

Untersuchungen über den Einfluß der Infektion mit Tabakmosaikvirus auf den Nucleinsäuregehalt von *Nicotiana tabacum*

Von

H. Altmann*, M. Wald** und L. Sverak

Aus dem Anorganisch- und Physikalisch-chemischen Institut der Universität
Wien und der Biologischen Forschungsabteilung der Österreichischen Stick-
stoffwerke A. G., Linz

(Eingegangen am 31. März 1960)

Junge Pflanzen von *Nicotiana tabacum* wurden mit Tabakmosaikvirus (TMV) infiziert und die Konzentration an pufferlöslicher und an pufferunlöslicher Pflanzen-Nucleinsäure zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion bestimmt.

In der Fraktion der pufferlöslichen Pflanzen-Nucleinsäure (DNS und RNS) konnten keine mit der TMV-Infektion zusammenhängenden Konzentrationsänderungen festgestellt werden. Hingegen wird in der pufferunlöslichen Fraktion eine beträchtliche Verminderung an RNS gefunden. In dieser Fraktion bleibt die Konzentration an DNS mit der Dauer der Virusinfektion annähernd konstant. Es ist daher wahrscheinlich, daß die pufferunlösliche RNS zumindest einen Teil des für die Synthese der Virusnucleinsäure notwendigen Materials liefert.

Einleitung

Da die Viren offenbar außerhalb der lebenden Zelle keinen eigenen Stoffwechsel haben, wie besonders eindrucksvoll Versuche mit Radio-kohlenstoff zeigen konnten¹, ist es zum Verständnis des Mechanismus der Virus-Synthese unerlässlich, die durch die Virusinfektion bewirkten Veränderungen im Stoffwechsel des Wirtes kennenzulernen. Im Laufe der

* Österr. Studienges. f. Atomenergie, Wien.

** Institut für Kernforschung der Polnischen Akademie der Wissenschaften, Warschau.

¹ E. Broda, G. Wüstringer und H. Schönjellinger, Naturwiss. **43**, 305 (1956).

letzten Jahre konnte in einer großen Anzahl von Arbeiten gezeigt werden, daß die Virusinfektion durchaus meßbare Veränderungen in den physiologischen Prozessen des Wirtes bewirkt². Besonderes Interesse kommt dabei dem Nucleinsäurestoffwechsel zu, da eindeutig bewiesen werden konnte, daß die Nucleinsäure (NS) die genetisch bestimmende Rolle bei der Vermehrung der Viren, z. B. des Tabakmosaikvirus (TMV) spielt^{3, 4}. Aus diesem Grunde sind besonders im Nucleinsäurestoffwechsel des Wirtes Veränderungen zu erwarten.

Tatsächlich zeigen Untersuchungen an Blattscheiben von *Nicotiana tabacum*, welche in einer Nährlösung überlebend gehalten wurden, daß vom Infektionsvorgang mit TMV abhängige Veränderungen im Nucleinsäuregehalt feststellbar sind. Dabei unterscheiden die Autoren zwei Fraktionen von Nucleinsäure:

1. die pufferlösliche (vorwiegend cytoplasmatische) NS und
2. die pufferunlösliche (vorwiegend Kern-) NS⁵. Während der Gehalt an pufferunlöslicher NS keine von der TMV-Infektion abhängigen Veränderungen aufweist, zeigt der Gehalt an pufferunlöslicher NS (die übrigens ein sehr heterogenes Material ist) ein ausgeprägtes Maximum 4 Tage nach dem Zeitpunkt der Infektion. Später nimmt die Konzentration der pufferunlöslichen NS wieder ab.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch an von der Pflanze abgetrennten ganzen Blättern erhalten, welche in einer Nährlösung inkubiert worden waren⁶.

Die genannten Arbeiten geben aber keineswegs die Verhältnisse in intakten Pflanzen wieder. Man muß bedenken, daß die TMV-Infektion von *Nicotiana tabacum* ein systemischer Vorgang ist, also nicht in der näheren Umgebung der Infektionsstelle lokalisiert bleibt und daß außerdem die Ausbreitung des Virus in der Pflanze nicht gleichmäßig vor sich geht⁷. Überdies wurde festgestellt, daß die Viruskonzentration schneller anwächst, wenn abgeschnittene Blätter in einer Nährlösung aufbewahrt werden, als wenn Blätter einer intakten Pflanze mit dieser Nährlösung besprüht werden⁸.

Um nun die Verhältnisse „unter natürlichen Bedingungen“ zu studieren, wurde in verschiedenen Zeitabständen jeweils der Nucleinsäuregehalt der gesamten Pflanze von *Nicotiana tabacum* (Var. White Burley)

² C. A. Porter, Adv. Virus Res. **6**, 75 (1959).

³ H. Fraenkel-Conrat und R. C. Williams, Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. **41**, 690 (1955).

⁴ A. Gierer und G. Schramm, Z. Naturforsch. **11 b**, 138 (1956).

⁵ E. Basler und B. Commoner, Virology **2**, 13 (1956).

⁶ T. Hirai, Virology **6**, 732 (1958).

⁷ Siehe G. Schramm, Biochemie der Viren, Springer, Berlin 1954.

⁸ E. Kassanis, J. gen. Microbiol. **9**, 467 (1953).

nach der Infektion mit TMV bestimmt. Dabei wurden 4 Fraktionen unterschieden: a) die pufferlösliche RNS, b) die pufferlösliche DNS, c) die pufferunlösliche RNS und d) die pufferunlösliche DNS.

Experimenteller Teil

Im Glashaus gezogene, 6 Wochen alte Pflanzen wurden in üblicher Weise durch Aufrauen der Blattoberfläche und Auftropfen einer TMV-Lösung infiziert; zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion wurden die ganzen Pflanzen sorgfältig gewaschen, mit Filterpapier leicht getrocknet und wie folgt verarbeitet.

Die Pflanzen wurden in flüssiger Luft eingefroren, um die Zellen zu sprengen; danach wurden sie mit 80 ml eines vorgekühlten 0,1 m Phosphatpuffers von pH 7 bei ca. 4° homogenisiert. Der faserige Rückstand wurde auf einer Filternutsche abgesaugt und das Filtrat auf pH 4,6 gebracht, um den Großteil der in den Pflanzen enthaltenen Proteine und jener Nucleoproteine, die kein TMV sind, auszufällen. Die Flüssigkeit wurde einige Stunden lang im Kühlschrank stehen gelassen und der Niederschlag bei 4000 U/min⁻¹ abzentrifugiert. Dann wurde die überstehende Lösung auf pH 3,4, den isoelektrischen Punkt des TMV, gebracht, über Nacht im Kühlschrank stehen gelassen und das ausgefallene Virus abzentrifugiert.

Die „pH 4,6-Fraktion“, die bei dieser Art der Aufarbeitung auch einen Großteil der Chloroplasten enthält — da diese nicht vorher durch Zentrifugieren abgetrennt wurden — wurde nun dreimal je 5 Min. mit Alkohol im Wasserbad erhitzt und jeweils nach Abkühlung zentrifugiert; anschließend wurde der Niederschlag noch mit Alkohol-Äther im Verhältnis 3:1 in der Hitze behandelt und mit Äther nachgewaschen. Auf diese Weise wurden die Farbstoffe und die Lipide entfernt. Nach Vertreiben des Äthers wurde der Rückstand dreimal je 3 Min. mit je 20 ml einer heißen 1,5 m NaCl-Lösung extrahiert und jedesmal filtriert. Die Filtrate wurden vereinigt; in ihnen befinden sich die Polynucleotide der pufferlöslichen Fraktion.

Die Reinheit der so erhaltenen Polynucleotide wurde durch Aufnahme des UV-Spektrums dieser Lösung geprüft. Die Konzentration der „pufferlöslichen Pflanzen-Nucleinsäure“ wurde aus der Extinktion bei 260 m μ mit Hilfe einer Eichkurve errechnet^{9,10}. Nun wurde die NaCl-Lösung mit 18 ml einer 5 n-NaOH-Lösung versetzt, so daß die gesamte Lösung in bezug auf NaOH ungefähr n war, und 72 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen. Dabei wurde die RNS zu Mononucleotiden abgebaut, während die DNS, die alkalistabil ist, in polymerer Form verbleibt. Nach der Hydrolyse wird mit verd. HClO₄ auf pH 2,5 eingestellt, ein Drittel des Volumens an Alkohol hinzugefügt und 1 Stde. lang im Kühlschrank stehen gelassen, wobei die DNS gemeinsam mit dem zum Teil unlöslichen NaClO₄ ausfällt, während die Hydrolyseprodukte der RNS in Lösung bleiben. Nach Abzentrifugieren wird der Niederschlag mit 10 ml einer 6proz. HClO₄ 2 Stdn. bei 90° erhitzt, um die DNS in Lösung zu bringen. Die nun gelöste DNS kann leicht durch Zentrifugieren vom NaClO₄ getrennt werden. Die Konzentration der DNS wurde sowohl durch die Extinktion bei 260 m μ , wie auch durch die Indol-HCl-Reaktion nach *Cerioti* bestimmt¹¹. Beide Bestimmungsmethoden ergaben gute Übereinstimmung.

⁹ L. Sverak und A. Sikuler, Mh. Chem. **89**, 774 (1958).

¹⁰ H. Altmann, Dissertation, Univ. Wien 1959.

¹¹ G. Cerioti, J. biol. Chem. **214**, 59 (1955).

Die „pufferunlösliche Pflanzen-Nucleinsäure“ wurde aus dem nach Abfiltrieren des Phosphatpuffers verbliebenen faserigen Rückstand in analoger Weise wie die pufferlösliche NS — also durch NaCl-Extraktion nach Behandlung mit Alkohol und Alkohol-Äther — gewonnen. Die mit NaCl-Lösung extrahierten Polynucleotide wurden analog wie jene der pufferlöslichen Fraktion behandelt.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwar DNS und RNS getrennt bestimmt, doch konnte zwischen Pflanzen-RNS und „frei“ vorhandener TMV-RNS¹² nicht unterschieden werden. Dies gilt vor allem für die Fraktion der pufferunlöslichen Pflanzen-NS, da angenommen wird, daß die Virusnucleinsäure in Kernnähe synthetisiert wird¹³. Allerdings dürfte die aus dem bei der Infektion eingesetzten TMV stammende und die neu gebildete TMV-RNS an Zellbestandteile, die kein TMV-Protein sind, gebunden sein, da sie sonst pufferlöslich sein müßte.

Als Vergleichsmaterial dienten gleichartige gesunde Pflanzen, die in analoger Weise wie die infizierten aufgearbeitet wurden.

Ergebnisse

In der ersten Serie von Versuchen wurden nur das TMV und die pufferunlösliche NS untersucht. In diesem Falle wurde zwischen RNS und DNS nicht unterschieden, vielmehr wurden diese gemeinsam isoliert und ihre Summe auf Grund der Extinktion bei 260 m μ mit Hilfe einer Eichkurve bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Gehalt an pufferunlöslicher Pflanzen-Nucleinsäure (RNS und DNS) und an TMV — RNS zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion

Pflanze Nr.	Tage nach der Infek- tion	Pufferunlösliche Pflanzen-NS			Mittel- werte	TMV-Ribonucleinsäure		
		Pflanzen- frischge- wicht (g)	Menge puffer- unlöslicher Pflanzen-NS (mg)	μ g Pflanzen- NS pro g Pflanzenfrisch- gewicht		Menge TMV- RNS mg	μ g TMV- RNS pro g Pflanzenfrisch- gewicht	Mittel- werte
1	3,7	18,4	1,22	66,5	64,5	0,12	6,5	5,1
2	3,7	13,8	0,86	62,5		0,05	3,6	
3	9,0	11,2	0,35	31,3	31,3	0,07	6,3	6,3
4	12,0	10,5	0,40	38,0	39,0	0,06	5,7	8,9
5	12,0	10,0	0,40	40,0		0,12	12,0	
6	15,0	6,0	0,22	36,6	36,6	0,15	25,0	25,0
7	22,5	6,5	0,20	30,8	29,6	0,92	141,5	201,0
8	22,5	9,1	0,26	28,5		2,37	260,0	
9	30,0	17,5	0,39	22,3	19,5	1,56	89,3	111,2
10	30,0	7,2	0,12	16,7		0,96	133,0	

Die Menge an TMV-RNS wurde aus der Menge des Virus errechnet, wobei ein NS-Gehalt von 5,8% angenommen wurde.

¹² G. W. Cochran und J. L. Chidester, *Virology* **4**, 390 (1957).

¹³ Siehe G. Schramm, *Naturwiss. Rdsch.* **11**, 475 (1958).

Der Gehalt an pufferunlöslicher NS, bezogen auf das Blatt-Frischgewicht, nimmt mit zunehmender Dauer der Virusinfektion merklich ab. 30 Tage nach der Infektion ist die NS-Konzentration, im Vergleich zu der Konzentration, die ca. 4 Tage nach der Infektion in der Pflanze enthalten war, auf ein Drittel abgesunken. Gleichzeitig nimmt der Gehalt an TMV-RNS stetig zu. Dieser Zusammenhang ist allerdings in den ersten Tagen nach der Infektion nicht deutlich ersichtlich, möglicherweise, weil zu diesem Zeitpunkt noch verhältnismäßig wenig TMV synthetisiert worden war.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Konzentration der gesamten Pflanzen-NS bestimmt, wobei die bei pH 4,6 ausgefallenen Nucleoproteine (und Proteine) gemeinsam mit der pufferunlöslichen Fraktion aufgearbeitet wurden (Tab. 2). Auch in diesem Falle wurden RNS und DNS gemeinsam bestimmt.

Tabelle 2. Gehalt an gesamter (pufferlöslicher und pufferunlöslicher (RNS und DNS) Pflanzen-NS zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion

Pflanze Nr.	Tage nach der Infektion	Pflanzenfrischgewicht (g)	Menge NS (mg)	µg NS pro g Pflanzenfrischgewicht	Mittelwerte
1	3,7	8,6	1,30	156	136
2	3,7	6,5	0,77	117	
3	4,0	2,5	0,40	160	
4	7,0	5,5	0,50	91	91
5	10,0	16,0	1,90	119	117
6	10,0	17,5	2,80	160	
7	10,0	9,5	0,68	72	
8	14,0	10,0	0,94	94	90
9	14,0	19,0	1,01	53	
10	14,0	9,7	1,19	123	
11	21,0	21,0	1,52	73	73
12	21,7	18,5	1,78	91	88
13	21,7	18,0	1,51	84	
14	30,0	15,3	0,90	59	59

Offenbar zeigt auch die Konzentration an gesamter Pflanzen-NS eine von der Infektionsdauer abhängige Verminderung, doch scheint die prozentuelle Abnahme etwas geringer zu sein als im Falle der pufferunlöslichen NS. 30 Tage nach der Infektion betrug die Konzentration an gesamter Pflanzen-NS noch fast 50% jener, die 4 Tage nach der Infektion gefunden worden war.

Die in Tab. 1 angegebenen Konzentrationen an Pflanzen-NS können nicht absolut mit den Werten der Tab. 2 verglichen werden, da die Versuchsreihen zu verschiedenen Jahreszeiten (Frühjahr bis Spätherbst)

durchgeführt wurden. Jedoch können beide Serien hinsichtlich der relativen Abnahme des Gehaltes an NS in Abhängigkeit von der seit der Infektion mit TMV verstrichenen Zeit durchaus miteinander verglichen werden.

Aus Parallelversuchen mit gesunden Pflanzen folgt, daß zwar der Gehalt an gesamter NS gesunder Pflanzen beträchtliche Schwankungen aufweist, doch kein systematischer Gang feststellbar ist (Tab. 3).

Die in den Tab. 1, 2 und 3 angeführten Ergebnisse weisen darauf hin, daß die pufferlösliche NS entweder eine wesentlich geringere Konzentrationsabnahme als die pufferunlösliche NS oder überhaupt keine Abnahme erfährt. Um diese Frage zu untersuchen, wurde in einer weiteren Versuchsserie die pufferlösliche und die pufferunlösliche NS gesondert bestimmt. In jeder dieser beiden Fraktionen wurden sowohl RNS wie DNS bestimmt. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in

Tabelle 3. Gehalt an gesamter (pufferlöslicher und pufferunlöslicher RNS und DNS) Pflanzen-NS in gleichzeitig mit den infizierten Pflanzen verarbeiteten gesunden Pflanzen

Pflanze Nr.	Tage (ent- sprechend Tab. 2)	Pflanzenfrisch- gewicht (g)	Menge NS (mg)	μ g NS pro g Pflanzenfrisch- gewicht	Mittel- werte
1	3,7	9,0	1,03	115	115
2	4,0	9,0	0,91	101	101
3	7,0	13,0	3,48	191	191
4	10,0	10,0	5,10	510	371
5	10,0	7,7	1,79	232	
6	14,0	6,7	0,53	79	180
7	14,0	6,8	1,92	282	
8	21,5	12,1	2,20	183	161
9	21,5	18,0	2,51	140	
10	30,0	14,8	2,62	177	177

den Tab. 4 und 5 zusammengestellt. Neben den infizierten Pflanzen wurden 4 gesunde gleichartige Pflanzen untersucht, von denen zwei 4 Tage nach der Infektion und zwei 14 Tage nach der Infektion der entsprechenden Vergleichspflanzen aufgearbeitet wurden. Daher sollen mit den Pflanzen Nr. 3 und 4 die Pflanzen Nr. 1, 2, 5 und 6, dagegen mit den Pflanzen Nr. 9 und 10 die Pflanzen Nr. 7, 8, 11 und 12 verglichen werden.

Wie aus Tab. 4 ersichtlich ist, bleibt die Konzentration an pufferunlöslicher NS (RNS + DNS) in den gesunden Pflanzen über einen Zeitraum von 14 Tagen konstant, während der Gehalt an pufferunlöslicher NS in den infizierten Pflanzen mit fortschreitender Infektionsdauer beträchtlich absinkt. Die DNS-Konzentration sowohl der gesunden wie auch der infizierten Pflanzen bleibt während der Versuchsdauer an-

nähernd konstant. Die RNS-Mengen in der pufferunlöslichen Fraktion weisen eine ausgeprägtere Konzentrationsverminderung auf.

Die analogen Werte für die Fraktion der pufferlöslichen Pflanzen-NS sind in Tab. 5 zusammengestellt. Die gesamte pufferlösliche Pflanzen-NS (RNS + DNS) weist im untersuchten Zeitabschnitt keine Konzentrationsabnahme auf. Das gleiche gilt für die RNS. Dagegen sinkt die

Tabelle 4. Gehalt an pufferunlöslicher DNS und RNS und an pufferunlöslicher Pflanzen-NS zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion

Pflanze Nr.	Tage nach der Infek- tion	Pflan- zen- frisch- gewicht (g)	Gesamte Pufferunlös- liche Pflanzen-NS			Pufferunlösliche DNS			Pufferunlösliche RNS		
			Menge NS (mg)	μ g NS pro g Pflan- zen- frisch- gewicht	Mittel- werte	Menge NS (mg)	μ g NS pro g Pflan- zen- frisch- gewicht	Mittel- werte	Menge NS (mg)	μ g NS pro g Pflan- zen- frisch- gewicht	Mittel- werte
3*	0	53,0	14,50	274	330	1,74	33	38	12,76	241	292
4*	0	13,5	5,20	385		0,56	42		4,64	343	
9**	0	26,2	7,43	284	303	0,59	23	37	6,84	261	267
10**	0	14,1	4,54	322		0,70	50		3,84	272	
1	2	32,0	5,10	160	207	0,84	26	32	4,26	133	175
2	2	12,0	3,05	254		0,44	37		2,61	217	
5	4	33,5	6,76	202	220	1,07	32	32	5,69	170	163
6	4	10,5	2,49	238		ausgef.	ausgef.		1,63	155	
7	8	37,5	8,00	213	219	1,13	30	33	7,87	210	200
8	8	23,5	5,27	224		0,81	35		4,46	190	
11	19	28,3	3,10	109	143	0,37	13	22	2,83	100	123
12	19	19,5	3,45	177		0,61	31		2,84	145	

* Sind gesunde Pflanzen, die 4 Tage nach dem Zeitpunkt der Infektion untersucht werden.

** Sind gesunde Pflanzen, die 14 Tage nach dem Zeitpunkt der Infektion untersucht werden.
(Die RNS wurde als Differenz aus der Menge der gesamten pufferunlöslichen Pflanzen-NS und der DNS errechnet.)

DNS-Konzentration sowohl in den gesunden wie auch in den infizierten Pflanzen gegen Ende der Untersuchungsperiode ab. Infolge der geringen Absolutmengen an DNS wirkt sich jedoch diese Verminderung nur unmerklich auf die Konzentration der pufferlöslichen Gesamt-NS aus.

Diskussion

Die folgende Diskussion bezieht sich ausschließlich auf die (polymeren) Nucleinsäuren der Pflanzen, da nur diese isoliert, gereinigt und bestimmt wurden. Natürlich wäre ein Vergleich der Konzentration von NS mit den entsprechenden Konzentrationen frei vorliegender Mono- und Oligonucleotide interessant und würde ein besser abgerundetes Bild

ergeben, doch bereitet die quantitative Isolierung und Reindarstellung niedriger Nucleotide aus Pflanzenmaterial noch große Schwierigkeiten.

Wie aus den Tab. 1 und 2 zu ersehen ist, nimmt die Konzentration an gesamter Pflanzen-NS mit fortschreitendem Viruswachstum systematisch ab, wobei die Pflanzen-NS immer mehr durch die Virusnucleinsäure „ersetzt“ wird. Die Tab. 4 und 5 zeigen, daß die Verminderung

Tabelle 5. Gehalt an pufferlöslicher DNS und RNS und an pufferlöslicher Pflanzen-NS zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion

Pflanze Nr.	Tage nach der Infek- tion	Pflan- zen- frisch- gewicht (g)	Gesamte pufferlösliche Pflanzen-NS			Pufferlösliche DNS			Pufferlösliche RNS		
			Menge NS (mg)	µg NS pro g Pflan- zen- frisch- gewicht	Mittel- werte	Menge NS (mg)	µg MS pro g Pflan- zen- frisch- gewicht	Mittel- werte	Menge NS (mg)	µg NS pro g Pflan- zen- frisch- gewicht	Mittel- werte
3*	0	53,0	17,30	326	353	3,00	56	56	14,30	270	298
4*	0	13,5	5,14	380		0,76	56		4,38	325	
9**	0	26,2	6,60	252		0,81	31		5,79	221	
10**	0	14,1	3,22	228	240	0,35	25	28	2,87	206	214
1	2	32,0	8,82	280	367	1,44	45	45	7,38	230	320
2	2	12,0	5,45	454		0,54	45		4,91	409	
5	4	33,5	9,57	286		1,95	58		7,62	228	
6	4	10,5	3,72	354	320	ausgef.	ausgef.	58	2,87	275	251
7	8	37,5	6,10	162		0,50	13	28	5,60	150	
8	8	23,5	8,40	358		1,00	43		7,40	315	
11	19	28,3	10,80	383	345	0,85	30	22	9,95	350	322
12	19	19,5	6,00	308		0,28	14		5,72	293	

* Sind gesunde Pflanzen, die 4 Tage nach dem Zeitpunkt der Infektion untersucht wurden.

** Sind gesunde Pflanzen, die 14 Tage nach dem Zeitpunkt der Infektion untersucht wurden.
(Die RNS wurde als Differenz aus der Menge der gesamten pufferlöslichen Pflanzen-NS und der DNS errechnet.)

der Konzentration an Pflanzen-NS auf die pufferunlösliche Fraktion beschränkt ist. Ähnliche Resultate sind bei Blattscheiben und Blättern gefunden worden, die in Nährlösung kultiviert worden sind, wobei allerdings 4 Tage nach der Infektion eine Erhöhung des Gehaltes an pufferunlöslicher NS im Vergleich zu gesunden Pflanzen festgestellt wurde⁵. An intakten Pflanzen konnte diese Erhöhung der Konzentration von Pflanzen-NS nicht gefunden werden.

Bemerkenswert ist ferner, daß auch die Konzentration an DNS in beiden Fraktionen — pufferlösliche und pufferunlösliche NS — mit fortschreitendem Viruswachstum eher geringer wird. Während aber in der pufferlöslichen Fraktion eine Verringerung der Konzentration der DNS

auch in den nichtinfizierten Pflanzen gefunden wird, ist die Konzentration an pufferunlöslicher DNS in den gesunden Pflanzen über den untersuchten Zeitraum konstant.

Die erhaltenen Ergebnisse stehen mit der Vorstellung in Einklang, daß die normale Pflanzen-NS zumindest teilweise das für die TMV-RNS-Synthese notwendige Material liefert. Jedoch ist wahrscheinlich, daß nicht die Pflanzen-NS in ihrer polymeren Form verwendet, sondern daß die Virus-NS *de novo*, d. h. aus niedermolekularen Bausteinen synthetisiert wird^{10, 14, 15}. Offenbar spielt die pufferunlösliche Pflanzen-NS bei der TMV-RNS-Synthese eine wichtige Rolle.

Die Abnahme des Gehaltes an pufferunlöslicher NS kann entweder so gedeutet werden, daß diese NS teilweise abgebaut wird und die Bruchstücke zur Synthese der TMV-Nucleinsäure verwendet werden; für diese Vorstellung würde der Befund sprechen, daß virusinfizierte Tabakpflanzen eine erhöhte Ribonuclease-Aktivität aufweisen¹⁶.

Eine andere Möglichkeit der Deutung des verminderten Gehaltes an pufferunlöslicher RNS besteht darin, daß durch die Virusinfektion die Synthese polymerer pflanzeigener RNS gehemmt wird; dann wäre der in jedem lebenden System herrschende dynamische Gleichgewichtszustand in dem Sinne gestört, daß zwar der Abbau der Pflanzen-NS „normal“ weiter vor sich geht, daß aber die Nachbildung von Pflanzen-NS zugunsten der TMV-RNS-Synthese herabgesetzt ist.

Welche der beiden genannten Vorstellungen nun tatsächlich zutrifft oder ob beide Mechanismen zusammenwirken, kann am besten mit Hilfe von radioaktiven Isotopen entschieden werden. Darüber soll gesondert berichtet werden¹⁷.

Wir danken Herrn Prof. Dr. *E. Broda* für wertvolle Ratschläge.

¹⁴ *H. J. Born* und *G. Schramm*, Arch. ges. Virusforsch. **2**, 461 (1943).

¹⁵ *M. Staehelin*, Biochim. Biophys. Acta **29**, 43 (1958).

¹⁶ *K. K. Reddi*, Biochim. Biophys. Acta **33**, 164 (1959).

¹⁷ *M. Wald*, *H. Altmann* und *L. Sverak*, Mh. Chem. in Vorbereitung.