

Ein Pockenvirus-Modell aus Äquipotentialflächen*

Von DIMITRIJ LANG** und ALBRECHT K. KLEINSCHMIDT

Aus dem Hygiene-Institut der Stadt und Universität Frankfurt am Main
(Direktor: Professor Dr. K. HERZBERG)

(Z. Naturforschg. 17 b, 310—313 [1962]; eingegangen am 9. November 1961)

A physical model of the mature pox virus particle is given by calculated surfaces of constant potential as found in some electrostatic or other fields and is compared with electron micrographs of thin sections of mature canary pox virus. It is built up by selected surfaces of constant potential $V=1/r_1+1/r_2+1/r_3+1/r_4=\text{constant}$ where r_1, r_2, r_3 and r_4 stand for the distances between a point in a surface and four potential generating centers arranged in the corners of a square or a rectangle. The possible biophysical reasons for the high similarity with the morphological features are discussed.

Von Viruspartikeln wird man allein auf Grund des großen Verhältnisses von Oberfläche zu Volumen relativ hohe Grenzflächenkräfte und daraus folgend eine zentralsymmetrische kugelförmige oder angenähert kugelförmige Gestalt erwarten. Das trifft bekanntlich für viele Virusarten auch zu. Eine Reihe von bisher untersuchten Virusteilchen sind aus Untereinheiten so aufgebaut, daß sich reguläre Polyeder mit Zentralsymmetrie ergeben. Dabei sind interessante formelmäßige Zusammenhänge gefunden worden (WILDY und HORNE¹). Mit den sterischen Eigenschaften der Untereinheiten hängt offensichtlich ein weiterer die Gestalt bestimmender Faktor zusammen, der für die Abweichungen der Viruspartikel von der Kugelform verantwortlich ist. Das dürfte in extremer Weise bei einigen Pflanzenvirusarten der Fall sein, wie etwa beim stäbchenförmigen Tabakmosaikvirus. Die Partikel der größeren und morphologisch komplizierter aufgebauten Pockenvirusarten dagegen sind im Frühstadium noch kugelig begrenzt, nehmen aber dann im Verlauf ihrer Reifung erheblich von der Kugelgestalt abweichende Formen an, besonders auch die in Dünnschnitten elektronenmikroskopisch sichtbaren Innenstrukturen. Man kann nun fragen, ob sich Ursachen finden

lassen, welche das reifende Pockenvirusteilchen in seine Form zwingen.

Ausgangspunkt zur versuchsweisen Klärung waren Dünnschnittuntersuchungen am Kanarienvirus (HERZBERG, KLEINSCHMIDT und LANG²). Die in den Abb. 1—3* ausgewählten typischen Bilder zeigen Schnitte (kombinierte Osmium-Uranylfixierung nach RYTER, KELLENBERGER, BIRCH-ANDERSEN und MAALOE³), welche die drei charakteristischen Symmetrieebenen reifer Viruspartikel enthalten. Von innen nach außen kann man unterscheiden: einen Innkörper mit materialerfülltem Lumen, einen Zwischenkörper mit den beiden sich gegenüberliegenden Verdickungen und eine äußere Hülle. Bereits in früheren Untersuchungen wurden entsprechende empirische Modelle entworfen wie beim Vaccinevirus (PETERS⁴) oder beim Kanarienvirus (HERZBERG und KLEINSCHMIDT⁵). Weitere Einzelheiten können unter Einbeziehung von anderen elektronenmikroskopischen Verfahren, etwa der Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure (HERZBERG, KLEINSCHMIDT, LANG und REUSS⁶) und von Abbaueversuchen mit Enzymen (PETERS⁷) gewonnen werden. Im folgenden wird gezeigt, wie man ein solches Modell mit ähnlicher Struktur aus Schichten aufbauen kann,

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Die Idee zu dieser Arbeit entstammt einer Überlegung von Dr. D. LANG, der auch die mathematischen Berechnungen durchführte. Ich sehe darin einen anregenden und vielleicht fruchtbaren Gedanken, der mir einer Veröffentlichung wert scheint. K. HERZBERG.

** Auszugsweise vorgetragen auf der 10. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie, Kiel, 25. 9. 1961.

¹ P. WILDY u. R. W. HORNE, Proc. Europ. Regional Conf. Electron Microscopy, Delft 1960, ed.: A.L. HOUWINK u. B. J. SPIT, Bd. 2, S. 955.

* Abb. 1—3 u. 6 s. Tafel S. 310 a u. b.

² K. HERZBERG, A. KLEINSCHMIDT u. D. LANG, Zbl. Bakteriol., Parasitenkunde, Infektionskrankh. Hyg., I. Abt. Orig. 179, 308 [1960].

³ A. RYTER, E. KELLENBERGER, A. BIRCH-ANDERSEN u. O. MAALOE, Z. Naturforschg. 13 b, 597 [1958].

⁴ D. PETERS, Nature [London] 178, 1453 [1956].

⁵ K. HERZBERG u. A. KLEINSCHMIDT, Zbl. Bakteriol., Parasitenkunde, Infektionskrankh. Hyg., I. Abt. Orig. 174, 1, [1959].

⁶ H. HERZBERG, A. KLEINSCHMIDT, D. LANG u. K. REUSS, Naturwissenschaften 48, 725 [1961].

⁷ D. PETERS, IV. Intern. Congr. Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1960, Bd. 2, S. 552.

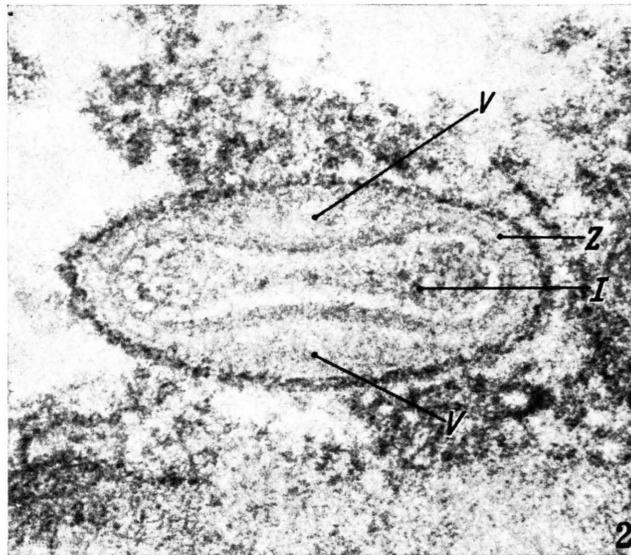
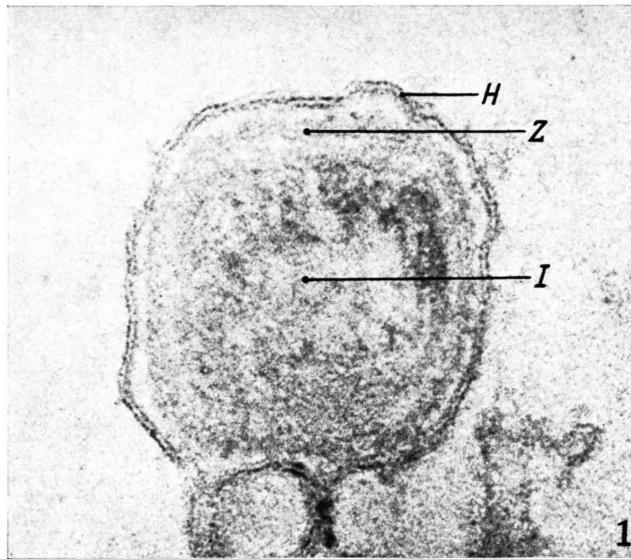
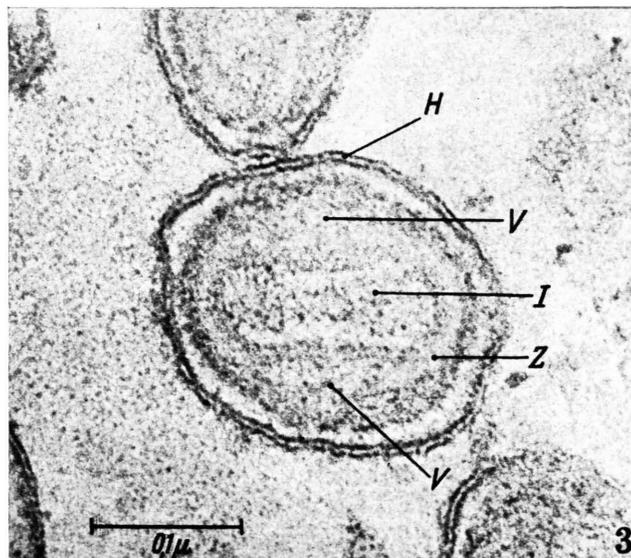


Abb. 1—3. Reife Partikel des Kanarienvirus. Die Schnitte enthalten je eine der drei charakteristischen Symmetrieebenen. Schnitt-dicke etwa 30μ , Vergr. 200 000-mal. I: Innenkörper, Z: Zwischenkörper mit Verdickungen V, H: äußere Hülle (in Abb. 2 in der Peripherie des Bollinger-Einschlußkörpers wahrscheinlich noch nicht vorhanden).



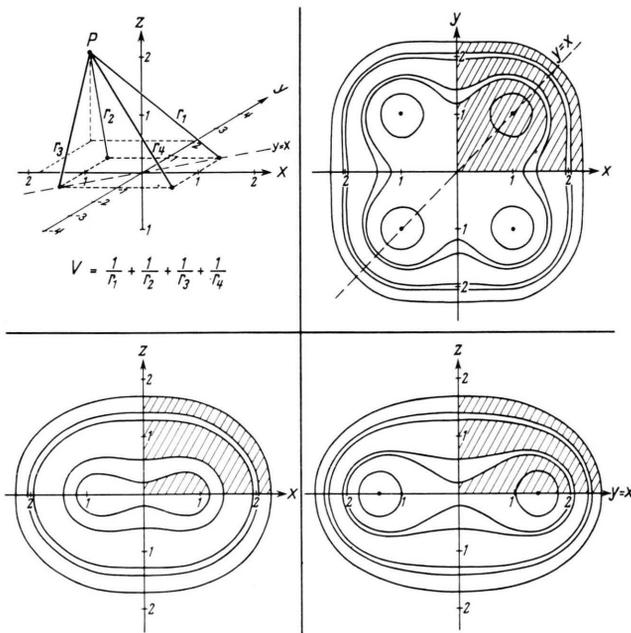


Abb. 6. Ein Modell des reifen Pockenvirus-Teilchens aus Äquipotential-Flächen von vier gleichen quadratisch angeordneten potentialerzeugenden Zentren. Es sind die Schnittlinien mit den drei durch $y=0$, $z=0$ und $y=x$ definierten charakteristischen Symmetrieebenen dargestellt. „Innenkörper“, „Zwischenkörper“ und „Hülle“ sind schraffiert.

die durch geeignete Äquipotentialflächen begrenzt sind. Im Anschluß daran wird ein Zusammenhang mit der eingangs erwähnten Frage diskutiert.

Zunächst fällt die Ähnlichkeit der Konturen in den Schnittbildern der Virusteilchen mit einer Schar Cassinischer Linien auf (Abb. 4), die sich nach der angegebenen Gleichung berechnen lassen⁸. Setzt man für den Parameter a verschiedene Zahlenwerte ein, erhält man z. B. eine Kurvenschar wie in Abb. 4.

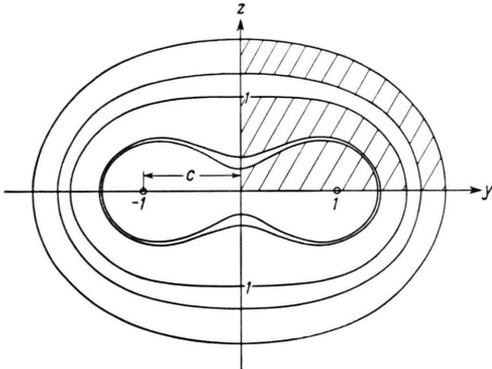


Abb. 4. Eine Schar Cassinischer Linien. Definitionsgleichung: $(y^2 + z^2)^2 - 2c^2(y^2 - z^2) = a^4 - c^4$. $2c$ ist der Abstand der beiden Zentren, y und z sind die beiden Veränderlichen und a ist eine Konstante (Parameter).

Sie ist dem Schnittbild (Abb. 2) durch eine der charakteristischen Symmetrieebenen des Virusteilchens ähnlich („Innenkörper“, „Zwischenkörper“ und „Hülle“ sind durch Schraffierung angedeutet). Diese Ähnlichkeit könnte zufällig sein, denn fast jede Form unserer Umwelt läßt sich durch irgendeine mathematische Funktion approximieren. Gegen einen Zufall spricht aber, daß die Cassinischen Linien eine spezielle Lösung der Laplaceschen Potentialgleichung sind, welche die Eigenschaften der meisten in der Natur vorkommenden Kraftfelder beschreibt⁹. Sie beherrscht z. B. elektrische, magnetische und Schwerfelder, auch wirbelfreie Strömungen idealer Flüssigkeiten. So haben zwei gleichnamig elektrisch geladene unendlich lange parallele Drähte in einer Ebene senkrecht zu ihnen eine Schar von Äquipotentiallinien, die mit den Cassinischen Linien identisch sind. Die gleichen Linien erscheinen auch bei der Cassinotaxis, einer nach

LIESEGANG¹⁰ scheinbaren Fernwirkung bei bizen-trischer ebener Diffusion, verbunden mit chemischen Reaktionen in einem Gel, und als Interferenzbild eines optisch zweiachsigen Kristalls im konvergenten polarisierten Licht¹¹.

Die Beziehung dieser ebenen Figuren zu physikalischen Feldern hat uns veranlaßt, die Betrachtung auf dreidimensionale Äquipotentialflächen auszudehnen. So ergab die Rechnung für das Potential eines elektrisch geladenen Kreisrings die in Abb. 5 ausgewählten Äquipotential-Linien, die noch etwas besser mit dem in Abb. 2 gezeigten Schnittbild übereinstimmen. Eine Rotation um die z -Achse liefert die gesuchten dreidimensionalen Äquipotential-Flächen. Deren Schnittlinien mit einer Symmetrieebene, die senkrecht zur Zeichenebene durch die y -Achse geht, sind jedoch konzentrische Kreise und keine abgerundeten Rechtecke wie beim Pockenvirus.

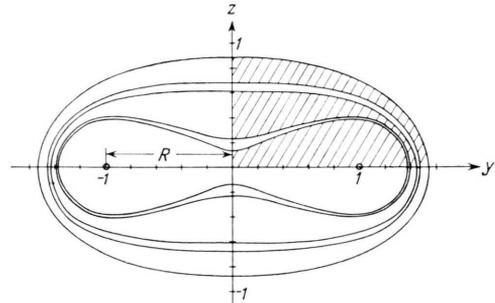


Abb. 5. Schnitt durch die Äquipotential-Flächen eines elektrisch geladenen Kreisrings, der bei $y = \pm 1$ durch die Zeichenebene stößt. Die räumlichen Äquipotential-Flächen erhält man durch Rotation um die z -Achse.

Den Weg zur Verbesserung eines solchen Modells zeigt die Abb. 6. In der x, y -Ebene eines rechtwinkligen räumlichen Koordinatensystems sind um den Nullpunkt vier gleiche elektrische Punktladungen im Quadrat angeordnet. Ihr Potential V im Raum ist (abgesehen von einem konstanten, für unsere Rechnung unwesentlichen Faktor):

$$V = \frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} + \frac{1}{r_3} + \frac{1}{r_4}. \tag{1}$$

r_1 bis r_4 sind die Abstände des Aufpunktes P von den vier Punktladungen mit den Koordinaten $(1, 1, 0)$, $(-1, 1, 0)$, $(-1, -1, 0)$ und $(1, -1, 0)$.

⁸ Vgl.: I. BRONSTEIN u. K. SEMENDJAJEW, Taschenbuch der Mathematik, B. G. Teubner-Verlagsges., Leipzig 1958, S. 87.

⁹ Vgl.: B. BAULE, Die Mathematik des Naturforschers und Ingenieurs, S. Hirzel-Verlag, Leipzig 1945, 2. Aufl., Bd. VI, § 21.

¹⁰ R. LIESEGANG, in: Zehn Jahre Forschung auf dem physikalisch-medizinischen Grenzgebiet, Thieme-Verlag, Leipzig 1931, ed.: F. DESSAUER, S. 236.

¹¹ Vgl.: G. N. RAMACHANDRAN u. S. RAMASESHAN, in: Hdb. d. Physik, ed.: S. FLÜGGE, Springer-Verlag, Berlin 1961, Bd. XXV/1.

Wegen

$$\begin{aligned} r_1^2 &= z^2 + (y-1)^2 + (x-1)^2 \\ r_2^2 &= z^2 + (y-1)^2 + (x+1)^2 \\ r_3^2 &= z^2 + (y+1)^2 + (x+1)^2 \\ r_4^2 &= z^2 + (y+1)^2 + (x-1)^2 \end{aligned}$$

folgt

$$V(x, y, z) = [z^2 + (y-1)^2 + (x-1)^2]^{-1/2} + [z^2 + (y-1)^2 + (x+1)^2]^{-1/2} + [z^2 + (y+1)^2 + (x+1)^2]^{-1/2} + [z^2 + (y+1)^2 + (x-1)^2]^{-1/2} \quad (2)$$

Gl. (2) definiert für $V(x, y, z) = \text{konstant}$ eine räumliche Äquipotential-Fläche. Eine Darstellung kann durch Schnittlinien dieser Äquipotential-Flächen mit den charakteristischen Symmetrieebenen $z=0$, $x=0$ und $y=x$ erfolgen. Wählt man die Ebene $z=0$, (x, y) -Ebene, so ergibt die Gl. (2) :

$$\begin{aligned} \text{konstant} &= [(y-1)^2 + (x-1)^2]^{-1/2} \\ &+ [(y-1)^2 + (x+1)^2]^{-1/2} + [(y+1)^2 + (x+1)^2]^{-1/2} \\ &+ [(y+1)^2 + (x-1)^2]^{-1/2} \end{aligned} \quad (3)$$

Wäre die Gl. (3) nach y als Funktion von x auflösbar, hätte man damit den Ausdruck für die Äquipotential-Linien in der Ebene $z=0$ gewonnen. Da dies nicht möglich ist, muß eine Lösung auf numerischem oder graphischem Weg ermittelt werden. Wir haben daher für die Ebene $z=0$ (und entsprechend für die anderen Symmetrieebenen) die Gl. (2) benutzt, für x und y beliebige Werte eingesetzt, $V(x, y, 0)$ berechnet und als Funktion von y als Kurvenschar mit dem Parameter x graphisch dargestellt (Abb. 7). Die Schnittpunkte dieser Kurven mit einer Geraden $V(x, y, 0) = \text{konstant}$ (z. B. 2,6, in Abb. 7, gestrichelt), liefern dann die gesuchten x - und y -Werte für eine der in Abb. 6 rechts oben gezeigten Äquipotential-Linien in der Ebene $z=0$.

In der Abb. 6 sieht man zusammengefaßt das Ergebnis als Darstellung von Schnittlinien der charakteristischen Symmetrieebenen mit den Äquipotential-Flächen. Man erkennt nun alle beim Pockenvirus erwähnten Konturen wieder, auch abgerundete Rechtecke. Die Übereinstimmung dieses Modells mit den Schnittbildern der Viruspartikel ist nicht vollkommen. So sind keine Verdickungen der Zwischenschicht sichtbar, wenn das Viruspartikel ein rechteckiges Schnittbild zeigt, sie treten nur in den beiden anderen Symmetrieebenen auf (Abb. 2 und 3). Ferner hat das Potentialbild abgerundete Quadrate und keine Rechtecke; diese kann man aber erhalten, wenn die vier Punktladungen nicht im Quadrat, sondern in einem geeignet gewählten Rechteck angeord-

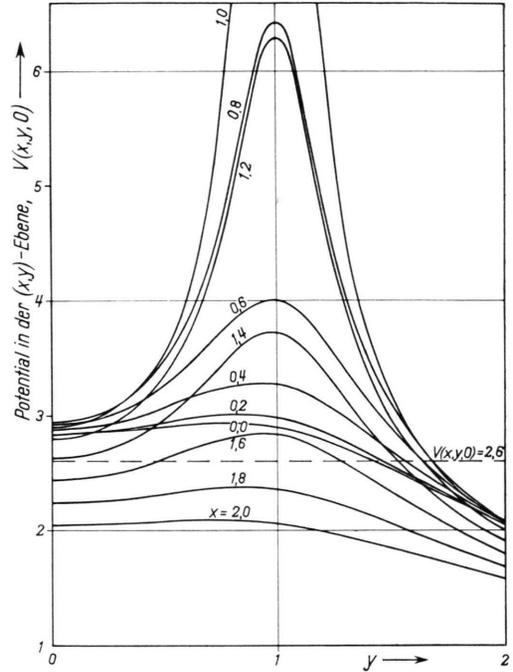


Abb. 7. Das Potential $V(x, y, 0)$ in der Ebene $z=0$. Die Schnittpunkte mit der gestrichelten Geraden ergeben die Koordinaten x und y einer Äquipotential-Linie.

net werden. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die Herstellung von Dünnschnitten stets eine je nach Fixierung, Einbettung und Schneideprozeß unterschiedliche Verformung mit sich bringt (vgl. REIMER)¹².

Die vier mathematischen Punkte können durch vier räumlich untereinander gleiche Gebilde ersetzt werden, wenn deren Oberflächen mit Äquipotential-Flächen etwa nach Abb. 6 zusammenfallen. Dabei ändert sich nichts an den weiter außen liegenden Äquipotential-Flächen, so daß man eine gewisse Freiheit für die räumliche Ausdehnung der Zentren behält. Solche Zentren haben wir beim Kanarienvirus nicht eindeutig erhalten, beim Vaccinavirus wurden sie jedoch schon in den ersten Aufnahmen von GREEN, ANDERSON und SMADEL¹³ — mit einer fünften etwa gleichgroßen zentral gelegenen Verdichtung — beschrieben und von PETERS¹⁴ mit Bestandteilen des Desoxyribonucleinsäure enthaltenen Innenkörpers identifiziert.

¹² L. REIMER, Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden, Springer-Verlag, Berlin 1959, S. 233 u. 266.

¹³ R. T. GREEN, T. F. ANDERSON u. J. E. SMADEL, J. exp. Medicine **75**, 651 [1942].

¹⁴ D. PETERS, Proc. Europ. Regional Conf. Electron Microscopy, Delft 1960, ed.: A. L. HOUWINK u. B. J. SPIR, Bd. 2, S. 694.

Unter der Annahme von vier potentialerzeugenden Zentren gelingt es demnach, ein physikalisches Modell der reifen Pockenvirus-Teilchen zu berechnen. Die Übereinstimmung mit den Konturen und dem Innenaufbau scheint mehr als ein Zufall zu sein. Wir entnehmen dies 1. der recht großen Ähnlichkeit von Modell und den in Dünnschnitten gefundenen Schichten und Linien, 2. dem Umstand, daß zur Berechnung des Modells die Variation nur eines Parameters (nämlich $V = \text{konstant}$) erforderlich ist und 3. dem Aufbau des Modells als spezielle Lösung der Laplace'schen Potentialgleichung, welche in der Natur vielfach eine bedeutende Rolle spielt.

Offensichtlich existiert ein Kräftepotential, welches an vier wahrscheinlich DNS-haltige Zentren gebunden ist und die Gestalt des reifen Pockenvirus-Teilchens ursächlich bestimmt. Über die Einzelheiten und zeitliche Reihenfolge der Umwandlung von der

kugeligen Frühform (Form I nach HERZBERG⁶) in die reife Form (Form IV) und über die Art des Kräftepotentials kann man zunächst nur Vermutungen äußern. Es bieten sich hierbei mehrere Möglichkeiten an, z. B. Grenzflächenkräfte und Kohäsionskräfte in Wechselwirkung mit Aggregaten der mechanisch relativ steifen DNS-Makromoleküle. In diesem Zusammenhang sei auf interessante Untersuchungen von WOLF und NEUMANN¹⁵ über die Gestalt von Grenzflächen flüssiger Systeme unter der Einwirkung von Kräften hingewiesen.

Herrn Professor Dr. K. HERZBERG danken wir sehr für die stete Förderung und Diskussion dieser Arbeit, Fr. J. HAASS und Frau C. PLESCHER für wertvolle technische Mithilfe.

¹⁵ K. L. WOLF u. A. W. NEUMANN, III. Intern. Kongr. f. Grenzflächenaktive Stoffe, Köln 1960, Verlag der Universitätsdruckerei Mainz, Bd. II, S. 1.

Untersuchungen über Gamma-Makroglobuline des menschlichen Serums

Von H. E. SCHULTZE, H. HAUPT, K. HEIDE, G. MÖSCHLIN, R. SCHMIDTBERGER und G. SCHWICK

Aus der Behringwerke AG., Marburg/Lahn (wissenschaftlicher Leiter: Prof. Dr. H. E. SCHULTZE)

(Z. Naturforschg. 17 b, 313–322 [1962]; eingegangen am 19. Oktober 1961)

Aus dem menschlichen Serum konnten die γ -Makroglobuline mit der Sedimentationskonstanten $S=19$ und $S=\text{ca. } 30-150$ isoliert und in Anteile, die vorzugsweise $S=19$ und solche, die in der Hauptsache $S=30-150$ enthalten, aufgetrennt werden. Diese Fraktionen wurden in ihren physikalischen, chemischen und immunchemischen Eigenschaften charakterisiert. Es wurde gefunden, daß die Fraktion mit der Sedimentationskonstanten $S=\text{ca. } 30-150$ normalerweise im Serum mit etwa 0,7% vorkommt und, wie die γ -Makroglobulin-Fraktion $S=19$, Antikörper vorwiegend gegen Kohlenhydrat-Antigene enthält. Zwischen der γ_1 -Makroglobulin-Fraktion und der höchstmolekularen γ -Globulinfraktion bestehen, wie die physikalisch-chemischen und immunchemischen Befunde zeigen, enge Beziehungen. Beide γ -Globulinfraktionen beeinflussen in besonders starkem Maße das Komplementsystem. Das Dissoziations-Verhalten der Makroglobulin-Fractionen wurde verglichen mit dem von Makroglobulinen vom Typ Waldenström.

Mit Hilfe der Ultrazentrifuge konnte MUTZENBECHER¹ erstmalig in normalem, menschlichem Serum eine Proteinfraction mit der Sedimentationskonstanten $S=17-20$ nachweisen, der das bisher höchste Mol.-Gew. der Serumproteine von etwa 1 Million entspricht. Ihr Anteil am Gesamtproteingehalt des Serums beträgt nach Untersuchungen anderer Autoren 2–5 Prozent². In der Folgezeit befaßten sich viele Arbeitskreise mit der Erforschung dieser hochmolekularen Komponente, die Globulincharakter

aufweist. Es stellte sich heraus, daß sie sich aus zwei Komponenten gleicher Sedimentationskonstanten zusammensetzt, deren elektrophoretische Beweglichkeit im α - und im schnellen γ -Globulinbereich liegt. Die hochmolekulare α -Globulinkomponente, das α_2 -Makroglobulin, wurde von SCHULTZE und Mitarbb.³ durch fraktionierte Salzfällung isoliert und physikalisch-chemisch charakterisiert. Es konnte ferner, wenn auch in weniger großer Reinheit, durch Kombination von Zonenelektrophorese bzw. Alkoholfällung

¹ P. v. MUTZENBECHER, Biochem. Z. 266, 250 [1933]; K. O. PEDERSEN, Ultracentrifugal Studies on Serum and Serum Fractions. Almqvist and Wiksells, Uppsala 1945.

² H. G. KUNKEL, in: The Plasma Proteins, S. 280, ed F. W. PUTNAM, Academic Press N. Y. and London 1960; W.

SCHOLTAN, Z. exp. Medizin 121, 574 [1953]; G. WALLENIUS, R. TRAUTMAN u. E. C. FRANKLIN, Fed. Proc. 15, 378 [1956].

³ H. E. SCHULTZE, I. GÖLLNER, K. HEIDE, M. SCHÖNENBERGER u. G. SCHWICK, Z. Naturforschg. 10 b, 463 [1955].