

schnitten 1 mg/ml. *Aq. dest.*, zur Anwendung. Vor der Inkubation der Schnitte – 15 bis 20 h bei 42°C – wurde die Ribonuclease-Lösung zur Inaktivierung von Proteasen 10 min auf 80°C erhitzt.

Färbung/Reaktion	Einschlüsse
PAS	+
PAS nach Speichel-Behandlung	0
PAS nach Amylase-Behandlung	0
BESTsches-Karmin	+
BESTsches-Karmin nach Speichel-Behandlung	0
Astrablau	0
Alcianblau	0
Hämalaun	(+)
Gallocyanin-Chromalaun	+
Pyronin	+
Kresylviolett	+
Kresylviolett nach Ribonuclease (Fig. 1)	0
Toluidinblau	+
Toluidinblau nach Ribonuclease	0
FEULGEN	0
Berlinerblau	0
TURNBULL-Blau	0

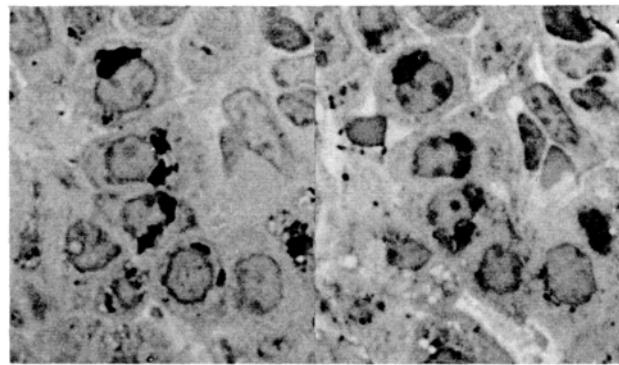


Fig. 2. Benachbarte Vestopal-Halbdünn schnitte des Lungentumors der Maus. Die kräftig PAS-positiven Cytoplasma-Einschlüsse (a) sind in denselben Tumorzellen auch durch Kresylviolett (b) darstellbar.  $\times 1600$ .

Im wesentlichen werden die Ergebnisse in der Tabelle wiedergegeben. Vorbehandlung mit Hyaluronidase oder Trypsin besaß keinen Einfluss auf die Nachweisbarkeit der Cytoplasma-Einschlüsse. Die Identität von PAS-positiven und Kresyl-positiven Cytoplasma-Einschlüssen liess sich besonders leicht an benachbarten Halbdünn schnitten (Figur 2) nachweisen. Die PAS-positiven Cytoplasma-Einschlüsse erwiesen sich auch an benachbarten, nach FEULGEN behandelten Halbdünn schnitten als FEULGEN-negativ. In PAS-Hämalaun-gefärbten Paraffinschnitten fanden sich gelegentlich in PAS-positiven Einschlüssen Hämalaun-positive Granula, die bezüglich ihrer Anordnung den elektronenmikroskopisch beobachteten rosettenartigen Gruppen von Elementarpartikeln ähnelten (Fig. 7<sup>1</sup>, Fig. 2<sup>2</sup>).

Aus obigen Befunden ergibt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit, dass die Cytoplasma-Einschlüsse des Lungentumors der Maus sowohl ein neutrales Polysaccharid wie Ribonucleinsäure enthalten.

In Ermanglung einer besseren Deutungsmöglichkeit für die elektronenoptischen Befunde an diesem Lungentumor wurde früher eine Virus-Hypothese aufgestellt<sup>1,2</sup>. Es interessiert hier ein Vergleich mit dem Rous-Sarkom, bei dem das RNS-Virus die zelluläre Produktion eines Mucopolysaccharids hervorruft<sup>3,4</sup>. Versuche an Zellkulturen lassen auf die Existenz einer RNase-sensitiven vegetativen Form des Rous-Sarkom-Virus schliessen, die nicht mit dem Auftreten von Virus-Partikeln verknüpft ist<sup>5</sup>.

Die früher mitgeteilte Arbeitshypothese wäre somit dahin ergänzbar, dass es sich bei den Cytoplasma-Einschlüssen des untersuchten Lungentumors um die vegetative bzw. inkomplette Form eines kleinen RNS-Virus handeln könnte, dessen aetiologische Bedeutung jedoch noch unklar bliebe.

*Résumé.* Dans une étude histochimique on a montré que les inclusions cytoplasmiques des tumeurs pulmonaires de la souris (KLÄRNER et GIESEKING) contenaient une polysaccharide neutre jointe à l'acide ribonucléique. Les résultats ont été discutés au sens d'une hypothèse virale.

P. KLÄRNER und URSULA WESTPHAL

Kleinhammerweg 65, Wuppertal (Deutschland),  
23. April 1965.

<sup>1</sup> G. ASBOE-HANSEN und H. LEVI, Lab. Invest. 8, 251 (1959).

<sup>2</sup> A. GOLDÉ und P. VIGIER, Ann. Inst. Pasteur 97, 227 (1959).

<sup>3</sup> H. M. TEMIN, Health Lab. Science 1, 79 (1964).

### Der Magnesium- und der Zinkgehalt von Chloroplasten

Kürzlich beschrieben BEHRENS et al.<sup>1</sup> in dieser Zeitschrift eine neue Methode zur Isolierung von Chloroplasten, die sich von den seitherigen Methoden der Zellen- und Gewebetrennung dadurch unterscheidet, dass ohne Verwendung von Flüssigkeiten getrennt wird. Bei Anwendung dieses Trennverfahrens, bei dem von Pulvern gefriergetrockneter Blätter ausgegangen wird, können

keinerlei Verluste und Verlagerungen von Substanzen durch Auswaschen, Diffusion und dergleichen auftreten. Es schien daher lohnend, die Konzentrationen einiger Elemente in so isolierten Chloroplasten zu ermitteln. Anstelle der früher benutzten chemischen Elementbestimmungsmethoden wurden die empfindlichen und spezifischen

<sup>1</sup> M. BEHRENS, W. NEU, R. THALACKER und H. J. THIMM, Exper. 20, 607 (1964).

schen Atomabsorptionsverfahren eingesetzt. Im folgenden wird über die so ermittelten Analysenergebnisse von Magnesium und Zink berichtet.

**Probenvorbereitung.** Als Ausgangsmaterial diente uns Pulver von gefriergetrockneten Blättern von Feldsalat (*Valerianella olitoria*). Daraus wurden die Chloroplasten nach<sup>1</sup> isoliert. Untersucht werden im folgenden nicht nur die «reinen» Chloroplasten (ca. 90%, Fraktion I), sondern auch Fraktionen geringeren Reinheitsgrades (II und III), sowie der «Abfall», der hauptsächlich aus Zellulosemembranen und Cytoplasma besteht. Die trockenen Proben werden gewogen und in Platintiegeln im Muffelofen bei 500°C fünf Stunden lang verascht. Die Asche wird gewogen und anschliessend mit 2N HCl aufgenommen. Die überschüssige Salzsäure wird durch Erhitzen weggedampft. Das trockene Chlorid wird im Verhältnis 1 g Asche auf 100 ml mit *aqua dest.* verdünnt. Die verdünnte Lösung wird für die Zinkanalyse im Verhältnis 1:5 mit *aqua dest.* bei den Mg-Analysen 1:100 mit 0,1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nachverdünnt. Die Verdünnung mit der Schwefelsäure dient entsprechend unseren früheren methodischen Untersuchungen<sup>2</sup> zur Unterdrückung des Störeinflusses von Phosphor auf die Magnesiumanzeige.

**Eichlösungen.** 0,02 g Mg; 0,06 g Ca; 0,005 g Fe; 0,20 g K; 0,005 g Na; 0,001 g Cu; 0,015 g Zn, alles als Chloride aufgefüllt auf 100 ml. Diese Zusammensetzung entspricht etwa dem Elektrolytgehalt von 1 g Chloroplastenasche auf 100 ml. Die Magnesium- bzw. Zink-Blindlösung haben die gleiche Zusammensetzung, nur fehlt bei der Mg-Blindlösung der Mg-Gehalt und entsprechend bei der Zn-

Blindlösung der Zn-Gehalt. Diese Eich- bzw. Blindlösungen konzentrierte werden wie die Analysenlösungen vor der eigentlichen Messung nachverdünnt.

**Ergebnisse.** Wir erhielten aus je 2 verschiedenen Fraktionsgängen mit je 1- bis 3maligem Messen und Mittelwertbildung die in der Tabelle angeführten Ergebnisse.

**Diskussion.** Man sieht, dass die Mg- und die Zn-Konzentrationen mit zunehmender Reinheit der Fraktionen ansteigen. Im Vergleich zum «Abfall» liegt der Mg-Gehalt der reinsten Fraktion (I) 2,8 mal und der Zn-Gehalt 2,7 mal höher. Auffällig ist, dass der Anstieg des Zn-Gehaltes weitgehend dem des Mg-Gehaltes entspricht. Dies spricht dafür, dass Zink ebenfalls ein typischer Bestandteil der Chloroplasten ist. Da bei dem von uns angewandten Trennverfahren keinerlei Substanzverluste auftreten können, ist anzunehmen, dass die von uns gefundenen Werte selbst unter Berücksichtigung der 10% Verunreinigungen durch anderes Blattmaterial den Werten *in vivo* sehr nahe kommen. Bei Untersuchungen an wässrig oder nichtwässrig isolierten Chloroplasten dürften die Fehler durch nicht kontrollierbare Extraktionen ungleich höher liegen. Diese Extraktionsverluste können sowohl die zu bestimmenden Elemente als auch andere Bestandteile betreffen und dadurch eine Erhöhung oder Erniedrigung der Werte am isolierten Material bewirken<sup>3</sup>.

**Summary.** The Mg- and Zn-content was determined with atomic absorption in chloroplasts isolated with a new dry method by BEHRENS et al.

R. HERRMANN und W. NEU

Abteilung für Medizinische Physik, Universitäts-Hautklinik; und Abteilung für Zell- und Gewebechemie am Physiologisch-Chemischen Institut, Justus Liebig-Universität, Giessen (Deutschland), 12. März 1965.

Mg- und Zn-Gehalt in % der Asche

Fraktion	Aschegehalt in % des Trockengewichtes	Mg	Zn
I	6	5,12	0,37
II	11	3,55	0,24
III	16	2,49	0,22
Abfall	10	1,82	0,14

<sup>2</sup> R. HERRMANN und W. LANG, Z. ges. exp. Med. 135, 569 (1962).

<sup>3</sup> Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung, Frau B. GUTSCHE für die Durchführung der Absorptionsuntersuchungen, Frl. H. JUNKER für die Isolierung der Chloroplasten.

## Repressed Chromatin from Virus Infected and from Differentiated Cells<sup>1</sup>

The ability of DNA to serve as a primer for RNA synthesis is restricted during the process of differentiation. When erythrocytes reach the maximum level of functional specialization, the nucleus is either completely eliminated or, if as in bird erythrocytes it is still present, its functions are more and more limited during maturation, till the entire genome is turned off<sup>2</sup>. Elimination of nuclear function was also observed in cells infected by a number of picornaviruses<sup>3-7</sup>.

In the present experiments, Ehrlich ascites cells (EAC) were infected for 7 h with Maus-Elberfeld (ME) virus<sup>8</sup>. Suspensions of infected or uninfected cells in swirling cultures at 37°C were labeled for 30 min with 2 µc of L-

arginine-C<sup>14</sup>, thymidine methyl-H<sup>3</sup> or uridine-H<sup>3</sup> (specific activities per mM, 17, 1600 and 3200 mc) for each 1 ml of packed cells.

<sup>1</sup> This work was supported by the Cancer Research Fund of the University of California and by U.S.P.H.S. Grant CA-08192-1.

<sup>2</sup> T. L. CAMERON and D. M. PRESCOTT, Exp. Cell Res. 30, 609 (1963).

<sup>3</sup> E. M. MARTIN, J. MALEC, S. SVED, and T. S. WORK, Biochem. J. 80, 585 (1961).

<sup>4</sup> R. M. FRANKLIN and D. BALTIMORE, Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 27, 175 (1962).

<sup>5</sup> P. HAUSEN and W. SCHÄFER, Z. Naturf. 17 B, 15 (1962).

<sup>6</sup> J. J. HOLLAND, Biochem. biophys. Res. Commun. 9, 556 (1962).

<sup>7</sup> E. F. ZIMMERMAN, M. HEETER, and J. E. DARVELL, Virology 19, 400 (1962).

<sup>8</sup> V. HOLOUBEK and R. R. RUECKERT, Biochem. biophys. Res. Commun. 15, 166 (1964).