysteamine, UV-Sensitivity, λ -Phages, Bromouracil, Energy-transfer

λ -Phages with different amounts of BU in their DNA-strands were irradiated with long wavelength UV-light (302/313 nm) and short wavelength UV-light (254 nm) in the presence and absence of cysteamine. It was found that the dose reduction factor is dependent on the percentage BU-substitution only after irradiation with UV-light of 254 nm, not after long wavelength UV-irradiation. Furthermore, the inactivation cross section is proportional to the BU-content of the DNA after irradiation with long and with short wavelength UV-light in the presence of cysteamine. The results lead to the conclusion that the presence of cysteamine inhibits energy transfer processes which occur after irradiation with UV-light of 254 nm in the absence of cysteamine.

I. Einleitung

In der vorangehenden Arbeit¹ wurde der Verlust der Infektiosität von λ -Phagen in Abhängigkeit vom 5-Bromuracil(BU)-Gehalt der DNA nach Bestrahlung mit langwelligem (302/313 nm) und kurzwelligem UV-Licht (254 nm) bestimmt. Dabei ergab sich, daß die Inaktivierungsquerschnitte nach Bestrahlung mit langwelligem UV-Licht proportional dem BU-Substitutionsgrad anstiegen; nach Bestrahlung mit kurzwelligem UV konnte eindeutig ein überproportionaler Anstieg festgestellt werden. Die experimentellen Befunde legten die Vermutung nahe, daß nach Bestrahlung mit UV der Wellenlänge 254 nm vom Thymin absorbierte Strahlenenergie zum BU wandert und dort für den Phagen letale Schäden verursacht. Um die Natur dieser Energieleitungsprozesse aufzuklären, werden hier Experimente mit Radikalfängern (Cysteamin) beschrieben. Zusätzlich wird der Strahlenschutzeffekt von Cysteamin, das vor der Bestrahlung den Phagensuspensionen zugegeben wurde, im Hinblick auf die Wellenlängenabhängigkeit (302/313 nm, 254 nm) und dem BU-Substitutionsgrad diskutiert.

II. Materialien und Methoden

Die Herstellung von λ -Phagen mit variablem BU-Gehalt, die dazugehörigen Bakterien- und Phagenstämme sowie Medien und Puffer wurden in der vorangehenden Arbeit¹ beschrieben, ebenso die Be-

strahlungstechniken und die Bestimmung des Infektiositätsverlustes.

Die Phagensuspensionen wurden in Gegenwart von Cysteamin (0,01 M) bestrahlt. Cysteamin in dieser Konzentration lieferte bereits den maximalen Strahlenschutz, da Experimente mit erhöhten Cysteaminkonzentrationen (bis zu 0,1 M) keinen weiteren Strahlenschutz zeigten. Die Absorption des Cysteamin im UV-Bereich wurde durch entsprechende Verlängerung der Bestrahlungszeiten ausgeglichen.

III. Resultate

Abb. 1 zeigt die Dosiseffektkurven für normale und BU-Phagen (100%) nach Bestrahlung mit lang-

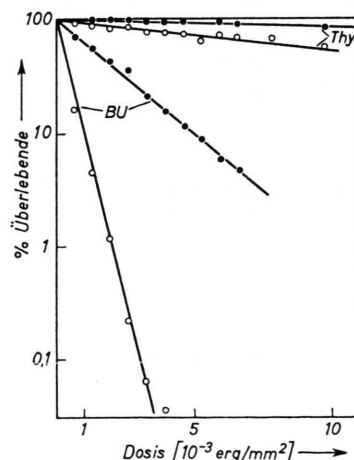


Abb. 1. Dosiseffektkurven für normale λ -Phagen (Thy) und 100%-BU-substituierte λ -Phagen (BU), erhalten nach Bestrahlung mit UV-Licht von 302/313 nm in Anwesenheit (—●—●—) und Abwesenheit (---○---) von Cysteamin.

Sonderdruckanforderungen an Dr. F. Mönkehaus, Institut für Strahlenbiologie, Universität Münster, D-4400 Münster, Hittorfstr. 17.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

welligem UV-Licht mit und ohne Cysteamin. In Abb. 2 sind die entsprechenden Dosiseffektkurven

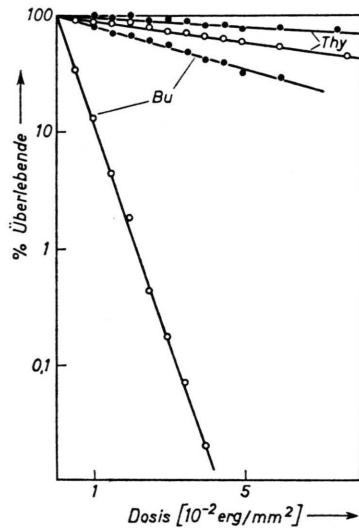


Abb. 2. Wie Abb. 1, nur Bestrahlung mit UV-Licht von 254 nm.

für Bestrahlung mit kurzwelligem UV-Licht zu sehen. In beiden Fällen ist ein deutlicher Schutzeffekt des Cysteamin sowohl bei BU-Phagen als auch bei normalen Phagen festzustellen. Analog zu Abb. 1 und Abb. 2 wurden Dosiseffektkurven für λ -Phagen mit verschiedenen BU-Substitutionsgraden erhalten. In Tab. I sind sämtliche D_{37} -Werte und die daraus resultierenden Inaktivierungsquerschnitte angegeben (jeweils nach Bestrahlung in Anwesenheit von Cysteamin), ebenso die Dosisreduktionsfaktoren DRF ($DRF = \sigma/\sigma_{cys} = \text{Quotient aus den Wirkungsquerschnitten erhalten nach Bestrahlung ohne und mit Cysteamin}$).

Abb. 3 zeigt den relativen Anstieg der Inaktivierungsquerschnitte σ_{cys} in Abhängigkeit vom BU-Substitutionsgrad sowohl für Bestrahlung mit langwelligem (302/313 nm) als auch mit kurzwelligem

(254 nm) UV-Licht. In beiden Fällen verläuft der relative Anstieg proportional der Konzentration des BU in der Phagen-DNA.

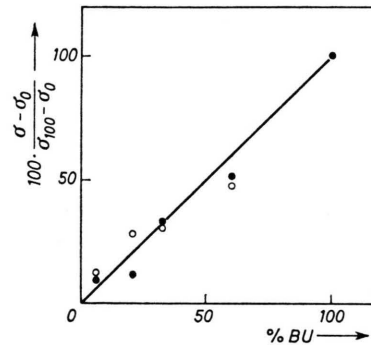


Abb. 3. Relativer Anstieg des Wirkungsquerschnittes σ (in %) in Abhängigkeit vom BU-Gehalt der DNA nach Bestrahlung mit UV-Licht von 302/313 nm (—●—●—) und von 254 nm (—○—○—) in Anwesenheit von Cysteamin.

In Abb. 4 sind die Dosisreduktionsfaktoren (DRF) in Abhängigkeit vom BU-Substitutionsgrad, wieder für Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlängen 302/313 nm und 254 nm, aufgetragen. In ersterem Falle verläuft der DRF nahezu konstant, in letzterem ist ein ausgeprägtes Maximum zu verzeichnen.

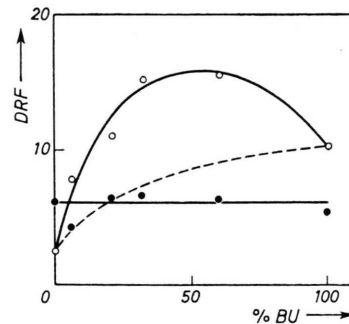


Abb. 4. Dosisreduktionsfaktoren (DRF) in Abhängigkeit vom BU-Gehalt der DNA nach Bestrahlung mit UV-Licht von 302/313 nm (—●—●—) und von 254 nm (—○—○—). Die gestrichelte Kurve ist im Text erklärt.

Tab. I. Zusammenstellung der D_{37} -Werte [erg/mm^2] und der Inaktivierungsquerschnitte σ_{cys} [$\text{cm}^2/\text{Quanten}$], jeweils nach Bestrahlung in Anwesenheit von Cysteamin, und der Dosisreduktionsfaktoren für Bestrahlung mit langwelligem (302/313 nm) und kurzwelligem (254 nm) UV-Licht.

	% BU	0	6	20,8	32,3	60	100
302/313 nm	$D_{37, cys}$	97500	19500	14930	6205	4100	2110
	$\sigma_{cys} \cdot 10^{17}$	0,068	0,339	0,438	1,06	1,6	3,19
	DRF	6	4,1	6,4	6,6	6,3	5,3
254 nm	$D_{37, cys}$	2360	1570	1105	1073	835	472
	$\sigma_{cys} \cdot 10^{17}$	3,32	4,97	7,13	7,32	9,35	16,6
	DRF	2,4	7,8	11	15,1	15,5	10,2

IV. Zusammenfassung und Diskussion

Abb. 1 zeigt deutlich, daß die Anwesenheit von Cysteamin während der Bestrahlung die UV-Empfindlichkeit von BU-Phagen nicht vollständig auf den Wert von normalen Phagen (ohne Cysteamin) reduziert. Aus Tab. I folgt, daß etwa 80% der BU-Schäden durch die Anwesenheit von Cysteamin eliminiert werden. Abb. 1 und Tab. I zeigen weiterhin, daß auch nach Bestrahlung von normalen Phagen mit UV-Licht von 302/313 nm ein Schutzeffekt von Cysteamin auftritt, der in der gleichen Größenordnung wie bei BU-Phagen liegt ($\text{DRF} \approx 5 \dots 6$). Da aber in normalen Phagen der biologisch wirksame Strahlenschaden durch das Thymin-Dimer², in BU-Phagen durch den Einzelstrangbruch³ gegeben ist, scheint bei Bestrahlung mit 302/313 nm Cysteamin im wesentlichen den indirekten Strahleneffekt zu beeinflussen. Andernfalls wären unterschiedliche Dosisreduktionsfaktoren bei normalen und BU-Phagen zu erwarten.

Die in Abb. 4 gezeigte Konstanz des DRF in Abhängigkeit vom BU-Substitutionsgrad ergibt sich sofort aus der Gleichheit der DRF bei 0 und 100% BU.

Nach Bestrahlung mit kurzwelligem UV-Licht (254 nm) ergeben sich für normale und BU-Phagen unterschiedliche DRF (siehe Tab. I). Der DRF für normale Phagen ($\approx 2,4$) kann durch das verminderte Auftreten von Thymindimeren erklärt werden und steht im Einklang mit entsprechenden Werten anderer Autoren^{4,5}. Im Falle der BU-Phagen verhindert Cysteamin das Auftreten von Einzelstrangbrüchen fast vollständig (95%); ähnliche Ergebnisse wurden bei T1⁶, T4⁷ und T3⁸ erhalten.

Der ungewöhnlich erscheinende Verlauf des DRF (254 nm) in Abhängigkeit vom BU-Gehalt der DNA (Abb. 4) läßt sich folgendermaßen erklären: Bei einer Proportionalität der Wirkungsquerschnitte

zum BU-Gehalt würde sich für den Dosisreduktionsfaktor

$$\text{DRF} = \sigma / \sigma_{\text{cys}} = (\sigma_0 + \Delta\sigma \cdot c_{\text{BU}}) / (\sigma_{0,\text{cys}} + \Delta\sigma_{\text{cys}} \cdot c_{\text{BU}})$$

ergeben. ($\Delta\sigma = \sigma_{100} - \sigma_0$ = Differenz aus den Wirkungsquerschnitten für 100%-Phagen und normalen Phagen, c_{BU} = BU-Konzentration.) Der Verlauf dieser Funktion ist in Abb. 4 gestrichelt eingezeichnet. Das Maximum im tatsächlichen Verlauf des DRF erklärt sich aus dem überproportionalen Anstieg von σ (Energieleitung ohne Cysteamin¹) und dem proportionalen Anstieg von σ_{cys} (keine Energieleitung mit Cysteamin; siehe Abb. 3).

Sowohl nach Bestrahlung mit langwelligem als auch mit kurzwelligem UV, jeweils in Anwesenheit von Cysteamin, verläuft der Inaktivierungsquerschnitt proportional dem BU-Gehalt der Phagen-DNA (Abb. 3). Somit kann geschlossen werden, daß der in der vorangehenden Arbeit¹ erwähnte Energieleitungsprozeß vom Thymin zum BU durch Cysteamin unterbunden werden kann. Zwei Reaktionsmöglichkeiten des Cysteamin können in Betracht gezogen werden: Einmal kann die Amino-gruppe des Cysteamin elektrostatisch an eine dem Thymin benachbarte negative Phosphatgruppe gebunden werden⁹, womit der Energietransport zum BU unterbunden würde. Zusätzlich oder alternativ kann Cysteamin das Entstehen von Einzelstrangbrüchen am BU verhindern⁷, womit die Energieleitung vom Thymin zum BU sich nicht mehr in einer zusätzlichen Inaktivierung äußern könnte.

Herrn Prof. Dr. W. Dittrich danke ich für wertvolle Diskussionen und die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts, Frl. G. Hessing für ausgezeichnete technische Assistenz. Diese Arbeit wurde durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

¹ F. Mönkehaus, Z. Naturforsch. **29 c**, 289 [1974].

² R. B. Setlow u. W. L. Carrier, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **51**, 226 [1964].

³ F. Hutchinson u. H. B. Hales, J. Mol. Biol. **50**, 59 [1970].

⁴ W. D. Rupp u. W. H. Prusoff, Nature **202**, 1288 [1964].

⁵ M. Radman, A. Roller u. M. Errera, Molec. Gen. Genetics **104**, 142 [1969].

⁶ G. Hotz, Biochem. Biophys. Res. Commun. **11**, 393 [1963].

⁷ G. Hotz u. H. Reuschl, Molec. Gen. Genetics **99**, 5 [1967].

⁸ M. B. Lion, Biochim. Biophys. Acta **209**, 24 [1970].

⁹ P. Milvy u. I. Pullman, Radiat. Res. **34**, 265 [1968].