

Das Verhältnis Zellen — Virus beim Rous-Hühnersarkom

Es wird die Frage gestellt, ob die starken Schwankungen der Virusausbeute, die die einzelnen Extrakte zeigen, nicht durch das verschiedene Verhalten der einzelnen Zellbevölkerungen des Tumors verursacht seien.

Durch Trypsinisierung wurden Zellsuspensionen aus Tumoren, die von beimpften Küken und Chorioallantoismembranen stammten, hergestellt und die Zahl der lebenden Zellen nach Neutralrotfärbung mit dem Häemocytometer bestimmt. Ein Teil der Zellen wurde in destilliertem Wasser aufgeschwemmt und mehrere Male eingefroren und aufgetaut (= Virus), die anderen Zellen desselben Tumors in Hanksscher Salzlösung aufgeschwemmt. Nach geeigneter Verdünnung wurden sowohl Virus wie Zellen auf die Chorioallantoismembran 11-tägiger Hühnerembryonen beimpft, und nach 7 Tagen wurde die Zahl der Herde bestimmt¹⁾, 2).

Unter den verschiedenen Tumoren des Experiments variierte das Verhältnis der aufgetretenen Herde zwischen einem Herd für 25 bis zu 622 verimpften Zellen. Auch die Zahl der Herde, die durch Viren erzeugt wurden, schwankte je nach dem Tumor zwischen 1:112 und 1:2750 Zellen, aus denen das Virus extrahiert wurde. Aber das daraus berechnete Verhältnis Herde durch Virus pro Herde durch Zellen veränderte sich bei den einzelnen Tumoren nur von 1:4 bis 1:16.

Es hat den Anschein, als ob die Zellbevölkerung eines Rous-Sarkoms im Moment des Versuches aus drei verschiedenen Zellgruppen besteht: 1. Die große Mehrheit der Zellen ist nicht imstande, Tumoren auf der Chorioallantois zu bilden (= nonproliferative Zellen). 2. Ein sehr variabler Anteil der Zellen beinhaltet kein infektionstüchtiges Virus im Momente des Versuches, kann aber die Bildung von Tumoren auslösen (= proliferative Zellen). 3. Aus einer Anzahl von Zellen, die in einem ziemlich konstanten Verhältnis zur Menge der proliferativen Zellen stehen, ist die Extraktion von Virus möglich.

Durch die Anwesenheit von nonproliferativen Zellen unterscheidet sich das Rous-Sarkom von anderen transplantablen Tumoren — wie z. B. Ascitessarkom von Yoshida —, bei denen jede Tumorzelle proliferativ ist³⁾. Die starken Schwankungen des Verhältnisses zwischen nonproliferativen und proliferativen Zellen sowie die relative Konstanz des Verhältnisses zwischen tumor erzeugenden Zellen und Virus und die Tatsache, daß die Tumorbildung beim Rous-Hühnersarkom an die Anwesenheit von Virus eng gebunden ist, erlauben folgende Hypothese: die proliferativen Zellen enthalten im Momente des Versuches Virussubstanzen (Provirus?), die auf der Chorioallantoismembran zum infektionstüchtigen Virus heranreifen und dann — ebenso wie die virushaltigen Zellen — Tumoren erzeugen können. Diese Virusentwicklung geht nach einem bestimmten Rhythmus vor sich, woraus sich die Konstanz des Verhältnisses proliferative Zellen—Virus erklären läßt. Die nonproliferativen Zellen können sich möglicherweise aus zwei Zellarten zusammensetzen. Ein Teil dieser Zellen könnte keine Virusinfektion durchgemacht haben. Es ist aber wahrscheinlicher, daß zumindest der größte Teil der nonproliferativen Zellen zwar das Virus aufgenommen hat, aber daß es nur zu einer abortiven Virussynthese in verschiedenen Stadien kommt. Diese Hypothese von der Bildung von „imperfekten“ Viruspartikeln steht in gutem Einklang mit den heutigen Auffassungen über die Phylogenese der Geflügeltumorviren⁴⁾ und besitzt eine Parallele in der Entwicklung des Shopeischen Kaninchenpapilloms⁵⁾ vom virushaltigen Tumor zum „Verlust der Filtrierbarkeit“. Freilich wurden bei dem letzteren Tumor keine Analysen der Zellpopulationen durchgeführt; die angenommene Entwicklung beim Rous-Sarkom vollzieht sich auch innerhalb desselben Tumors. Die Bestätigung der Hypothese bedarf jedoch noch zahlreicher Versuche.

Abteilung Virologie der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin W 8

E. EDLINGER

Eingegangen am 25. Oktober 1957

¹⁾ KEOGH, E. V.: Brit. J. Exp. Path. 19, 1 (1938). — ²⁾ RUBIN, H.: Virology 2, 545 (1956). — ³⁾ HOSAKAWA, K.: Gann 41, 236 (1950). — ⁴⁾ DURAN-REYNALS, F.: Bull. du Cancer 38, 114 (1956). — ⁵⁾ SMITH, W. E., J. G. KIDD u. P. ROUS: J. of Exp. Med. 95, 299 (1952).

Der elektronenmikroskopische Nachweis der Mitochondrien in *Saccharomyces cerevisiae*

Bei den Hefen sind die Mitochondrien seit den Untersuchungen von GUILLIERMOND³⁾ immer wieder Gegenstand der cytologischen Forschung gewesen^{1 b)}. Als Ergebnis aller

Naturwiss. 1957

Bemühungen darf man zusammenfassend berichten, daß von einer Reihe von Autoren^{1 b)} mit den spezifischen Färbemethoden für Mitochondrien (Altmann, Regaud, TTC-, Nadi-, Janusgrün-Reaktion) runde oder lange fadenförmige Strukturelemente in der Hefezelle als Mitochondrien identifiziert wurden. Diese Spezifität ist aber durch kritische Arbeiten in Frage gestellt worden^{1 a), 2), 4), 12)}, so daß heute als einzig sicherer Beleg für die Existenz der Mitochondrien in einem Organismus die elektronenmikroskopische Abbildung gewertet werden kann. Das gilt sicher für die Mitochondrien der höheren Pflanzen, deren Feinstruktur von PALADE⁸⁾, MÜHLETHALER⁷⁾, PERNER⁹⁾, HEITZ⁵⁾, STRUGGER^{10 b)} beschrieben wurde. Bei den niederen pflanzlichen Organismen sind bei den Pilzen nur Mitochondrien von *Allomyces macrogynus*¹¹⁾ bekannt geworden, bei den Schizophyta wurden sie bislang trotz der positiv verlaufenden Nachweisreaktionen nicht gefunden. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, daß diese „Orte mit Mitochondrienfunktion“⁶⁾ eine andere Struktur besitzen.

Die eigenen Untersuchungen wurden an der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* durchgeführt. Die Zellen wurden nach der Fixation mit gepufferter Osmiumsäure mit dem von STRUGGER^{10 a)} eingeführten Uranylacetat 2 Std lang behandelt.

Fig. 1 a—c

Fig. 2

Fig. 1 a—c. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Mitochondrien mit „cristae mitochondriales“ in Hefezellen (*Saccharomyces cerevisiae*). Os.-Fix. Uranylkontrast. PV 8000, EV 38000

Fig. 2. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Mitochondrien aus 3 Tage alter Wurzelspitze von *Allium cepa*. Os-Fix.-Uranylkontrast. PV 8000, EV 27000. Aufnahme von Herrn Prof. STRUGGER zur Verfügung gestellt

Am gleichen Material wurden zunächst lichtmikroskopische Untersuchungen ausgeführt. Nach Färbung mit Janusgrün B waren die runden Mitochondrien nur in Nähe der Zellwand zu finden. Die Ultradünnschnittbilder zeigten im Elektronenmikroskop ebenfalls in Zellwandnähe entsprechende Körper, die langgestreckt, elliptisch bis oval waren, aber nie rund oder fädig. Diese für Mitochondrien gehaltenen Körper besitzen eine Länge von 0,45 bis 0,65 μ und eine Breite von 0,27 bis 0,38 μ . Die Anzahl der Mitochondrien in einem Ultradünnschnitt schwankt bei diesem Material zwischen 6 und 10

An genügend dünnen Schnitten erkennt man sicher, daß sie von einer 150 bis 200 Å dicken Doppelmembran umgeben sind. Von der inneren Membran erstrecken sich tubulöse Aussackungen, die große Ähnlichkeit mit den „cristae mitochondriales“ der höheren Pflanzen und Tiere haben (Fig. 1 a und b). In Fig. 1 c ist ein großer Teil dieser „cristae“ wegen der Dicke des Schnittes erhalten geblieben, und man erkennt ihre Länge daran, daß einige von ihnen fast die gegenüberliegende Wand erreichen. Ihr Durchmesser wurde zwischen 175 und 225 Å gefunden.

Betrachtet man zum Vergleich die Mitochondrien aus der Wurzelspitze von *Allium cepa* in Fig. 2 (die Aufnahme wurde freundlicherweise von Herrn Prof. STRUGGER zur Verfügung gestellt), so findet man nicht nur eine weitgehende Übereinstimmung im Feinbau, sondern auch der Größenverhältnisse. Die äußere Doppelmembran bei *Allium cepa* mißt 150 bis 200 Å, und die Durchmesser der „cristae“ liegen zwischen 200 und 250 Å. Die Mitochondrien sind hier von 0,6 bis 0,9 μ (maximal 1,4 μ) lang und durchschnittlich 0,5 μ breit. Es besteht somit kein Zweifel, daß die beschriebenen Körper mit