

Fig. 2. Decay of free radical concentration at room temperature. The % of free radicals is taken as 100% at the first sample, after rapid removal from the animal. They are then left to decay at room temperature and the % of free radicals determined at specific time intervals.

liver, and kidney, together with a carbon sample containing  $5.1 \times 10^{14}$  free radicals. The signals obtained from the three tissues are clearly much alike. They all have *g* values of 2003, and *d* for heart is 13.5, whilst that for liver is 14.0, and kidney 15.0.

The rate of decay of the signals of specimens kept at room temperature ( $18^\circ\text{C}$ ) varied according to the tissue used. The signal from heart decayed rapidly over the first hour after removal from the animal, and thereafter persisted for up to 16 h. Free radicals were detectable for up to 24 h in kidney and 20 h in liver (Figure 2).

In a study of the effect of temperature on the initial free radical concentrations, each tissue was kept at a constant temperature for 15 min and then immersed in liquid nitrogen. There was an optimum free radical production at  $20\text{--}30^\circ\text{C}$  and the radicals in the kidney persisted up to  $75^\circ\text{C}$ . No signal was detectable from heart or liver above  $65^\circ\text{C}$  (Figure 3). The effect of temperature on the development and decay of free radical concentrations appears to be characteristic and specific for a given system. Though

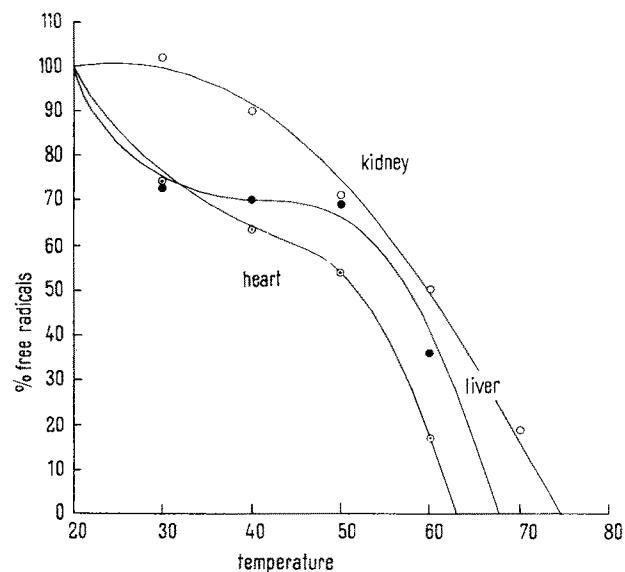


Fig. 3. The effect of temperature on the development and decay of free radicals. The samples are removed from the animal and kept at a specified temperature for 15 min. The concentration of free radicals is then determined, and plotted here with the  $20^\circ\text{C}$  taken as 100%.

the shape of the radicals in all three systems appears to be similar, the decay and development rate indicates that those in the heart, liver and kidney are probably in different systems in the tissues<sup>4</sup>.

**Résumé.** L'auteur décrit les radicaux libres présents dans des tissus congélés du rein, du foie et du cœur du rat. Les taux de décomposition et les effets de la température sur la stabilité des indices montrent qu'il y a probablement dans ces tissus plusieurs systèmes de radicaux libres.

G. A. KERKUT, M. L. EDWARDS,  
K. LEECH, and K. A. MUNDAY

Department of Physiology and Biochemistry, Department of Electronics, The University of Southampton (England),  
July 21, 1961.

<sup>4</sup> We are indebted to the Medical Research Council for financial aid in this research.

### Cysteamin-Sauerstoff-Antagonismus bei der Strahlenwirkung auf T2-Bakteriophagen

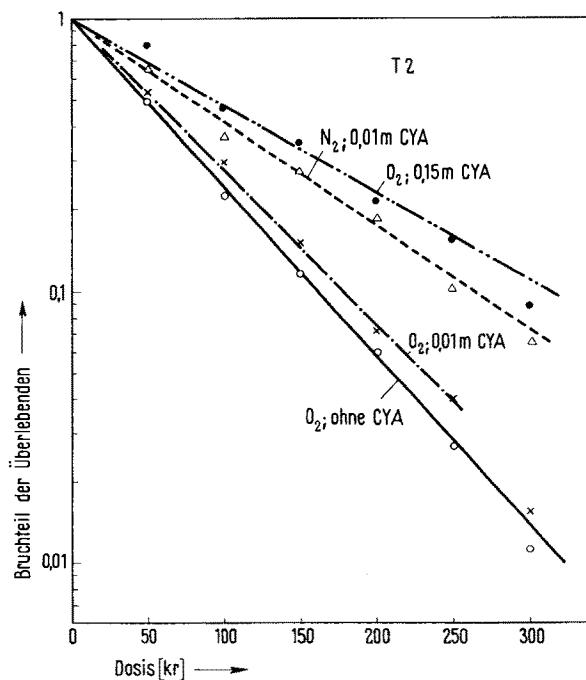
Obwohl in den letzten Jahren zahlreiche Untersuchungen über die Schutzwirkung von Cystein<sup>1-4</sup> oder Cysteamin<sup>4-6</sup> gegenüber sogenannten direkten Röntgenstrahleneffekten auf suspendierte Bakteriophagen durchgeführt wurden, war bisher keine einheitliche Deutung der Resultate erkennbar. So fanden MARCOVICH<sup>5</sup> und HOWARD-FLANDERS<sup>6</sup> beim Phagen T2 nach Cysteaminzugabe keinen Schutzeffekt, wenn Sauerstoff während der Bestrahlung anwesend war. Dies schien im Widerspruch zu den Befunden von HOTZ und MÜLLER<sup>4</sup> zu stehen, die sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen den gleichen Schutzeffekt beobachten konnten. Die hier mitgeteilten Ergebnisse ermöglichen es nun, eine einfache

Erklärung für diese nicht ohne weiteres verständlichen Unterschiede zu geben.

Die in früher<sup>7</sup> beschriebener Weise gereinigten und titrierten Konzentrate des Coliphagen T2 (wild) enthielten zwischen  $10^{10}$  und  $10^{12}$  plaquebildende Einheiten pro ml Phagenpuffer. Diese Stammsuspensionen wurden zum

- 1 A. H. DOERMANN, zitiert bei J. D. WATSON, *J. Bacteriol.* **63**, 473 (1952).
- 2 H. T. EPSTEIN und D. SCHARDL, *Nature* **179**, 100 (1957).
- 3 G. HOTZ und A. MÜLLER, *Z. Naturforsch.* **15b**, 450 (1960).
- 4 G. HOTZ und A. MÜLLER, *Z. Naturforsch.* **16b**, 282 (1961).
- 5 H. MARCOVICH, *Radiation Res.* **9**, 149 (1958).
- 6 P. HOWARD-FLANDERS, *Nature* **186**, 485 (1960).
- 7 A. MÜLLER, G. HOTZ und K. G. ZIMMER, *Z. Naturforsch.*, im Druck.

Versuch 1:10 in Difco Nährbouillon (4%) ohne bzw. mit einem Zusatz von Cysteamin (Fa. Fluka, Schweiz) bei pH 7 verdünnt. Bei Bestrahlung in schutzstoffhaltigen Suspensionen liessen wir diese vor Bestrahlungsbeginn 10 min bei Zimmertemperatur auf die Phagen einwirken. Zur Bestrahlung wurden 0,6 ml der Phagensuspension in Plexiglasschälchen von 20 mm Durchmesser abgefüllt. Der mehrfach beschriebene Einfluss des Sauerstoffs auf die Strahlenempfindlichkeit cysteamingeschützter T2-Phagen<sup>4-6</sup> machte es erforderlich, unter kontrollierten Gasbedingungen zu bestrahlten. Mittels eines kleinen Gebläses wurde die Suspension vor und während der Bestrahlung durchmischt und auf diese Weise gleichzeitig mit Sauerstoff oder gereinigtem Stickstoff äquilibriert. Eine Röntgenröhre mit Berylliumfenster von 1,5 mm Stärke gab bei 100 kV<sub>s</sub> und 25 mA am Ort der Suspension eine Dosisleistung von 500 kr/min bei einer effektiven Wellenlänge von 1,4 Å. Die in der Phagensuspension absorbierte Strahlenenergie wurde in der gleichen Geometrie mit dem Fricke-Aktinometer ( $Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++}$ ) gemessen. Als Kriterium des Strahleneffektes wurde die Plaquebildungsfähigkeit gewählt.



Überlebensrate von T2-Bakteriophagen in 4% Difco-Nährbouillon nach Röntgenbestrahlung unter verschiedenen Bedingungen.

Die Figur veranschaulicht den Einfluss von Sauerstoff während der Röntgenbestrahlung auf die Neigung der Dosis-Effektkurve bei in Cysteaminbouillon suspendierten Phagen T2. Alle experimentellen Daten lassen sich im halblogarithmischen Raster durch Gerade darstellen. Die Neigungsdifferenz der Geraden für Bestrahlung ohne Cysteamin und mit 0,01 m Cysteamin (beide Versuche unter O<sub>2</sub>) liegt innerhalb der Fehlergrenzen, das heisst, bei Anwesenheit von Sauerstoff bewirkt 0,01 m Cysteamin keinen Schutz. Unter Stickstoff (das ist bei Ausschluss von Sauerstoff) liefert Zusatz von m/100 Cysteamin zur Bouillon eine Schutzwirkung entsprechend einem Dosisreduktionsfaktor von 1,6<sup>8</sup>. Praktisch der gleiche Schutzeffekt ergibt sich auch unter Sauerstoff nach Erhöhen der Cysteamin-Konzentration auf 0,15 m; die Neigungen der entsprechenden Kurven unterscheiden sich um weniger als 10%.

Wendet man den von HOWARD-FLANDERS für Bakteriophagen vorgeschlagenen Konkurrenzmechanismus zwischen Sauerstoff und Wasserstoff-Donatoren in Form der Schutzmoleküle um strahleninduzierte freie Radikale in den Phagen auf unsere Ergebnisse an, so ergeben sich zwanglos folgende Schlüsse: Bei Zugabe von Cysteamin zur Bestrahlungsbouillon in Konzentrationen von  $\leq m/100$  gelingt es den Wasserstoff-Donatoren nicht, in Konkurrenz mit den Sauerstoffmolekülen zu treten, die in einer O<sub>2</sub>-gesättigten Bouillon überwiegen. Wird dagegen die Cysteamin-Konzentration um etwa eine Größenordnung erhöht, so ist das Gleichgewicht zugunsten der Wasserstoff-Donatoren verschoben, und es kommt zur Reparierung der etwa als strahleninduzierte Carbonium-Radikale angenommenen latenten Strahlenschäden. Abgesehen von der Aufklärung der oben erwähnten scheinbaren Widersprüche, die beim Vergleich von Versuchsergebnissen aus verschiedenen Arbeitskreisen auftreten, scheinen die hier mitgeteilten Ergebnisse geeignet zu sein, das Verständnis für den Schutzmechanismus sulphydrylhaltiger Verbindungen bei suspendierten röntgenbestrahlten Bakteriophagen zu vertiefen.

**Summary.** T2 phage suspended in broth and irradiated in the presence of cysteamine in high concentration is protected against the action of X-rays equally well under oxygen as under nitrogen. Low concentrations of cysteamine, however, give protection under nitrogen only. These results resolve apparent contradictions in earlier work and lend support to the mechanism of reaction as proposed by HOWARD-FLANDERS.

G. HOTZ

*Institut für Strahlenbiologie am Kernforschungszentrum Karlsruhe (Deutschland), 10. Juli 1961.*

<sup>8</sup> G. HOTZ und A. MÜLLER, Z. Naturforsch., im Druck.

### The Properties of an Arginine Auxotroph of *Salmonella typhimurium*

There are few reports in the literature of arginine auxotrophs of *Salmonella*. ISEKI and KASHIWAGI<sup>1</sup> obtained an arginine-requiring mutant following treatment of a *Salmonella paratyphi* B strain with nitrogen mustard. STOKES and BAYNE<sup>2</sup> reported a naturally occurring strain of *S. paratyphi* A with a multiple requirement for guanine, cysteine and arginine. GOWEN et al.<sup>3</sup> used two mutants of *S. typhimurium* strain 533 which had multiple requirements that included arginine, and MIYAKE and DEMERE<sup>4</sup>

mentioned an arginine auxotroph in the LT-7 mutator strain of *S. typhimurium*.

More recently LAHR<sup>5,6</sup> has described 39 arg<sup>-</sup> mutants of *S. typhimurium*, of which 27 were induced in strain LT-2 by 2-aminopurine.

<sup>1</sup> S. ISEKI and K. KASHIWAGI, Proc. Japan Acad. 33, 486 (1957).

<sup>2</sup> J. L. STOKES and H. G. BAYNE, J. Bacteriol. 76, 417 (1958).

<sup>3</sup> J. W. GOWEN, J. STADLER, H. H. PLOUGH, and H. Y. MILLER, Genetics 38, 531 (1953).

<sup>4</sup> T. MIYAKE and M. DEMERE, Nature 183, 1586 (1959).

<sup>5</sup> E. L. LAHR, Carn. Inst. Wash. Yr. Bk. 59, 438 (1960).

<sup>6</sup> E. L. LAHR, personal communication (1961).