

Einige chemisch-biologische Anwendungen der schnellen Neutronen und der künstlich radioaktiven Stoffe*)

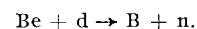
Von N. W. TIMOFÉEFF-RESSOVSKY. Genetische Abteilung des Kaiser-Wilhelm-Instituts in Berlin-Buch

Einleitung.

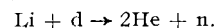
Die im Laufe der letzten 5—6 Jahre entwickelten leistungsfähigen Neutronengeneratoren haben es ermöglicht, daß die Neutronen heute nicht nur in kernphysikalischen Versuchen, sondern auch verschiedentlich in Chemie und Biologie mit Erfolg angewendet werden können; besonders interessante Möglichkeiten ergeben sich dabei aus der Anwendung der Indicatormethode mit durch Neutronenbestrahlung auf dem Wege der Atomänderung bzw. -zertrümmerung erzeugten künstlich-radioaktiven Isotopen. Es sollen hier solche Anwendungen im allgemeinen und einige konkrete Beispiele auf diesem Gebiete schon geleisteter Arbeit kurz dargestellt werden.

Die Neutronen sind Teilchen von der Masse eines Wasserstoffatomkerns (Protons), tragen aber im Gegensatz zu letzterem keine

erzeugt. Diese Deuteronen setzt man dann einem durch Hochspannung erzeugten starken elektrischen Felde aus, wobei sie eine erhebliche Bewegungsenergie erhalten; mit dieser prallen sie am Ende ihres Weges auf ein geeignetes Material, das sie unter Neutronenabsplattung zertrümmern. So wird z. B. das Beryllium (Be) durch Deuteronen (d) unter Absplattung von Neutronen (n) in Bor (B) verwandelt:



Noch häufiger wird an Stelle von Beryllium das noch leichtere Metall Lithium (Li) verwendet, das durch Deuteronenbeschuß (d) in Helium (He) und Neutronen (n) aufgespalten wird:



Künstliche Neutronenquellen können bei Verwendung entsprechend leistungsfähiger Apparaturen und hoher Spannungen mehrere hundert- bis tausendmal stärker als die stärksten natürlichen Radium-

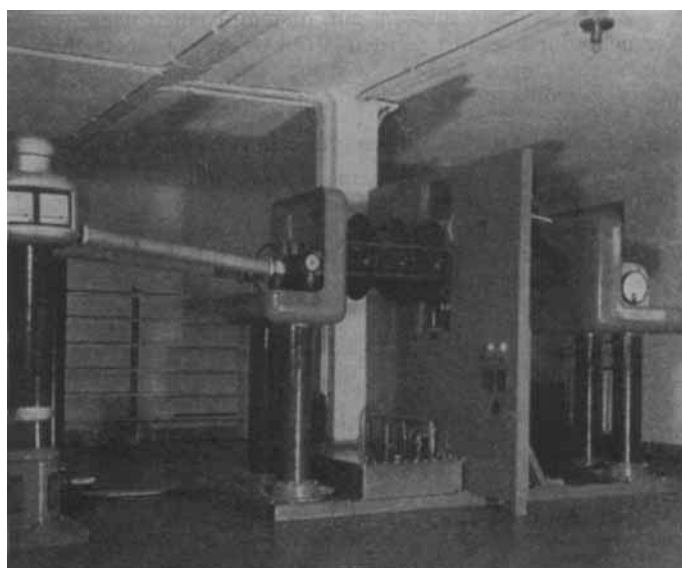
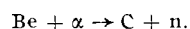


Abb. 1. Ansicht des Neutronengenerators nach A. Bouwers, F. A. Heijn u. A. Kuntke mit horizontaler Anordnung der Neutronenröhre.

Links die Hochspannungsquelle für das Gasentladungsrohr; rechts davon die Neutronenröhre mit dem linken, das Entladungsrohr enthaltenden positiven Teil, der geerdeten Mittelwand und dem rechten, negativen Teil, der das Target mit Lithium enthält.

Ladung, was auch den Anlaß zur Bezeichnung „Neutronen“ bildete. Die Neutronen kommen als solche normalerweise nicht frei vor, sondern nur zusammen mit Protonen, mit denen sie die Atomkerne der chemischen Elemente aufbauen. Zur Erzeugung freier Neutronen müssen deshalb Atomkerne zertrümmert oder wenigstens die Neutronen aus ihnen abgespalten werden. Die dazu benötigten Geschosse hoher Energie stehen uns in der Form der von radioaktiven Stoffen ausgesandten α -Teilchen zur Verfügung oder können mittels hoher elektrischer Spannungen aus leichten Ionen erzeugt werden. Auf dem ersten Wege erhält man sog. „natürliche Neutronenpräparate“; für den zweiten benötigt man sog. „künstliche Neutronengeneratoren“.

Mischt man z. B. Radium mit Beryllium, so wird das Beryllium (Be) durch Beschießen mit α -Teilchen (α) in Kohlenstoff (C) verwandelt, wobei Neutronen (n) abgespalten werden:



Solche natürlichen Neutronenpräparate sind, wegen der nur geringen zur Verfügung stehenden Radiummenge, recht schwach; größere Neutronenmengen können deshalb nur auf „künstlichem“ Wege erzeugt werden.

Als „künstliche“ Geschosse kommen für die Neutronenerzeugung vorzugsweise die Ionen des schweren Wasserstoffs (Deuteronen) in Betracht, die man in einer geeigneten Apparatur durch Gasentladung

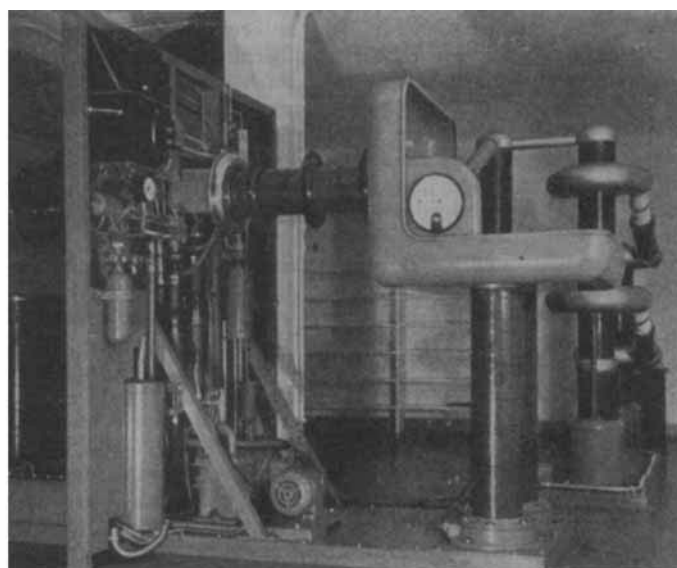


Abb. 2. Teilansicht des Neutronengenerators.

Im Hintergrund rechts die negative Hochspannungsquelle für 300 000 V; vorn links die geerdete Mittelwand der Neutronenröhre mit Pump- und Meßgeräten; vorn rechts der negative Targetteil der Neutronenröhre.

Beryllium-Präparate in bezug auf Neutronenerzeugung sein. In Abb. 1 und 2 ist die von uns benutzte, nach dem Prinzip von A. Bouwers, F. A. Heijn und A. Kuntke (Philips Eindhoven) von der Firma C. H. F. Müller, Hamburg, erbaute Apparatur dargestellt; Abb. 3 zeigt ein Schema des Neutronenrohres. Das Entladungsrohr arbeitet mit etwa 40 000 V Betriebsspannung, die gebildeten Deuteronen werden mit Spannungen bis zu 600 000 V beschleunigt, wonach sie

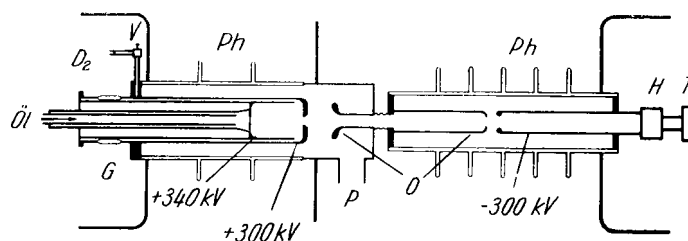


Abb. 3. Schematischer Schnitt durch die Neutronenröhre.

- | | | | |
|----------------|---|----|---|
| D ₂ | Zuströmstelle des schweren Wasserstoffs zu dem Gasentladungsrohr; | P | Evakuierungsstutzen der Nachbeschleunigungsröhre; |
| G | Glasing zur Isolation der Elektroden des Gasentladungsrohres; | Ph | Der linke und rechte Teil der Nachbeschleunigungsröhre; |
| H | Hahn vor dem Target; | T | Target mit Lithium; |
| Öl | Ölkühlung; | V | Ventil zur Regelung des Zustroms von Deuterium. |

Die linke Elektrode ist positiv (bis zu +300 kV Spannung), die mittlere ist geerdet (0) und die rechte ist negativ (bis zu -300 kV Spannung).

(Aus Born, Timoféeff-Ressovsky u. Zimmer, 1941.)

*) Vorgetragen auf der Vortragsveranstaltung des VDOh in Dresden am 5. April 1941.

Die Neutronen haben folgende für ihre Anwendungen wichtige Eigenschaften. Sie sind elektrisch ungeladen und haben etwa die Masse eines Protons. Sie besitzen aber daneben eine beträchtliche Bewegungsenergie, die sie beim Aufspalten der Atomkerne gewinnen; z. B. beträgt bei der von uns benutzten Li + d-Reaktion die Energie der Neutronen im Durchschnitt 4 Mio. Elektronvolt, während die schnellsten 13 Mio. Elektronvolt erreichen. Die hohe Energie, zusammen mit der elektrischen Neutralität, befähigt die Neutronen zu den zwei folgenden wichtigen Wirkungen: 1. Eindringen in und Reaktionen mit anderen Atomkernen, wobei als Ergebnis oft solche entstehen, die instabil sind und unter Abspaltung von Teilchen in andere übergehen, die „künstlich radioaktiven Isotope“; 2. Übertragung erheblicher Energiebeträge auf ruhende leichte Atomkerne bei Zusammenstößen; die auf diese Weise weggestoßenen Atomkerne, die im Gegensatz zu den Neutronen elektrisch geladen sind, können dann ihrerseits Wirkungen hervorbringen. Für die uns hier am meisten interessierenden biologischen Wirkungen sind die sog. Rückstoßprotonen am wichtigsten; sie entstehen, wenn ein schnelles Neutron gegen Wasserstoffatomkerne stößt.

Unmittelbare biologische Anwendungen der Neutronenstrahlung.

Die Neutronenstrahlung kann zunächst als solche in einigen biologischen (und u. U. auch photochemischen) Versuchen angewendet werden, u. zw. vor allem überall dort, wo es auf dichtionisierende und dabei in die Stoffe leicht eindringende Strahlung ankommt.

Dies gelingt den Neutronen infolge ihrer „Neutralität“; sie haben aber selbst keine nennenswerte biologische Wirkung, da sie als ungeladene Teilchen unterwegs nicht ionisieren können. Ihre biologische Wirkung beruht auf den erwähnten Rückstoßprotonen, die in wasserstoffhaltigem Material (wie es die Gewebe sämtlicher Organismen sind) durch Neutronen erzeugt werden. Die rasch sich bewegenden Rückstoßprotonen rufen im Gewebe längs ihrer Bahn Ionisationen anderer Atome in sehr dichter Folge hervor; die Ionisationsdichte längs der Bahn eines Rückstoßprotons nähert sich der eines α -Teilchens und ist wesentlich höher als diejenige längs der Bahnen der Sekundärelektronen auch sehr weicher Röntgenstrahlen und der verschiedenen β -Strahlungen.

Die Neutronenstrahlung bietet somit eine Möglichkeit, in tieferen Gewebeschichten dichtenisierende Strahlung zu erzeugen, was sonst auf Schwierigkeiten stößt, da z. B. die α -Teilchen (und auch Protonen, falls man sie von außen applizieren würde) schon in dünnen Gewebeschichten schnell absorbiert werden und deshalb in die Tiefe des Objektes gar nicht einzudringen vermögen. Inwieweit nun eine derartige Strahlung in biologischen bzw. therapeutischen Versuchen von Interesse oder Bedeutung ist, hängt ganz vom dem betreffenden strahlenbiologischen Primärvorgang ab.

Erfordert die entsprechende biologische Reaktions-
einheit (z. B. die Tötung bzw. Änderung einer normalen oder
pathologisch entarteten Zelle) wenig Energie, also wenige
Ionisationen innerhalb des submikroskopisch kleinen „emp-

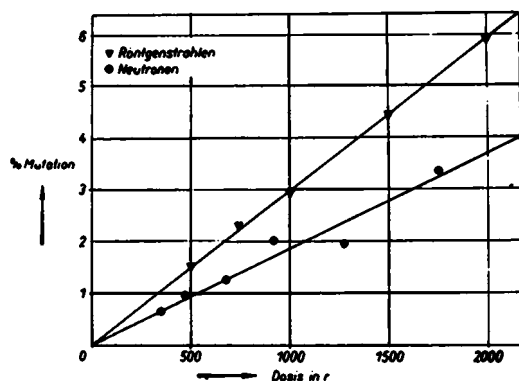


Abb. 4. Auslösungen geschlechtsgebundener Mutationen bei *Drosophila melanogaster* durch äquivalente Dosen von Röntgen- und Neutronenbestrahlung.

(Nach *Timoféeff-Ressorsky u. Zimmer, 1938.*)

deren biologischen Strahlenreaktionen, die viel Energie je Reaktionseinheit (also mehrere Ionisationen pro Treffbereich) erfordern, kann sich die relative Wirksamkeit der dicht und weniger dicht ionisierenden Strahlungen umgekehrt verhalten. Drei verschiedene diesbezüglich untersuchte Fälle sind in Tab. 1 angeführt. Viele solche Ver-

Tabelle 1.

Vergleich der Versuchsergebnisse mit der treffertheoretischen Erwartung bezüglich der Verhältnisse D_X/D_n , der Röntgenstrahl-(D_X) und Neutronendosen (D_n), die gleiche biologische Wirkungen erzeugen.

(Nach Zimmer 1938.)

| Objekt und Reaktion | Verhältnis D_x/D_n | | Autoren |
|--|----------------------|------------------|-----------------------|
| | Ex- perimental | Theore- tisch | |
| Drosophila, Mutationsauslösung | 0,6 | < 1 | Timofeef u. Zimmer |
| Pteris longifolia, Zellteilungshemmung ... | 1,3 | ≈ 1 | Zirkle u. Mitarb. |
| Weizenkeimlinge, Wachstumshehmung ... | 2,7 | > 1 | Zirkle u. Mitarb. |

suche sind noch nicht abgeschlossen oder müßten erst durchgeführt werden, bevor die Frage nach der Bedeutung der unmittelbaren Neutronenbestrahlung, vor allem in der Strahlentherapie, als endgültig geklärt angesehen werden kann. Aus einigen amerikanischen Versuchen scheint hervorzugehen, daß das Tumorgewebe durch Neutronenbestrahlung relativ stärker als durch Röntgenbestrahlung im Vergleich zum normalen angegriffen wird; sollte sich dies bestätigen, so könnte die Neutronenbestrahlung in Zukunft große therapeutische Bedeutung gewinnen.

Zunächst aber müssen auf diesem Gebiet noch weitere Versuche durchgeführt werden. Und es müssen auch die Neutronengeneratoren hoher Leistung für Dauerbetrieb noch weiter vervollkommen werden.

Einige Anwendungen der Indicatormethode.

Viel wichtiger ist heute eine andere, indirekte Anwendung der Neutronenstrahlung, die Indicatormethode. Sie beruht auf der Verwendung künstlich-radioaktiver Isotope, die man durch Neutronenbeschuß gewinnen und mit Hilfe geeigneter Zählrohre sehr genau verfolgen und messen kann. Da die

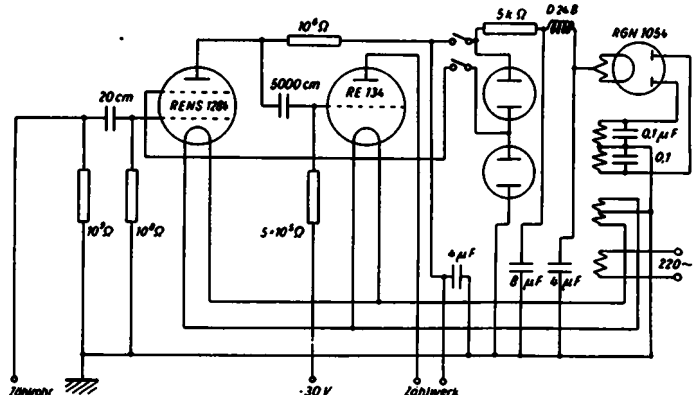


Abb. 5. Schaltbild einer Zählrohranordnung mit Verstärker und automatisch registrierendem Zählwerk.

(Aus Born u. Zimmer, 1940.)

relativ kurzlebigen radioaktiven Isotope schon in sehr geringen Mengen genau gemessen werden können, so ergibt sich dadurch die Möglichkeit, die betreffenden Elemente bzw. Stoffe für leichtere Feststellbarkeit zu „markieren“. Abb. 5 zeigt die von uns benutzte Zählrohranordnung mit Verstärker und automatisch registrierendem Zählwerk. Bei Zusammenstoßen mit Atomen greifen die Neutronen, da sie ja keine elektrische Ladung tragen, lediglich die direkt getroffenen Atomkerne an. Dabei entstehen aus den getroffenen Atomen entweder radioaktive Isotope desselben Elements oder auch radioaktive Isotope anderer Elemente, die aber dem bestrahlten im Periodischen System direkt benachbart sind. Je kürzer dabei die Halbwertszeit des radioaktiven Isotops ist, desto geringere Mengen dieses Isotops bzw. des ihn enthaltenden Stoffes können mittels Zählrohr einwandfrei festgestellt werden (wegen der größeren Stoßzahl je Zeiteinheit); diese Regel gilt aber selbstverständlich nur bis zu gewissen Grenzen, da bei im Vergleich zur Versuchsdauer zu kurzen Halbwertszeiten nach Ablauf des Versuches keine meßbare Aktivität mehr herrschen würde. Für die praktische jeweilige Anwendung der „Indicatormethode“ sind somit nicht alle radioaktiven Isotope,

¹⁾ Der Neutronengenerator wurde uns freundlicherweise durch die Auergesellschaft A.-G., Berlin, mit deren wissenschaftlichen Laboratorien wir in Zusammenarbeit stehen, zur Verfügung gestellt und in unserem Laboratorium aufgebaut, zu besonderem Dank der wertvollen Unterstützung und Hilfe seiner Direktoren Herrn Dr. W. Woll von der Radiologischen Abteilung und Herrn Dr. A. W. Rühl von der Wissenschaftlichen Hauptstelle der Auergesellschaft verpflichtet. Ein Teil der Versuche wird durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft bzw. durch das Reichsanseht für Wirtschaftsausbau unterstützt.

sondern vorwiegend solche mit „bequemen“ Halbwertszeiten verwendbar. Zur Isotopentrennung dient die von Szilard u. Chalmers (1934) entdeckte und von Erbacher u. Philipp (1936) ausgearbeitete Methode, bei der man das in Frage kommende Element, z. B. Chlor, in Form einer organischen Verbindung, z. B. als Äthylenchlorid, mit Neutronen bestrahlt; wird nun ein Chloratom getroffen und umgewandelt, so wird dabei noch zusätzlich Energie frei, die als kinetische Energie auf das Atom übergeht, ihm einen Stoß versetzt und es als Ion aus dem Molekülverband hinauswirft.

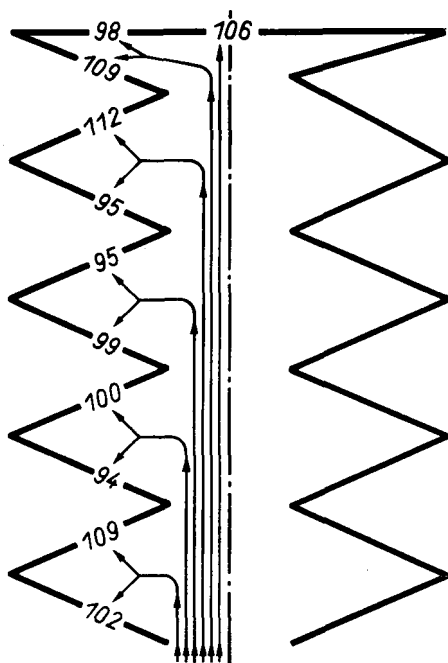


Abb. 6. Schematischer Schnitt durch ein Kammerfilter, mit Angabe der je Oberflächenelement zurückgehaltenen Schwebstoffmenge. Versuche mit durch Radiophosphor indiciertem Trikresylphosphat. (Aus Born u. Zimmer, 1940.)

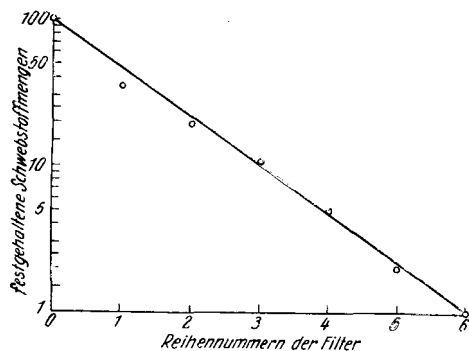


Abb. 7. Untersuchung eines Schwebstofffilters. Ergebnis der Versuche (mit durch Radiophosphor indiciertem Trikresylphosphat) über das Zurückhalten eines (mittels eines Glaszerstäubers vorbereiteten) Schwebstoffes in einem zusammengesetzten Schichtenfilterkörper. Abszisse in linearem Maßstab; Ordinate in logarithmischem Maßstab. (Aus Born u. Zimmer, 1940.)

der Durchlässigkeitsprüfung von Filterschichten.

Bei der Gasmaskenherstellung ergibt sich die Aufgabe, die Leistungsfähigkeit einzelner Filtereinsätze zu prüfen. Dazu dienen meistens bei Schwebstoffuntersuchungen optische Verfahren; der genauen Auswertung solcher Messungen stellen sich jedoch viele Schwierigkeiten entgegen. Die Indicatormethode mit künstlich radioaktiven Stoffen gestattet eine schnellere und in den meisten Fällen genauere Bestimmung der von den Filtern zurückgehaltenen Schwebstoffmengen. Man mischt dazu dem betreffenden Schwebstoff, z. B. dem zur Filterprüfung oft verwendeten Trikresylphosphat, etwas Trikresylphosphat bei, in dessen Molekülen der Phosphor durch Radiophosphor ersetzt ist. Durch die mittels Zählrohr gemessene Strahlung des Radiophosphors läßt sich der Verbleib des Schwebstoffes feststellen. Und aus der Strahlungsintensität der verschiedenen Filtereinsätze kann die von ihnen festgehaltene Schwebstoffmenge leicht und genau berechnet werden; denn das Verhältnis Schwebstoffmenge zu Radioaktivität, welches durch die ursprüngliche Mischung festgelegt wurde, bleibt stets gleich, weil das „indizierte“ Trikresylphosphat sich chemisch in keiner Weise vom inaktiven unterscheidet. Die Ergebnisse solcher Messungen sind in Abb. 6 und 7 dargestellt.

In dieser oder prinzipiell ähnlicher Weise lassen sich auch bei zahlreichen anderen analytischen Untersuchungen Stoffe

schnell nachweisen und bestimmen. Auf chemischem Gebiet könnte die Indicatormethode in Zukunft besonders bei Kontrollreaktionen, Synthesen und Abbauvorgängen und bei der Untersuchung von Austauschvorgängen nach Entwicklung einer den Versuchsbedingungen jeweils angepaßten Methodik und Technik verwendet werden. Ein besonderer Vorteil des Verfahrens liegt darin, daß, dank des überaus empfindlichen Nachweises für radioaktive Stoffe, viel geringere Stoffmengen bestimmt werden können als mit den besten sonst bekannten Mikromethoden.

Bei biologischen Versuchen wird dem Organismus das zu untersuchende Element in Form eines radioaktiven Isotops oder der zu untersuchende Stoff, in den ein radioaktives Isotop eingebaut ist, durch Verfütterung, Injektion oder auf anderem geeigneten Wege zugeführt (Abb. 8). Danach werden die Versuchsindividuen nach verschiedenen Zeitabständen auf Verteilung des zugeführten Stoffes im Körper mittels Zählrohr untersucht; es kann sich dabei um Entnahme von Proben (z. B. Blutproben) von lebenden Individuen oder um anatomische Sektion mit nachfolgender Ausmessung von veraschten bzw. getrockneten oder chemisch verarbeiteten Organ- bzw. Gewebeproben handeln (Abb. 9). Die Proben werden sorgfältig gewogen, um die festgestellten Aktivitäten auf Gewichtseinheiten beziehen zu können. Der Versuchs-



Abb. 8. Injektion eines radioaktiven Stoffes einer Maus. Die Maus wird mit dem Kopf nach vorn in ein ätherhaltiges Glasrohr gesteckt und in betäubtem Zustand injiziert.

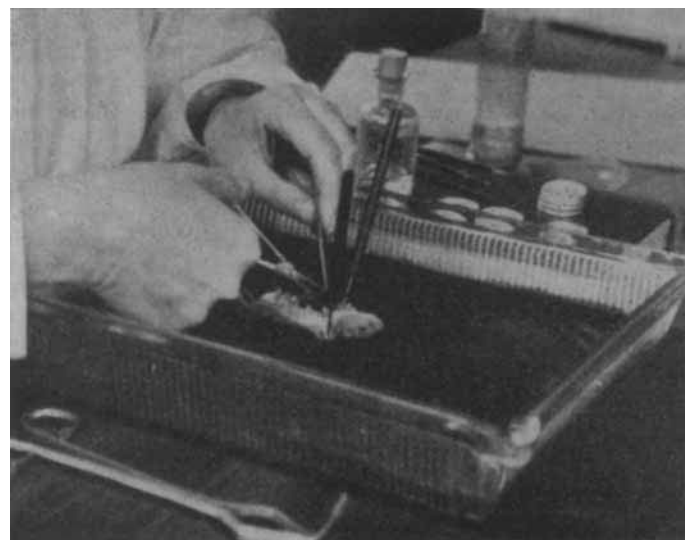


Abb. 9. Sektion der Maus.

Eine mit radioaktivem Stoff injizierte Maus wird eine bestimmte Zeitspanne nach der Injektion getötet; Organ- bzw. Gewebestücke werden gewogen, zerrieben, in dünner Schicht in die im Hintergrunde sichtbaren Schälchen aufgetragen, eingetrocknet bzw. verascht und unter einem Zählrohr auf Aktivität ausgemessen, die dann auf Gewichtseinheit des Gewebes bezogen werden kann.

Der Zweck der biologischen Versuche mit der Indicator-methode kann ein sehr verschiedener sein. Vor allem kann man auf diesem Wege, aus allgemein physiologischen Gründen, das zeitliche und räumliche Schicksal und Verhalten verschiedener chemischer Elemente und einiger chemischer Verbindungen im Gesamtstoffwechsel der Organismen genau verfolgen. In vielen Fällen, und gerade bei Giften und Medikamenten, bei denen nur ganz geringe Konzentrationen in Frage kommen, bildet die Indicator-methode nicht nur die bequemste und genaueste, sondern oft auch die einzig mögliche Untersuchungsmethode. In Tab. 2, 3 und 4

| Organe | Mittelwert der Aktivität pro 100 mg Organengewicht in Teil- chen je min | | | Relative Aktivität einzelner Or- gane in Prozent der Gesamt- aktivität | | |
|-------------|---|-------|-------|--|-------|-------|
| | Zeit nach Einatmung | | | | | |
| | 0 min | 5 min | 8 min | 0 min | 5 min | 8 min |
| Lunge | 415 | 81 | 93 | 79% | 60,0% | 45,0% |
| Niere | 47 | 33 | 89 | 9% | 24,4% | 43,0% |
| Leber | 36 | 15 | 13 | 7% | 11,1% | 6,2% |
| Hirn | 27 | 6 | 12 | 5% | 4,5% | 5,8% |

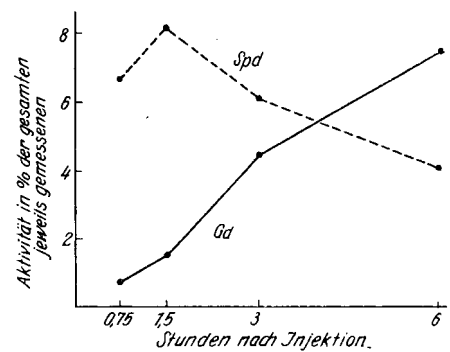
| Gewebeeteil | Zustand 72 h nach der intravenösen Zufuhr von radiophosphorhaltigem Natriumphosphat | | |
|---------------------------------|--|------------------------------|-------------------------------|
| | Phosphor in mg | Aktivität in Teilchen/min | Aktivität : Phosphorgehalt |
| Schädel | 33,0 | 460 | 14 |
| Zähne | 11,1 | 132 | 11,9 |
| Unterkiefer | 11,5 | 184 | 16 |
| Oberschenkel, Gelenke | 9,8 | 340 | 34,7 |
| Oberschenkel, Schaft | 9,6 | 138 | 14,4 |
| Niere | 5,0 | 246 | 49 |
| Leber | 22,7 | 1 650 | 73 |
| Milz | 4,5 | 326 | 73 |
| Schilddrüse | 1,3 | 82 | 63 |
| Magen, Darm | 37,0 | 1 590 | 43 |
| Geschlechtsorgane | 1,6 | 150 | 94 |
| Hirn | 4,0 | 76 | 19 |

| Organe | Mittelwerte der Aktivität je 100 mg Organgewicht in Teilchen je min | | | | |
|---------------|--|-------|-------|------|-----|
| | Zeit der Tötung in h nach Injektion | | | | |
| | 1,5 | 3 | 6 | 18 | 22 |
| Blut | 93,1 | 47,7 | 3,8 | — | — |
| Leber | 8,3 | 6,7 | 2,9 | 2,3 | 1,8 |
| Niere | 27,5 | 24,1 | 9,4 | 7,8 | 2,8 |
| Milz | 14,3 | 10,8 | 4,9 | 1,7 | — |
| Gonaden | 1,4 | 2,8 | 10,8 | 1,3 | — |
| Urin | 469,0 | 858,0 | 313,0 | 47,6 | — |

Weiterhin können solche Versuche auch bestimmten speziellen Fragestellungen dienen. Z. B. sind die Wirkungen von Giften und Medikamenten oft organ- bzw. gewebsspezifisch; diese Stoffe zeigen also sozusagen ein Wirkungsmuster. Um den Wirkungsmechanismus zu verstehen, muß vor allem festgestellt werden, ob das Wirkungsmuster auf einem entsprechenden Verteilungsmuster des betreffenden Stoffes im Organismus oder auf einem bestimmten Reaktionsmuster der Gewebe auf einen an sich diffus verteilten Stoff beruht; da es sich sowohl bei Giften als auch bei Medikamenten meistens um ganz geringe Konzentrationen handelt, so kann eine genaue Erforschung dieser und ähnlicher Fragen in Zukunft am besten mit Hilfe der Indicatormethode erfolgen.

vermögen; erst mit diesen lohnt es sich dann, umfangreiche und äußerst zeit- und arbeitsraubende Mutationsversuche anzusetzen. Die in Tab. 2—4 angeführten Versuche dienen z. B. primär diesem Zwecke; diesbezüglich interessant verhält sich z. B. das Arsen, das in den Gonaden über längere Zeit angereichert wird (Abb. 10). In einzelnen Fällen kann man

In der Speicheldrüse wird das rasch hineingelangte Arsen auch schnell ausgeschieden; in der Geschlechtsdrüse wird es im Laufe der ersten 6 h stark angereichert. (Nach *Born u. Timo'eff-Ressovsky*, 1941.)



Das Diagramm zeigt ein X-förmiges Chromosom, das aus zwei homologen Chromosomen besteht. Die Beschriftungen sind wie folgt:

- Rechter Arm des Chromosoms III**: Bezieht sich auf den oberen linken Arm.
- Chromosom**: Bezieht sich auf das linke Chromosom (Chromosom III).
- Chromosom**: Bezieht sich auf das rechte Chromosom (Chromosom II).
- Chromosom aus der Oögenese (gleiche Vergrößerung!)**: Ein Pfeil weist auf eine Gruppe von vier kleinen Chromosomen im oberen rechten Bereich.
- Chromosom**: Bezieht sich auf das linke Chromosom (Chromosom III).
- Rechter Arm des Chromosoms II**: Bezieht sich auf den unteren rechten Arm.
- Chromosom**: Bezieht sich auf das rechte Chromosom (Chromosom II).
- Chromosom**: Bezieht sich auf das linke Chromosom (Chromosom III).
- Chromosom**: Bezieht sich auf das rechte Chromosom (Chromosom II).

technisch ohne weiteres durchführbar; in manchen Fällen wird es in Zukunft bei Zuführung von Radioaktivität in besonders konzentrierter Form vielleicht gelingen, auf diesem Wege das Eindringen einiger Elemente bis in die Chromosomen zu verfolgen. Das Eindringen verschiedener Elemente in die Zellelemente des Blutes läßt sich besonders leicht verfolgen, und mit Phosphor und Kalium liegen darüber schon umfangreiche Versuche vor.

Das Tabakmosaik-Virus ist heute die bestuntersuchte Virusart, die chemisch rein darstellbar ist und eine Reihe von chemisch-präparativen und biologischen Vorteilen besitzt: da



Abb. 12. Anordnung aus zwei Binokularlupen und einer freihändig betätigten Mikroinjektionsspritze, zum Transplantieren von Organanlagen und Injektionen an Fliegenlarven.

Es wird „vierhändig“ gearbeitet: der eine hält die betäubten Larven in richtiger Stellung fest, der andere führt die Injektion durch.

außerdem am Tabakmosaik-Virus die meisten grundlegenden Virusarbeiten durchgeführt werden, wurde es als Objekt für unsere Versuche genommen. Der Phosphor wurde aus zwei Gründen gewählt. Erstens ist Phosphor ein wesentlicher Bestandteil der Virusmoleküle und ist im Tabakmosaik-Virus in ausreichender Menge vorhanden (etwa 0,5%). Und zweitens hat das radioaktive Isotop von Phosphor, der Radiophosphor, wesentliche Vorteile, indem es leicht in genügenden Mengen zu gewinnen ist (mittels Neutronenbestrahlung aus Schwefel) und eine für die in Frage kommenden Versuche bequeme, nicht zu kurze Halbwertszeit von rd. 15 Tagen hat. Zunächst wurde geprüft, ob ein nennenswerter Austausch des Phosphors zwischen Virus und organischem Phosphat besteht. Sollte dies der Fall sein, so könnte man auf dem Wege des Austausches eine Synthese von radioaktivem Virusprotein durchführen; andererseits würde aber dann die Markierung des Virus mit Radiophosphor wesentlich an Interesse einbüßen, da ja dann auch der reziproke Austausch des Radiophosphors aus dem markierten Virus bestehen müßte. Im Austauschversuch wurde reines Virusprotein 3—11 Tage in radiophosphorhaltiger Natriumphosphatlösung gehalten, dann durch Dialyse (u. U. mit vorangehender Ultrazentrifugierung) wieder abgetrennt und auf Aktivität mittels Zählrohr untersucht. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tab. 5 angegeben. Sie zeigen, daß höchstens $\frac{1}{3}\%$ des Virusphosphors austauschen könnte; aber auch diese geringe Aktivität kann ebensogut auf Adsorption von radiophosphorhaltigem Phosphat zurückgeführt werden; diese letztere Annahme wird dadurch bekräftigt, daß die Aktivität am höchsten in Versuchen mit den schlechtesten Trennungsbedingungen gewesen ist (Versuche 3 und 4, in denen nur 2 Tage dialysiert wurde). Diese Frage kann endgültig durch reziproke Austauschversuche mit radioaktivem Virus entschieden werden; ein nennenswerter Phosphoraustausch findet aber jedenfalls nicht statt.

Das Ergebnis der in Tab. 5 angeführten Versuche hat also gezeigt, daß der Einbau von Radiophosphor in das Virusprotein durch Austausch nicht geht und zunächst wohl nur auf biologischem Wege möglich wäre. Deshalb wurde ein weiterer Versuch der Aktivierung von Tabakpflanzen ge-

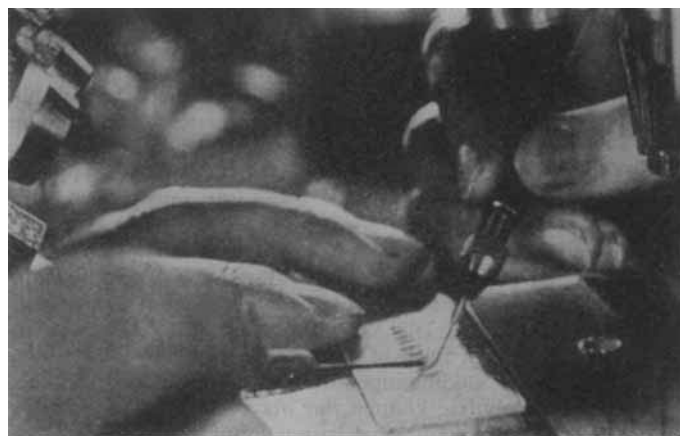


Abb. 13. Einstechen der Mikropipette in die zu injizierende Larve von *Drosophila*.

widmet. Junge Tabakpflanzen wurden auf einer radiophosphorhaltigen Nährlösung gezogen. Um möglichst viel vom Radiophosphor in die Pflanzen einzubauen, wurde eine phosphorarme Nährlösung genommen, in der der Phosphorgehalt gerade noch knapp für die Entwicklung der Pflanzen ausreichte; auf diese Weise wurden die Pflanzen gezwungen, den gesamten Phosphor der Nährlösung und dadurch auch den gesamten Radiophosphor aufzunehmen. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Tab. 6 angeführt. Während der Versuchsdauer von

Tabelle 6.
Phosphoraufnahme und Verteilung bei Tabakpflanzen, die auf einer radiophosphorhaltigen, phosphorarmen Nährlösung aufgezogen wurden.
(Nach Born, Lang, Schramm u. Zimmer 1941.)

| Reihenfolge der Blätter von unten | Trockengewicht in mg | Aktivität in T/min | Aktivität in % der angegebenen Aktivität | Aktivität je 100 mg Trocken-gewicht |
|-----------------------------------|----------------------|--------------------|--|-------------------------------------|
| 15 | 17,8 | 226 | 4,71 | 1 270 |
| 13 | 45,5 | 379 | 7,90 | 832 |
| 11 | 74,8 | 311 | 6,48 | 416 |
| 9 | 62,2 | 202 | 4,21 | 325 |
| 7 | 65,4 | 176 | 3,67 | 269 |
| 5 | 57,8 | 132 | 2,75 | 228 |
| 3 | 54,3 | 39,4 | 0,82 | 72,5 |
| 1 | 27,0 | 0 | 0 | 0 |

In der Nährlösung waren am Schluß des Versuches weder Phosphor noch Radiophosphor nachzuweisen.

20 Tagen haben die Pflanzen den gesamten Phosphor aus der Nährlösung aufgenommen; und wie zu erwarten, zeigten die obersten Blätter die höchste Aktivität, die bei den älteren unteren Blättern abnimmt, um schließlich bei dem untersten Blatt völlig zu fehlen. Nachdem sich so gezeigt hat, daß eine genügende Aktivität in den Wirtspflanzen erzeugt werden konnte, wurde der Hauptversuch durchgeführt, dessen Ergebnis in Tab. 7 angegeben ist. Tabakpflanzen wurden, wie

Tabelle 7.
Versuch zur biologischen Synthese von radioaktivem Virus.
Auf radiophosphorhaltiger Nährlösung gehaltene Tabakpflanzen wurden mit Virus infiziert und nach dessen Vermehrung in angegebener Weise aufgearbeitet.
(Nach Born, Lang, Schramm u. Zimmer 1941.)

| Fraktion | Phosphorgehalt in mg | Aktivität in T/min | Spezifische Aktivität in T/(min u. mg P) |
|-----------------------|----------------------|--------------------|--|
| Proßdruckstand | 3,2 | 6 370 | 1 990 |
| Chloroplastensediment | 0,58 | 2 295 | 3 960 |
| Dialysat | 1,95 | 903 | 463 |
| Pflanzenprotein | 0,158 | 163 | 1 030 |
| Virusprotein | 0,207 | 211 | 1 015 |

im vorhergehenden Versuch, auf phosphorarmer radiophosphorhaltiger Nährlösung gezogen, aber mit dem Unterschied, daß

Tabelle 5.
Versuche zur Synthese von radioaktivem Virusproteinen durch Austausch mit anorganischem Phosphat.

Lösungen von reinem Virusprotein wurden mit radiophosphorhaltigen Natriumphosphatlösungen behandelt und in angegebener Weise abgetrennt. Aktivität je Versuch 10 000 T.n in.
(Nach Born, Lang, Schramm u. Zimmer 1941.)

| Versuch Nr. | Austauschbedingungen | | | Trennungsbedingungen | Anorgan. P mg | Virus-P mg | Aktivität des Virus in T/min | Spezif. Aktivität des Virus in T/(min u. mg P) | Austausch in % des Virusphosphors |
|-------------|----------------------|------------|-----|---|---------------|------------|------------------------------|--|-----------------------------------|
| | Dauer | Temperatur | pH | | | | | | |
| 1 | 3d | 0° | 6,0 | 4d Dialyse | 0,2 | 1 | 20,7 | 20,7 | 0,25 |
| 2 | 3d | 0° | 8,2 | 4d Dialyse | 0,2 | 1 | 23,0 | 23,0 | 0,28 |
| 3 | 5d | 0° | 6,0 | 2d Dialyse | 0,2 | 1 | 57,9 | 57,9 | 0,69 |
| 4 | 5d | 0° | 8,2 | 2d Dialyse | 0,2 | 1 | 105 | 105 | 1,26 |
| 5 | 11d | 0° | 8,0 | Zweifache Ultrazentrifugierung 5d Dialyse | 0,2 | 2,47 | 2,5 | 1,0 | 0,33 |

innerhalb von drei Wochen die Radiophosphorgabe zweimal erneuert wurde. Unmittelbar nach der ersten Radiophosphorgabe wurden die Pflanzen mit Tabakmosaik-Virus infiziert; vier Wochen später wurden die inzwischen erkrankten Pflauren geerntet und chemisch aufgearbeitet. Neben dem Preßrückstand und dem Dialysat wurden drei Fraktionen des Eiweiß (Chloroplastensediment, normales Pflanzenprotein und Virusprotein) gewonnen und auf Aktivität mittels Zählrohr untersucht. Das Virusprotein zeigte eine hohe Aktivität. Besonders hoch war die Aktivität des Chloroplasteneiweiß, wogegen das Dialysat eine auffallend geringe Aktivität aufwies; das normale Pflanzenprotein zeigte dieselbe Aktivität wie das Virusprotein. Die Verteilung der Aktivität auf verschiedene Fraktionen muß in weiteren Versuchen unter quantitativ genaueren Bedingungen untersucht werden; die hier mitgeteilten Ergebnisse können nur als vorläufig und orientierend gelten, da es uns zunächst lediglich auf einen qualitativen Nachweis des Einbaus von Radiophosphor in das Virusprotein ankam. In dieser Beziehung ist das Ergebnis positiv; es gelingt auf biologischem Wege, Virusprotein mit einem radioaktiven Isotop zu markieren.

Durch Anwendung der Indicatormethode ergibt sich somit eine Reihe von Möglichkeiten, den chemischen Aufbau des Virusproteins und seine Beziehungen zu verschiedenen Fraktionen der Wirtspflanzen genau zu untersuchen und dadurch tiefere Einblicke in den Aufbau und die Vermehrung dieser interessanten, an der Grenze des Lebendigen stehenden Gebilde zu tun.

Schlußbemerkungen.

In den vorhergehenden Abschnitten wurde in der kurzen und deswegen notwendigerweise fragmentarischen Darstellung zu zeigen versucht, daß die Neutronenbestrahlung als solche und vor allem die Indicatormethode mit künstlich-radioaktiven Isotopen recht viele verschiedene Anwendungsmöglichkeiten finden können. In manchen Fällen werden durch die Feinheit der Methode sicherlich auch ganz neue Forschungswege und Möglichkeiten eröffnet werden. Man darf vor allem nicht vergessen, daß sich die Forschung auf diesen Gebieten erst in ihren Anfängen befindet, und daß man alle Anwendungsmöglichkeiten und Aussichten deshalb zunächst noch gar nicht übersehen kann. Mit Vervollkommen der Technik der Neutronenerzeugung und der chemischen Methoden der Trennung und Konzentrierung radioaktiver Isotope wird die Indicatormethode mit künstlich radioaktiven Isotopen sicherlich auf verschiedenen Gebieten der technologischen, chemischen und biologischen Forschung eine große Rolle spielen.

Schrifttum.

- Amaldi, E., L. R. Hafstad u. M. A. Tuve, Neutron yields from artificial sources, *Physic. Rev.* **51**, 896 [1937].
 Born, H. J., Versuche mit radioaktivem Phosphor an Ratten, *Naturwiss.* **28**, 476 [1940].
 Born, H. J., A. Lang, G. Schramm u. K. G. Zimmer, Versuche zur Markierung von Tabakmosaikvirus mit Radiophosphor, ebenda **29**, 222 [1941].
 Born, J. J. u. H. A. Timofeëff-Ressovsky, Versuche mit radioaktivem Chlor-Isotop an Mäusen, ebenda **28**, 253 [1940]; Versuche mit radioaktivem Arsen an Mäusen, ebenda **29**, 182 [1941].

- Born, H. J., N. W. Timofeëff-Ressovsky u. K. G. Zimmer, Anwendungen der Neutronen und der künstlich radioaktiven Stoffe in Chemie und Biologie, *Umschau Wiss. Techn.* **45**, 83 [1941].
 Born, H. J. u. K. G. Zimmer, Anwendungen radioaktiver Isotope bei Untersuchungen über die Filtration von Aerosolen, *Naturwiss.* **28**, 447 [1940]; Untersuchungen an Schwelbstoff-Filtern mittels radioaktiver Stoffe, *Gasmasken*, Nr. 2 [1940].
 Bouwers, A., Die Technik der Neutronenerzeugung und der Erzeugung künstlicher Radioaktivität, *Strahlentherap.* **63**, 537 [1938].
 Bouwers, A., F. A. Heijn u. A. Kuntke, A neutron generator, *Physica* **4**, 153 [1937].
 Broglie, L. de: Licht und Materie. Hamburg 1940.
 Chievtz, O. u. G. Hevesy, Radioaktive indicators in the study of phosphorus metabolism in rats, *Nature [London]* **136**, 754 [1935]; Studies on the metabolism of phosphorus in animals, *Kgl. danske Vidensk. Selsk. Medd.* **113**, Nr. 9 [1937].
 Curie, J. u. F. Joliot, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. **198**, 254 [1934]; s. a. diese Ztschr. **49**, 367 [1936].
 Diebner, K. u. E. Graßmann: Künstliche Radioaktivität. Leipzig 1939.
 Erlacher, O., Welche Möglichkeiten bietet die künstliche Radioaktivität für die praktische Chemie?, *Umschau Wiss. Techn.* **42**, 1191 [1938].
 Erlacher, O. u. K. Philipp, „Die Identifizierung der durch Neutronen erzeugten künstlichen Radioelemente und ihre Verwendung in der Chemie als Indikatoren“, diese Ztschr. **48**, 409 [1935]; Trennung der radioaktiven Atome von den isotopen stabilen Atomen, *Z. physik. Chem., Abt. A* **176**, 169 [1936]; Gewinnung des künstlichen radioaktiven Phosphors in unwägbarer Menge aus dem stabilen Isotop, ebenda **179**, 263 [1937].
 Fermi, E., *Ric. sci. Progr. tecn. Econ. naz.* **1**, 283, 330 [1934].
 Fermi, E., E. Amaldi, O. D'Agostino, F. Rasetti u. E. Segrè, *Proc. Roy. Soc. [London]* **146**, 483 [1934].
 Fleischmann, R., „Kernchemie“, diese Ztschr. **53**, 485 [1940].
 Gerlach, J., Über den Verbleib natürlich-radioaktiver Stoffe im Organismus nach parenteraler Zuführung, *Naturwiss.* **29**, 300 [1941].
 Hahn, L. u. G. Hevesy, Interaction between the phosphatides of the plasma and the corpuscles, *Nature [London]* **144**, 72 [1939]; Phosphatide exchange between plasma and organs, ebenda **144**, 204 [1939]; A method of blood volume determination, *Acta Physiol. scand.* **1**, 3 [1940].
 Hahn, L., G. Hevesy u. O. Rebbe, Permeability of corpuscles and muscle cells to potassium ions, *Nature [London]* **143**, 1021 [1939]; Do the potassium ions inside the muscle cells and blood corpuscles exchange with those present in the plasma?, *Biochem. J.* **33**, 1549 [1939].
 Hahn, O.: Applied Radiochemistry. London 1936.
 Heijn, F. A., Erzeugung und Anwendung von Neutronen, *Philips' techn. Rdsch.* **3**, 339 [1938].
 Hevesy, G. u. A. H. W. Allen, Interaction of plasma phosphate with the phosphorus compounds present in the corpuscles, *Kgl. danske Vidensk. Selsk. Medd.* **14**, Nr. 5 [1939].
 Hevesy, G. u. L. Hahn, Origin of phosphorus compounds in hens' eggs, ebenda **14**, Nr. 2 [1938]; Rate of penetration of phosphatides through the capillary wall, ebenda **15**, Nr. 6 [1940]; Exchange of cellular potassium, ebenda **16**, Nr. 1 [1941].
 Hevesy, G. u. F. A. Paneth, Radioelements as indicators in chemical and biological research, *Sci. Progr.* **125**, 38 [1937]; Radioactivity, London 1937.
 Jordan, P.: Die Physik des 20. Jahrhunderts. Braunschweig 1936; Die Stellung der Quantenphysik zu den aktuellen Problemen der Biologie, *Arch. ges. Virusforsch.* **1**, 1 [1939].
 Kausche, G. A.: Virus und Viruserkrankungen bei Mensch, Tier und Pflanze. Berlin 1939.
 Lawrence, E. O., The biological action of neutron rays, *Radiology* **29**, 313 [1937].
 Livingston, M. S. u. H. A. Bethe, Nuclear physics, *Rev. Physics* **9**, 245 [1937].
 Paneth, F. A.: Radioelements as indicators. New York 1928.
 Rasetti, F.: Elements of nuclear physics. London 1937.
 Riehl, N. W., N. W. Timofeëff-Ressovsky u. K. G. Zimmer, Wirkungsmechanismus ionisierender Strahlen auf biologische Elementareinheiten, *Naturwiss.* **29**, Heft 42/43 [1941].
 Stanley, W. M., The biophysics and biochemistry of viruses, *J. appl. Physics* **9**, 148 [1938]; The reproduction of virus proteins, *Amer. Naturalist* **72**, [1938].
 Starke, K., Anreicherung des künstlich radioaktiven Arsenisotops, *Naturwiss.* **28**, 631 [1940].
 Sued, H., „Die Bedeutung des Neutrons für die Chemie“, diese Ztschr. **53**, 522 [1940].
 Szilard, L. u. T. A. Chalmers, *Nature [London]* **134**, 462 [1934].
 Timofeëff-Ressovsky, N. W.: Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Dresden 1937; Auslösung von Mutationen durch Neutronenbestrahlung, *Forsch. u. Fortschr.* **14**, 105 [1938]; Eine biophysikalische Analyse des Mutationsvorganges, *Nova Acta Leopoldina*, Nr. 60 [1940].
 Timofeëff-Ressovsky, N. W., u. K. G. Zimmer, Neutronenbestrahlungsversuche zur Mutationsauslösung bei Drosophila, *Naturwiss.* **28**, 362 [1938].
 Zimmer, K. G.: Strahlungen. Leipzig 1937; Dosimetrische und strahlenbiologische Versuche mit schnellen Neutronen. I, *Strahlentherap.* **63**, 517, [1938]; Aussichten der praktischen Verwendung der Bestrahlung mit schnellen Neutronen, *Fortschr. Gebiete Röntgenstrahlen* **58**, Kongr.-H. [1938]; Dosimetrische und strahlenbiologische Versuche mit schnellen Neutronen. III, *Strahlentherap.* **68**, 74 [1940].
 Zimmer, K. G., u. N. W. Timofeëff-Ressovsky, Dosimetrische und strahlenbiologische Versuche mit schnellen Neutronen. II, ebenda **63**, 528 [1938]; Note on the biological effects of densely ionizing radiation, *Physic. Rev.* **15**, 411 [1939].
 Zirkle, R. E., P. C. Aebersold u. E. R. Dempster, The relation of the biological effectiveness of fast neutrons and X-rays upon different organisms, *Amer. J. Cancer* **29**, 556 [1937].
 Eingeg. 21. April 1941. [A. 33.]

Über die Genauigkeit der Konzentrationsbestimmung mit lichtelektrischen Spektralphotometern

von Dozent Dr. G. KORTÜM, Tübingen. Physikal.-Chem. Abt. des Chemischen Instituts der Universität

Vorbemerkung der Redaktion: Wir haben in den letzten Jahren das Gebiet der Colorimetrie besonders gepflegt, vor allem lag uns an einer kritischen Betrachtung der Leistungsfähigkeit der einzelnen Methoden. Man scheint nämlich vielerorts eine bequeme und apparativ schon weitgehend durchgebildete Meßmethode unter sehr unzutreffenden Vorstellungen über ihre Leistungsgrenzen einzusetzen.

Das Thema soll daher zunächst nicht mehr in unserer Zeitschrift, sondern in einer speziellen „Colorimetrie-Tagung“ weitergesponnen werden, welche die Arbeitsgruppe für Analytische Chemie beim Verein Deutscher Chemiker in diesem Winter veranstalten wird. Themenvorschläge, Vortragsanmeldungen sind schon heute willkommen (Stelle für Arbeitsgruppen, Berlin W 35, Potsdamer Straße 111).

Vielleicht werden auch zu nachfolgender Arbeit Zuschriften eingehen, welche andere Auffassungen vertreten. Solche Einsendungen sind zwar erwünscht, indessen werden sie vor der Colorimeter-Tagung nicht mehr zum Druck gegeben werden.

Grundsätzliche Überlegungen.

Die Reproduzierbarkeit visueller spektralphotometrischer Messungen ist bekanntlich durch den relativen Intensitätsunterschied dJ/J begrenzt, auf den das Auge beim Vergleich zweier benachbarter Felder gerade noch reagiert. Sie beträgt im günstigsten Spektralbereich (560 m μ) etwa 1% und sinkt nach beiden Seiten des Spektrums beträchtlich ab. Aus dieser empirisch festgestellten Reproduzierbarkeit $dJ/J = 0,01$ erhält man den relativen Fehler und damit die Genauigkeit der gemessenen Extinktion E bzw. der zu bestimmenden

Konzentration c durch Differentiation des Beerschen Gesetzes:

$$\frac{dE}{E} = \frac{dc}{c} = \frac{-0,4343}{E} \cdot \frac{dJ}{J} \quad (1)$$

Der relative Fehler wird also um so kleiner und damit die Genauigkeit der Konzentrationsbestimmung um so größer, je größer die Extinktion der Lösung ist. Daß man den Fehler nicht beliebig klein machen kann, liegt entweder daran, daß bei sehr großen Extinktionen ($E > 2$) die Intensität des Lichtes so stark geschwächt wird, daß die Messung nicht mehr