Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 16 (1960)

Artikel: Die Erzeugung von Virusmutationen an einem phytopathogenen Virus als Modell

Autor: Mundry, K.W.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307444

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 09.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

D. K.: 576.809:575.2

Die Erzeugung von Virusmutationen an einem phytopathogenen Virus als Modell

Von K. W. Mundry, Tübingen (z.Zt. Pasadena)

Viren sind Krankheitserreger. Die Virusforschung wird daher zu einem großen Teil von dem Bestreben geleitet, diese Krankheitserreger näher kennen zu lernen, um sie wirksamer bekämpfen und Viruskrankheiten besser und schneller heilen zu können. Medizinisches Interesse steht somit bei einer sehr großen Zahl von Untersuchungen an Viren im Vordergrund.

Viren sind außerdem aber auch sehr geeignete Modellobjekte für die Erforschung einiger grundsätzlicher biologischer Phänomene. Besonders die Genetik und der ihr zugewandte Zweig der Biochemie haben daraus sehr großen Nutzen ziehen können.

Wir wissen, daß Viren Nucleinsäure enthalten und damit in naher stofflicher Verwandtschaft zu den Erbfaktoren in den Zellen stehen. Auch Viren haben genetische Funktionen zu erfüllen. Die genetische Funktion eines Virus äußert sich darin, daß eine Zelle durch eine Virusinfektion zu Leistungen gezwungen wird, zu denen sie vorher nicht in der Lage war, nämlich zur Virusproduktion. Die Stoffwechselleistungen einer Zelle werden durch die ihr eigene Garnitur an Erbfaktoren bestimmt. Mit dieser Garnitur allein kann keine Zelle Virus produzieren. Sie benötigt dazu zusätzliche genetische Informationen, die den Stoffwechsel entsprechend umkoordinieren. Diese zusätzlichen Informationen werden mit dem Virus in die Zelle gebracht. Sind sie einmal dort, so ist das Resultat der Infektion ein neues genetisches System: die virusproduzierende Zelle.

Dieses neue System entwickelt gegenüber dem ursprünglichen neue Merkmale. Das sind die Krankheitssymptome. Diese neuen Merkmale müssen natürlich von den der Zelle zusätzlich gegebenen Informationen abhängig und damit virusspezifisch sein. Zwei verschiedene Viren rufen demnach in irgendeiner Form auch verschiedene Symptome ihrer Infektion auf dem befallenen Wirt hervor. Ebenso müssen veränderte Symptome, sofern Änderungen der Umwelteinflüsse ausgeschlossen sind, auf eine Veränderung des Virus zurückgeführt werden. In der Tat sind die

ersten Beweise für die Mutabilität phytopathogener Viren auf diese Weise gewonnen worden (7, 17–19, 34).

Das genetische System der virusinfizierten Zelle stellt ein ausgesprochen günstiges Objekt für Mutationsuntersuchungen dar. Es bietet den außerdem nur noch beim «transforming principle» vorhandenen Vorteil der Isolierbarkeit eines genetisch wirksamen Faktors, mit dem man außerhalb der Zelle experimentieren und den man danach bei Rückverpflanzung in geeignete Zellen auf erfolgte Änderungen seiner genetischen Wirksamkeit hin prüfen kann. Zu Untersuchungen über die Erzeugung von Mutationen im Reagenzglas ist dieses System nahezu ideal geeignet.

Einige Befunde aus den letzten Jahren haben die Durchführung solcher Experimente erheblich erleichtert, wenn nicht überhaupt erst ermöglicht. So wurde sowohl für die Desoxyribosenucleinsäure (DNS) bei einem Bakteriophagen (15) als auch für die Ribosenucleinsäure (RNS) eines phytopathogenen Virus, nämlich für die RNS des Tabakmosaikvirus (TMV) (12, 11), bewiesen, daß die Nucleinsäurekomponente eines Virus der alleinige Träger seiner genetischen Information ist. Zurzeit ist das TMV das wohl am besten in seinen Einzelheiten bekannte Virus überhaupt. Die folgenden Abschnitte beziehen sich ausschließlich auf dieses Virus. Es lohnt sich daher, unsere Kenntnisse über seine physikalischen und chemischen Eigenschaften kurz zusammenzufassen.

Das TMV besteht offensichtlich nur aus RNS und Protein. Es ist ein makromolekulares, stäbchenförmiges Nucleoproteid, in dem die Nucleinsäurekomponente, im Innern aufspiralisiert, von einem Schutzmantel aus Eiweiß umgeben ist. Diese Eiweißhülle setzt sich aus etwa 2300 untereinander identischen Untereinheiten zusammen, Polypeptidketten aus 157 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 17 000–18 000 (erstmalige direkte Bestimmung: 39, 41). Die chemische Zusammensetzung dieser Eiweißhülle und damit die der Polypeptidketten sowie deren Eigenschaften sind spezifisch für den einzelnen Virusstamm (1, 2, 16, 20–22, 39, 40). Die Untereinheiten der Eiweißhülle stecken zwischen den Windungen der RNS-Spirale und ragen weit über sie hinaus. Dadurch hat dieses Modell viel Ähnlichkeit mit einem Maiskolben (4–6, 33; Abb. 1).

Durch Extraktion mit Phenol gelingt es, die Nucleinsäurekomponente des TMV vom Hülleiweiß zu befreien und als infektiöse Nucleinsäure zu isolieren (11, 12). Das Resultat einer Infektion mit reiner Nucleinsäure sind wieder die charakteristischen Nucleoproteidpartikel, in Eiweiß verpackte Nucleinsäure. Dies demonstriert, daß die RNS-Komponente nicht nur alle genetischen Informationen in sich birgt, die für ihre identische Reproduktion durch den Stoffwechsel der infizierten Zelle er-

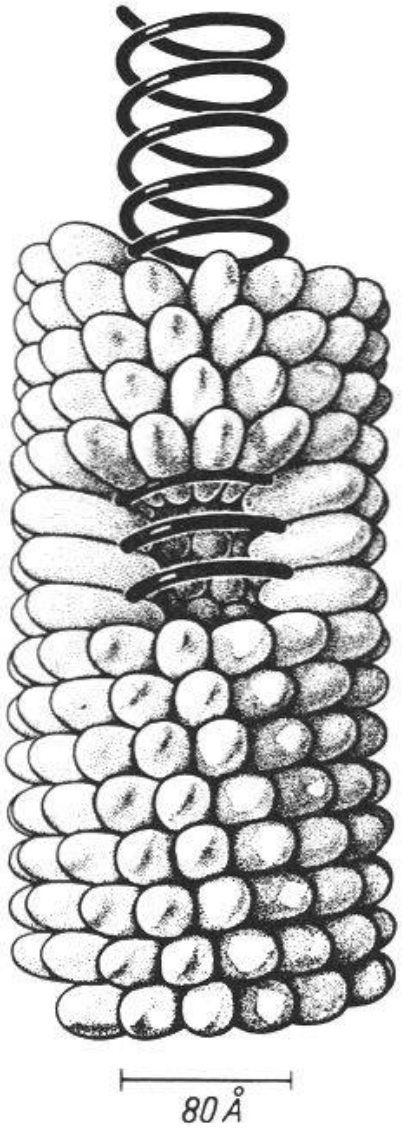

Abb. 1. *Stück eines teilweise deproteinisierten Virusteilchens der Mosaikkrankheit des Tabaks* (nach *Franklin* und *Klug* [6], geändert; Zeichnung: *Freiberg*). – Zwischen den Windungen (Durchmesser 80 Å) des aufspiralisierten RNS-Moleküls stecken die Untereinheiten des Hüllproteins. Das komplette Teilchen hat einen lückenlosen Eiweißmantel. Es ist ein Hohlzylinder von 3000 Å Länge und etwa 180 Å Durchmesser.

forderlich sind, sondern auch Träger der Informationen für die Bildung des spezifischen Hülleiweißes sein muß.

Die infektiöse Einheit der TMV-RNS ist identisch mit dem gesamten Nucleinsäurebestand eines Viruspartikels und ist im Gegensatz zu der bekannten Doppelspirale der DNS nach *Watson* und *Crick* (38) ein einfacher Polynucleotidstrang (10). Sie hat ein Molekulargewicht von ca. 2×10^6; demnach sind in diesem Strang ca. 6000 Nucleotide zu einer einzigen langen molekularen Kette verknüpft. Adenin-, Guanin-, Cytosin- und Uracilnucleotide sind die vier Bausteintypen der TMV-RNS. Ein einziger Bruch in dieser Kette (8, 9) oder in einem Viruspartikel (28) zerstört die Infektiosität. Das läßt vermuten, daß die unbeschädigte

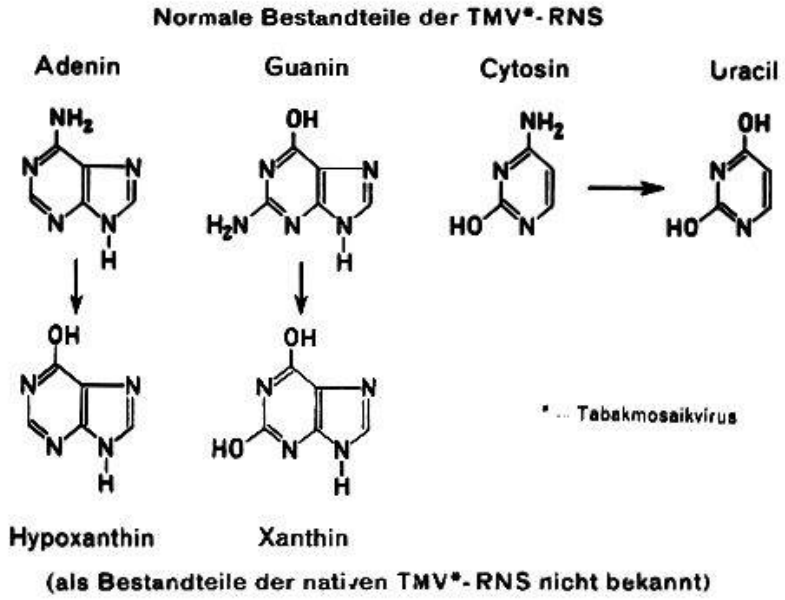

Abb. 2. ***Desaminierung der in Ribosenucleinsäure (RNS) vorkommenden Basen durch Umsetzung mit salpetriger Säure.*** **Ausgangs- und Endprodukt sind jeweils durch Pfeil verbunden.**

Sequenz der Nucleotide im RNS-Molekül für seine Infektiosität Voraussetzung ist.

In Untersuchungen über Möglichkeiten, Viren zu inaktivieren, wurde festgestellt (35), daß die isolierte infektiöse TMV-RNS inaktiviert werden kann, ohne daß dabei die molekulare Einheit der 6000 Nucleotide angegriffen werden muß, und zwar durch oxydative Desaminierungen an den Basen der Nucleotide. Bei einer Umsetzung mit salpetriger Säure (das geschieht im Experiment in einer angesäuerten Lösung von Natriumnitrit) werden die NH_2-Gruppen an den Basen des Moleküls durch OH-Gruppen ersetzt. Dadurch kann Adenin in Hypoxanthin, Guanin in Xanthin und Cytosin in Uracil verwandelt werden (Abb. 2). Die Inaktivierung verläuft mit der Reaktionszeit exponentiell. Sie ist ein Eintrefferereignis, d. h. eine einzelne Desaminierung kann bereits den Verlust der Infektiosität des TMV-RNS-Moleküls herbeiführen. Insgesamt sind dabei etwa 3300 verschiedene Inaktivierungstreffer je TMV-RNS-Molekül möglich (35). Da nun aber 4500 Aminogruppen je Molekül existieren, bleibt ein Rest von 1200 Treffern, die in bezug auf die Infektiosität des Moleküls bedeutungslos sein müssen. Es erhebt sich somit die Frage: sind solche Treffer mutagen?

Ein leicht zu beobachtendes und quantitativ gut auswertbares Merkmal, das auch durch spontane Mutation ziemlich häufig auftreten kann, ist das lokale Nekrotisierungsvermögen verschiedener TMV-Stämme auf den Blättern des Java-Tabaks (26). Wir verwendeten daher als Ausgangsmaterial für unsere Untersuchungen den TMV-Stamm vulgare (25), der

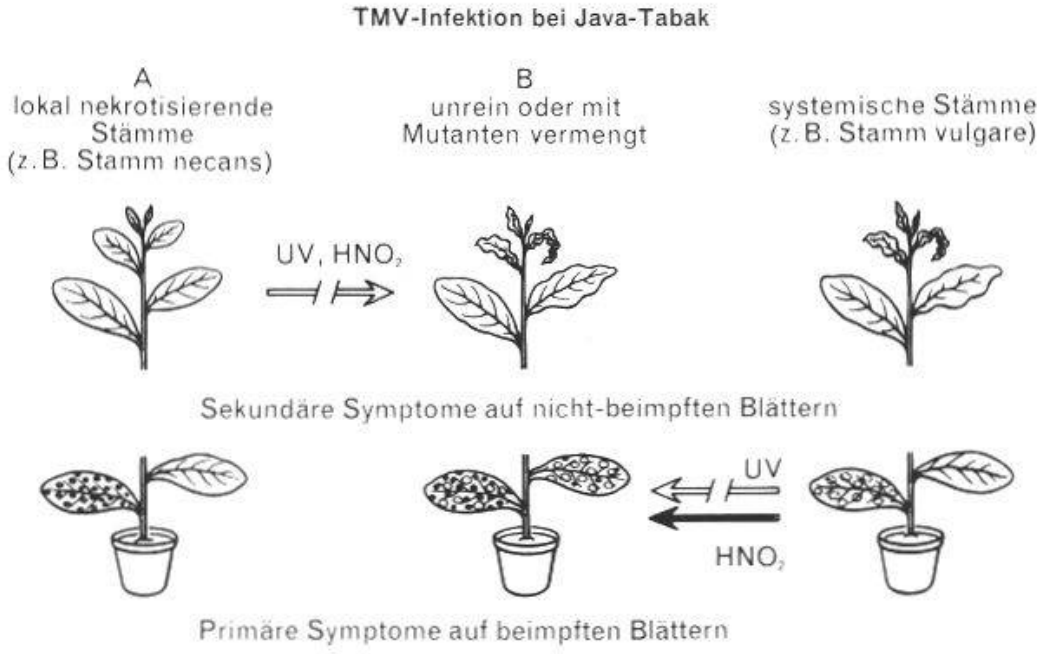

Abb. 3. *«Hin»mutation (←) und «Rück»mutation (→) zwischen systemischen und lokal-nekrotisierenden Stämmen des Tabakmosaikvirus (TMV).* – Systemische Stämme (z. B. vulgare, rechte Pflanze) produzieren auf den inokulierten Blättern kaum sichtbare, hellgrüne oder gelbliche oder unsichtbare Infektionsherde. Von dort breitet sich das Virus in andere Pflanzenteile aus und erzeugt charakteristische Symptome an den jungen Blättern der Sproßspitze. – Lokal-nekrotisierende Stämme (z. B. der Stamm necans, linke Pflanze) erzeugen auf den inokulierten Blättern deutlich sichtbare Infektionsherde in Form brauner Nekrosen, in denen das Gewebe abstirbt. Alle anderen Pflanzenteile, so auch die Sproßspitze, bleiben gesund. – Je nach der Mutationsrichtung treten entweder Nekrosen auf den inokulierten Blättern auf, die bei den Kontrollen fehlen (Hinmutation; zweites Blatt von unten der mittleren Pflanze), oder unter den Pflanzen der Versuchsgruppe treten entgegen dem Kontrollbefund solche mit systemischen Symptomen auf (Rückmutation). Die nach Rückmutation ebenfalls zu erwartenden, nicht-nekrotisierenden Infektionsherde sind zwischen den zahlreichen Nekrosen nur sehr schwer und keineswegs regelmäßig zu entdecken (unteres Blatt, mittlere Pflanze). Bisher gelang nur die Induktion der Hinmutation, und zwar nur mit HNO_2.

dieses Merkmal nicht besitzt, und prüften, ob nach Inokulation solcher Blätter mit nitritbehandeltem vulgare-TMV lokale Nekrosen entstehen (Abb. 3). Dies ist in der Tat der Fall, und zwar, wie die ersten Vorversuche bereits zeigten, mit verblüffender Häufigkeit. Bei einer Inaktivierung des Viruspräparates auf etwa $^1/_{100}$ seiner Anfangsinfektiosität steigt der Anteil nekrotisierender Infektionsherde auf den Java-Blättern auf das 100–200fache des Anfangswertes. Unter diesen Inkubationsbedingungen ist etwa jeder zweite oder dritte Infektionsherd nekrotisch gegenüber 3 unter 1000 im Ausgangsmaterial (Tab. 1).

Dieser Effekt, die Entstehung nekrotisierender Infektionsherde aus Virusmaterial, was diese Wirkung ohne eine Inkubation mit Nitrit nicht zeigt, wurde daraufhin genauer studiert. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen (13, 31, 32):

Tabelle 1

Effekt einer Inkubation mit HNO_2 von Java-Tabak nicht-nekrotisierendem vulgare-TMV auf das Nekrosebildungsvermögen dieses Virus (aus *Mundry* und *Gierer* [32], Auszug).– 4,4 mg Virus/ml in 1 M $NaNO_2$ bei pH 4,1 inkubiert, zum Abstoppen der Reaktion 1:10 in m/15 Phosphatpuffer pH 7,0 verdünnt und nach Dialyse gegen gleichen Puffer auf die Blätter der Java-Pflanzen aufgetragen. Unbehandelte Kontrolle zum Angleichen des Infektiositätstiters an den des inkubierten Präparates 1000mal stärker verdünnt.

Behandlung	Konzentration im Inoculum (10^{-3} mg TMV/ml)	1. Versuch		2. Versuch	
		Infektiositätstiter	Java-Nekrosen pro Blatt	Infektiositätstiter	Java-Nekrosen pro Blatt
2 Std. inkubiert...	440	187	53	37,5	25,2
Unbehandelt	0,44	168	0,5	56	0,63

Tabelle 2

Vergleich des spontanen mit dem durch Inkubation von intaktem vulgare-TMV mit HNO_2 erhöhten Auftreten lokaler Nekrosen auf Java-Tabakblättern für intaktes TMV und daraus isolierte RNS (aus *Mundry* und *Gierer* [32]).

Versuchs-Nr.	Präparat	Konzentration an TMV bzw. RNS in 10^{-3} mg/ml Inoculum	Infektionsherde pro Blatt	Mutationsrate %
1	TMV-vulgare, unbehandelt	0,26	80	0,187
	RNS aus unbehandeltem vulgare	7,0	111	0,180
	TMV-vulgare, 20 min mit 1 M $NaNO_2$ bei pH 4,2 inkubiert.....	0,7	81,3	5,65
2	TMV-vulgare, 20 min mit Nitrit wie oben inkubiert	0,7	40,7	3,32
	RNS aus dem inkubierten Virus dieses Versuchs ...	20,0	54	3,93

1. Die Zahl der auftretenden Nekrosen folgt in ihrer Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer der salpetrigen Säure einer Eintrefferfunktion. Damit sind also einzelne Desaminierungen für den Effekt verantwortlich (Abb. 4).

2. Der Reaktionsmechanismus ist für komplettes Virus und isolierte RNS quantitativ gleich, sofern die Ergebnisse auf einheitliche Inaktivierungsgeschwindigkeiten bezogen werden (vgl. Abb. 4). – Die Spontanrate zu nekrotisierenden Stämmen für komplettes Virus zeigt keinen Unterschied zu der für isolierte Nucleinsäure. – Die durch Inkubation mit HNO_2 induzierbare Mutationsrate zu ebensolchen Stämmen ist für kom-

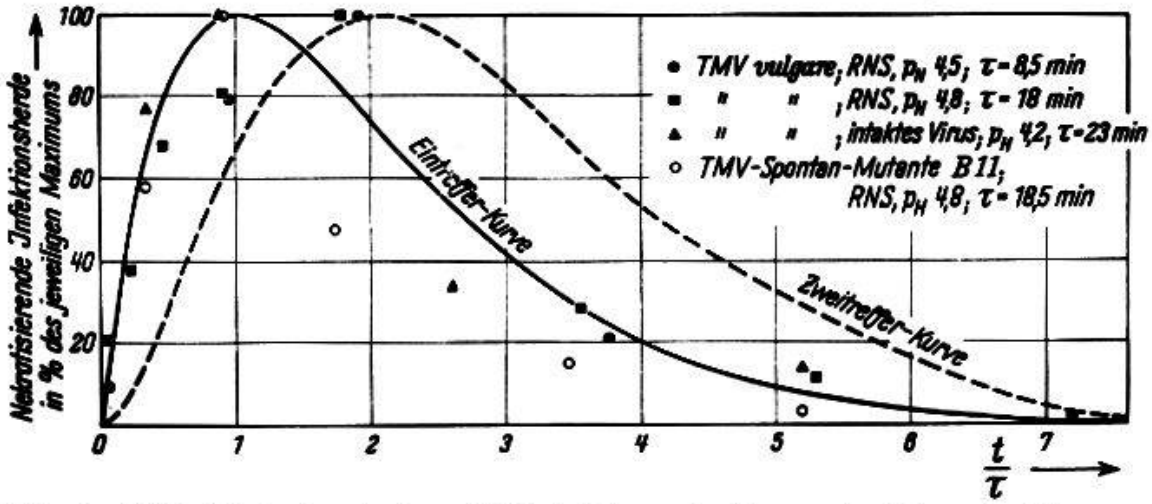

Abb. 4. *Abhängigkeit der absoluten Zahl je Blatt gefundener nekrotisierender Mutanten von der Trefferzahl je Viruspartikel bzw. RNS-Molekül.* Ein Treffer ist identisch mit einer Desaminierung (35). Die Trefferzahl ist gegeben durch den Quotienten t/τ, wobei t die Behandlungsdauer mit 1 M $NaNO_2$ unter den angegebenen Bedingungen (in min) ist und τ diejenige Zeit, die für eine Inaktivierung von 1 auf e^{-1} (37%) der Ausgangsinfektiosität benötigt wird. Den experimentellen Ergebnissen (•, ■, ▲) sind die errechneten Ein- bzw. Zwei-Treffer-Kurven gegenübergestellt (nach *Mundry* und *Gierer* [32]).

plettes Virus und die aus inkubiertem, komplettem Virus isolierte Nucleinsäure ebenfalls gleich (Tab. 2).

3. Da das verwendete TMV-Material entsprechend seiner bekannt mannigfaltigen spontanen Mutationsmöglichkeiten zu sehr zahlreichen, stark verschiedenen Stämmen mutieren kann, wäre es verwunderlich gewesen, wenn nur nekrotisierende Stämme nachweisbar gewesen wären. Mit Hilfe einer anderen Technik wurde darum das mit HNO_2 induzierbare Mutationsspektrum qualitativ verfolgt. Dies geschah durch Isolierung von Einzelherdinfektionen aus inkubiertem Material im Vergleich zu entsprechenden Isolierungen aus unbehandelten Kontrollen. Auf diese Weise konnte das Auftreten nicht nur nekrotisierender Typen, sondern einer noch mehrmals größeren Anzahl von anderen Mutationen mit sehr unterschiedlichen Merkmalen nachgewiesen werden (Tab. 3).

Diese Ergebnisse beweisen die Möglichkeit einer experimentellen Veränderung des genetischen Charakters von Nucleinsäure auf chemischem Wege in vitro. Um eine bestehende genetische Information zu ändern, um also eine Virusmutation zu erzeugen, genügt es, an einer der 6000 Basen des etwa 200 000 Atome umfassenden Moleküls der infektiösen TMV-RNS eine einzelne Aminogruppe gegen eine Hydroxylgruppe auszutauschen. Die im Zuge solchen Austausches auftretenden inaktivierten Partikel sind als Letalmutanten aufzufassen.

Es gibt drei verschiedene Gruppen von Desaminierungsmöglichkeiten an Nucleinsäuren, je nachdem ob die Aminogruppe eines Adenin-,

Tabelle 3

Übersicht über die nach Inkubation mit HNO_2 aus vulgare-TMV-RNS isolierten Mutationstypen. Im Vergleich dazu Kontrollisolierungen aus einer Kontrollgruppe gleicher Infektiosität. Isolierungen von einer Tabakrasse, die auf jede TMV-Infektion ausschließlich mit der Bildung von Einzelherden ohne systemische Infektion (vgl. Abb. 3) reagiert (= Nicotiana tabacum var. Xanthi necroticum). Übertragung solcher Einzelherdinfektionen auf jeweils Samsun- und Java-Tabak, die gemeinsam eine ziemlich differenzierte Diagnose auf Mutanten gestatten (nach *Mundry* und *Gierer* [31, 32]).

Inokulationsmaterial	vulgare-TMV-RNS, 96 min inkubiert mit 1 M $NaNO_2$ bei pH 4,8 (20 γ RNS pro ml Inoculum		Unbehandelte vulgare-RNS (0,19 γ RNS/ml Inoculum	
Infektiosität (Nekrosen je Xanthi-Blatt)	2,72		3,06	
Zahl abgeimpfter Xanthi-Nekrosen ...	60		65	
	Xanthi-Abimpfungen übertragen auf			
	Samsun-Tabak	Java-Tabak	Samsun-Tabak	Java-Tabak
a) nicht angegangene Abimpfungen ...	20	17	1	1
b) erfolgreiche Übertragungen	40	43	64	64
Gruppierung der erhaltenen Symptomtypen:				
c) wahrscheinlich vulgare (also unverändert)	7	12	64	64
d) ähnlich, aber nicht identisch mit vulgare	5	2	0	0
e) Adernbänderungstypen	7	5	0	0
f) abgeschwächte Stämme	10	9	0	0
g) verstärkte Stämme und systemisch nekrotisierende	5	2	0	0
h) helle Mosaiktypen	4	1	0	0
i) Stämme ohne systemische Infektion (vgl. Abb. 3).....	2	12	0	0
Total c–i	40	43	64	64

Guanin- oder Cytosin-Nucleotides getroffen wird (Abb. 2). Bei RNS, die Uracil als vierte Base enthält, kann durch die oxydative Desaminierung des Cytosins zu Uracil eine Base in einen der drei anderen natürlich vorkommenden Bausteine der RNS verwandelt werden. Es ist somit denkbar, wenn auch nicht bewiesen, daß im Falle einer solchen Änderung von Cytosin in Uracil die im Reagenzglas chemisch abgewandelte RNS nachher in der Zelle identisch reproduziert wird. Hypoxanthin und Xanthin sind immer in diesem Sinne «unnatürliche» Reaktionsprodukte. In Versuchen mit DNS muß selbst die Desaminierung des Cytosins zu

einem solchen «unnatürlichen» Reaktionsprodukt führen, weil DNS Thymin oder Hydroxymethylcytosin enthält, aber kein Uracil. Trotzdem aber waren Versuche mit salpetriger Säure an Bakteriophagen (36, 37) sowie dem transformierenden Prinzip der Pneumokokken (24) erfolgreich. Das beweist, daß die Entstehung solch «unnatürlicher» Basenhomologe keineswegs zwangsläufig den Verlust der Infektiosität herbeiführen muß, sondern auch mutagen wirken kann.

Der Vollständigkeit halber sollen zum Thema der Auslösung von Virusmutationen in vitro noch kurz Versuche mit Röntgenstrahlen und ultraviolettem Licht (UV) an reinen Viruspräparaten besprochen werden, obwohl es sich in diesen Fällen um Inaktivierungsphänomene handelt, deren Chemismus noch weitgehend ungeklärt ist. Nur in einem einzigen Fall wurde anscheinend erfolgreiche Mutagenese mit Röntgenstrahlen am TMV in vitro berichtet (14). In späteren Nachprüfungen ließen sich jedoch keine Resultate erzielen, denen zufolge diese Schlußfolgerung als bewiesen angesehen werden könnte. Vielmehr konnten sowohl *Gowens* als auch die eigenen Befunde auf leicht zu überblickende, infolge von Interferenzen zwischen verschiedenen Virusstämmen auftretende Selektionsphänomene zurückgeführt werden (27).

Zweifel an der Berechtigung der Feststellung, Röntgen- und UV-Strahlen wirken bei Anwendung auf isolierte Viren *nicht* mutagen, kamen Jahre später durch einige Experimente mit HNO_2. Aus verschiedenen Gründen wurde früher der Mutationsschritt von nekrotisierenden zu systemischen Stämmen des TMV als Grundlage für die Tests verwendet (Abb. 3). In entsprechenden Versuchen mit der sonst so wirkungsvollen salpetrigen Säure wurde später festgestellt, daß als Folge der Inkubation mit HNO_2 zwar starke Inaktivierung der nekrotisierenden Stämme, aber keine systemischen Infektionen nachweisbar waren (vgl. Abb. 3) (30a). Somit konnten die früheren negativen Ergebnisse in den Bestrahlungsexperimenten möglicherweise auf mangelnder Brauchbarkeit des Nachweisverfahrens für bestimmte Mutanten beruhen. Daraufhin wurden mit dem in Nitritversuchen bewährten, offensichtlich wesentlich geeigneteren Test von «normal» zu «nekrotisierend» neue Bestrahlungsserien mit UV aufgenommen. Die Ergebnisse dieser Versuche ließen zunächst einen im Verhältnis zur Inaktivierung zwar äußerst geringen, aber doch nachweisbaren mutagenen Effekt des UV auf TMV in vitro vermuten. Nach Korrektur der erhaltenen Daten für interferenzbedingte Selektionsphänomene (vgl. folgenden Absatz) mußte jedoch festgestellt werden, daß auch diese Andeutung eines mutagenen Effektes durch Selektion erklärt werden kann (30b). Die Annahme einer UV-induzierbaren Mutagenese im strengen Sinn, d. h. direkte Induktion genetisch sich auswir-

kender Veränderungen an Nucleinsäuren ohne notwendige Beteiligung einfacher Brüche in der Zucker-Phosphat-Kette des NS-Moleküls, bleibt damit nach wie vor unbewiesen[1].

Im Zusammenhang mit solchen Versuchen ist die Klärung von möglichen Selektionsphänomenen von ausschlaggebender Bedeutung. Da der Ausschluß von Selektionsereignissen, sei es durch geeignete Versuchsmethoden oder durch entsprechende Korrekturen bei der Auswertung der Experimente, ein Teil jedes Beweises auf Änderungen von Mutationsraten ist, kann in diesem Referat die diesbezügliche Problematik nicht völlig unerwähnt bleiben. Dies ist allein schon aus Gründen der Beantwortung einer vor einiger Zeit an den hier geschilderten Versuchen geübten Kritik (3) geboten. Diese Kritik bezieht sich durch ein Versehen auf Seiten ihres Autors im wesentlichen auf die Vorversuche zu den Nitritexperimenten. Die beweiskräftigen Resultate aus den Untersuchungen über die Kinetik der Mutationsauslösung durch HNO_2, deren Schlußfolgerung die Mutagenität einer einzelnen Desaminierung ist, bleiben durch sie unberührt. Außerdem kann diese Kritik in zwei entscheidenden Punkten logischerweise nur auf der Annahme beruhen, daß es auch infektiöses TMV-Material gibt, z. B. die RNS bestimmter Varianten, was gegen die desaminierende Wirkung der HNO_2 im Verhältnis zur Empfindlichkeit des Ausgangsmaterials vulgare ganz oder teilweise resistent ist. Die auf dieser Basis möglichen Selektionserscheinungen zeigen jedoch theoretisch einen Verlauf, der mit den Befunden aus den Experimenten, vor allem dem Eintreffer-Ereignis für die Produktion von Mutanten, unvereinbar ist (Abb. 5). Selbst wenn man auf der Basis einer fingierten Virusmischung aus 99,6% normaler vulgare-RNS und einer Verunreinigung von 0,4% völlig gegen HNO_2 resistenten, aber infektiösen Materials vom nekrotisierenden Typ die theoretisch denkbare Selektion errechnet und dann bei der Auswertung der Versuche berücksichtigt, müßten immer noch 75% aller auftretenden Java-Nekrosen auf in vitro erfolgte Mutationen zurückgeführt werden. Außerdem zeigt – ganz unabhängig von diesen quantitativen Details – allein schon der Kurven*verlauf*, wie wenig sich die experimentellen Befunde mit einem Selektionsereignis in Einklang bringen lassen. – Den anderen Kurven in Abb. 5 liegen weniger extreme Annahmen zugrunde: 20mal, 5mal bzw. 3mal gegen HNO_2 weniger empfindliche nekrotisierende Varianten als das Ausgangsmaterial vulgare, ebenfalls zu 0,4% der Anfangskonzentration an infektiösen Partikeln eingesetzt. Man sieht, daß die Annahme

[1] Auch die Befunde *Kriegs* (23) stehen hierzu nicht im Widerspruch, weil in seinen Experimenten auf Grund der Methodik UV-induzierte Brüche im Polynucleotidgerüst als Erklärungsmöglichkeit für den Effekt nicht ausgeschlossen sind.

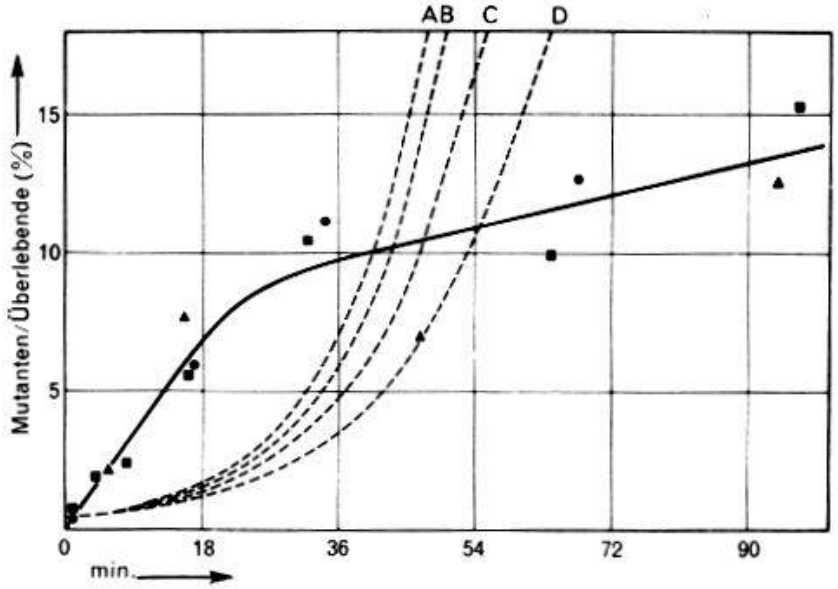

Abb. 5. *Mutationsauslösung mittels HNO_2 an isolierter RNS (•, ▪) bzw. dem Nucleoproteidpartikel (▲) des TMV und «chemische» Selektion gegen salpetrige Säure ganz oder teilweise resistenter, hypothetischer Varianten des TMV.* Die ausgezogene Linie repräsentiert den experimentell bestimmten Kurvenverlauf; die gestrichelten Linien zeigen den theoretisch zu erwartenden Kurvenverlauf, wenn das Ausgangsmaterial eine Verunreinigung von 0,4% völlig gegen HNO_2-resistenten (A), 20mal (B), 5mal (C) oder 3mal (D) weniger empfindlichen TMV-Materials enthielte. – Ordinate: % nekrotisierender Mutanten unter den Überlebenden. – Abscisse: Behandlungsdauer mit salpetriger Säure in Einheiten, die der Trefferzahl entsprechen. Die Abscisse trägt Minutenwerte, die für eine (18 min) bzw. mehrere Desaminierungen je vulgare-RNS-Molekül in 1 M $NaNO_2$ bei pH 4,8 gelten (▪). Für (•) und (▲) (vgl. Abb. 4) entsprechen die Abscissenabschnitte der Trefferzahl (1–5 Treffer je Partikel) (nach *Mundry* [29]).

einer chemischen Selektion teilweise resistenten Materials um so weniger akzeptabel wird, je geringer die Unterschiede zwischen vulgare und den fingierten, teilweise resistenten Verunreinigungen sind. Eine ausführlichere Darstellung der möglichen Selektionserscheinungen, die bei Mutationsuntersuchungen an phytopathogenen Viren vorkommen oder denkbar sind, sowie deren Berücksichtigung bei der Auswertung der Experimente ist inzwischen veröffentlicht (29).

Entsprechende Kontrollen von *Schuster* und *Schramm* haben gezeigt, daß außer Desaminierungen an den Basen keine anderen Reaktionen zwischen RNS und HNO_2 nachweisbar sind. Somit beruhen Mutation und Inaktivierung auf dem gleichen chemischen Ereignis, der Desaminierungen an den Basen, und zwar einzelner Basen, da das Eintreffergeschehen für Inaktivierung *und* Mutagenese nachgewiesen wurde. Die beiden genetisch verschiedenen Ereignisse, Inaktivierung und Mutation, können daher nicht auf zwei verschiedenen Reaktionsmöglichkeiten beruhen, sondern nur auf unterschiedlicher genetischer Bedeutung einzelner Nucleotide. Diese unterschiedliche Bedeutung der einzelnen Nu-

cleotide wird durch die folgende Überlegung noch klarer. Es gibt nur drei verschiedene, desaminierbare Basen im TMV-RNS-Molekül (Abb. 2), aber sehr viel mehr qualitativ gut unterscheidbare Mutationstypen und 3300 verschiedene Inaktivierungsmöglichkeiten je TMV-RNS-Molekül. Dies demonstriert aufs Neue die gute Berechtigung der Annahme, daß die genetische Bedeutung eines einzelnen Nucleotides von seiner Position in der Nucleotidkette abhängt, die genetische Information in einem Nucleinsäuremolekül also durch die Reihenfolge der Nucleotide in der Kette gegeben ist.

Es gibt bis jetzt keine Möglichkeit, eine bestimmte der 4500 desaminierbaren Basen zu treffen, also spezifische Mutagenese zu betreiben. Trotzdem kann die Mutationsauslösung an Viren in vitro einige medizinisch verwertbare Konsequenzen haben. So wurde z. B. erfolgreiche Mutationsauslösung auch für das Poliomyelitisvirus sowie seine isolierte infektiöse RNS berichtet (3a). – Man kann sich leicht überlegen, daß eine Anhäufung von desaminierten Basen im Nucleinsäuremolekül eine Abnahme seiner Mutabilität oder, anders gesagt, eine Zunahme seiner genetischen Stabilität zur Folge haben kann. Betreibt man im Zuge solcher Stabilisierungsbestrebungen gleichzeitig Auswahl bestimmter, z. B. stark abgeschwächter Mutanten, so sollte es möglich sein, aus einem virulenten Virus allmählich weitgehend harmlose Mutanten zu erhalten, bei denen eine Häufung einzelner Mutationsschritte zu «Harmlosigkeit» schließlich die Gefahr einer Rückmutation zu aggressiven Typen praktisch beliebig gut ausschließt. Der Wert solcher Stämme für Schutzimmunisierungen liegt auf der Hand.

Damit ist die Brücke von Versuchen am Tabakmosaikvirus als Modell zu medizinischen Problemen geschlagen.

Zusammenfassung

Die Einwirkung salpetriger Säure auf isoliertes Tabakmosaikvirus oder dessen isolierte, infektiöse Ribosenucleinsäure bewirkt eine drastische Erhöhung der Mutationsrate des Virus. Das mutationsauslösende Ereignis ist eine oxydative Desaminierung an den Basen der Nucleinsäure. Für die Entstehung einer Mutation genügt bereits der Austausch einer einzigen von den 4500 je TMV-RNS-Molekül vorhandenen Aminogruppen gegen eine Hydroxylgruppe, d. h. die oxydative Desaminierung einer einzigen von den 6000 Basen der TMV-RNS. Dies wurde durch die Kinetik der Mutationsauslösung (Abb. 4) bewiesen und kann – entgegen anders lautenden Überlegungen (3) – nicht durch Selektionsmöglichkeiten erklärt werden (Abb. 5).

Die Gegenwart der Eiweißkomponente des Virus ist ohne Einfluß auf die Mutagenese mittels salpetriger Säure.

Parallelversuche, am kompletten Virus Mutationen durch Bestrahlung mit UV in vitro zu erzeugen, blieben ohne Erfolg. Die beobachtete geringe Erhöhung der «Mutationsrate» kann hier sehr leicht auf Verschiebung von Selektionsgleichgewichten zurückgeführt werden. Die Annahme einer direkten Mutagenese durch UV-induzierte, genetisch wirksame Veränderungen an den Basen extracellulärer Nucleinsäuren oder Nucleoproteide wird durch diese Ergebnisse nicht gestützt.

Résumé

L'action de l'acide nitreux sur le virus isolé de la mosaïque du tabac, ou sur son acide ribonucléique infectieux, provoque une augmentation considérable du taux de mutations du virus. Le phénomène qui déclenche ces mutations est une désamination oxydative des bases de l'acide nucléique. Pour provoquer une mutation, il suffit de substituer un groupe hydroxyle à un seul des 4500 groupes aminés contenus dans la molécule TMV-RNA, ce qui équivaut à une désamination oxydative d'une seule des 6000 bases du TMV-RNA. Ce fait est prouvé par la cinétique de l'induction des mutations (fig. 4) et ne peut être expliqué par sélection (fig. 5), contrairement à l'opinion d'autres auteurs (3).

La présence du constituant protéinique du virus n'a aucune influence sur la mutagenèse induite par l'acide nitreux.

Des expériences parallèles, visant à déclencher des mutations sur le virus entier in vitro au moyen de rayons UV, n'ont eu aucun succès. Le nombre très faible de mutations observées ici peut facilement s'expliquer par des modifications des équilibres de sélection. Ainsi, n'a pu être confirmée l'hypothèse d'une mutagenèse directe, qui serait due à des modifications chimiques induites par les rayons UV dans les bases des acides nucléiques ou nucléoprotéides extracellulaires, sans aucune rupture des liaisons ribose-phosphate.

Riassunto

L'azione dell'acido nitroso sul virus isolato del mosaico del tabacco, oppure sul suo acido ribonucleico infettivo, determina un deciso aumento della quota di mutazioni del virus. L'evento che provoca le mutazioni è una desaminazione ossidativa delle basi dell'acido nucleinico. Affinchè si verifichi una mutazione è sufficiente lo scambio di uno solo dei 4500 gruppi aminici presenti in ogni molecola di acido ribonucleico del virus in questione con un gruppo idrossilico, cioè la desaminazione ossidativa

di una sola delle 6000 basi dell'acido ribonucleico del virus del mosaico. Ciò venne dimostrato dalla cinetica dell'induzione delle mutazioni (fig. 4) e non può – contrariamente a quanto altri pensano (3) – essere spiegato mediante possibilità di selezione (fig. 5).

La presenza del componente proteico del virus non ha alcuna importanza nella genesi delle mutazioni ottenute con acido nitroso.

Senza successo furono esperimenti paralleli diretti ad ottenere mutazioni del virus completo mediante irradiazione con raggi ultravioletti in vitro. Il leggero aumento della quota di mutazioni osservato in questi casi può molto facilmente essere attribuito a modificazione degli equilibri di selezione. Risulta pertanto non confermata l'ipotesi di una induzione diretta delle mutazioni mediante modificazioni chimiche provocate dai raggi ultravioletti in singole basi degli acidi nucleinici o delle nucleoproteine extracellulari, senza alcuna rottura dei legami ribosofosfato.

Summary

The action of nitrous acid on isolated tobacco mosaic virus or its isolated, infectious ribose nucleic acid causes a considerable increase in the mutation rate of the virus. Mutagenesis is due to oxidative deaminations of the bases of the nucleic acid. The exchange of a single of the 4500 amino groups of the TMV-RNA molecule by a hydroxyl group, i.e. the oxidative deamination of a single of the 6000 bases of the TMV-RNA, is sufficient to cause a mutation. This is proven by the kinetics of mutagenesis (Fig. 4) and cannot be explained by selection (Fig. 5), in contrast to certain opinions (3).

The presence of the protein component of the virus is without influence on the mutagenesis by nitrous acid.

Parallel experiments on the induction of virus mutations by irradiation of TMV with ultra-violet light in vitro were without success. The low increase of the mutation rate observed may very likely be due to selection. The assumption of a direct mutagenesis by ultra-violet-induced chemical changes of single bases of extracellular nucleic acids, or of nucleoproteins, without breaks of sugar-phosphate bonds, still remains unproven.

1. *Aach, H. G.:* Serologische Untersuchungen an Mutanten des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **12 b**, 614 (1957).
2. *Aach, H. G.:* Quantitative Aminosäuren-Analysen an Mutanten des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **13 b**, 425 (1958).
3. *Bawden, F. C.:* Effect of nitrous acid on tobacco mosaic virus: mutation or selection? Nature **184**, p. «B.A.» 27 (1959).

3a. *Boeyé, A.:* Induction of a mutation in poliovirus by nitrous acid. Virology **9**, 691 (1959).

4. *Franklin, Rosalind,* and *Klug, A.:* The nature of the helical groove on the tobacco mosaic virus particle. Biochem. biophys. Acta **19**, 403 (1956).

5. *Franklin, Rosalind, Klug, A.,* and *Holmes, K. C.:* X-ray diffraction studies of the structure and morphology of tobacco mosaic virus. Ciba Foundation Symposium on the nature of viruses. Little Brown, New York 1956. p. 39–52.

6. *Franklin, Rosalind,* and *Klug, A.:* zit. nach *M. F. Perutz:* Fortschritte in der Molekularbiologie. Endeavour **17**, 190 (1958).

7. *Friedrich-Freksa, H., Melchers, G.,* und *Schramm, G.:* Biologischer, chemischer und serologischer Vergleich zweier Parallelmutanten phytopathogener Viren mit ihren Ausgangsformen. Biol. Zbl. **65**, 187 (1946).

8. *Gierer, A.:* Structure and biological function of ribonucleic acid from tobacco mosaic virus. Nature **179**, 1297 (1957).

9. *Gierer, A.:* Die Größe der biologisch aktiven Einheit der Ribosenukleinsäure des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **13 b**, 485 (1958).

10. *Gierer, A.:* Größe und Struktur der Ribosenukleinsäure des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **13 b**, 477 (1958).

11. *Gierer, A.,* und *Schramm, G.:* Die Infektiosität der Nukleinsäure aus Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **11 b**, 138 (1956).

12. *Gierer, A.,* and *Schramm, G.:* Infectivity of ribonucleic acid from tobacco mosaic virus. Nature **177**, 702 (1956).

13. *Gierer, A.,* and *Mundry, K. W.:* Production of mutants of tobacco mosaic virus by chemical alteration of its ribonucleic acid in vitro. Nature **182**, 1457 (1958).

14. *Gowen, T. W.:* Mutation in Drosophila, bacteria, and viruses. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **9**, 187 (1941).

15. *Hershey, A. D.,* and *Chase, Martha:* Independent function of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. J. gen. Physiol. **36**, 39 (1952).

16. *Holmes, K. C.,* and *Franklin, Rosalind:* The radial density distribution in some strains of tobacco mosaic virus. Virology **6**, 328 (1958).

17. *Jensen, J. H.:* Isolation of yellow mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic virus. Phytopathology **23**, 964 (1933).

18. *Jensen, J. H.:* Studies on the origin of yellow mosaic viruses. Phytopathology **26**, 266 (1936).

19. *Jensen, J. H.:* Studies on representative strains of tobacco mosaic viruses. Phytopathology **27**, 69 (1937).

20. *Knight, C. A.:* The chemical constitution of viruses. Advanc. Virus Res. **2**, 153 (1954).

21. *Kramer, E.:* Elektrophoretische Untersuchungen an Mutanten des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **12 b**, 609 (1957).

22. *Kramer, E.,* und *Wittmann, G.:* Elektrophoretische Untersuchungen der A-Proteine dreier Tabakmosaikvirusstämme. Z. Naturforsch. **13 b**, 30 (1958).

23. *Krieg, D. E.:* Induced reversion of $T4r_{II}$ mutants by ultraviolet irradiation of extracellular phage. Virology **9**, 215 (1959).

24. *Litman, Rose M.,* et *Ephrussi-Taylor, Harriett:* Inactivation et mutation des facteurs génétiques de l'acide désoxyribonucléique du pneumocoque par l'ultraviolet et par l'acide nitreux. C. R. Acad. Sci. (Paris) séance du 10 août 1959.

25. *Melchers, G.:* Über einige Mutationen des Tabakmosaikvirus und eine «Parallelmutation» des Tomatenmosaikvirus. Naturwissenschaften **30**, 48 (1942).

26. *Melchers, G., Schramm, G., Trurnit, H.,* und *Friedrich-Freksa, H.:* Die biologische, chemische und elektronenmikroskopische Untersuchung eines Mosaikvirus aus Tomaten. Biol. Zbl. **60**, 524 (1942).

27. *Mundry, K. W.:* Zur Frage des Einflusses von Röntgen- und UV-Strahlen auf die Mutationsrate des Tabakmosaikvirus nach Bestrahlung reiner Präparate. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **88**, 115 (1957).
28. *Mundry, K. W.:* Über die Korrelation zwischen Partikellänge und Infektiosität beim Vergilbungsvirus der Rüben. Z. Naturforsch. **13 b**, 19 (1958).
29. *Mundry, K. W.:* The effect of nitrous acid on tobacco mosaic virus: mutation, not selection. Virology **9**, 722 (1959).
30a. *Mundry, K. W.:* Mutationsuntersuchungen am Tabakmosaikvirus in vitro. I: Die Abhängigkeit der Mutagenese mit HNO_2 von der Mutationsrichtung. Z. Vererb.-Lehre **91**, 81 (1960).
30b. *Mundry, K. W.:* Mutationsuntersuchungen am Tabakmosaikvirus in vitro. II: Versuche zum Problem der Mutagenese durch UV-Bestrahlung reiner Viruspräparate. Z. Vererb.-Lehre **91**, 87 (1960).
31. *Mundry, K. W.*, und *Gierer, A.:* Der mutagene Effekt von salpetriger Säure auf Ribosenukleinsäure des Tabakmosaikvirus in vitro. Proc. 4. Internat. Congr. Biochemistry, Wien 1958.
32. *Mundry, K. W.*, und *Gierer, A.:* Die Erzeugung von Mutationen des Tabakmosaikvirus durch chemische Behandlung seiner Nukleinsäure in vitro. Z. Vererb.-Lehre **89**, 614 (1958).
33. *Nixon, H. L.:* The structure of tobacco mosaic virus protein. Virology **10**, 157 (1960).
34. *Norval, I. P.:* Derivatives from an unusual strain of tobacco mosaic virus. Phytopathology **28**, 675 (1936).
35. *Schuster, G.*, und *Schramm, G.:* Bestimmung der biologisch wirksamen Einheit des Tabakmosaikvirus auf chemischem Wege. Z. Naturforsch. **13 b**, 697 (1958).
36. *Tessman, I.:* Mutagenesis in Phages x 174 and T4 and properties of the genetic material. Virology **9**, 375 (1959).
37. *Vielmetter, W.*, und *Wieder, C. M.:* Mutagene und inaktivierende Wirkung salpetriger Säure auf freie Partikel des Phagen T2. Z. Naturforsch. **14 b**, 312 (1959).
38. *Watson, J. D.*, and *Crick, F. H. C.:* Molecular structure of nucleic acids. Nature **171**, 737 (1953); Genetical implications of the structure of desoxyribonucleid acid. Nature **171**, 964 (1953).
39. *Wittmann, H. G.:* Darstellung und physikochemische Charakterisierung der Peptidketten des Tabakmosaikvirus. Experientia (Basel) **15**, 174 (1959).
40. *Wittmann, H. G.:* Vergleich der Proteine des Normalstammes und einer Nitritmutante des Tabakmosaikvirus. Z. Vererb.-Lehre **90**, 463 (1959).
41. *Wittmann, H. G.*, and *Braunitzer, G.:* Isolation and composition of all tryptic peptides of TMV. Virology **9**, 726 (1959).

Diskussion:

C. Hallauer (Bern): Welche Ergebnisse haben die Kombinationsversuche in vitro von *Fraenkel-Conrat* ergeben?

An *Hallauer: Fraenkel-Conrat* hat einmal berichtet, Rekonstitution von Nucleoproteidpartikeln aus infektiöser TMV-RNS eines Stammes und dem Hüllprotein eines anderen könnte den genetischen Charakter des Virus ändern. Diese Behauptung wurde inzwischen von ihm zurückgenommen.

F. Kradolfer (Basel): Dr. *Mundry*, Sie haben uns bereits erklärt, daß heterologes Protein von TMV die RNA nicht so vollkommen «schützt» wie das stammeigene Protein. Gibt es denn andere Stoffe, die ebenfalls eine Schutzwirkung für «nackte» RNA haben?

An *Kradolfer:* Außer TMV-Protein, das auf Grund seiner Kombination mit TMV-RNS zu Nucleoproteidpartikeln die RNS weitgehend schützt, ist mir kein entsprechend wirksamer Stoff bekannt.

W. Baumgartner (Interlaken): Es würde mich interessieren zu wissen, ob experimentelle Versuche einer Beeinflussung des Viruswachstums mit den in der klinischen Therapie gebräuchlichen, durch kompetitive Verdrängung in den Nucleinsäurestoffwechsel eingreifenden Cytostatica vorliegen. Ich denke an Medikamente, wie die sogenannten Folsäure- und Purinantagonisten, mit denen es gelingt, die Nucleinsäuresynthese und damit das Wachstum von stark proliferierenden Leukämie- und Tumorzellen zu hemmen. Wären diese oder ähnliche Stoffe nicht geeignet, in analoger Weise den Aufbau der Virussubstanz zu stören?

An *Baumgartner:* Eine Chemotherapie durch kompetitive Verdrängung stößt bei Virusinfektionen auf folgende prinzipielle Schwierigkeit: Die Virusproduktion obliegt der Wirtszelle; man muß den Wirtstoffwechsel ändern, um diese Produktion unterbinden zu können. In Ausnahmefällen mag das ohne Beeinflussung der Zusammensetzung der Wirtsnucleinsäuren und damit ohne Schaden für den Wirt möglich sein, z. B. wenn die Virusnucleinsäure eine Komponente enthält, die offenbar in den Wirtsnucleinsäuren nicht vorkommt (5-Hydroxymethylcytosin bei dem Bakteriophagen T_2). – Etliche Untersuchungen an phytopathogenen Viren zur Chemotherapie von Virusinfektionen mit Basenhomologen (Thiouracil, 8-Azaguanin usw.) haben im Falle einer Reduktion der Virusvermehrung immer eine Störung, wenn nicht Sistierung des Wachstums des Wirtsgewebes zur Folge gehabt.

An *Hoskins:* At present, there are no conditions known under which a particular type of deamination can be favoured, or whether anyone of the three types of possible deaminations is preferably mutagenic or inactivating. It is clear that a change from one to another natural base by deamination is possible with RNA only (if cytosine is converted to uracil). The mutagenic action of deaminations has been confirmed recently for DNA-containing particles. At least in DNA, other changes than those to natural occurring bases must be mutagenic also.

W. A. Vischer (Basel): Lassen die mit der Nitritmethode erzielten Mutationen sämtliche den Verlust einer Eigenschaft erkennen oder treten auch solche auf, bei denen eine neue Eigenschaft gewonnen wird?

An *Vischer:* Außer den – sehr häufig auftretenden – nekrotisierenden Mutanten, deren Induktion für die quantitative Untersuchung der Kinetik der Mutationsauslösung verfolgt wurde, sind im Abimpfungsexperiment zahlreiche andere Mutationstypen isoliert worden. Unter diesen sind sowohl solche, die den Wirtsorganismus sehr viel stärker schädigen, als es beim Ausgangsmaterial der Fall ist (Tab. 3, g), als auch – und zwar etwas häufiger – Stämme mit mehr oder weniger stark abgeschwächten oder praktisch unsichtbaren Symptomen (Tab. 3, f). Im Prinzip kann jede dieser Mutanten auch spontan entstehen, nur sind sie – ohne experimentelle Mutagenese – so selten, daß man viele tausend Abimpfungen aus unbehandeltem Kontrollmaterial machen müßte, um eine ähnliche Kollektion von Stämmen erhalten zu können.

An *Löffler*, bezüglich praktische Verwertbarkeit: Möglicherweise medizinisch verwertbare Konsequenzen bieten Mutagenese und Inaktivierung. Mutagenese und anschließende Selektion z.B. abgeschwächter Mutanten kann bei mehrfacher Wiederholung zu genetischer Stabilisierung des Charakters «abgeschwächt» führen, und zwar dann, wenn es gelingt, mehrere unabhängige Mutationen zu «abgeschwächt» auf dem Nu-

cleinsäuremolekül zu induzieren. Solche Stämme müßten für Schutzimmunisierungen mit vermehrungsfähigem Virus sehr geeignet sein, allerdings unter der Voraussetzung, daß die Antigeneigenschaften nicht nennenswert von denen des virulenten Ausgangsmaterials abweichen. (Nachträgliche Anmerkung: Dies ist zumindest in einigen Fällen sehr wahrscheinlich, seit *Wittmann* zeigen konnte, daß die Mutagenese mit HNO_2 die quantitative Aminosäurenzusammensetzung der Eiweißhülle des Viruspartikels unverändert lassen kann. Das Hüllprotein der ersten von ihm untersuchten Nitrit-Mutante des TMV-Stammes vulgare hat die gleiche Aminosäurenzusammensetzung wie das der Ausgangsform [40].)

W. Löffler (Zürich): Vom medizinischen Standpunkt aus bedeutet die Unangreifbarkeit der Viren innerhalb des menschlichen Organismus bzw. innerhalb der Zelle eine therapeutisch besonders schwerwiegende Eigenschaft. Die schönen Versuche von Herrn *Mundry* lassen nun offenbar eine besondere Mutabilität des Tabakmosaikvirus ersehen, indem der Austausch einer Endgruppe im Molekül bereits eine Aufhebung der Wachstumsfunktion bedingt. Damit wäre also für dieses Virus und in Analogie wohl auch mit andern ein Ziel gegeben. Es fehlte dann nur das Geschoß, das dieses Ziel erreichen kann, ohne die Wirtszelle zu schädigen, womit ein Lichtblick in das therapeutisch bisher so unangreifbar scheinende Gebiet der Viruskrankheiten gegeben wäre. Ein Suchen nach Geschossen, die dieses Ziel erreichen könnten, schiene zur Zeit für die Menschheit ersprießlicher als das Schießen nach dem Mond.