

Untersuchungen mit markierten Atomen über den Einfluß der Infektion mit Tabakmosaikvirus auf die Nukleinsäuresynthese in *Nicotiana tabacum*

Von

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

Aus dem Physikalisch-chemischen Institut der Universität Wien und der Biologischen Forschungsabteilung der Österreichischen Stickstoffwerke A.G., Linz a/d Donau

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 31. August 1960)

Pflanzen von *Nicotiana tabacum* wurden mit Tabakmosaikvirus (TMV) infiziert und in bestimmten Zeitabständen nach der Infektion 24 Stdn. lang der Radiophotosynthese unterworfen. Die Radioaktivität der TMV-RNS und der pufferlöslichen und pufferunlöslichen pflanzeigenen Nukleinsäuren wurde bestimmt.

In der Fraktion der pufferlöslichen „Pflanzen-Nukleinsäure“ konnten keine größeren Veränderungen als Folge der TMV-Infektionen festgestellt werden.

Die pufferunlösliche „Pflanzen-Nukleinsäure“ weist hingegen ein völlig anderes Verhalten auf. In dieser Fraktion wurden mit Alkohol nicht fällbare Substanzen gefunden, deren spezifische Aktivität wesentlich höher als die der alkoholfällbaren NS (RNS und DNS) dieser Fraktion ist. Ihre gesamte und spezifische Radioaktivität nimmt mit fortschreitendem TMV-Wachstum stark zu, während die Radioaktivität der RNS und DNS sich nur wenig ändert.

Einleitung

Wir haben festgestellt, daß die Konzentration der gesamten Pflanzen-Nukleinsäure (NS) in *Nicotiana tabacum* im Laufe des Wachstums von

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

** Österreichische Studiengesellschaft für Atomenergie Ges. m. b. H., Wien.

Tabakmosaikvirus (TMV) abnimmt¹. Diese Abnahme betrifft vorwiegend die in der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ enthaltene Ribonukleinsäure (RNS). Daher liegt die Vermutung nahe, daß die RNS bei ihrem Abbau mindestens einen Teil des Materials für die Synthese der TMV-RNS liefert. Da sich Pflanzen-RNS und TMV-RNS hinsichtlich ihrer Nukleotidzusammensetzung unterscheiden^{2,3}, ist es unwahrscheinlich, daß polymere Bruchstücke der pflanzeigenen RNS zur TMV-RNS-Synthese verwendet werden. Tatsächlich konnte nach verschiedenen Methoden gezeigt werden, daß die TMV-RNS aus Mononukleotiden synthetisiert wird^{3,4}.

Mit Hilfe der markierten Atome sollte nun untersucht werden, ob Abbauprodukte der pflanzeigenen RNS für die Synthese der TMV-RNS Verwendung finden. Auch sollte festgestellt werden, ob und inwieweit die Infektion mit TMV die Synthese pflanzeigener Nukleinsäuren beeinträchtigt. Zu diesem Zwecke wurden Tabakpflanzen, die mit TMV infiziert worden waren, in verschiedenen Zeitabständen nach der Infektion der Photosynthese mit $^{14}\text{CO}_2$ unterworfen. Die Menge und die Radioaktivität der Nukleinsäuren wurde bestimmt, wobei folgende Fraktionen unterschieden wurden: Die im TMV enthaltene TMV-RNS, die pufferlösliche „Pflanzen-NS“, die darin enthaltenen alkoholfällbaren hochpolymeren NS (RNS und DNS), die pufferunlösliche „Pflanzen-NS“ und ebenso die in dieser Fraktion enthaltene (hochpolymere) RNS und DNS. Es muß jedoch betont werden, daß zwar DNS und RNS gesondert bestimmt wurden, daß aber zwischen pflanzeigener RNS und eventuell frei vorliegender (also nicht im TMV enthaltener) TMV-RNS nicht unterschieden werden konnte.

Experimenteller Teil

Die Mengen der isolierten NS und des TMV wurden in allen Fällen durch Messung der Extinktion bei $260\text{ m}\mu$ bestimmt. Die Messung der Radioaktivität erfolgte stets — nach nasser Verbrennung⁵ — mit Hilfe eines mit CO_2 gefüllten Gaszählrohres⁶.

Pflanzen von *Nicotiana tabacum*, die 6 Wochen im Glashaus gezogen worden waren und deren Frischgewicht zwischen 20 und 40 g variierte, wurden in üblicher Weise durch Aufrauen der Blattoberfläche und Auftropfen einer TMV-Lösung infiziert und in verschiedenen Zeitabständen nach der Infektion der „Radiophotosynthese“ unterworfen. Hierfür wurde jede einzelne Pflanze in einer Photosynthesekammer, die ca. 3% mit ^{14}C markiertes CO_2 enthielt, 24 Stdn. lang mit einer Leuchtstoffröhre (Philips TL 40 W/33)

¹ H. Altmann, M. Wald und L. Sverak, Mh. Chem. **91**, 436 (1960).

² K. K. Reddi, Biochim. Biophys. Acta **23**, 208 (1957).

³ H. Altmann, Diss. Universität Wien **1959**.

⁴ M. Staehelin, Biochim. Biophys. Acta **29**, 43 (1958).

⁵ D. D. van Slyke und J. Folch, J. Biol. Chem. **136**, 509 (1940).

⁶ E. Broda und G. Rohringer, Z. Elektrochem. **58**, 634 (1954).

belichtet^{7, 8}, nachdem vorher das ursprünglich infizierte Blatt entfernt worden war. Die Volumina der verwendeten Photosynthesekammern, welche annähernd gleich groß waren, betrugen ca. 300 ml. Nach Beendigung der Photosynthese wurde ein CO₂-freier Luftstrom durch die Kammer geleitet, das nicht aufgenommene CO₂ in NaOH absorbiert und seine Radioaktivität bestimmt; die Differenz zwischen dem für die Photosynthese eingesetzten und dem in der Lauge wiedergefundenen ¹⁴C ergab die von der Pflanze aufgenommene Menge an Radiokohlenstoff. Anschließend wurden die Pflanzen gut gewaschen, zwischen Filterpapier sorgfältig getrocknet und in flüssiger Luft eingefroren.

Die Aufarbeitung erfolgte, wie bereits beschrieben¹, durch Homogenisieren mit Phosphatpuffer bei pH 7, Ausfällen des Großteils der in der Pflanze enthaltenen Proteine und Nukleoproteine bei pH 4,6 (= „pH-4,6-Fraktion“) und Isolierung des TMV aus dem Überstand durch Fällung beim isoelektrischen Punkt (pH 3,5). Aus der „pH-4,6-Fraktion“ wurde — nach Entfernung der Farbstoffe und Lipide mit Hilfe von Alkohol und Äther — die pufferlösliche „Pflanzen-NS“ mit heißer NaCl-Lösung extrahiert¹. Aus dem nach Abfiltrieren des Phosphatpuffers verbliebenen faserigen Rückstand wurde in analoger Weise die pufferunlösliche „Pflanzen-NS“ gewonnen.

An aliquoten Teilen wurde sowohl die Menge als auch die Radioaktivität der pufferlöslichen und der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ bestimmt. In beiden Fraktionen wurden die hochpolymeren NS (RNS + DNS) durch Zusatz des zweifachen Volumens an Alkohol und mehrstündiges Stehen bei 4° C ausgefällt und der Niederschlag abzentrifugiert. In einigen Versuchen wurde auch der Überstand untersucht, d. h. sowohl die Extinktion gemessen, wie auch die Radioaktivität bestimmt.

Der Niederschlag wurde nun 20 Stdn. bei 37° C mit 0,5 n wässriger KOH behandelt, wobei die RNS zu Mononukleotiden abgebaut wird, während die DNS, welche alkalistabil ist, in polymerer Form verbleibt. Anschließend wurde mit verd. HClO₄ auf pH 2,5 eingestellt, ein Drittel des Volumens an Alkohol hinzugefügt und 1 Stde. im Kühlschrank stehen gelassen, wobei die DNS gemeinsam mit dem KClO₄ ausfällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit verd. Perchlorsäure gut gewaschen. Die Menge und die Radioaktivität der in Lösung verbleibenden Monoribonukleotide wurden ermittelt.

Um festzustellen, ob die Monoribonukleotide keine radioaktiven Verunreinigungen enthielten, wurde ihre Radioaktivität nach Fällung mit BaCl₂ erneut bestimmt. Zu diesem Zwecke wurde die Nukleotidlösung mit verd. Ammoniak auf pH 8,5 gebracht. Ein Überschuß von BaCl₂ und ein Drittel des Volumens an Alkohol wurde hinzugefügt und über Nacht bei 4° C stehen gelassen. Die nun ausgefallenen Bariumverbindungen der Ribonukleotide wurden abzentrifugiert und zuerst mit Alkohol, anschließend mit Äther zentrifugierend gewaschen. Nach Vertreibung des Äthers wurden die Ba-Nukleotide in Wasser aufgeschlämmt, durch Hinzufügen von H₂SO₄ (bis pH 2,2) zersetzt und die Lösung der Nukleotide vom BaSO₄ durch Filtration getrennt. Wieder wurde sowohl die Menge als auch die Radioaktivität der Ribonukleotide bestimmt. Da vor und nach der Fällung mit BaCl₂ die gleiche spezifische Aktivität gemessen wurde, konnte ein störender Gehalt an radioaktiven Verunreinigungen ausgeschlossen werden.

Die nach der alkal. Hydrolyse der RNS ausgefallene DNS wurde wieder in Lösung gebracht, indem sie mit 6proz. HClO₄ 2 Stdn. bei 90° erhitzt wurde.

⁷ L. Sverak, O. Suschny und E. Broda, Mh. Chem. **84**, 931 (1953).

⁸ L. Sverak und A. Sikuler, Mh. Chem. **89**, 774 (1958).

Die Menge der DNS wurde nun sowohl durch die Extinktion bei 260 m μ als auch durch die Indol-HCl-Reaktion⁹ colorimetrisch bestimmt; ihre Radioaktivität wurde an einem aliquoten Teil gemessen.

Ebenfalls bestimmt wurde die Menge und die Radioaktivität der TMV-RNS, wobei das Virus mit Trichloressigsäure¹⁰ gespalten wurde. Die Reinheit des TMV wurde durch das UV-Spektrum geprüft. Wenn die Reinheit nicht befriedigte, wurde die Fällung beim isoelektrischen Punkt wiederholt.

Ergebnisse

Es wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt, wobei die Pflanzen in beiden Fällen in gleicher Weise aufgearbeitet wurden. Die Versuchsdauer erstreckte sich in beiden Fällen über 20 Tage, vom Zeitpunkt der Infektion an gerechnet. Um durch Parallelbestimmungen bessere Sicherheit zu gewinnen, wurden in jeder Serie jeweils zwei infizierte und eine gesunde Pflanze gleichzeitig untersucht, also auch gleichzeitig der Photosynthese unterworfen. Dabei wurde darauf geachtet, daß die gesunde „Kontrollpflanze“ möglichst gleich groß wie die infizierten Pflanzen war. In allen Fällen wurde $^{14}\text{CO}_2$ mit einer Radioaktivität von $9,6 \cdot 10^7$ Zerfällen min^{-1} (= 43,6 μC) eingesetzt.

Bei allen Photosynthesen wurden annähernd 100% des eingesetzten $^{14}\text{CO}_2$ — also stets die gleiche Menge — von den Pflanzen aufgenommen. Aus diesem Grunde konnten die Gesamtaktivitäten der entsprechenden Fraktionen — oder Verbindungen — verschieden großer Pflanzen ohne weiteres miteinander verglichen werden. Daher stellt die Gesamtaktivität ein Maß für die während der Photosynthese gebildeten Menge an der betreffenden Substanz dar.

Hingegen sagt die spezifische Aktivität der untersuchten Substanzen viel weniger aus, da ja eine Verdünnung durch die vor Beginn der Radiophotosynthese in der Pflanze vorliegende Menge an betreffender Substanz eintritt. Ein Vergleich zwischen zwei (etwa zu verschiedenen Zeiten untersuchten) Pflanzen wäre nur dann möglich, wenn man annehmen würde, daß die Konzentration an zu untersuchender Substanz die gleiche ist. Diese Annahme kann aber nicht ohne weiteres gemacht werden. Aus diesem Grunde sollen die in der vorliegenden Arbeit angegebenen spezif. Aktivitäten nur zum Vergleich zwischen den einzelnen Fraktionen einer und derselben Pflanze dienen.

In der ersten Versuchsreihe wurden nur die mit Alkohol fällbaren pufferlöslichen und pufferunlöslichen NS (RNS und DNS) untersucht. Wie später gezeigt werden wird (Tab. 1), war die spezifische Radioaktivität der in der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ enthaltenen alkoholfällbaren NS (RNS + DNS) wesentlich niedriger als die spezif. Aktivität der mit NaCl extrahierten gesamten pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“.

⁹ A. Ceriotti, J. Biol. Chem. **214**, 59 (1955).

¹⁰ G. Schramm und H. Dannenberg, Ber. dtsh. chem. Ges. **77** 53 (1944).

Es lag daher der Gedanke nahe, daß in dieser Fraktion Verbindungen enthalten sind, die eine wesentlich höhere spezif. Aktivität haben als die gefällten NS. Aus diesem Grunde wurde in der zweiten Versuchsserie die nach dem Ausfällen der (polymeren) NS (RNS + DNS) verbliebene alkohol. Salzlösung (vgl. exper. Teil) gesondert untersucht. Die UV-Spektren dieser Fraktion lassen es als wahrscheinlich erscheinen, daß es sich tatsächlich um nukleotidische Stoffe handelt. Die Ninhydrin-Probe auf Anwesenheit von Proteinen (oder Aminosäuren) und die Indol-HCl-Reaktion⁹ auf Anwesenheit von DNS verliefen negativ. Hingegen war die Orcin-Reaktion¹¹ auf Anwesenheit von RNS positiv. Die Radioaktivität dieser „nicht alkoholfällbaren NS“ wurde gesondert bestimmt (Tab. 2). In der pufferlöslichen „Pflanzen-NS“ wurden diese „nicht alkoholfällbaren NS“ nicht gefunden (siehe auch Tab. 1).

Tabelle 1. Radioaktivitäten der Nukleinsäuren in gesunden und infizierten Tabakpflanzen

Anzahl- der Pflanzen	Tage nach der Infektion	Pufferunlösliche Fraktion			Pufferlösliche Fraktion			TMV- RNS
		Pflan- zen- NS	RNS (nach Fällung mit Alkohol)	DNS	Pflan- zen- NS	RNS (nach Fällung mit Alkohol)	DNS	
I. Gesamtaktivitäten								
Zerfälle/Min. ($\times 10^{-3}$) (Mittelwerte je Pflanze)								
8*	—	1920	310	14,3	365	335	25,6	—
4	2	1920	245	7,6	328	314	15,8	0,28
4	4	2050	280	8,5	186	152	15,1	0,37
4	8	2710	340	9,7	336	279	17,8	0,91
2	13	2830	327	12,4	230	210	11,5	7,00
4	20	5840	271	8,5	200	195	15,3	49,00
II. Spezifische Aktivitäten								
Zerfälle/Min. mg ($\times 10^{-3}$) (Mittelwerte)								
8*	—	570	204	26,8	101	168	13,0	—
4	2	620	215	22,7	94	116	11,0	—
4	4	760	184	17,6	145	156	19,0	36,0
4	8	895	210	19,7	110	152	15,8	11,1
2	13	986	236	35,8	103	90	5,4	9,3
4	20	2150	256	24,1	83	112	13,0	5,6

* Nicht infizierte Pflanzen, die unter gleichen Bedingungen wie die mit TMV infizierten Pflanzen gezogen worden waren.

Alle in Tab. 1 angeführten Werte sind Mittelwerte über mehrere getrennt aufgearbeitete Pflanzen aus beiden Versuchsserien. Die mit* bezeichneten Pflanzen sind gesunde Pflanzen, die gleichzeitig mit den infizierten Pflanzen untersucht wurden.

¹¹ H. G. Albaum und W. W. Umbreit, Hdb. der physiol.-u. pathol.-chem. Analyse, Bd. III, 509.

Aus dem Vergleich der Radioaktivität der pufferunlöslichen und der pufferlöslichen Fraktion (Tab. 1) ist zu ersehen, daß sowohl die gesamte wie auch die spezif. Radioaktivität der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ durchweg wesentlich höher als die der pufferlöslichen „Pflanzen-NS“ und auch höher als die Radioaktivität der alkoholfällbaren NS (RNS und DNS) beider Fraktionen ist. Hingegen ist in der pufferlöslichen Fraktion die gesamte und die spezif. Radioaktivität der „Pflanzen-NS“ von der gleichen Größenordnung wie die Radioaktivität der mit Alkohol fällbaren RNS. Die Radioaktivitäten der DNS beider Fraktionen unterscheiden sich nicht wesentlich voneinander und sind viel niedriger als die Radioaktivitäten der RNS. Diese Tatsache steht mit der Vorstellung im Einklang, daß die Umsatzgeschwindigkeit der DNS ganz allgemein geringer als die der RNS ist¹².

Tabelle 2. Spezif. Aktivitäten der nicht mit Alkohol fällbaren Nukleinsäuren der pufferunlöslichen Fraktion (Mittelwerte)

Anzahl der Pflanzen	Tage nach der Infektion	Spezif. Radioaktivität Zerfälle/Min. mg ($\times 10^{-3}$)	
		der mit Alkohol nicht fällbaren NS	der mit Alkohol fällbaren NS (RNS + DNS)
5*	—	950	158
2	2	915	149
2	4	1200	143
2	8	985	167
2	13	1350	196
1	20	2380	220

* Nicht infizierte Pflanzen, die unter gleichen Bedingungen wie die infizierten Pflanzen gezogen worden waren.

Besonders bemerkenswert ist, daß in der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ allem Anschein nach nicht alkoholfällbare NS enthalten sind (Tab. 2), deren spezif. Aktivität wesentlich höher als die der alkoholfällbaren NS und von der gleichen Größenordnung wie die spezif. Radioaktivität der gesamten, pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ ist (vgl. Tab. 1). Dies gilt sowohl für gesunde als auch für infizierte Pflanzen, doch nimmt die spezif. Aktivität dieser mit Alkohol nicht fällbaren NS — wie übrigens auch die spezif. Aktivität der gesamten pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ — mit fortschreitendem TMV-Wachstum zu (Tabelle 1 und 2).

Sowohl die Gesamtaktivität wie auch die spezif. Aktivität der TMV-RNS ist bedeutend geringer als die der übrigen untersuchten RNS-Fraktionen (Tabelle 1).

¹² V. G. Allfrey, A. E. Mirsky und H. Stern, Adv. Enzymol. **16**, 411 (1955).

Um den Unterschied zwischen den infizierten und den gesunden Pflanzen besser darstellen zu können, sind in Abb. 1, 2 und 3 auf der Ordinate

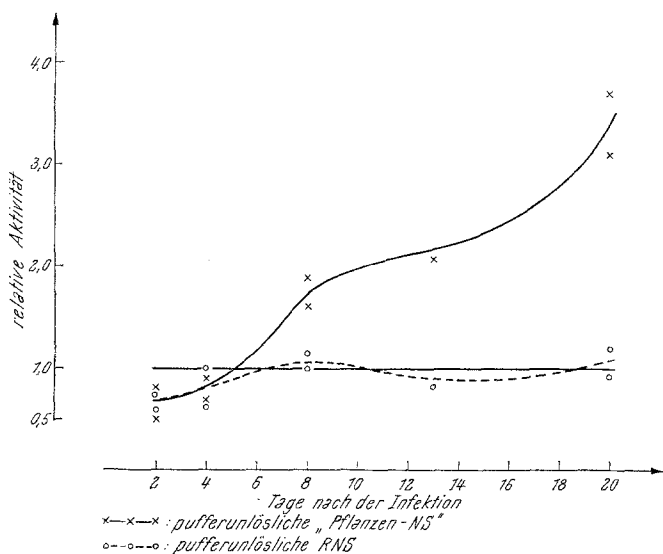


Abb. 1. Gesamtaktivitäten der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ und der pufferunlöslichen RNS infizierter Tabakpflanzen, dargestellt als Quotienten zu den entsprechenden Werten für gesunde gleichzeitig untersuchte Pflanzen

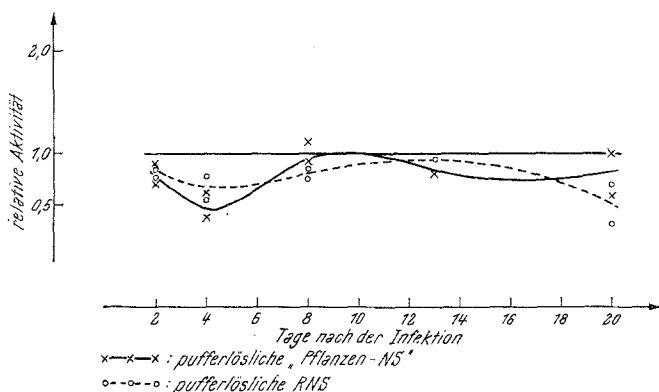


Abb. 2. Gesamtaktivitäten der pufferlöslichen „Pflanzen-NS“ und der pufferlöslichen RNS infizierter Tabakpflanzen, dargestellt als Quotienten zu den entsprechenden Werten für gesunde gleichzeitig untersuchte Pflanzen

— in relativen Aktivitätseinheiten — die Quotienten der Gesamtaktivitäten der Nukleinsäuren der infizierten und der gesunden Pflanzen aufgetragen. Dabei entspricht die Einheit den Aktivitäten der NS in gesunden Pflanzen. Auf der Abszisse sind die seit der Infektion mit TMV verstrichenen Tage angegeben.

Aus Abb. 1 ist zu ersehen, daß die Gesamtaktivität der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ in den ersten vier Tagen nach der Infektion eher niedriger als bei gesunden Pflanzen ist, später jedoch stetig ansteigt. Dagegen unterscheiden sich die Radioaktivitäten der pufferunlöslichen (alkoholfällbaren) RNS infizierter Pflanzen nicht wesentlich von denen bei gesunden Pflanzen.

In Abb. 2 sind die Gesamtaktivitäten der pufferlöslichen „Pflanzen-NS“ bzw. der pufferlöslichen (alkoholfällbaren) RNS in gleicher Weise wie in Abb. 1 angegeben. Die Werte weisen zwar Schwankungen auf,

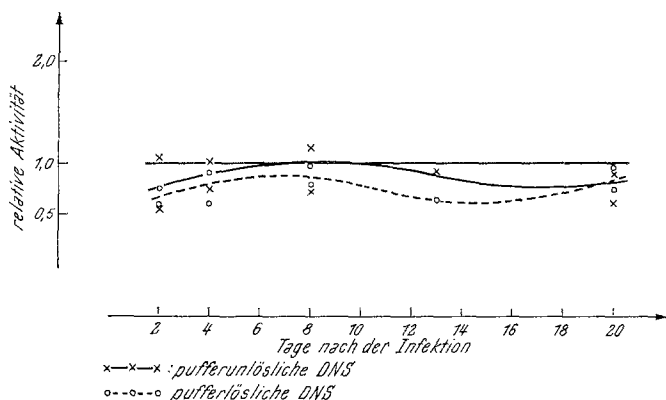


Abb. 3. Gesamtaktivitäten der pufferunlöslichen und der pufferlöslichen DNS infizierter Tabakpflanzen, dargestellt als Quotienten zu den entsprechenden Werten für gesunde gleichzeitig untersuchte Pflanzen

liegen aber durchwegs unterhalb der entsprechenden Werte für gesunde Pflanzen.

Die Quotienten der Gesamtaktivitäten der pufferunlöslichen und pufferlöslichen DNS infizierter und gesunder Pflanzen sind in Abb. 3 zusammengestellt. Wie man sieht, sind die Radioaktivitäten der DNS in infizierten Pflanzen durchwegs etwas kleiner als in gesunden Pflanzen.

Diskussion

Ergebnisse, über die an anderer Stelle berichtet wurde¹, führten zum Schluß, daß die pufferunlösliche „Pflanzen-NS“ in engem Zusammenhang mit der TMV-Infektion steht. Es wurde nämlich gefunden, daß die Konzentration an pufferunlöslicher „Pflanzen-Nukleinsäure“ mit fortschreitendem TMV-Wachstum stetig abnimmt, während die Konzentration an pufferlöslicher „Pflanzen-NS“ über den untersuchten Zeitraum konstant bleibt. Die Verminderung des Gehaltes an pufferunlöslicher „Pflanzen-NS“ in infizierten Pflanzen kann entweder bedeuten, daß ein erhöhter Abbau dieser NS stattfindet, oder aber, daß die Synthese zugunsten der TMV-RNS-Synthese eingeschränkt ist.

Ob nun die Synthese pflanzeigener Nukleinsäure trotz Infektion mit TMV „normal“ weiter vor sich geht, kann am besten durch den Vergleich der Radioaktivitäten der isolierten NS in gesunden und infizierten Pflanzen festgestellt werden. Die Gesamtaktivität stellt nämlich, wie bereits erläutert wurde, ein Maß für die während der Radiophotosynthese gebildeten Menge Nukleinsäure dar.

In infizierten Pflanzen sind die Radioaktivitäten der Nukleinsäuren der pufferlöslichen Fraktion sowie auch der daraus gewonnenen RNS und DNS eher niedriger als in gesunden Pflanzen (Abb. 2 und 3), d. h. soweit ein Unterschied vorliegt, ist die Synthese der pufferlöslichen Nukleinsäuren in infizierten Pflanzen eingeschränkt, doch sind die Effekte verhältnismäßig gering. Eine Konzentrationsabnahme der genannten NS war nicht feststellbar¹.

Die pufferunlöslichen Nukleinsäuren weisen insofern ein anderes Verhalten auf, als ihre Konzentration mit fortschreitendem TMV-Wachstum abnimmt¹. Daß die Radioaktivität der alkoholfällbaren (hochpolymeren) RNS über den untersuchten Zeitraum dennoch konstant ist und in infizierten Pflanzen ähnliche Werte wie in gesunden Pflanzen aufweist (vgl. Tab. 1 und Abb. 1), also die Synthese der pufferunlöslichen alkoholfällbaren RNS in infizierten Pflanzen ungehindert vor sich geht, bedeutet demnach, daß ein erhöhter Abbau stattfindet.

Besonders bemerkenswert sind die Werte für die gesamte und die spezif. Radioaktivität der mit Alkohol nicht fällbaren Anteile der pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“: die Radioaktivität nimmt nämlich mit fortschreitendem Viruswachstum stark zu und ist durchwegs wesentlich höher als die Aktivität der alkoholfällbaren NS (sowohl RNS als auch DNS) der pufferunlöslichen Fraktion. Aus ihrer erhöhten spezif. Radioaktivität ist zu schließen, daß diese „nicht alkoholfällbaren NS“ nicht Abbauprodukte der polymeren NS, sondern eher Vorstufen zur NS-Synthese sein dürften.

Da außerdem die spezif. Aktivität dieser „nicht alkoholfällbaren NS“ mit fortschreitendem TMV-Wachstum zunimmt (Tab. 2) — was auch aus der Zunahme der gesamten und der spezif. Radioaktivität der die „nicht alkoholfällbaren NS“ enthaltenden pufferunlöslichen „Pflanzen-NS“ hervorgeht (Tab. 1, Abb. 1) — dürften diese NS in engem Zusammenhang mit der Vermehrung des TMV stehen. Welcher Art dieser Zusammenhang ist, kann noch nicht gesagt werden. Jedenfalls dürften die „nicht alkoholfällbaren NS“ nicht das einzige für die TMV-RNS-Synthese verwendete Material darstellen. Die Werte für die gesamte und die spezif. Aktivität der TMV-RNS liegen nämlich durchwegs niedriger als die entsprechenden Aktivitäten der pflanzeigenen Nukleinsäuren (Tab. 1). Man muß also annehmen, daß zur Synthese der TMV-Nukleinsäure zumindest teilweise Material von geringer spezif. Aktivität verwendet wird.

Es ist wahrscheinlich, daß dieses Material durch den erhöhten Abbau der pufferunlöslichen RNS geliefert wird.

Die Abnahme der spezif. Aktivität der TMV-RNS mit der Zeit folgt schon aus der Tatsache, daß die Menge des TMV mit der Zeit ansteigt, so daß zu Beginn der später durchgeführten Photosynthesen bereits größere Mengen an nicht radioaktivem TMV in der Pflanze vorliegen.

Abschließend kann noch gesagt werden, daß die erhaltenen Ergebnisse mit der Vorstellung im Einklang stehen, daß die TMV-RNS in Kernnähe synthetisiert wird¹³, da die pufferunlösliche „Pflanzen-NS“ vorwiegend aus Kern-Nukleinsäure bestehen dürfte¹⁴.

Wir danken Herrn Prof. Dr. E. Broda für sein reges Interesse an dieser Arbeit. Herrn Felix Wehrmann danken wir für technische Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

¹³ R. Engler und G. Schramm, Z. Naturforsch. **15 b**, 38 (1960).

¹⁴ E. Basler und B. Commoner, Virology **2**, 13 (1956).

Berichtigungen und Zusatz

In der Arbeit von R. Riemschneider und H. Kampfer soll es (Mh. Chem., **90**, 523) in Zeile 13 v. u. heißen: cis- α -Phenylzimtsäurechlorid (nicht: -säureamid).

In der Arbeit von R. Riemschneider und B. E. Grabitz (Mh. Chem. **91**) soll auf S. 24, Tab. 1, lfd. Nr. 9 stehen: Spiro [4.2] heptadien, Sdp. 114°; ferner soll der Schmp. in Fußnote 18 (Seite 30) 270° sein (nicht 280°), schließlich sind die auf Seite 39 am 30. 12. 1959 hinzugefügten Versuche der Arbeit von R. Riemschneider in Mitt. Physiol.-chem. Inst., Berlin, R 18, vom Juni 1948 entnommen. Auf dieser Seite ist Zeile 23 zu streichen.