

Radioaktive Isotope in der Biochemie

Von

Engelbert Broda

Einzel Darstellungen aus dem Gesamtgebiet der Biochemie
Neue Folge

Herausgegeben von

O. Hoffmann-Ostenhof, Wien

III. Band

Radioaktive Isotope in der Biochemie

Von

Engelbert Broda

Professor am I. Chemischen Institut
der Universität Wien

Mit einem Geleitwort von

G. von Hevesy
Stockholm

Mit 30 Abbildungen, davon 4 Tafeln mit 9 Einzelbildern,
und 13 Tabellen

1958

Franz Deuticke Wien

Alle Rechte — insbesondere das der Übersetzung und des Nachdruckes, auch auszugsweise, als Mikrofilm oder auf photomechanischem Wege — vorbehalten.

Copyright © 1958 by Franz Deuticke Vienna.

Printed in Austria.

Verlags-Nr. 4274

Mänzsche Buchdruckerei, Wien IX

Geleitwort.

Die Anwendung von Isotop-Indikatoren in der Biochemie wurde, ausgehend von einem sehr bescheidenen Anfang, im Laufe von 35 Jahren zu einem mächtigen Gebäude. Diese Entwicklung ist — auch wenn wir in Betracht ziehen, daß im Laufe der letzten Jahrzehnte zahlreiche Wissenszweige eine außerordentliche Entwicklung erfahren haben — eine sehr bemerkenswerte. Der rasche Ausbau der Biochemie und die leichte Zugänglichkeit markierter Verbindungen haben zu dieser Entwicklung in hohem Maße beigetragen. Die Darstellung radioaktiver Isotope hoher Aktivitäten der meisten Elemente wird ermöglicht durch die dichten Neutronenströme, die mehrere Reaktoren heutzutage liefern. Mit großem Geschick baut der Chemiker diese radioaktiven Markierungssubstanzen in sehr zahlreiche Verbindungen ein. Der Katalog von Amersham in England enthält allein 129 mit C^{14} markierte Verbindungen.

Das tägliche Erscheinen von zahlreichen biochemischen Untersuchungen, in denen radioaktive Markierungsmethoden Anwendung finden, erschwert das Schreiben eines Lehrbuches, das die Anwendung der radioaktiven Isotope behandelt. Der Verfasser des vorliegenden Werkes hat diese Aufgabe glücklich gelöst. Er bringt gut gewählte Beispiele von Problemen, die nur durch Anwendung von Isotop-Indikatoren gelöst werden können; und von solchen, deren Lösung durch die Anwendung von radioaktiven Markierungsmethoden wesentlich erleichtert wird. Er schildert ferner die Methoden, die bei Untersuchungen mit radioaktiven Indikatoren Anwendung finden. Die Grundlagen der Radiochemie, der Strahlenchemie und Strahlenbiologie werden gleichfalls erörtert.

Als man WILHELM OSTWALD fragte, wie er es zustande brächte, im Laufe von wenigen Jahren eine Anzahl umfangreicher Bände herauszubringen, antwortete er, seine Tochter stünde mit einem Bogen Schreibpapier auf seiner linken Seite und sein Sohn, die geschriebenen Blätter entfernend, auf der rechten. Daß der Verfasser des vorliegenden Werkes seinen in den letzten Jahren erschienenen Büchern ein weiteres, sehr erfolgreiches, hinzufügen konnte, legt den Gedanken nahe, daß ihm ähnliche Hilfskräfte zur Verfügung standen wie WILHELM OSTWALD. Man kann den Verfasser zu dieser Leistung nur beglückwünschen.

G. v. HEVESY

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	I—6
1. Geschichtliches	I
2. Vorzüge der Isotopenmethode	4
3. Beschränkungen der Isotopenmethode	4
4. Plan des Buches	5
II. Radioelemente für die Biochemie	7—15
1. Natürliche und künstliche Isotope	7
2. Spezifische Aktivität	12
3. Radioaktive Reinheit	13
III. Grundlagen der Radiochemie	16—25
1. Der Austausch von Atomen	16
2. Verwendung von Trägern	17
3. Verteilungsverfahren und Chromatographie	19
4. Fällungsverfahren	24
IV. Radiosynthese	26—42
1. Von konventionellen Methoden abgeleitete Verfahren	26
2. Spezifisch radiochemische Synthesen	29
3. Biosynthesen	33
4. Doppelte Markierung	37
5. Selektiver Abbau markierter Verbindungen	39
V. Isotopeneffekte	43—47
1. Allgemeines	43
2. Gleichgewichtseffekte	44
3. Kinetische Effekte	45
VI. Strahlenchemie	48—50
VII. Strahlenbiologie und Strahlenschutz	51—59
1. Allgemeines	51
2. Toleranzdosen — Äußere Strahlenwirkung	53
3. Innere Strahlenwirkung	55
4. Vorsichtsmaßregeln	57
5. Störungen durch Strahlenwirkung	58
VIII. Die Messung der Radioaktivität	60—88
1. Grundlagen	60
2. Ionenkammern	62
3. Proportionalzähler	63
4. Grundlagen des Geiger-Zählrohrs	64
5. Der Leerwert	65
6. Der Konstanzbereich	66
7. Löschung des Geiger-Zählrohrs	67

	Seite
8. Ausführungsformen des Geiger-Zählrohrs — Außenzählrohre.....	68
9. Innenzählrohre.....	70
10. Szintillationszähler.....	71
11. Photographische Verfahren.....	73
12. Die Herstellung fester Meßproben.....	76
13. Messung des Radiokohlenstoffs.....	79
14. Messung des Radiowasserstoffs.....	83
15. Statistische Schwankungen.....	85
IX. Anwendung der Radioaktivität auf die Analyse lebender Substanz.....	89—109
1. Überblick.....	89
2. Indikatoranalyse.....	91
3. Radioreagensmethode.....	94
4. Isotopenverdünnungsmethode.....	97
5. Aktivierungsanalyse.....	102
6. Absorptionsanalyse.....	108
X. Aufnahme und Ausscheidung von Elementen.....	110—138
1. Einleitung.....	110
2. Membranen im Organismus.....	111
3. Zufuhr der Elemente zum Tier.....	118
4. Zufuhr der Elemente zur Pflanze.....	119
5. Aufnahme-Abgabe-Bilanz des Tierkörpers.....	121
6. Speicherung in Organen.....	125
7. „Räume“ des Tierkörpers.....	127
8. Einfluß der chemischen Bindungsform und des physiologischen Zustandes.....	131
9. Ausscheidung der Radioelemente durch das Tier.....	133
10. Künstliche Steigerung der Ausscheidung von Radioelementen.....	137
XI. Hauptprobleme des Intermediärstoffwechsels, A.....	139—166
1. Einleitung.....	139
2. Phosphorylierungen.....	144
3. Photosynthese.....	151
4. Aufnahme von CO ₂ durch Bakterien.....	162
XII. Hauptprobleme des Intermediärstoffwechsels, B.....	167—187
1. Kohlehydratabbau.....	167
2. Zitronensäurezyklus.....	172
3. Glykogenbildung.....	178
4. Atmung intakter Tiere.....	183
5. Energiehaushalt von Gewebekulturen.....	184
XIII. Hauptprobleme des Intermediärstoffwechsels, C.....	188—199
1. Der Fettsäureabbau.....	188
2. Der Fettsäureaufbau.....	193
XIV. Hauptprobleme des Intermediärstoffwechsels, D.....	200—226
1. Eiweiß-Stoffwechsel — Einleitung.....	200
2. Der Einbau der Aminosäuren durch Zellen und Gewebe.....	203
3. Der Einbau von Aminosäuren durch Zellfraktionen.....	210
4. Der dynamische Zustand der Proteine.....	212
5. Der Mechanismus der Eiweiß-Synthese.....	215
6. Die Umwandlungen der Aminosäuren.....	222
XV. Hauptprobleme des Intermediärstoffwechsels, E.....	227—250
1. Aufbau der Purine und Pyrimidine.....	227
2. Die Rolle der Basen, Nucleoside und Nucleotide beim Aufbau der Nucleinsäuren.....	235
3. Neubildung und dynamischer Zustand der Nucleinsäuren.....	240

	Seite
XVI. Sonderprobleme des Intermediärstoffwechsels	251—285
1. Immunologische Probleme	251
2. Biosynthese des Häms	259
3. Biosynthese des Cholesterins	267
4. Biosynthese des Lignins	276
5. Abbau körperfremder Wirkstoffe im Tierkörper	280
Tabelle der biochemisch wichtigen Radioelemente	288
Bildtafeln	289—292
Autorenverzeichnis	293
Sachverzeichnis	313
Bücherliste	323

I. Einleitung.

1. Geschichtliches.

Wiederholt ist die Bedeutung der Isotopenmethode für die Biologie mit derjenigen des Mikroskops verglichen worden. Ähnlich wie die Erfindung des Mikroskops im 17. Jahrhundert die Wissenschaften vom lebenden Gewebe um ein gewaltiges Stück vorwärtsgetrieben und die spätere Entdeckung der Zellen und der Mikroben ermöglicht hat, so setzt uns die Isotopenmethode instand, in einwandfreier und höchst empfindlicher Weise die Einzelheiten der Stoffwechselfvorgänge zu erforschen.

Die Isotopenmethode — oder Methode der markierten Atome — ist vom Institut für Radiumforschung in Wien ausgegangen, an dem G. HEVESY und F. PANETH kurz vor dem ersten Weltkrieg ihre klassischen Arbeiten ausführten. Die ersten Anwendungen der Isotopenmethode bezogen sich auf Probleme der anorganischen und physikalischen Chemie; es wurden Löslichkeiten von Salzen und Austauschgeschwindigkeiten von Atomen zwischen festen Körpern und Lösungen bestimmt. In unserer eiligen Zeit erscheint es erstaunlich, daß mehr als ein Jahrzehnt vergehen mußte, bis die neue und so überaus leistungsfähige Methode — wieder durch HEVESY — auf ein belebtes System ausgedehnt wurde. Die erste biochemische Anwendung bestand in einer Untersuchung der Aufnahme von Blei durch Pflanzen¹⁾.

Aber selbst nach dem Erscheinen der ersten biochemischen Untersuchung ging der Fortschritt nur schleppend vor sich. Von HEVESY selbst und seinen Mitarbeitern wurden in den folgenden Jahren einige weitere Arbeiten über den Stoffwechsel von Blei^{2, 3)}, Wismut⁴⁾ und Thorium⁵⁾ in Tieren veröffentlicht. Auch andere Autoren, von denen manche unter dem unmittelbaren Einfluß HEVESYS standen, befaßten sich mit analogen Experimenten über Blei⁶⁻⁷⁾, Wismut^{8, 9)} und Polo-

¹⁾ G. HEVESY: *Biochem. J.* 17, 439 (1923).

²⁾ J. A. CHRISTIANSEN, G. HEVESY und S. LOMHOLT: *C. r. acad. sci. Paris* 179, 241 (1924).

³⁾ G. HEVESY und O. WAGNER: *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 149, 336 (1930).

⁴⁾ J. A. CHRISTIANSEN, G. HEVESY und S. LOMHOLT: *C. r. acad. sci. Paris* 178, 1324 (1924).

⁵⁾ S. LOMHOLT: *Biochem. J.* 18, 693 (1924); *J. Pharmacol.* 40, 235 (1930).

⁶⁾ B. BEHRENS: *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 109, 332 (1925).

⁷⁾ C. EHRENBERG: *Z. Krebsforsch.* 35, 348 (1932).

⁸⁾ S. LOMHOLT, in: *Hdb. Haut- und Geschlechtskrankheiten.*

⁹⁾ H. L. BLUMGARDT und S. WEISS: *J. Clin. Invest.* 4, 15, 149, 173, 199, 399 (1927).

nium¹⁻³). Weiter sind noch die fast seit Anfang des Jahrhunderts laufenden Arbeiten über die Verteilung von Radium in tierischen Organismen zu nennen, die aber weniger biochemisch als medizinisch oder toxikologisch ausgerichtet waren⁴⁻⁶) (s. S. 136). Schließlich wurden schon frühzeitig interessante Untersuchungen über den Stoffwechsel des Edelgases Radon veröffentlicht⁷⁻⁹).

Ein steiler Aufschwung der Isotopenmethode setzte erst Mitte der dreißiger Jahre ein. Seine Ursache lag zu einem Teil in dem raschen Wachstum des Interesses an der Biochemie, zu einem anderen Teil in der Auffindung des (stabilen) schweren Wasserstoffs in der Natur durch UREY (1932), in der Erfindung von Verfahren zur Anreicherung stabiler Isotope und in der Entdeckung der künstlichen Radioaktivität durch JOLIOT und I. CURIE (1934). Diese und andere Entwicklungen führten fast mit einem Schlage dazu, daß die Isotopenmethode von den biochemisch verhältnismäßig wenig interessanten schweren Elementen, vor allem Blei, Wismut, Thorium und Radium, auf jene mittelschweren und leichten Elemente ausgedehnt werden konnte, die im normalen Haushalt der lebenden Substanz eine entscheidende Rolle spielen.

Die Bedeutung des Deuteriums und der künstlichen Radioelemente für die *Biochemie* wurde wieder zuerst von HEVESY erfaßt. Schon 1934 erschienen zwei Arbeiten über schweren Wasserstoff¹⁰); der schwere Wasserstoff war von UREY geliefert worden. (Biochemische Pionierarbeiten mit schwerem Wasserstoff wurden dann ab 1935 besonders von R. SCHOENHEIMER geleistet, wobei glänzende Erfolge erzielt wurden¹¹.) Im Jahre 1935 folgte eine Untersuchung „Radioaktive Indikatoren bei der Untersuchung des Phosphorstoffwechsels der Ratte“¹²). Immerhin wurde noch im Jahre 1939 bei einer Aufzählung der zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen dienenden Methoden durch einen hervorragenden Biochemiker die Isotopenmethode nicht genannt¹³). Eine wirklich rasche Zunahme des allgemeinen Interesses an der Isotopenmethode erfolgte erst nach dem zweiten Weltkrieg. Dafür mag eine kleine Zusammenstellung Zeugnis ablegen (Tab. I), die sich auf die führenden biochemischen Zeitschriften bezieht.

Die Arbeit mit stabilen Isotopen bietet im Prinzip die gleichen Möglichkeiten wie die Arbeit mit radioaktiven Isotopen. Sie ist zwar technisch schwieriger, bleibt

1) A. LACASSAGNE, J. LATTÈS und L. LAVEDAN: C. r. soc. biol. 90, 352 (1924); J. radiologie 9, 1 (1925).

2) Siehe M. HAISSINSKY: Le Polonium.

3) Siehe R. M. FINK: Biological Studies with Polonium, Radium and Plutonium, Nat. Nucl. En. Ser. VI/3.

4) Siehe S. MEYER und E. SCHWEIDLER: Radioaktivität.

5) Siehe R. D. EVANS: J. Ind. Hyg. 25, 23 (1943).

6) Siehe J. F. LOUTIT: Progr. Biophys. 1, 197 (1950).

7) E. S. LONDON: Arch. élec. méd. 12, 363 (1904); Russki wratsch 3, 869 (1904).

8) S. MEYER: Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien IIa, 138, 557 (1929).

9) S. MEYER und E. SUSS: Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien IIa, 139, 613 (1930).

10) G. HEVESY und E. HOFER: Nature 133, 495 (1934); Klin. Wochenschr. 13, 1524 (1934).

11) Siehe R. SCHOENHEIMER: The Dynamic State of Body Constituents.

12) O. CHIEVITZ und G. HEVESY: Nature 136, 754 (1935).

13) H. RAISTRICK (nach A. J. KLUYVER), in: Perspectives in Biochemistry.

Tab. 1. Anteil von Arbeiten mit markierten Atomen
an der Gesamtzahl der Arbeiten.

Zeitschrift	Band (Jahr)	Radioaktive	Stabile
		Isotope (in %)	
J. Biol. Chem.	157 (1945)	1	4
(amerikanisch)	223 (1956)	39	7
Biochem. J.	39 (1945)	0	0
(britisch)	63 (1956)	18	1
Biochimia	11 (1946)	0	0
(sowjetisch)	21 (1956)	7	1
Biochem. Z.	318 (1947/48)	0	0
(deutsch)	328 (1956/57)	7	0

aber bei der Arbeit mit solchen chemischen Elementen notwendig, die keine geeigneten Radioisotope aufweisen, insbesondere Stickstoff und Sauerstoff. Wasserstoff und Kohlenstoff können „stabil“ oder „radioaktiv“ markiert werden. Bei Verwendung der einen oder anderen Isotope werden also (abgesehen von Isotopeneffekten; Kap. V) die gleichen Ergebnisse erzielt. Doch setzt sich aus technischen Gründen (Billigkeit der Isotope, Einfachheit der Geräte und ihrer Handhabung, Empfindlichkeit — manchmal auch Zerstörungsfreiheit — der Messung) auch bei den letztgenannten beiden Elementen in zunehmendem Maß radioaktive Markierung durch.

Stabile Isotope von Elementen, bei denen praktisch brauchbare radioaktive Isotope existieren, bleiben nur auf drei beschränkten Anwendungsgebieten un- oder schwer entbehrlich. 1. Da die Konzentrationen stabiler Isotope — mit dem Massenspektrometer — genauer als die der radioaktiven Isotope gemessen werden können, werden sie zur genauen Bestimmung der Isotopeneffekte benützt (Kap. V). 2. Da sie in höheren Konzentrationen als radioaktive Isotope eingesetzt werden können, gestatten sie die Bestimmung von Reaktionsmechanismen nach Verfahren, wo alle oder fast alle Moleküle markiert sein müssen (S. 41)²⁾. 3. Bei gewissen Untersuchungen muß „doppelt“ markiert werden, wobei dann als zweiter Indikator nur ein stabiles Isotop in Frage kommt (S. 39).

Im vorliegenden Buch, das auf Grund der Qualifikation des Verfassers den radioaktiv markierten Atomen gewidmet ist, werden Arbeitsmethoden mit stabilen Isotopen nicht beschrieben werden. Es soll auch, wenn von der Isotopenmethode schlechthin die Rede ist, stets die Methode der radioaktiven Isotope gemeint sein. Es sei aber nochmals unterstrichen, daß die weitaus meisten Ergebnisse in der Regel grundsätzlich ebensowohl mit stabilen wie mit radioaktiven Isotopen erhalten werden können und daß daher eine scharfe Trennung unnatürlich wäre. Tatsächlich wurden die in den Kapiteln XI bis XVI beschriebenen Arbeiten — vor allem ältere Arbeiten — zu einem nicht unwesentlichen Teil mit stabilen Isotopen angeführt.

¹⁾ Siehe jedoch M. TER-POGOSSIAN und W. E. POWERS: Pariser Bericht 148.

²⁾ F. WEYGAND: Naturwiss. 44, 169 (1957).

2. Vorzüge der Methode der radioaktiven Isotope.

Für die enorme Bedeutung der Methode der radioaktiven Isotope gibt es mehrere Ursachen. Als erste sei die außerordentliche Empfindlichkeit des Nachweises von Radioelementen genannt, die die Erfassung weniger Atome gestattet. Zweitens kann die Messung der Radioaktivität, weil sie durch die Strahlenwirkung außerhalb der Meßprobe erfolgt, häufig am intakten zu untersuchenden System vorgenommen werden; es ist also eine „zerstörungsfreie“ Untersuchung möglich. Drittens erfordert die Messung der Strahlung im allgemeinen, wenn die Meßgeräte einmal zur Verfügung stehen, nur verhältnismäßig geringen Aufwand an Zeit und Mühe.

Der wichtigste Punkt ist aber derjenige, der hier als vierter und letzter genannt sei. Nach der Isotopenmethode kann zwischen Atomen des gleichen Elements unterschieden werden, nämlich zwischen den markierten (radioaktiven) und den unmarkierten (inaktiven) Atomen. Daher kann man auch die Bewegung (im weitesten Sinn) von Atomen in einem System verfolgen, das bereits eine stationäre Konzentration an Atomen der gleichen chemischen Art enthält. Eine derartige Untersuchung ist mit keiner anderen als der Isotopenmethode möglich. Systeme stationärer Konzentration haben offenbar in der Biochemie eminente Bedeutung, und die Erforschung des Stoffwechsels gerade in solchen Systemen bildet das Zentralproblem der Biochemie.

Neben diesen gewaltigen Vorteilen der Methode der radioaktiven Isotope spielt ihr einziger ernsthafter Nachteil, nämlich ihre geringe Genauigkeit, eine untergeordnete Rolle. Die Intensitätsmessung an radioaktiven Proben ist zwar in der Praxis bestenfalls innerhalb von 1—2% reproduzierbar, da die Empfindlichkeit der Geräte gewissen Schwankungen unterliegt und auch die Anordnung der Probe nur schwer genau zu reproduzieren ist. Die radiochemische Methode wird also in Bezug auf ihre Genauigkeit von anderen chemischen Methoden übertroffen. Doch besteht wohl gerade in der Biochemie — abgesehen von der erwähnten Bestimmung von Isotopeneffekten — nur selten ein Bedürfnis nach extremer Genauigkeit der Einzelmessung, weil ja schon die Veränderlichkeit des Versuchsmaterials eine solche Präzision zwecklos erscheinen läßt.

Die Anwendung der Methode der radioaktiven Isotopen auf die Biochemie kann auch „Radiobiochemie“ genannt werden. Diese Bezeichnung ist vom Begriff „Radiochemie“ abgeleitet. Als Radiochemie wird nach der glücklichen Definition PANETHS die Chemie derjenigen Stoffe definiert, die durch die von ihnen ausgesendeten (radioaktiven) Strahlen nachgewiesen werden. Von den Grundgesetzen der Radiochemie wird in Kapitel III die Rede sein.

3. Beschränkungen der Methode der radioaktiven Isotope.

Im Gegensatz zur Radiochemie (*radiochemistry, radiochimie, radiochimija*) ist die Strahlenchemie (*radiation chemistry, chimie des radiations, radiacionnaja chimija*) die Wissenschaft von den chemischen Wirkungen der Strahlen. Konsequenterweise bezeichnet man dann als Strahlenbiologie den wichtigen Forschungszweig, der sich systematisch mit der Veränderung lebender Substanz unter dem Einfluß

der Strahlung, besonders der Strahlung radioaktiver Stoffe, befaßt. Die hier empfohlene Nomenklatur ist also:

	In der Chemie	In der Biologie
Untersuchungen mit markierten Atomen ..	Radiochemie	
Untersuchung der Strahlenwirkung	Strahlenchemie	Strahlenbiologie

Falls ein besonderer Ausdruck für biologische Untersuchungen mit radioaktiven Indikatoren gewünscht werden sollte, so liegt in Analogie zu Radiochemie und Radiobiologie die Wahl des Wortes Strahlenbiologie nahe. Leider wird dieses Wort aber manchmal als Synonym für „Strahlenbiologie“ gebraucht.

Innerhalb des für dieses Buch gesteckten Rahmens sollen also die radioaktiven Atome ausschließlich zur Markierung, und die von ihnen ausgesandten Strahlen ausschließlich zum analytischen Nachweis der markierten Atome dienen. Es soll daher an allen Stellen dieses Buches die stillschweigende Voraussetzung gemacht werden, daß Störungen durch Strahlenwirkung nicht stattfinden. Gelegentlich hegen Biochemiker, die die Arbeit mit Radioisotopen aufnehmen wollen, die Befürchtung, diese Voraussetzung sei unerfüllbar. Sie ist bei sachgemäßer Arbeit unbegründet. Obgleich man der grundsätzlichen Möglichkeit solcher Störungen gewahr bleiben soll, kann man in der Praxis der Forschung wohl immer die Menge an Radioelement und damit auch die Intensität der Strahlung unterhalb jener Grenze halten, bei der nachweisbare biologische Wirkungen auftreten. Der Anfänger in der Radiobiologie sei also schon hier mit allem Nachdruck versichert, daß eine reinliche und scharfe Trennung dieser Arbeitsrichtung von der Strahlenbiologie nicht nur wünschenswert, sondern auch ohne Schwierigkeit möglich ist. In den Kapiteln VI und VII sollen einige Grundbegriffe der Strahlenchemie und -biologie gegeben werden.

Eine zweite Beschränkung der Isotopenmethode liegt in der Möglichkeit von Isotopeneffekten. Jedoch wird in Kapitel V gezeigt werden, daß Isotopeneffekte nur im Falle des Wasserstoffs bei der biochemischen Arbeit ernstlich stören können. Selbst bei diesem Element gibt es Mittel und Wege, um Irrtümer durch Isotopeneffekte zu vermeiden (S. 39). Abschließend darf also festgestellt werden, daß dem Anwendungsbereich der Isotopenmethode weder auf Grund der Strahlenwirkungen noch auf Grund der Isotopeneffekte starre Grenzen gesetzt sind.

4. Plan des Buches.

Angesichts des riesigen Umfangs zeitgenössischer biochemischer Arbeit und des großen Anteils der Isotopenmethode daran kann es nicht Zweck unseres Buches sein, einen Katalog der wichtigsten mit dieser Methode erzielten Ergebnisse zu liefern. Auch wäre eine logische Trennung der Ergebnisse der Isotopenmethode von den Ergebnissen anderer Methoden auf dem gleichen Gebiet der Biochemie — man denke z. B. an den Problemkreis der Photosynthese — nicht durchführbar.

Deshalb betrachtet es der Verfasser als seine Aufgabe, den Leser in die Methodik der biochemischen Arbeit mit den markierten Atomen einzuführen. Nach Einführung in die Grundlagen der Arbeit mit radioaktiven Stoffen und der Radio-

chemie sollen die entscheidenden Merkmale der Methode an Hand geeigneter Beispiele herausgearbeitet werden. Die Beispiele werden den verschiedenen biochemischen Hauptgebieten entnommen werden, und es wird dem Leser, der für ein anderes Teilgebiet spezialisiert ist, überlassen bleiben, die auf diesem Gebiet vorliegenden Arbeiten nachzulesen oder die Möglichkeit der Übertragung der Verfahren auf dieses Gebiet selbst zu überlegen. Vollständigkeit wird nicht im Entferntesten angestrebt.

Eine gewisse Schwierigkeit bietet die Grenzziehung zwischen Biochemie und Physiologie. In dieser Hinsicht sei von den Worten von GOWLAND HOPKINS ausgegangen: "... What we have come to call General Physiology is now a rapidly advancing branch of experimental enquiry, and it is perhaps less easy to justify an attempt to distinguish between its activities and those of modern biochemistry than between the latter and those of classical physiology. There must be... an overlap in their fields which is entirely desirable. Yet there is still a distinction which seems to be real. Physiology as ordinarily understood is chiefly concerned in every case with the visible functioning of the organs; biochemistry rather with the molecular events which are associated with these visible activities."¹⁾ Auch im vorliegenden Buch ist eine gewisse Berücksichtigung der Physiologie unvermeidlich. Dagegen soll spezifisch medizinischen Fragestellungen so weit als möglich aus dem Wege gegangen werden.

Die Kenntnis der elementaren Grundtatsachen der Radioaktivität wird vorausgesetzt. Es wird also angenommen, daß dem Leser Begriffe wie die des radioaktiven Zerfalls, der α -, β - und γ -Strahlung sowie der Halbwertszeit bekannt sind. Zur Auffrischung und Erweiterung solchen Wissens steht eine Reihe elementarer Bücher zur Verfügung²⁻¹³⁾.

1) Vorwort zu: E. BALDWIN: An Introduction to Comparative Biochemistry.

2) I. JOLIOT-CURIE: Les radioéléments naturels.

3) D. HALLIDAY: Introductory Nuclear Physics.

4) W. HANLE: Künstliche Radioaktivität.

5) K. E. ZIMEN: Angewandte Radioaktivität.

6) W. RIEZLER: Einführung in die Kernphysik.

7) M. I. KORSUNSKI: Der Atomkern.

8) W. FINKELNBURG: Einführung in die Atomphysik.

9) E. BRODA und T. SCHÖNFELD: Radiochemische Methoden der Mikrochemie.

10) E. BRODA und T. SCHÖNFELD: Die technischen Anwendungen der Radioaktivität.

11) M. HAISSINSKY: La chimie nucléaire et ses applications.

12) M. ARDENNE: Tabellen zur angewandten Kernphysik.

13) K. SCHMEISER: Radioaktive Isotope.

II. Radioelemente für die Biochemie.

1. Natürliche und künstliche Radioisotope.

Wegen ihrer grundlegenden Bedeutung und im Hinblick auf bestehende Unklarheiten erscheint es notwendig, an dieser Stelle eine Definition der Begriffe der „Aktivität“ und der „Intensität“ zu geben. Die (absolute) Aktivität gibt an, wie viele Zerfälle je Zeiteinheit in der Probe stattfinden. Der in dieser Weise definierte Begriff der Aktivität ist von der Art oder Energie der einzelnen Strahlen unabhängig. Beispielsweise haben eine Radiowasserstoff- und eine Radiophosphorprobe gleiche Aktivität, wenn in beiden Proben gleich viele Zerfälle je Zeiteinheit stattfinden, obgleich die mittlere Energie jedes Zerfalls im ersten Fall hundertmal kleiner ist als im zweiten. Die Dimension der Aktivität ist sec^{-1} . Die abgeleiteten Begriffe der spezifischen Aktivität und der relativen Aktivität werden später eingeführt werden.

In Bezug auf die Aktivität von Strahlenquellen hat sich das Bedürfnis nach einer allgemeinen Einheit geltend gemacht. Beispielsweise müssen die Stärken der Radioelemente beim Verkauf in einer bestimmten Absoluteinheit ausgedrückt werden. Man schrieb daher ursprünglich einer Quelle die Aktivität von einem Curie (C) zu, wenn sie je Zeiteinheit ebenso viele Zerfälle erleidet wie 1 g (von Zerfallsprodukten befreites) Radium — ungefähr $3,7 \cdot 10^{10}$ pro Sekunde. Diese Definition krankte aber daran, daß die Aktivität des Radiums gar nicht sehr genau bekannt ist. Daher hat man neuerdings dem Curie einen runden Zahlenwert verliehen: Ein Curie entspricht demnach genau $3,7 \cdot 10^{10}$ Zerfällen pro Sekunde. Natürlich ist die Aktivität eines Gramms Radium dann nicht mehr genau 1 Curie. Der tausendste Teil des Curie ist das Millicurie (mC), der millionste Teil das Mikrocurie (μC).

Als Intensität wird die Zahl der pro Zeiteinheit auf eine Flächeneinheit auftreffenden Strahlen bezeichnet. Auch die Intensität ist nach dieser Definition von Art oder Energie der einzelnen Strahlen unabhängig; ihre Dimension ist $\text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$. In der Praxis bestimmt man die Aktivität einer Probe gewöhnlich durch die Intensität ihrer Strahlung, die mit Hilfe einer bestimmten Anordnung an einer bestimmten Stelle gemessen wird.

Wir kennen von allen chemischen Elementen ohne Ausnahme radioaktive Isotope. Einige Elemente (Nr. 43, 61 und 83—101) existieren sogar nur in Form radioaktiver Isotope. Freilich sind in mehreren bedeutsamen Fällen (z. B. Sauerstoff und Stick-

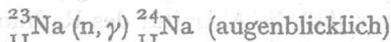
stoff) alle Radioisotope so kurzlebig, daß sie für die Methode der markierten Atome kaum in Frage kommen. Der Biochemiker darf aber glücklich sein, daß die für ihn allerwichtigsten Elemente Wasserstoff und Kohlenstoff Isotope mit ausreichend langen Halbwertszeiten aufweisen. Eine Tabelle der für die biochemische Arbeit in erster Linie in Frage kommenden Radioisotope findet sich am Schluß des Buches (Tab. 13); zusammenfassende Literatur über ihre Herstellung auf S. 6.

In einigen Fällen haben auch heute noch natürliche Radioelemente Bedeutung. Zum Beispiel für Experimente mit den Elementen Blei, Wismut, Polonium, Radium, Francium, Emanation, Aktinium, Thorium und Uran wird man oft nach natürlich vorkommenden Isotopen greifen. So ist es bequem und billig, Blei für Stoffwechselversuche entweder mit langlebigem Radium D (Blei 210; Halbwertszeit $\tau = 22$ Jahre) oder mit kurzlebigem Thorium B (Blei 212; $\tau = 10,6$ Stunden) zu markieren. Das erstere Bleisotop steht reichlich in abgeklungenen Emanationsbirnen zur Verfügung, wie sie in Krebspitälern anfallen, das letztere Isotop kann in besonders einfacher und sauberer Weise laufend aus Thoriumsalzen gewonnen werden¹⁾. Von den chemischen Methoden zur Abtrennung der gewünschten Radioelemente von Begleitstoffen wird in allgemeiner Form in Kapitel III die Rede sein.

Viel größere Bedeutung aber haben heutzutage die künstlichen Radioisotope. Diese werden zumeist durch Reaktion von langsamen Neutronen mit Atomen gewonnen. Die Atomkerne absorbieren langsame Neutronen besser („mit größerem Wirkungsquerschnitt“, wie die Kernphysiker sagen) als schnelle Neutronen. In den meisten — aber nicht in allen — Fällen werden die langsamen Neutronen dabei einfach an die Atomkerne angelagert. Die Reaktion wird dann als „Neutroneneinfang“ oder (n, γ) -Reaktion bezeichnet: Ein Neutron tritt in den Kern ein, und die Bindungsenergie wird in Form von γ -Strahlen emittiert, ohne daß eine Korpuskel abgegeben wird. Durch diesen Neutroneneinfang entstehen oft β -aktive Isotope des Ausgangselementes. Beispiel:

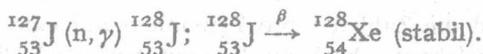


oder (abgekürzt)



gefolgt von ${}_{11}^{24}\text{Na} \xrightarrow{\beta} {}_{12}^{24}\text{Mg}$ (stabil); Halbwertszeit $\tau = 14,8$ Stunden.

Ein besonders kurzlebiges Radioisotop ist das Jod 128, das bei der Bestrahlung von natürlichem Jod mit langsamen Neutronen gebildet wird:



Die Halbwertszeit dieses Radiojods beträgt nur 25 Minuten, so daß schon nach 4 Stunden etwa 99,9% des Radioisotops abgeklungen sind. Sehr kurzlebige Isotope müssen am Ort des Verbrauchs hergestellt werden²⁾ und können natürlich bei langfristigen Experimenten überhaupt nicht Verwendung finden.

¹⁾ E. BRODA, H. FABITSCHOWITZ und T. SCHÖNFELD: Mh. Chem. 83, 837 (1952).

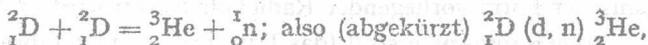
²⁾ L. G. STANG, W. D. TUCKER, R. F. DOERING, A. J. WEISS, M. W. GREENE und H. O. BANKS: Pariser Bericht 190.

In sämtlichen Neutronenquellen entstehen zunächst schnelle Neutronen. Die Verlangsamung (Bremsung) erfolgt durch sogenannte Moderatoren, d. h. man läßt die Neutronen mit leichten Atomkernen zusammenstoßen, wobei sie einen Teil ihrer Energie auf die gestoßenen Kerne übertragen. Letzten Endes entstehen bei der Bremsung langsame Neutronen. Als Moderatoren kommen im Laboratorium hauptsächlich Wasser und festes Paraffin in Frage; in diesen Stoffen ist der Wasserstoff wirksam. Neutronen, die so weit verlangsamt sind, daß sie nur mehr soviel kinetische Energie haben wie die Moleküle der Umgebung, bezeichnet man als „thermische“ Neutronen. Ihre Bewegungsenergie entspricht nämlich nur noch der der Wärmebewegung.

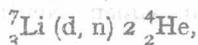
In den „natürlichen Quellen“ wird die α - oder γ -Strahlung eines Radioelements zur Freisetzung von Neutronen aus einer Kernart verwendet, in der das „letzte“ Neutron nur locker gebunden ist. Die geeignetste Kernart ist hierbei das Beryllium, das zur Gänze aus dem Isotop mit der Massenzahl 9 besteht. In den sogenannten α -Neutronenquellen benützt man die Reaktion ${}^9_4\text{Be}(\alpha, n){}^{12}_6\text{C}$. Die α -Teilchen werden vom Radium (samt Folgeprodukten), von abgetrenntem Radon (samt Folgeprodukten) oder auch von Polonium geliefert, wobei man die Radioelemente möglichst innig mit Berylliummetallpulver vermischt. Radium muß natürlich immer in Form eines Salzes angewendet werden. Die Quellen sind in abgeschlossenen Metall- oder Glaskapseln enthalten.

Die γ -Neutronen-Quellen wieder beruhen auf der Reaktion ${}^9_4\text{Be}(\gamma, n){}^8_4\text{Be}$. Sie müssen ein Radioelement enthalten, das γ -Strahlung mit einer Energie von mindestens 1,63 MeV (Bindungsenergie des letzten Neutrons im Beryllium) aussendet. In Frage kommen hierfür wieder Radium oder Radon samt ihren Folgeprodukten, oder auch das künstlich hergestellte Antimon 124. Während die aus natürlichen Quellen zu erhaltende Menge an Neutronen stets bescheiden ist, bieten diese Quellen doch gewisse Vorteile, nämlich Billigkeit, Betriebssicherheit, verhältnismäßige Ungefährlichkeit und Handlichkeit.

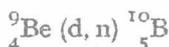
Mehr Neutronen liefern die Teilchenbeschleuniger, also Geräte, in denen mit Hilfe elektrischer Energie Atomkernumwandlungen vollzogen werden. In Betracht kommen hauptsächlich die Beschleuniger nach COCKCROFT-WALTON oder VAN DE GRAAFF und das Zyklotron. Alle diese Geräte können nämlich als „Neutronengeneratoren“ dienen, wenn die im elektrischen Hochspannungsfelde beschleunigten Ionen zum Beschuß geeigneter „Targets“ (Auffänger) verwendet werden, aus denen sie durch Atomkernreaktionen Neutronen lösen. Am häufigsten finden die Reaktionen



sowie



und



mit Deuteronen als Geschossen Anwendung, doch eignen sich in gewissen Fällen auch Protonen als Geschosse.

Zumeist aber verwendet man zur Herstellung der Radioisotope die langsamen Neutronen der mit Graphit, schwerem oder leichtem Wasser moderierten Uranreaktoren (Atommeiler). Viele dieser Reaktoren besitzen Stollen oder Schächte, durch die Proben ins Innere des Reaktors eingebracht und dort starken Neutronenflüssen ausgesetzt werden können. Die Atomenergielaboratorien, beispielsweise jene von Harwell in England und von Kjeller in Norwegen, bieten derart erhaltene Radioisotope preiswert an. In Tab. 13 sind die Radioisotope, deren Bezug von Uranreaktoren sich empfiehlt, durch den Buchstaben R (Reaktor) bezeichnet.

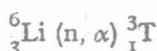
Die Aktivität der erzeugten Radioelemente ist natürlich dem angewendeten Neutronenfluß proportional, also der Zahl der wirksamen Neutronen, die in jeder Zeiteinheit auf eine Flächeneinheit auftreffen. Da für die Aktivierung zumeist die langsamen Neutronen herangezogen werden, kommt es in der Regel auf deren Fluß an. Der Fluß der langsamen Neutronen ist in der Praxis bei Verwendung eines Neutronengenerators wesentlich kleiner als bei Verwendung eines Uranreaktors, übertrifft aber andererseits den Fluß, der sich mit natürlichen Neutronenquellen erreichen läßt (Tab. 2).

Tab. 2. Fluß der langsamen Neutronen (ungefähre Werte).

	Fluß (cm ⁻² sec ⁻¹)
Materialprüfreaktoren (Maximum)	5 · 10 ¹⁴
Reaktor BEPO in Harwell (Maximum)	10 ¹³
BEPO (Normalposition)	10 ¹¹
Beschleuniger	10 ⁸ bis 10 ⁹
Natürliche Quellen	höchstens 10 ⁶

Durch andere Kernreaktionen als den Einfang werden der langlebige Radiokohlenstoff (¹⁴C), das Tritium (³H oder T) und der Radioschwefel (³⁵S) dargestellt. Bei der Absorption langsamer Neutronen durch Stickstoff wird nämlich — statt, wie meist, γ -Strahlung — ein Proton emittiert, d. h. es erfolgt eine Reaktion ${}^{14}_7\text{N} (n, p) {}^{14}_6\text{C}$. Zur praktischen Durchführung bestrahlt man in den Uranreaktoren Stickstoffverbindungen, beispielsweise Ammonsalze, Nitrate oder auch mit besonderem Vorteil das kompakte Berylliumnitrid. Der neugebildete Radiokohlenstoff verbindet sich im Augenblick der Entstehung zumeist mit Sauerstoff. Er liegt dann in Form von radioaktivem Kohlendioxyd vor, das abgepumpt, durch Bariumhydroxyd gebunden und schließlich als Bariumkarbonat in den Handel gebracht wird. In anderer chemischer Form vorliegender Radiokohlenstoff wird oxydiert.

Auch der wichtige Radiowasserstoff (das Tritium; $\tau = 12,5$ Jahre) wird gewöhnlich mit langsamen Neutronen gewonnen, nämlich durch die Kernreaktion



aus Lithiumsalzen. Den Schwefel 35 ($\tau = 87$ Tage) erzeugt man durch die Reaktion

