

Das Auftreten von Viruspartikeln in *Abutilon*-Chloroplasten

Es ist seit längerer Zeit bekannt, dass die gelbfleckige Chlorose der *Abutilon*-Blätter als eine Viruskrankheit aufzufassen ist. Die gefleckte Variation dieser Pflanze wurde ursprünglich 1809 von Westindien nach Europa eingeführt. Da die Buntfleckigkeit von einer Pflanze zur anderen nicht übertragbar war, weder in Europa noch in den Vereinigten Staaten, wurde diese Abart zuerst als eine hortikulturelle Variation klassifiziert. BAUR, Gründer des Institutes für Vererbungsforschung Berlin, zeigte 1904, dass die Variation durch Pfropfung auf normale Pflanzen übertragen werden kann¹. Er hat daraus geschlossen, dass die Scheckung der Blätter nicht eine vererbliche Eigenschaft darstellt, sondern durch eine Infektion hervorgerufen wird.

ORLANDO und SILVERSMITH berichteten 1946, dass das Virus der infektiösen Chlorose mittels des Insektenvektors *Bemisia tabaci* übertragen wird². BIEBEL untersuchte die Histologie und Physiologie sowohl der virusinfizierten als auch der normalen grünen Abschnitte der Blätter³. POSZAR erforschte den DNA-Gehalt der virusinfizierten Zellen⁴. Die Feinstruktur der Virusteilchen und ihre Assoziation mit den Chloroplasten ist jedoch bis heute noch nicht beschrieben worden.

Diese Mitteilung behandelt die elektronenoptische Struktur der Viruspartikeln und deren Vorkommen in den Chloroplasten von *Abutilon striatum* V. Thompson.

Die gelben Flecken in jungen infizierten *Abutilon*-Blättern sind klein, und ihre Anzahl ist gering. Mit dem Wachstum der Blätter nehmen Grösse und Anzahl der Flecken zu.

Bei Untersuchung dieser Blätter mit dem Elektronenmikroskop findet man sphäroid aussehende Teilchen mit einem Durchmesser von ungefähr 800 Å. Jedes Partikel besteht aus einem dunkelgefärbten zentralen Kern mit einem Durchmesser von circa 160 Å, welcher von einer inneren und einer äusseren Hülle umgeben ist. Die Regelmässigkeit in Grösse und Form und die komplizierte Struktur mit Grenzmembran führt zu der Vermutung,

dass es sich um Viruspartikel handelt. Sie befinden sich im Cytoplasma, und es zeigt sich, dass sie auch in die Chloroplasten eindringen können (Figur 1 und 2). Man findet sie hier entweder als gereifte Virusteilchen oder als kugelförmige Anhäufungen.

Nachdem Viruspartikel in den Chloroplast eingedrungen sind, degeneriert die lamellare Struktur der Zelle

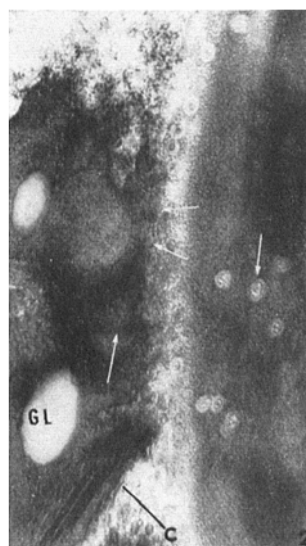


Fig. 2. Querschnitt durch Zelle zeigt stark differenzierte Viruspartikel (Pfeile), mit zentralem Kern, innerer und äusserer Hülle. Degenerierter Chloroplast (C) enthält Viruspartikel und kugelförmige Gebilde (GL). $\times 40000$.

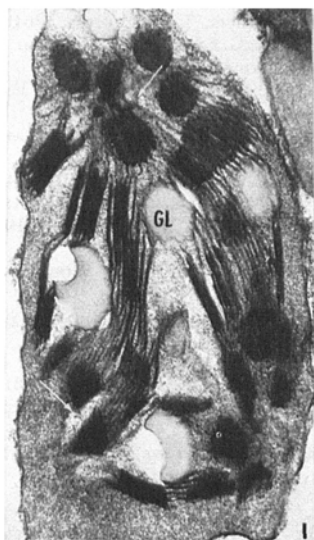


Fig. 1. Chloroplast von einer Mesophyllzelle eines virusinfizierten *Abutilon*blattes. Viruspartikel (Pfeile) und kugelförmige Gebilde (GL). Granum (G). $\times 40000$.

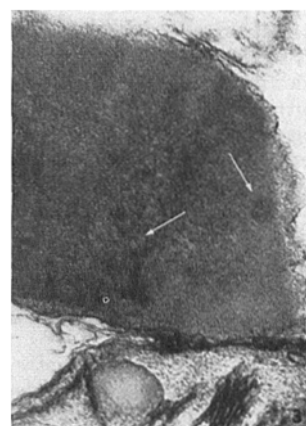


Fig. 3. Viruspartikel (Pfeile), eingelagert im kristallinen Gitterwerk. $\times 40000$.

¹ E. BAUR (1906), in K. SILVERSMITH and L. R. TOMMAS, *Observações e Estudos sobre Espécies de Plantas Suscetíveis a Chlorosis Infectiosa das Malvaceas* (1955).

² A. ORLANDO und K. SILBERSCHMIDT, *Arq. Inst. biol. (São Paulo, Brasil)* 17, 1 (1946).

³ R. BIEBEL, *Protoplasma* 39, 168 (1949).

⁴ B. J. POSZAR, *Chem. Abstr.* 51, 10669h (1957).

stufenweise. Der Chloroplast erscheint am Ende als ein kleiner, unregelmässig geformter Körper. Manchmal bildet sich in seinem Innern ein kompakter Kristall, welcher im Elektronenmikroskop abwechselnd helle und dunkle Streifen aufzuweisen scheint. Zuweilen können Virusteilchen im Kristall beobachtet werden (Figur 3)⁵.

Summary. The leaves of *Abutilon striatum* v. Thompson infected with chlorosis proved to contain spheroid virus particles of about 800 Å diameter. Each particle consisted of a central dark staining core of about 160 Å. This central core is surrounded by an inner and an outer envelope. The

particles are found in the cytoplasm, and there is evidence to show that virus particles are able to penetrate into the chloroplasts.

C. N. SUN

Department of Pathology, School of Medicine, St. Louis University, St. Louis (Missouri USA), March 1, 1964.

⁵ Der Autor dankt Dr. SUZANNE SAURESSIG bestens für die Übersetzung der Arbeit ins Deutsche.

Einfluss der DOPA-Transaminierung auf die DOPA-Decarboxylierung *in vitro*

L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) wird im Säuger sowohl durch die Decarboxylase aromatischer L-Aminosäuren (DC)¹ als auch durch eine Transaminase²⁻⁶ umgesetzt. Das quantitative Verhältnis zwischen DOPA-Decarboxylierung und -Transaminierung wurde bisher noch nicht untersucht. Einerseits ist es möglich, dass beide Enzyme um DOPA konkurrenzieren; denn für die DC^{7,8} wurde eine Michaelis-Menten-Konstante von 5×10^{-2} bis $5 \times 10^{-4} M$, für die Transaminase⁴ von $3 \times 10^{-3} M$ angegeben. Andererseits ist es denkbar, dass sich die beiden Reaktionen gegenseitig hemmen. *In vitro* wird nämlich die DC-Aktivität durch die bei der Transaminierung von L-Phenylalanin und L-Tyrosin entstehenden aromatischen α -Ketosäuren erheblich vermindert, z. B. $3 \times 10^{-3} M$ Phenylpyruvat hemmen die DC um mindestens 50%; Metabolite von aromatischen α -Ketosäuren wie Phenyl- und 3,4-Dihydroxyphenylacetat, Phenyllactat, haben eine ähnliche Hemmwirkung⁹⁻¹⁴. DC-Hemmung durch aromatische α -Ketosäuren und ihre Metaboliten ist möglicherweise bei der Oligophrenia phenylpyruvica von wesentlicher Bedeutung^{11-13, 15-20}.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob in normalen Rattengewebe *in vitro* die DOPA-Decarboxylierung durch zugesetztes oder mittels DOPA- α -Ketoglutarat-Transaminierung entstandenes 3,4-Dihydroxyphenylpyruvat (DOPP) beeinflusst wird. Die DC-Aktivität wurde vergleichsweise mit Totalhomogenaten und Überstand gemessen, da in verschiedenen Rattengewebe ein erheblicher Anteil der DOPA-Transaminierung an partikuläre Zellbestandteile gebunden ist²¹.

Methodik. Die Organe weiblicher Wistar-Ratten (90 bis 120 g; 16 h gefastet; Gruppen von mindestens 5 Tieren) wurden unmittelbar nach Dekapitation in Puffer (0,1 M Kalium-Phosphat, pH = 7,4; 2°; N₂-gesättigt) vereint, gewaschen und mittels eines konischen Potter-Elvehjem-Homogenisators (Glas) in 3 Vol Puffer homogenisiert.

Vom Totalhomogenat sowie vom Überstand (Zentrifugieren mit $20000 \times g$ während 30–45 min; 2°) wurden aliquote Teile unter N₂ während 10 min auf 37,5° erwärmt, mit L-DOPA versetzt und weitere 15 min inkubiert. Variable Zusätze: DOPP $2,5 \times 10^{-3} M$; Natrium- α -Ketoglutarat $2,5 \times 10^{-3} M$; Pyridoxal-5'-phosphat $1 \times 10^{-4} M$. Als Leerwerte dienten nicht-inkubierte Ansätze. Die Bestimmung der Decarboxylaseaktivität erfolgte nach DAVIS und AWAPARA²² durch photometrische Messung des neugebildeten Dopamin mit folgenden Modifikationen:

(a) Amberlite CG 50, Typ 2 (H⁺-Form), cyclisiert²³ und mit 8 N Essigsäure gewaschen; (b) Überführung beider Amberliteportionen in die K⁺-Form unmittelbar vor Gebrauch (mittels 0,1 M Kalium-Phosphat-Puffer, pH = 7,4); (c) Dopaminelution der Amberlitesäule durch 20 ml 2 N Essigsäure; (d) Enteiweissung der Gehirnhomogenate mit Ba(OH)₂/ZnSO₄ (pH = 7,1 – 7,4 nach Zentrifugieren des Niederschlages) anstelle der in allen anderen Versuchen verwendeten Äthanol-fällung im kochenden Wasserbad.

Der Ablauf der durch Zusatz von α -Ketoglutarat bedingten DOPA-Transaminierung wurde (nach Enteiweissung mit HClO₄) anhand der Bildung des Boratkomplexes des Enol-DOPP²⁴ sowie von ¹⁴COOH-DOPP aus ¹⁴COOH-L-3,4-DOPA¹⁸ nachgewiesen.

¹ Review in A. PLETSCHER, K. F. GEY und W. P. BURKARD, *Handbuch für experimentelle Pharmakologie*, Erg.-Bd. XIX (Ed. V. Erspamer, Springer-Verlag, Heidelberg), im Druck.

² P. S. CAMMARATA und P. P. COHEN, *J. biol. Chem.* **187**, 439 (1950).

³ Z. N. CANELLAKIS und P. P. COHEN, *J. biol. Chem.* **222**, 63 (1956).

⁴ G. A. JACOBY und B. N. LA DU, *J. biol. Chem.* **239**, 419 (1964).

⁵ F. FONNUM, R. HAAVALDSEN und O. TANGEN, *J. Neurochem.* **11**, 109 (1964).

⁶ R. HAAVALDSEN, *Biochem. J.* (P, in press, 1964).

⁷ H. F. SCHOTT und W. G. CLARK, *J. biol. Chem.* **196**, 449 (1952).

⁸ J. H. FELLMAN, *Enzymologia* **20**, 366 (1959).

⁹ G. J. MARTIN, R. BRENDEN und J. M. BEILER, *Exp. Med. Surg.* **87**, 5 (1949).

¹⁰ W. J. HARTMAN, R. I. AKAWIE und W. G. CLARK, *J. biol. Chem.* **216**, 507 (1955).

¹¹ J. H. FELLMAN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **93**, 413 (1956).

¹² A. N. DAVISON und M. SANDLER, *Nature* **181**, 186 (1958).

¹³ I. HUANG und D. Y. Y. HSIA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **112**, 81, (1963).

¹⁴ J. M. HICKS, D. S. YOUNG und I. D. P. WOOTTON, *Clin. chim. Acta* **9**, 228 (1964).

¹⁵ C. M. B. PARE, M. SANDLER und R. S. STACEY, *Lancet* **II**, 1099 (1958).

¹⁶ J. B. BOYLEN und J. H. QUASTEL, *Biochem. J.* **80**, 644 (1961).

¹⁷ F. B. GOLDSTEIN, *J. biol. Chem.* **236**, 2656 (1961).

¹⁸ H. L. NADLER und Y.-Y. HSIA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **107**, 721 (1961).

¹⁹ F. A. REICHEL, R. C. BALDRIDGE, J. DOBBS und M. TROMPETTER, *J. Am. med. Ass.* **178**, 939 (1961).

²⁰ T. L. PERRY, *Science* **136**, 879 (1962).

²¹ K. F. GEY, in Vorbereitung (1964).

²² V. E. DAVIS und J. AWAPARA, *J. biol. Chem.* **235**, 124 (1960).

²³ C. H. W. HIRS, S. MOORE und W. H. STEIN, *J. biol. Chem.* **200**, 493 (1953).

²⁴ E. C. C. LIN, B. M. PITT, M. CIVEN und W. E. KNOX, *J. biol. Chem.* **233**, 668 (1958).