

Kapitel 1

Einleitung

Die Wechselwirkung von Elektronen niedriger Energie mit Biomolekülen ist unmittelbar mit der seit langem diskutierten Problematik von Strahlenschäden verbunden. Nach der Entdeckung von Röntgenstrahlung, Radioaktivität und Kernfusion stellte sich bald heraus, daß die Bestrahlung eines Lebewesens mit hochenergetischen Teilchen oder Photonen ernsthafte Folgen haben kann. Dazu gehören Kurzzeitschäden, wie das sofortige Sterben von Zellen, das im Extremfall zum Tod des Individuums innerhalb von Stunden oder Tagen führt. Vereinzelt Strangbrüche der DNA oder Änderungen der DNA-Sequenz führen hingegen zu Effekten auf einer weitaus größeren Zeitskala (z. B. Mutationen, Tumorbildung). Sämtliche Auswirkungen werden im allgemeinen unter dem Begriff *Strahlenschäden* zusammengefaßt. Auf der anderen Seite wird Strahlung erfolgreich in der Tumorthherapie eingesetzt, in welcher möglichst nur carcinogenes Gewebe bestrahlt wird.

Zahllose Veröffentlichungen behandeln diese Thematiken, vorrangig jedoch die phänomenologischen Aspekte. Demgegenüber scheinen die der Bestrahlung primär folgenden Schritte recht unzulänglich beschrieben. Das Interesse an der Wechselwirkung von langsamen Elektronen mit Biomolekülen ist indessen gewachsen, seit von Sanche *et al.* gezeigt wurde, daß diese Elektronen Strangbrüche in Plasmid-DNA induzieren können [1].

Ionisierende Strahlung löst in biologischem Gewebe eine Reihe von Abläufen aus, deren Gefüge äußerst komplex und nicht vollständig verstanden ist. Treffen beispielsweise hochenergetische Photonen auf eine Zelle, so entstehen durch primäre Ereignisse im Atto- bis Femtosekundenbereich (wie Streuung und Absorption) eine große Anzahl Ionen, Radikale und angeregter Neutralteilchen. Den Großteil der Produkte bilden jedoch Elektronen, die aus primären, sekundären (und weiteren) sowie Auger-Prozessen entstehen. Die so auf verschiedenste Arten gebildeten Elektronen werden unter dem Begriff *Sekundärelektronen* zusammengefaßt. Sie treten mit einer Häufigkeit von etwa $5 \cdot 10^4$ per MeV der Primärstrahlung auf und besitzen Energien bis zu einigen 10 eV [1–5]. Innerhalb von Pikosekunden werden diese Sekundärelektronen durch weitere inelastische Stöße verlangsamt und induzieren ihrerseits reaktive Produkte, bis sie schließlich solvatatisiert sind. In dieser gelösten Form können sie zwar immer noch genotoxische und mutagene Prozesse auslösen, allerdings auf einer weitaus größeren Zeitskala (über den Mikrosekundenbereich hinaus).

Die DNA gilt als wichtigster Bestandteil eines Zellkerns, da in ihr die genetische Information gespeichert ist, die zur Zellreplikation und Proteinsynthese notwendig ist. Die von Watson und Crick (Nobelpreis für Medizin 1962) hergeleitete doppelhelikale Struktur hat folgende wichtige Eigenschaften [6]:

- Zwei Polynucleotidketten laufen in entgegengesetzten Richtungen. Sie sind um eine gemeinsame Achse gewunden und bilden eine rechtsgängige Doppelhelix.
- Die Purin- und Pyrimidinbasen befinden sich im Inneren der Helix, während sich die Phosphat- und Desoxyribosereste außen befinden.
- Adenin paart mit Thymin und Guanin mit Cytosin. Die erste Paarung wird durch zwei, letzte durch drei Wasserstoffbrückenbindungen verstärkt. Die Doppelhelix wird außerdem durch Wechselwirkungen zwischen den gestapelten Basen des gleichen Stranges stabilisiert.

Etwa ein Drittel des im Genom verursachten Schadens durch ionisierende Strahlung ist *direkt*, womit Reaktionen von DNA-Bausteinen und an sie gebundene Wassermoleküle aufgrund unmittelbarer Energieübertragung der Strahlung gemeint sind. Zwei Drittel der Genomschäden entstehen aufgrund von Reaktionen der Umgebung (Wasser und andere Biomoleküle wie Proteine) und werden als *indirekt* bezeichnet [7]. Es wird angenommen, daß indirekte Schäden überwiegend durch das hochreaktive Hydroxylradikal herbeigeführt werden [8].

Demgemäß steht gerade das Erbgut und seine chemische Umgebung im Zentrum des Interesses. Die einleitend erwähnte Arbeit von Sanche und weitere Oberflächenexperimente belegen die Fähigkeit von Sekundärelektronen, bei Subionisationsenergien effektiv Einzel- und Doppelstrangbrüche auszulösen [1, 9]. Die Wahrscheinlichkeit dafür ist bei einer Elektronenenergie von etwa 10 eV besonders hoch. Die aufgenommenen Ausbeutekurven zeigen ein Resonanzverhalten, das auf die Erzeugung angeregter negativ geladener Zwischenprodukte (*transitory negative ions*, TNI, siehe Kap. 2.1.2, Seite 10) hindeutet. Daher wurde eine *dissoziative Elektronenanlagerung* (DEA, siehe Kap. 2.5) als der relevante erste molekulare Schritt für Strangbrüche vermutet. *Ab initio*- und Dichtefunktionalrechnungen untersuchten, wie ein Einfangen von Elektronen Einzelstrangbrüche provozieren kann [10, 11].

Um die grundlegenden Mechanismen zu entschlüsseln, die einer Wechselwirkung sekundärer Elektronen mit genetischem Material folgen, ist es zweckmäßig, mit einer Betrachtung der einzelnen, voneinander isolierten biologischen Bausteine zu beginnen. Beispielsweise wurden in Oberflächenexperimenten DNA-Basen (oder auch größere DNA-Bausteine) in dünnen ein- oder mehrlagigen Schichten im Ultrahochvakuum kondensiert. Die Intensität der aus dem Film desorbierten negativ geladenen Reaktionsprodukte wurde schließlich massenspektrometrisch in Abhängigkeit von der kinetischen Energie der einfallenden Elektronen gemessen [12–14].

Die fundamentalste experimentelle Herangehensweise an dieses Problem sind wohl aber Reaktionen *in der Gasphase*. Hier wird ein effusiver Mo-

lekularstrahl mit dem Elektronenstrahl gekreuzt, die Moleküle können so nahezu wechselwirkungsfrei untersucht werden. Die Detektion erfolgt wie in den erwähnten Oberflächenexperimenten. Eine alternative und teils komplementäre Technik bildet die Elektronentransmissionsspektroskopie (ETS), die den die Probe durchquerten Elektronenstrom mißt [15]. Fehlen bei bestimmten Energien Teile der transmittierten Intensität, kann dies der Anlagerung von Elektronen zugeordnet werden. Die ETS spiegelt den reinen Franck-Condon-Übergang wider, während die DEA-Spektroskopie die Ausbildung eines TNI *und* dessen Zerfall wiedergibt [16, 17].

Im ersten Ergebnisteil dieser Arbeit (Kapitel 4) werden Messungen mit Biomolekülen präsentiert, die gleichsam Komponenten der DNA selbst sind. Die vier Nucleobasen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin sowie das Nucleosid Thymidin, in welchem Thymin N-glykosidisch mit Desoxyribose verknüpft ist, gehören dazu [18–21]. Zur Klarstellung einzelner Zerfallskanäle des Thymins wurde daneben partiell deuteriertes Thymin betrachtet [18]. Das einfach halogenierte Nucleosid 5-Bromuridin ist dagegen kein natürlicher Baustein des Genoms, sondern stellt eine Variation von 5-Bromdesoxyuridin dar, das in der Tumorforschung und -behandlung Verwendung findet. Wird es gegen Thymidin in der DNA ausgetauscht, kann es die zerstörende Wirkung der in der Therapie eingesetzten Strahlung vervielfachen, ohne dabei in unbestrahltem Gewebe die Genexpression zu verändern [22, 23].

Nicht nur eine Veränderung der eigentlichen DNA, auch Defekte ihrer *Umgebung* können zu gravierenden Instabilitäten des Genoms führen. So ist etwa die DNA aller Chromosomen mit der Hilfe spezialisierter Proteine in eine kompakte Struktur verpackt (Histone und chromosomale Nicht-Histone). Durch Elektronen induzierte Zerfallsprodukte dieser Proteine entstehen somit in unmittelbarer Nähe zur DNA – Folgereaktionen mit dieser sind möglich. Darüberhinaus sind Proteine in mannigfaltiger Weise an den verschiedensten biologischen Prozessen beteiligt (Inaktivierung von Genen, DNA-Methylierung etc.) [24, 25]. Ebenso wird bei Histonen und Nicht-Histonen eine die DNA vor strahlungsinduzierten Doppelstrangbrüchen

schützende Funktion diskutiert [26]. Aus diesen Gründen werden in Kapitel 5 Elektronenanlagerungsreaktionen der Proteinbausteine, den Aminosäuren, behandelt. Es werden Ergebnisse einer deuterierten Form der einfachsten α -Aminosäure, des Glycins, gezeigt, die bereits veröffentlichte Daten aus der Diplomarbeit des Verfassers erweitern [27,28]. Weitere hier vorgestellte Studien befassen sich mit Cystein, Tryptophan und *N*-Acetyltryptophan [29–31]. Bei letztem handelt es sich um eine acetylierte Aminosäure, die jedoch aufgrund der in ihr vorkommenden HN–CO-Bindung als sehr einfaches Modell eines Dipeptides angesehen werden kann.

Ohne den Ergebnissen vorzugreifen kann hervorgehoben werden, daß in nahezu allen untersuchten Substanzen die dissoziative Elektronenanlagerung überraschend effektiv Strukturbrüche in Energiebereichen verursacht, die in vielen Fällen unterhalb der elektronischen Anregung des jeweiligen Moleküls liegen.

