
Archiv für die gesamte

Virusforschung

Begründet von

R. Doerr

Herausgegeben von

S. Gard, Stockholm

C. Hallauer, Bern

A. Mayr, München

K. F. Meyer, San Francisco, Cal.

W. P. Rowe, Bethesda, Md.

J. Vilček, New York, N.Y.

Vol. 40, 1973

Springer-Verlag
Wien-New York



Editorial Advisory Board / Fachbeirat

| | | | |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| V. H. BONIFAS Lausanne | F. M. BURNET Melbourne | M. D. EATON Boston, Mass. | W. HENLE Philadelphia, Penn. |
| P. LÉPINE Paris | H. RUSKA Düsseldorf | K. M. SMITH Cambridge, Mass. | J. D. VERLINDE Leiden |
| A. P. WATERSON London | | | |

Editorial Assistant / Redaktionssekretär

H. HOFMANN
Wien

The exclusive copyright for all languages and countries, including the right for photo-mechanical and any other reproductions including microform is transferred to the publisher.

Alle Rechte, einschließlich das der Übersetzung in fremde Sprachen und das der photo-mechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung, auch in Mikroform, vorbehalten.

© 1973 by Springer-Verlag / Wien

Contents / Inhalt: Vol. 40

No. 1—2

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| GIL-FERNÁNDEZ, C., C. RONDA-LAÍN, and M. RUBIO-HUERTOS: Electron Microscopic Study of Sindbis Virus Morphogenesis | 1 |
| BOXACA, M., L. B. DE GUERRERO, and V. L. SAVY: The Occurrence of Virus, Interferon, and Circulating Antibodies in Mice after Experimental Infection with Junin Virus | 10 |
| BESUSCHIO, S. C., MERCEDES C. WEISSENBACHER, and G. A. SCHMUÑIS: Different Histopathological Response to Arenovirus Infection in Thymectomized Mice | 21 |
| ITO, Y., Y. TANAKA, Y. INABA, and T. OMORI: Electron Microscopy of Ibaraki Virus | 29 |
| GHEONDON, Y., L. BABUSHKINA, and O. BLAGOVESHNIENSKAYA: Inhibition of Poliovirus RNA Synthesis in an <i>in vitro</i> System by Antiserum against 14S Virus-Specific Structures | 47 |
| ANZIL, A. P., K. BLINZINGER, and A. MAYR: Persistent Borna Virus Infection in Adult Hamsters | 52 |
| MAJER, M.: Studies on Influenza Virus Hemagglutination Inhibition by Anti-Host Serum | 58 |
| BANDLOW, G., U. KOSZINOWSKI und R. THOMSEN: Gesteigerte Immunogenität von Plasmamembranen vacciniavirusinfizierter BHK-Zellen / Increased Immunogenicity of Plasma Membranes of BHK-Cells Infected by Vaccinia Virus | 63 |
| McFERRAN, J. B., R. NELSON, and J. K. CLARKE: Isolation and Characterization of Reoviruses Isolated from Sheep | 72 |
| DIEDERICH, J., E. LODEMANN, and A. WACKER: Basic Dyes as Inducers of Interferon-Like Activity in Mice | 82 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| LODEMANN, E., J. DIEDERICH, U. SATTLER, and A. WACKER: Induction of Interferon in L Cells by Polynosinic-Polycytidylic Acid in the Presence of Cationic Compounds. II. Basic Dyes | 87 |
| LUKERT, P. D.: Avian Infectious Bronchitis Virus Characteristics of an Inhibitor Found in Serum | 93 |
| SIEGL, G., and M. GAUTSCHI: The Multiplication of Parvovirus Lu III in a Synchronized Culture System. I. Optimum Conditions for Virus Replication . . | 105 |
| SIEGL, G., and M. GAUTSCHI: The Multiplication of Parvovirus Lu III in a Synchronized Culture System. II. Biochemical Characteristics of Virus Replication | 119 |
| HELLMANN, W., and H. KOHLHAGE: Gelechromatographie von virusinduziertem Interferon aus Exsudatgranulozyten | 128 |
| ROSEN, L., NATHALIE J. SCHMIDT, and J. KERN: Toluca-1, a Newly Recognized Enterovirus | 132 |
| GERBER, A., CHR. SAUTER, and J. LINDENMANN: Fowl Plaque Virus Adapted to Human Epithelial Tumor Cells and Human Myeloblasts <i>in vitro</i> . I. Characteristics and Replication in Monolayer Cultures | 137 |
| ROMERO-MERCADO, C. H., E. A. MCPHERSON, and A. H. LAING: Virus Particles and Antigens in Experimental Orf Scabs | 152 |
| ROMERO-MERCADO, C. H., E. A. MCPHERSON, A. H. LAING, J. B. LAWSON, and G. R. SCOTT: Virus Particles and Antigens in Natural Orf (Brief Report) . . . | 159 |
| YAKOBSON, E., ANGELIKA MIKHEJEVA, and Y. Z. GHENDON: On the Kinetics of Poliovirus-Specific Protein and RNA Synthesis in Poliovirus-Infected Cells (Brief Report) | 161 |
| LIBSHITS, B. A., E. YAKOBSON, A. F. BYCKOVSKY, Y. Z. GHENDON, and V. I. CHERNOS: Effect of Host-Cell on Antiviral Action of Acetone (Brief Report) | 164 |
| HAFF, R. F., and C. A. PINTO: Comparison of Neutralizing Activity in Nasal Secretion and Serum of Ferrets in Response to Infection with Influenza A Viruses (Brief Report) | 168 |
| ZALAN, E., C. WILSON, and N. A. LABZOFFSKY: Elimination of Non-Specific Reaction in Latex Agglutination Test for the Detection of Hepatitis-Associated Antigen (Brief Report) | 171 |
| MANCINI, L. O., and V. J. YATES: Attempts to Produce Tumors in Mice with Colo Virus (Brief Report) | 174 |
| DR. LESLIE HOYLE† | 176 |

No. 3—4

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| HYLLSETH, B.: Structural Proteins of Equine Arteritis Virus | 177 |
| NISHIBE, YOKO, T. KIMURA, and Y. K. INOUE: Properties of Virus Associated with Subacute Myelo-Optico-Neuropathy | 189 |
| ITO, Y., Y. TANAKA, Y. INABA, and T. OMORI: Structure of Bovine Respiratory Syncytial Virus | 198 |
| MÜLLER, W. E. G., D. FALKE, B. HEICKE, and R. K. ZAHN: Biological Activity of 2-Phenylethanol and Its Derivatives. VIII. Influence on Herpesvirus DNA-Synthesis in Rabbit Kidney Cells | 205 |
| VANDEN BERGHE, D., and A. BOEYÉ: <i>In situ</i> Fragmentation of RNA in Poliovirus | 215 |
| KARABATSOS, N.: Density Gradient Characterization of Disrupted and Untreated Eastern Encephalitis Virus | 222 |
| SPRECHER-GOLDBERGER, S., N. LEFÈVRE, J. DE BRUYNE, R. POCHE, and L. THIRY: Thermosensitive Events in Adenovirus Transformed Cells. I. Resistance to Herpes Simplex Virus | 236 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| LEFÈVRE, N., M. P. BEUMER-JOCHMANS, and S. SPRECHER-GOLDBERGER: Thermosensitive Events in Adenovirus Transformed Cells. II. Helping of Adenovirus-Associated Viruses | 248 |
| GERBER, A., CHR. SAUTER, and J. LINDENMANN: Fowl Plague Virus Adapted to Human Epithelial Tumor Cells and Human Myeloblasts <i>in vitro</i> . II. Replication in Human Leukemic Myeloblast Cultures | 255 |
| KORBECKI, M.: Effect of Phleomycin on the Replication of Mengovirus in Novikoff Hepatoma Cells | 265 |
| KURSTAK, E., J. P. VERNOUX et L. BRAKIER-GINGRAS: Étude biophysique de l'acide désoxyribonucléique du virus de la denonucleose (VDN). II. Extraction du DNA Viral et mise en évidence de la présence de chaînes polynucléotidiques complémentaires, encapsidées séparément dans les virions VDN/Biophysical Study of the Deoxyribonucleic Acid of Densonucleosis Virus (DNV). II. Extraction of Viral DNA and Evidence for Complementary Polynucleotide Chains, Encapsidated Separately into DNV Virions | 274 |
| GEILHAUSEN, H. E., F. B. LIGON, and P. D. LUKERT: The Pathogenesis of Virulent and Avirulent Avian Infectious Bronchitis Virus. | 285 |
| TAKEHARA, M., and N. SUZUKI: Interferon Induction by Rice Dwarf Virus RNA. Antiviral Activity <i>in vitro</i> and Its Stability | 291 |
| LIPKIND, M. A., INNA V. TSVETKOVA, and NATALIA V. GRIBKOVA: Neuraminidase and Hemagglutinin Activities in Subcellular Fractions of NDV- and FPV-Infected Chick Embryo Cells and Their Re-Distribution Following Triton X100 Treatment | 300 |
| EBBESSEN, P.: DEAE-Dextran Enhancement of <i>in vivo</i> Infection with Murine Leukemia Virus | 307 |
| IWASAKI, Y., T. FURUKAWA, S. PLOTKIN, and H. KOPROWSKI: Ultrastructural Study on the Sequence of Human Cytomegalovirus Infection in Human Diploid Cells | 311 |
| REEVES, J. D., and H. D. MAYOR: The Effects of Hydrogen Ions on the Morphology and Infectivity of Rhinovirions | 325 |
| HELLMANN, W., und H. KOHLHAGE: Zelluläre Herkunft der durch Newcastle-Disease-Virus induzierten Serum-Interferonaktivität des Kaninchens/Cellular Origin of Rabbit Serum Interferon Induced by Newcastle Disease Virus | 334 |
| WYATT, R. G., A. R. KALICA, and R. DOLIN: Ultrastructural Study of Viral Replication in Human Fetal Intestinal Organ Culture | 341 |
| FELSBURG, P. J., R. L. HEBERLING, and S. S. KALTER: Experimental Corneal Infection of the Cebus Monkey with <i>Herpesvirus hominis</i> Type 1 and Type 2 | 350 |
| O'BRIEN, TH. C., and NICOLA M. TAURASO: Antibodies to Type A Influenza Viruses in Sera from Nonhuman Primates | 359 |
| O'BRIEN, TH. C., J. E. HANNAH, and NICOLA M. TAURASO: Heat-Labile Accessory Factor Involved in Vaccinia Virus Plaque Neutralization | 366 |
| SHEN, D. T., J. R. GORHAM, R. F. HARWOOD, and G. A. PADGETT: The Persistence of Aleutian Disease Virus in the Mosquito <i>Aedes fitchii</i> | 375 |
| ENZMANN, P.-J.: Induction of an Interferon-Like Substance in Persistently Infected <i>Aedes albopictus</i> Cells | 382 |
| LAL, S. M., and I. P. SINGH: Buffalopox Virus. Preliminary Report (Brief Report) | 390 |
| CARDIFF, R. D., J. M. DALRYMPLE, and P. K. RUSSELL: RNA Polymerase in Group B Arbovirus (Dengue-2) Infected Cells (Brief Report) | 392 |
| HONDO, R., H. SHIBUTA, and MINORU MATUMOTO: Lyophilization of Varicella Virus (Brief Report) | 397 |

Listed in Current Contents

Author Index / Autorenverzeichnis

- ANZIL, A. P., K. BLINZINGER, and A. MAYR: Persistent Borna Virus Infection in Adult Hamsters. 52.
- BABUSHKINA, L. S. Y. GHENDON.
- BANDLOW, G., U. KOSZINOWSKI und R. THOMSEN: Gesteigerte Immunogenität von Plasmamembranen vacciniavirusinfizierter BHK-Zellen. 63.
- BERGHE, D. VANDEN, and A. BOEYÉ: *In situ* Fragmentation of RNA in Poliovirus. 215.
- BESUSCHIO, S. C., M. C. WEISSENBACHER, and G. A. SCHMUNIS: Different Histopathological Response to Arenovirus Infection in Thymectomized Mice. 21.
- BEUMER-JOCHMANS, M. P.
s. N. LEFÈVRE.
- BLAGOVESHENSKAYA, O. S. Y. GHENDON.
- BLINZINGER, K. S. A. P. ANZIL.
- BOEYÉ, A. S. D. VANDEN BERGHE.
- BOXACA, M., L. B. DE GUERRERO, and V. L. SAVY: The Occurrence of Virus, Interferon and Circulating Antibodies in Mice after Experimental Infection with Junin Virus. 10.
- BRAKIER-GINGRAS, L. S. E. KURSTAK.
- BRUYNE, J. DE S. S. SPRECHER-GOLDBERGER.
- BYCKOVSKY, A. F. S. B. A. LIBSHITS.
- CARDIFF, R. D., J. M. DALRYMPLE, and P. K. RUSSELL: RNA Polymerase in Group B Arbovirus (Dengue-2) Infected Cells (Brief Report). 392.
- CHEARNOS, V. I. S. B. A. LIBSHITS.
- CLARKE, J. K. S. J. B. McFERRAN.
- DALRYMPLE, J. M. S. R. D. CARDIFF.
- DIEDERICH, J., E. LODEMANN, and A. WACKER: Basic Dyes as Inducers of Interferon-Like Activity in Mice. 82.
- DIEDERICH, J. S. E. LODEMANN
- DOLIN, R. S. R. G. WYATT.
- EBBESEN, P.: DEAE-Dextran Enhancement of *in vivo* Infection with Murine Leukemia Virus. 307.
- ENZMANN, P.-J.: Induction of an Interferon-Like Substance in Persistently Infected *Aedes albopictus* Cells. 382.
- FALKE, D. S. W. E. G. MÜLLER.
- FELSBURG, P. J., R. L. HEBERLING, and S. S. KALTER: Experimental Corneal Infection of the Cebus Monkey with *Herpesvirus hominis* Type 1 and Type 2. 350.
- FURUKAWA, T. S. Y. IWASAKI.
- GAUTSCHI, M. S. G. SIEGL.
- GEILHAUSEN, H. E., F. B. LIGON, and P. D. LUKERT: The Pathogenesis of Virulent and Avirulent Avian Infectious Bronchitis Virus. 285.
- GERBER, A., C. SAUTER, and J. LINDENMANN: Fowl Plague Virus Adapted to Human Epithelial Tumor Cells and Human Myeloblasts *in vitro*. I. Characteristics and Replication in Monolayer Cultures. 137.
- GERBER, A., C. SAUTER, and J. LINDENMANN: Fowl Plague Virus Adapted to Human Epithelial Tumor Cells and Human Myeloblasts *in vitro*. II. Replication in Human Leukemic Myeloblast Cultures. 255.
- GHENDON, Y., L. BABUSHKINA, and O. BLAGOVESHENSKAYA: Inhibition of Poliovirus RNA Synthesis in an *in vitro* System by Antiserum against 14S Virus-Specific Structures. 47.
- GHENDON, Y. Z. S. B. A. LIBSHITS
- GHENDON, Y. Z. S. E. YAKOBSON
- GIL-FERNÁNDEZ, C., C. RONDA-LAÍN, and M. RUBIO-HUERTOS: Electron Microscopic Study of Sindbis Virus Morphogenesis. 1.
- GORHAM, J. R. S. D. T. SHEN.
- GRIBKOVA, N. V. S. M. A. LIPKIND.
- GUERRERO, L. B. DE S. M. BOXACA.
- HAFF, R. F., and C. A. PINTO: Comparison of Neutralizing Activity in Nasal Secretion and Serum of Ferrets in Response to Infection with Influenza A Viruses (Brief Report). 168.
- HANNAH, J. E. S. T. C. O'BRIEN.
- HARWOOD, R. F. S. D. T. SHEN.
- HEBERLING, R. L. S. P. J. FELSBURG.
- HEICKE, B. S. W. E. G. MÜLLER.
- HELLMANN, W., and H. KOHLHAGE: Gelchromatographie von virusinduziertem Interferon aus Exsudatgranulozyten. 128.
- HELLMANN, W., and H. KOHLHAGE: Zelluläre Herkunft der durch Newcastle-Disease-Virus induzierten Serum-Interferonaktivität des Kaninchens. 334.

- HONDO, R., H. SHIBUTA, and M. MATUMOTO: Lyophilization of Varicella Virus (Brief Report). 397.
- HYLLSETH, B.: Structural Proteins of Equine Arteritis Virus. 177.
- INABA, Y. s. Y. ITO.
- ITO, Y., Y. TANAKA, Y. INABA, and T. OMORI: Electron Microscopy of Ibaraki Virus. 29.
- ITO, Y., Y. TANAKA, Y. INABA, and T. OMORI: Structure of Bovine Respiratory Syncytial Virus. 198.
- INOUE, Y. K. s. Y. NISHIBE.
- IWASAKI, Y., T. FURUKAWA, S. PLOTKIN, and H. KOPROWSKI: Ultrastructural Study on the Sequence of Human Cytomegalovirus Infection in Human Diploid Cells. 311.
- KALICA, A. R. s. R. G. WYATT.
- KALTER, S. S. s. P. J. FELSBERG.
- KARABATSOS, N.: Density Gradient Characterization of Disrupted and Untreated Eastern Encephalitis Virus. 222.
- KERN, J. s. L. ROSEN.
- KIMURA, T. s. Y. NISHIBE.
- KOHLHAGE, H. s. W. HELLMANN.
- KOPROWSKI, H. s. Y. IWASAKI.
- KORBECKI, M.: Effect of Phleomycin on the Replication of Mengovirus in Novikoff Hepatoma Cells. 265.
- KOSZINOWSKI, U. s. G. BANDLOW.
- KURSTAK, E., J. P. VERNOUX et L. BRAKIER-GINGRAS: Étude biophysique de l'acide désoxyribonucléique du virus de la denso nucléose (VDN). II. Extraction du DNA Viral et mise en évidence de la présence de chaînes polynucléotidiques complémentaires encapsidées séparément dans les virions VDN. 274.
- LABZOFFSKY, N. A. s. E. ZALAN.
- LAING, A. H. s. C. H. ROMERO-MERCADO.
- LAL, S. M., and I. P. SINGH: Buffalopox Virus. Preliminary Report (Brief Report). 390.
- LAWSON, J. B. s. C. H. ROMERO-MERCADO.
- LEFÈVRE, N., M. P. BEUMER-JOCHMANS, and S. SPRECHER-GOLDBERGER: Thermosensitive Events in Adenovirus Transformed Cells. II. Helping of Adenovirus-Associated Viruses. 248.
- LEFÈVRE, N. s. S. SPRECHER-GOLDBERGER
- LIBSHITS, B. A., E. YAKOBSON, A. F. BYCKOVSKY, Y. Z. GHENDON, and V. I. CHERNOS: Effect of Host-Cell on Antiviral Action of Acetone. (Brief Report). 164.
- LIGON, F. B. s. H. E. GEILHAUSEN.
- LINDENMANN, J. s. A. GERBER.
- LIPKIND, M. A., I. V. TSVETKOVA, and N. V. GRIBKOVA: Neuraminidase and Hemagglutinin Activities in Subcellular Fractions of NDV- and FPV-Infected Chick Embryo Cells and Their Re-Distribution Following Triton X 100 Treatment. 300.
- LODEMANN, E., J. DIEDERICH, U. SÄTTLER, and A. WACKER: Induction of Interferon in L-Cells by Polyinosinic-Polycytidylic Acid in the Presence of Cationic Compounds. II. Basic Dyes. 87.
- LODEMANN, E. s. J. DIEDERICH
- LUKERT, P. D.: Avian Infectious Bronchitis Virus Characteristics of an Inhibitor Found in Serum. 93.
- LUKERT, P. D. s. H. E. GEILHAUSEN
- MAJER, M.: Studies on Influenza Virus Hemagglutination Inhibition by Anti-Host Serum. 58.
- MANCINI, L. O. and V. J. YATES: Attempts to Produce Tumors in Mice with Celo Virus (Brief Report). 174.
- MATUMOTO, M. s. R. HONDO.
- MAYOR, H. D. s. J. D. REEVES.
- MAYR, A. s. A. P. ANZIL.
- McFERRAN, J. B., R. NELSON, and J. K. CLARKE: Isolation and Characterization of Reoviruses Isolated from Sheep. 72.
- McPHERSON, E. A. s. C. H. ROMERO-MERCADO.
- MIKHEJEVA, A. s. E. YAKOBSON.
- MÜLLER, W. E. G., D. FALKE, B. HEICKE, and R. K. ZAHN: Biological Activity of 2-Phenylethanol and Its Derivatives. VIII. Influence on Herpesvirus DNA-Synthesis in Rabbit Kidney Cells. 205.
- NELSON, R. s. J. B. McFERRAN.
- NISHIBE, Y., T. KIMURA, and Y. K. INOUE: Properties of Virus Associated with Subacute Myelo-Optico-Neuropathy. 189.

- O'BRIEN, T. C., J. E. HANNAH, and N. M. TAURASO: Heat-Labile Accessory Factor Involved in Vaccinia Virus Plaque Neutralization. 366.
- O'BRIEN, T. C., and N. M. TAURASO: Antibodies to Type A Influenza Viruses in Sera from Nonhuman Primates. 359.
- OMORI, T. s. Y. ITO.
- PADGETT, G. A. s. D. T. SHEN.
- PINTO, C. A. s. R. F. HAFF.
- PLOTKIN, S. s. Y. IWASAKI.
- POCHET, R. s. S. SPRECHER-GOLDBERGER.
- REEVES, J. D., and H. D. MAYOR: The Effects of Hydrogen Ions on the Morphology and Infectivity of Rhinovirions. 325.
- ROMERO-MERCADO, C. H., E. A. MCPHERSON, A. H. LAING, J. B. LAWSON, and G. R. SCOTT: Virus Particles and Antigens in Experimental Orf Seabs. 152.
- ROMERO-MERCADO, C. H., E. A. MCPHERSON, A. H. LAING, J. B. LAWSON, and G. R. SCOTT: Virus Particles and Antigens in Natural Orf (Brief Report). 159.
- RONDA-LAÍN, C. s. C. GIL-FERNÁNDEZ.
- ROSEN, L., N. J. SCHMIDT, and J. KERN: Toluca-1, a Newly Recognized Enterovirus. 132.
- RUBIO-HUERTOS, M.
s. C. GIL-FERNÁNDEZ.
- RUSSELL, P. K. s. R. D. CARDIFF.
- SATTLER, U. s. E. LODEMANN.
- SAUTER, C. s. A. GERBER.
- SAVY, V. L. s. M. BOXACA.
- SCHMIDT, N. J. s. L. ROSEN.
- SCHMUÑIS, A. s. S. C. BESUSCHIO.
- SCOTT, G. R. s. C. H. ROMERO-MERCADO.
- SHEN, D. T., J. R. GORHAM, R. F. HARWOOD, and G. A. PADGETT: The Persistence of Aleutian Disease Virus in the Mosquito *Aedes fitchii*. 375.
- SHIBUTA, H. s. R. HONDO.
- SIEGL, G., and M. GAUTSCHI: The Multiplication of Parvovirus Lu III in a Synchronized Culture System. I. Optimum Conditions for Virus Replication. 105.
- SIEGL, G., and M. GAUTSCHI: The Multiplication of Parvovirus LuIII in a Synchronized Culture System. II. Biochemical Characteristics of Virus Replication. 119.
- SINGH, I. P. s. S. M. LAL.
- SPRECHER-GOLDBERGER, S., N. LEFÈVRE, J. DE BRUYNE, R. POCHE, and L. THIRY: Thermosensitive Events in Adenovirus Transformed Cells. I. Resistance to Herpes Simplex-Virus. 236.
- SPRECHER-GOLDBERGER, S. s. N. LEFÈVRE
- SUZUKI, N. s. M. TAKEHARA.
- TAKEHARA, M., and N. SUZUKI: Interferon Induction by Rice Dwarf Virus RNA. Antiviral Activity *in vitro* and Its Stability. 291.
- TANAKA, Y. s. Y. ITO.
- TAURASO, N. M. s. T. C. O'BRIEN.
- THIRY, L. s. S. SPRECHER-GOLDBERGER.
- THOMSEN, R. s. G. BANDLOW.
- TSVETKOVA, I. V. s. M. A. LIPKIND.
- VERNOUX, J. P. s. E. KURSTAK.
- WACKER, A. s. J. DIEDERICH
- WACKER, A. s. E. LODEMANN.
- WEISSENBACHER, M. C.
s. S. C. BESUSCHIO.
- WILSON, C. s. E. ZALAN.
- WYATT, R. G., A. R. KALICA, and R. DOLIN: Ultrastructural Study of Viral Replication in Human Fetal Intestinal Organ Culture. 341.
- YAKOBSON, E., A. MIKHEJEVA, and Y. Z. GHENDON: On the Kinetics of Poliovirus-Specific Protein and RNA Synthesis in Poliovirus-Infected Cells. (Brief Report). 161.
- YAKOBSON, E. s. B. A. LIBSHITS
- YATES, V. J. s. L. O. MANCINI.
- ZAHN, R. K. s. W. E. G. MÜLLER.
- ZALAN, E., C. WILSON, and N. A. LABZOFFSKY: Elimination of Non-Specific Reaction in Latex Agglutination Test for the Detection of Hepatitis-Associated Antigen (Brief Report). 171.

Gesteigerte Immunogenität von Plasmamembranen vacciniavirusinfizierter BHK-Zellen¹

Von

G. BANDLOW, U. KOSZINOWSKI und R. THOMSEN

Hygiene-Institut der Universität Göttingen, Bundesrepublik Deutschland

Mit 4 Abbildungen

Eingegangen am 20. Juli 1972

Zusammenfassung

Vacciniavirusinduzierte Zelloberflächenveränderungen können durch den zytoziden Effekt virusspezifischer Antikörper auf infizierte Zellen sowie durch die Agglutination virusinfizierter Zellen durch Concanavalin A demonstriert werden. Diese Veränderungen treten zeitlich korreliert mit einer gesteigerten Immunogenität der Wirtszelle 2—3 Stunden nach Infektionsbeginn bereits vor der Produktion reifer infektiöser Viruspartikeln auf. Eine gesteigerte Antikörperproduktion gegen Wirtszellantigene wird auch nach Immunisierung mit isolierten Plasmamembranen vacciniavirusinfizierter Zellen erreicht, während Zellkernfraktionen diesen Effekt nicht auslösen. Bei den zytotoxischen Antikörpern, die zu den 7 S-Immunglobulinen gehören, handelt es sich — wie durch Absorption mit BHK-Zellmembranen gezeigt werden kann — um spezifisch gegen BHK-Zellen gerichtete Antikörper.

Summary

Increased Immunogenicity of Plasma Membranes of BHK-Cells Infected by Vaccinia Virus

Cell surface alterations induced by vaccinia virus can be demonstrated either by the cytotoxic effect of specific antibodies against vaccinia virus on the infected cells or agglutination of the infected cells by Concanavalin A. This change occurs 2—3 hours after infection, that is before any mature particles of vaccinia virus were produced. It coincides with an increased immunogenicity of the host cell. The production of cytotoxic antibodies against host cell antigens was also increased after active immunization with plasma membranes isolated from vaccinia virus-infected BHK-cells, whereas the fraction of cell nuclei did not show up this effect. The cytotoxic antibodies which proved to be 7 S immunoglobulines, are specifically directed against BHK-cells as could be shown by absorption tests with membranes of BHK-cells.

¹ Gefördert mit Hilfe von Forschungsmitteln des Landes Niedersachsen.

1. Einleitung

Verschiedene Viren können die Synthese von virusspezifischen Antigenen an der Wirtszelloberfläche induzieren. Erstmals wurden solche Veränderungen an SV40- und polyomavirustransformierten Zellen beobachtet (1, 2). Diese durch onkogene DNS-Viren induzierten Zelloberflächenantigene sind nicht identisch mit virusinduzierten T-Antigenen oder viralen Strukturantigenen (2). Ebenso sind offensichtlich nichtonkogene Viren — wie das Masernvirus (3), Herpes-simplex-Virus (4) und Vacciniavirus (5) — in der Lage, antigene Veränderungen der Wirtszelloberfläche zu verursachen. Die durch das Vacciniavirus induzierten Zelloberflächenveränderungen sind mit verschiedenen Methoden schon 2—3 Stunden nach Infektionsbeginn nachweisbar.

Außerdem führt die Infektion mit Vacciniavirus zu einer gesteigerten Immunogenität der Wirtszelle (6). Nach Immunisierung mit heterologen vacciniavirusinfizierten Zellen werden zytotoxische Antikörper gegen Wirtszellantigene in stärkerem Maße gebildet als nach Immunisierung mit nichtinfizierten Zellen.

In diesem Zusammenhang interessierte es uns, ob die Ausprägung viruspezifischer Oberflächenveränderungen mit der verstärkten Immunogenität der Zelle korreliert ist. Trifft dies zu, so müßte eine vacciniavirusinfizierte Wirtszelle schon 2—3 Stunden p.i. verstärkt immunogen wirksam sein; weiterhin müßten die immunologisch wirksamen Antigene in der Zelloberflächenmembran und nicht in einer anderen Zellfraktion — wie z. B. im Zellkern — lokalisiert sein. Die isolierten Plasmamembranen infizierter Zellen würden dann die immunologisch wirksame Fraktion der Zellen darstellen.

2. Material und Methoden

2.1. Virus, Virusvermehrung und Virustitration

Vacciniavirus-Stamm WR wurde in permanenten BHK-Zellen vermehrt (10^7 TCID₅₀/ml). Als Vermehrungsmedium diente Eagle's Minimum Essential Medium mit Earle's BSS. Die Infektiosität des Vacciniavirus wurde durch Titration auf primären Cercopithecus-Nierengewebekulturen bestimmt.

2.2. Agglutinationstest mit Concanavalin A

Agglutinationsteste wurden nach BURGER (7) und INBAR u. SACHS (8) durchgeführt: Permanente BHK-Zellkulturen werden mit Vacciniavirusstamm WR (10^7 TCID₅₀/ml) inokuliert und nach einstündiger Adsorption zur Entfernung des nicht adsorbierten Virus $3 \times$ mit Kulturmedium gewaschen und anschließend in Eagle's Medium inkubiert. In stündlichen Abständen nach Infektion wird das Medium dekantiert, die Zellen $2 \times$ in calcium- und magnesiumfreier phosphatgepufferter Kochsalzlösung pH 7,2 gewaschen und der Zellrasen mit 0,02%iger EDTA (Titriplex III, Fa. Merck, Darmstadt) in eine Einzelzellsuspension gebracht. Anschließend werden die Zellen mit phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung pH 7,4 (PBS) gewaschen und auf 3×10^6 Zellen/ml eingestellt. Zu 0,5 ml Zellsuspension werden 0,5 ml (1 mg/ml in Saline) Concanavalin A (Fa. Serva, Heidelberg) oder 0,5 ml Saline gegeben. Nach vorsichtigem Schütteln wird das Gemisch nach 15 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur beurteilt.

2.3. Präparation von BHK-Zellmembranen

Die Präparation von Membranen vacciniavirusinfizierter und nichtinfizierter BHK-Zellen erfolgte in Anlehnung an die von NACHMAN, FERRIS und HIRSCH (9) sowie WARREN, GLICK u. NASS (10) angegebenen Methoden zur Präparation von Makro-

phagenmembranen: Dreistündige mit 1×10^9 TCID₅₀ vacciniavirusinfizierte sowie nichtinfizierte BHK-Zellen werden $2 \times$ mit PBS pH 7,4 gewaschen, das Sediment in 90 ml destilliertem Wasser unter vorsichtigem Schütteln aufgenommen und 10 Minuten bei $+21^\circ \text{C}$ stehengelassen. Nach Zugabe von 10 ml 10%igem Glutaraldehyd (Fa. Serva, Heidelberg) werden die Zellen 10 Minuten bei 1200 UpM zentrifugiert, in destilliertem Wasser einmal gewaschen und in 100 ml destilliertem Wasser wieder resuspendiert. In 5–10 ml-Portionen werden die Zellen anschließend in einem ‚Dounce Zellhomogenisator‘ (Kontes Glass Co., Vineland, N.J., USA) mit einem eng schließenden Stößel durch 5–10 Stöße, bis etwa 90% der Zellen aufgeschlossen sind, homogenisiert. Der schrittweise Zellaufschluß wird hierbei mit dem Phasenkontrastmikroskop verfolgt. Zu den 100 ml Zellhomogenat wird anschließend ein gleiches Volumen 60%iger Saccharose (g/v) hinzugefügt; jeweils 50 ml der nun 30%igen Saccharose-Homogenat-Suspension werden mit 40 ml 50%iger Saccharose (g/v) überschichtet und 40 Minuten bei 800 UpM bei $+4^\circ \text{C}$ zentrifugiert. Anschließend wird die Oberschicht bis ca. 5 mm in die Grenzschicht hinein abgehoben, nochmals auf 50%ige Saccharose gelagert und wieder 40 Minuten bei 800 UpM zentrifugiert. Nach Abhebung – diesmal nicht in die Grenzschicht hinein – wird die Oberschicht mit destilliertem Wasser auf 20%ige Saccharose verdünnt und 40 Minuten bei 8000 UpM bei $+4^\circ \text{C}$ zentrifugiert. Das Sediment wird in 10 ml 35%iger Saccharose aufgenommen und im ‚Dounce Zellhomogenisator‘ mit dem locker schließenden Stößel noch einmal durch einen Stoß aufgeschlossen. Je 5 ml der partiell gereinigten Membransuspension werden auf einem linearen Saccharosegradienten (40–65% g/v) 2 Stunden bei 12.000 UpM in einem SW 27 Rotor der Spinco L 50 (Fa. Beckman) sedimentiert. Die schmale Membranbande wird mit einer Spritze abgesaugt. Nach Dialyse gegen PBS und anschließender Proteinbestimmung nach Kjeldahl werden die Proben zur Immunisierung durch Verdünnung mit PBS auf Proteingleichheit eingestellt.

2.4. Präparation von BHK-Zellkernen

Die Präparation von Zellkernen erfolgte in Anlehnung an die von MUNRO (11) und REIFENRATH (12) angegebenen Methoden zur Präparation von HeLa-Zellkernen: Vacciniavirus- und nichtvirusinfizierte BHK-Zellen werden nach zweimaligem Waschen in Hanksscher Lösung durch 30%ige Zitronensäure (in 0,85% NaCl-Lösung) mit 1 Vol.-% Lensodel AB 6 (Deutsche Shell-Chemie AG., Hamburg) und 0,5% Mg durch Schütteln auf einem Whirlimixer (10 Sekunden) aufgeschlossen. Die Kerne werden anschließend bei 3000 UpM sedimentiert, $3 \times$ mit PBS pH 7,4 gewaschen und in Saccharose (Gradient: 60-, 50-, 40-, 30% Saccharose in 0,004 m McIlvaine-Puffer pH 7,8) 15 Minuten bei 20.000 UpM in einem SW 27 Rotor der Spinco L 50 sedimentiert. Mit einem Dichtegradientenfraktionator (Fa. Iseo, Lincoln, Nebraska, USA) wird die Kernbande nach Messung der optischen Dichte bei 280 nm getrennt mit einem Fraktionensammler aufgefangen und gegen PBS bei $+4^\circ \text{C}$ dialysiert. Nach Bestimmung des Proteingehaltes nach Kjeldahl wird die Suspension infizierter und nicht infizierter Zellen durch Verdünnen mit PBS auf Proteingleichheit eingestellt.

2.5. Immuseren

Die verschiedenen Zellfraktionen infizierter und nichtinfizierter BHK-Zellen wurden $3 \times$ in dreitägigen Abständen und ein viertes Mal nach einer weiteren Woche an Pirbright-Meerschweinchen (250 g/Tier) verimpft. Die Dosis, die jeweils an 2 Stellen i.m. in die beiden Hinterbeine appliziert wurde, betrug bei der ersten Impfung 6 ml, bei den folgenden jeweils 3 ml. Insgesamt erhielt ein Meerschweinchen 3 mg Protein. Eine Woche nach der letzten Antigeninjektion wurden die Tiere entblutet.

2.6. Zytotoxizitätsteste

Nach Inkubation der hitzeinaktivierten (30 Min. 56°C) Immuseren in Gegenwart von aktivem Meerschweinchenkomplement mit den in Röhrchen ausgewachsenen BHK-Zellen wurde die Freisetzung von LDH und ^3H -Uridin nach einer Methode bestimmt, die einer vorangegangenen Publikation zu entnehmen ist (6).

3. Ergebnisse

3.1. Vacciniavirusinduzierte Oberflächenveränderungen bei BHK-Zellen

Zum Nachweis des zeitlichen Beginns der Ausbildung vacciniavirusinduzierter Antigene auf der Zellmembran wurden die infizierten BHK-Zellen in stündlichen Abständen nach Infektionsbeginn mit Antivaccinia-Antikörpern vom Meerschweinchen (nach Immunisierung mit Vacciniavirus, das auf menschlichen Fibroblasten vermehrt wurde; diese Zellen besaßen keine Kreuzreaktivität mit BHK-Zellen) in Gegenwart von frischem Meerschweinchenkomplement bei 37° C inkubiert. Der Testansatz enthielt 0,3 ml Serum, 0,3 ml Meerschweinchenkomplement und 1 ml Eagle's MEM. Nach 20 Minuten wurde im Gewebekulturüberstand die freigesetzte LDH und ^3H -Uridin bestimmt. Kontrolluntersuchungen wurden mit nichtinfizierten Zellen durchgeführt.

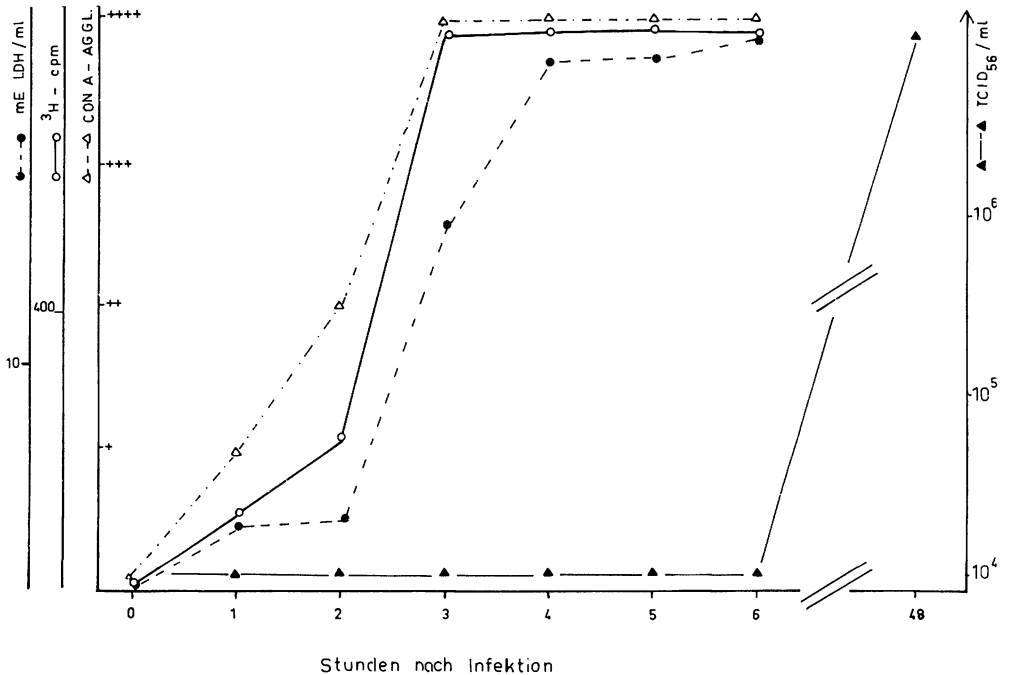


Abb. 1. Ausbildung vacciniavirusinduzierter Zelloberflächenantigene und Concanavalin-A-Bindungsstellen sowie Replikation von Vacciniavirus nach Infektion von BHK-Zellen in Abhängigkeit von der Zeit

Nach Vacciniavirusinfektion lassen sich bereits 2–3 Stunden nach Infektionsbeginn, noch bevor eine Virusvermehrung stattfindet, virusinduzierte Veränderungen auf der Wirtszelloberfläche durch Immunzytolyse nachweisen (Abb. 1). Ein unspezifischer zytotoxischer Effekt konnte durch Inkubation der Antiseren mit nichtinfizierten Zellen ausgeschlossen werden. Eine virusbedingte Zytolyse fällt gleichfalls außer Betracht, da nach Inkubation vacciniavirusinfizierter BHK-Zellen mit Komplement allein keine vermehrte Zellschädigung nachgewiesen werden konnte.

Die vermehrte Freisetzung von LDH und ^3H -Uridin durch vacciniavirus-spezifische Antikörper ist zeitlich korreliert mit der Agglutinierbarkeit infizierter BHK-Zellen durch Concanavalin A (Abb. 1). Beide Teste wurden gleichzeitig, d. h.

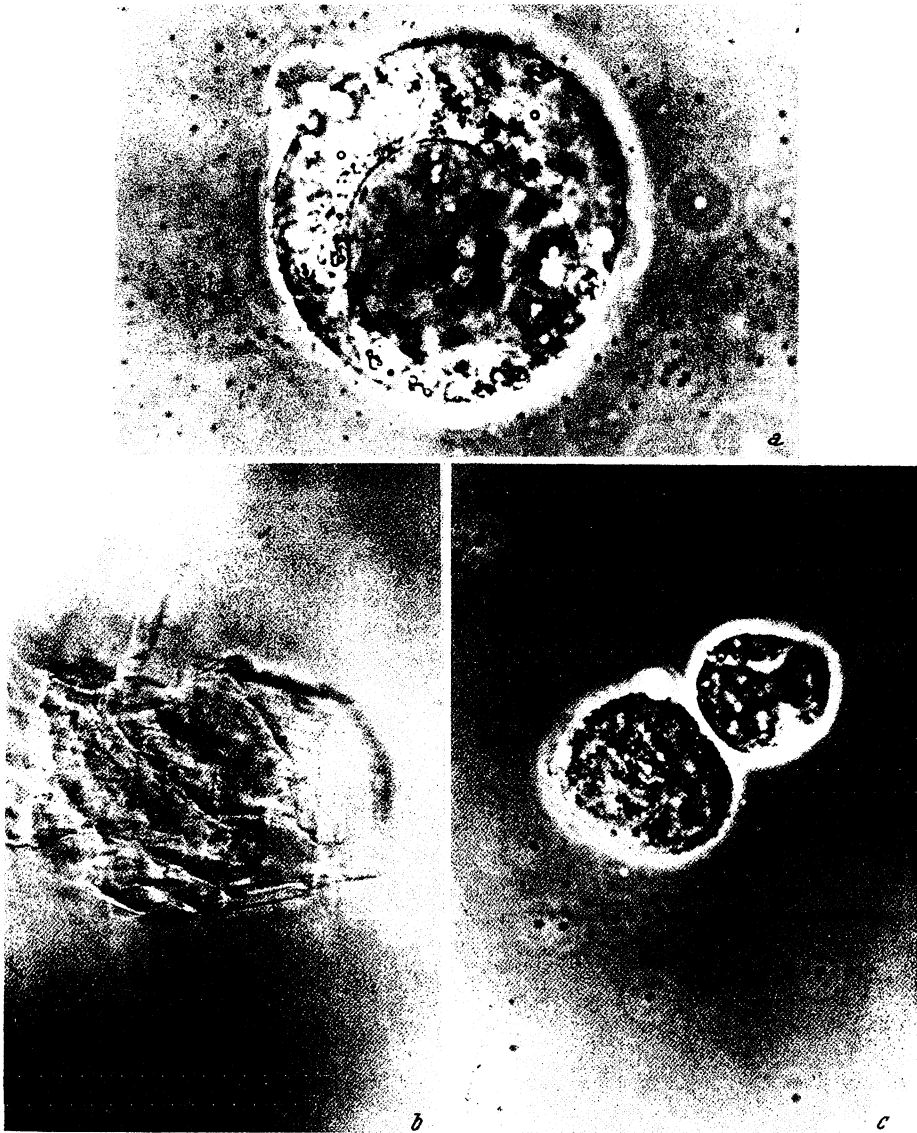


Abb. 2

- a) 3 Stunden vacciniavirusinfizierte BHK-Zelle, glutaraldehydfixiert (Phasenkontrast, 400fache Vergrößerung).
- b) Isolierte Plasmamembran einer 3 Stunden vacciniavirusinfizierten BHK-Zelle (Phasenkontrast, 1000fache Vergrößerung).
- c) Isolierte Zellkerne von 3 Stunden vacciniavirus-infizierten BHK-Zellen (Phasenkontrast, 400fache Vergrößerung)

bereits nach 2 Stunden p. i., positiv. Die Spezifität des Concanavalin-Testes konnte dadurch gesichert werden, daß weder infizierte Zellen durch das Lösungsmittel (PBS) noch nichtinfizierte Zellen durch Concanavalin agglutiniert wurden.

3.2. Steigerung der Antikörperproduktion gegen BHK-Zellen nach Immunisierung mit Plasmamembranen vacciniavirusinfizierter BHK-Zellen

Plasmamembranen wurden durch schonende Homogenisierung von gequollenen, glutaraldehydfixierten BHK-Zellen gewonnen (Abb. 2 a). Durch die Glutaraldehydbehandlung wird erreicht, daß die Zytoplasmabestandteile fixiert werden und sich an den Zellkern anheften. Dieser Effekt wird bei schwächerer Fixation nicht in dieser Deutlichkeit beobachtet; meist zerfällt dann das Zytoplasma in kleine Einheiten, die sich schlecht von den Membranen trennen lassen (10). Beim Einbringen der Zellen in hypotones Milieu hebt sich die Membran vom Zytoplasma ab und läßt sich durch die Scherkräfte des Homogenisators leicht abstreifen (Abb. 2 b). Biochemische Reinheitskriterien wurden von anderen Autoren für diese Präparationsmethode erbracht (9). Die auf diese Weise präparierten Plasmamem-

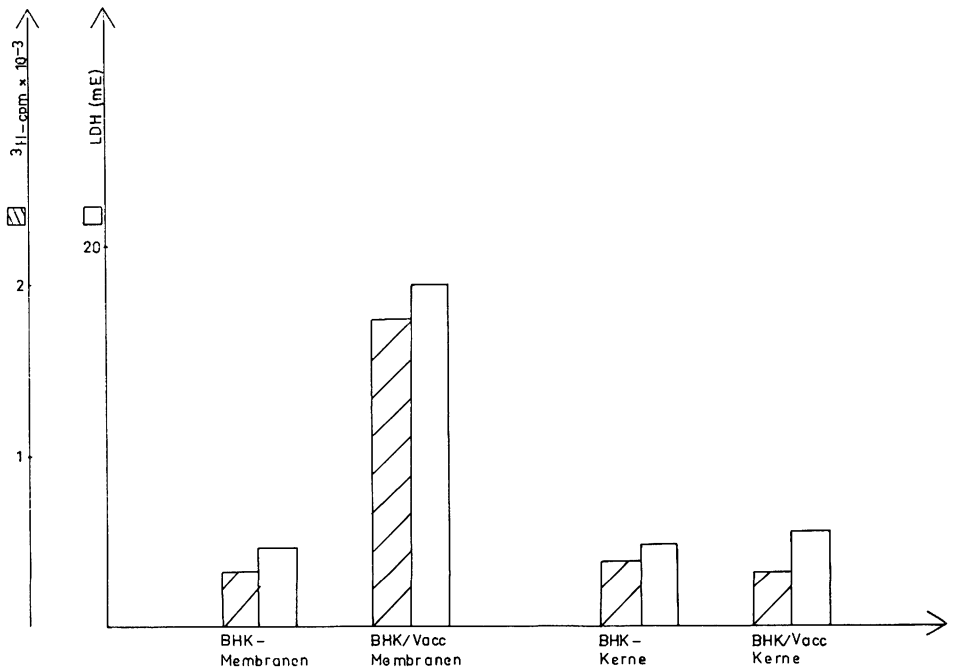


Abb. 3. Antikörperbildung gegen BHK-Zellen nach Immunisierung von Meerschweinchen mit Plasmamembranen und Kernen vacciniavirusinfizierter und nichtvirusinfizierter BHK-Zellen

branen von 3 Stunden vacciniavirusinfizierten BHK-Zellen und nichtinfizierten BHK-Zellen wurden an Meerschweinchen verimpft. Die quantitative Auswertung der einzelnen Immunseren im Zytotoxizitätstest *in vitro* zeigt, daß die Immunisierung mit Plasmamembranen virusinfizierter Zellen zu einer stärkeren Produktion zytotoxischer Antikörper führt als die Vorbehandlung mit Membranen nichtinfizierter Zellen oder intakter nichtinfizierter Zellen (Abb. 3). Die Zellkerne infizierter sowie nichtinfizierter Zellen waren hingegen gleichermaßen schwach immunogen wirksam. Die BHK-Zellkerne wurden dazu mit einem Zitronensäure-

Detergens-Gemisch isoliert. Mit diesem Gemisch ließen sich im Gegensatz zu anderen Methoden, bei denen entweder nur verdünnte Zitronensäure (13) oder nur Detergentien (14) zur Anwendung kommen, optisch völlig saubere Zellkerne präparieren (Abb. 2 e).

Die immunologisch adjuvierenden Faktoren sind also offensichtlich nicht ubiquitär in der Zelle, sondern an der Zelloberfläche lokalisiert.

3.3. Charakterisierung der vermehrt gebildeten Antikörper

Die vermehrt gebildeten Antikörper gehören, wie die Sedimentationsanalyse im Saccharosegradienten zeigte, zu den 7 S-Immunglobulinen. Sie sind spezifisch in ihrer zytotoxischen Aktivität gegen BHK-Zellen, insbesondere gegen die Zelloberflächenantigene gerichtet und lassen sich mit nichtinfizierten BHK-Zellen sowie den isolierten Membranen dieser Zellen absorbieren (Abb. 4). Eine Absorp-

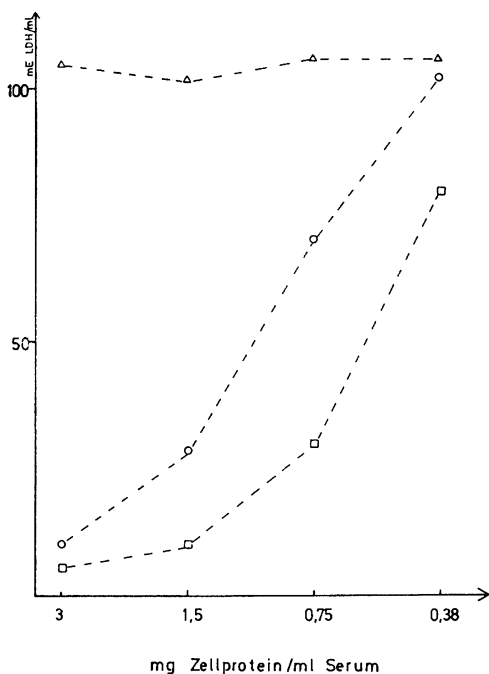


Abb. 4. Zytotoxische Aktivität von Anti-BHK-Antikörpern vom Meerschweinchen nach Absorption mit abfallenden Proteinkonzentrationen von BHK-Plasmamembranen (O--O), BHK-Zellkernen (Δ--Δ) und homogenisierten BHK-Zellen (□--□)

tion mit isolierten BHK-Zellkernen war hingegen nicht möglich. — Zur Absorption wurden die vermehrt gebildeten Antikörper mit den isolierten Plasmamembranen, isolierten Zellkernen und nicht infizierten BHK-Zellen 12 Stunden bei +4° C inkubiert. Kontrollabsorptionen wurden mit humanen embryonalen Fibroblasten durchgeführt, die als heterologe Antigene auch keine absorbierende Wirkung hatten. Hierdurch wurde die Spezifität der zytotoxischen Antikörper erwiesen und gleichzeitig eine unspezifische Stimulierung des antikörperproduzierenden Systems ausgeschlossen.

4. Diskussion

Vacciniavirusinduzierte Zelloberflächenantigene lassen sich mit verschiedenen Techniken nachweisen, nämlich durch Immunofluoreszenz (15), HämadSORption (16), gemischte Agglutination (4) und Zellagglutination durch Concanavalin A (17). Wir haben diese virusinduzierten Oberflächenantigene durch den zytoziden Effekt von Antiseren in Gegenwart von Komplement, ähnlich dem von ROANE und ROIZMAN (18) zum Nachweis von Herpes-simplex-Virus-induzierten Membranveränderungen beschriebenen Test, sowie durch Concanavalin-A-Agglutination virusinfizierter Zellen nachgewiesen. Ob dabei die durch Antikörper nachgewiesenen Oberflächenantigene mit den Concanavalin-A-Bindungsstellen identisch sind, ist bislang nicht eindeutig bestimmbar. Bei diesen Oberflächenantigenen, die bereits 2 Stunden nach Infektion nachweisbar sind, handelt es sich offensichtlich nicht um Virusstrukturproteine, sondern um „de novo“-virusinduzierte und virusspezifische Membranproteine. Denn nach Hemmung der viralen DNS-Synthese durch Cytosinarabinosid (17) ist die Bildung dieser Oberflächenveränderungen noch nachweisbar, nach Behandlung infizierter Zellen mit Cycloheximid, einem Inhibitor der Proteinsynthese, jedoch unterbunden. Demzufolge kann angenommen werden, daß die Synthese dieser Oberflächenantigene bereits in der ersten Stunde p. i. durch messenger RNS kodiert wird. Ein Aktivitätsanstieg früher Enzyme im Zytoplasma ließ sich bereits 1,5 Stunden nach Infektion mit Vacciniavirus nachweisen (19).

Zeitlich korreliert mit dem Auftreten dieser virusinduzierten Oberflächenveränderungen ist ein Anstieg der Immunogenität der Wirtszelle festzustellen (20). Auf Grund dieser Korrelation liegt die Vermutung nahe, daß die virusinduzierten Antigene mit den zellularen Oberflächenantigenen immunogen besonders wirksame komplexe Antigene bilden, die für die gesteigerte Produktion zytotoxischer Antikörper verantwortlich sind. Die virusinduzierten Oberflächenantigene überdecken die zelleigenen Antigene offensichtlich nicht, sondern verstärken deren Immunogenität. Durch die Immunisierung mit isolierten Zellmembranen konnte jedenfalls eindeutig nachgewiesen werden, daß deren Antigenität durch die Zellinfektion beträchtlich gesteigert wird. Offensichtlich werden die Membranproteine bei schonender Glutaraldehydfixation nicht beeinträchtigt (9). Außerdem wird bei dieser Methode die Zellmembran in intakten Stücken erhalten, so daß die — bei anderen Präparationstechniken (21, 22) eventuell bestehende — Möglichkeit einer Dissoziation der mutmaßlichen Antigenkomplexe kaum in Betracht fällt. Die Frage, ob es sich bei den virusinduzierten Oberflächenantigenen, Concanavalin-A-Bindungsstellen und immunologisch adjuvierenden Faktoren um ein und dieselben oder um verschiedene, gleichzeitig in der Zellmembran auftretende Antigene handelt, soll in weiteren Versuchen untersucht werden.

Die bisherigen Bemühungen, die Immunogenität von Tumorzellen durch den Einbau eines Freundantigens, einer sogenannten „Helfer-Determinante“, zu stimulieren, erhalten aufgrund unserer Versuchsergebnisse zumindest Auftrieb. In weiteren Versuchen soll denn auch diese Möglichkeit geprüft werden.

Die Autoren danken Fräulein A. Weilert für ihre tatkräftige Mitarbeit.

Literatur

1. TEVETHIA, S. S., and F. RAPP: Demonstration of new surface antigens in cells transformed by papovavirus SV 40 by cytotoxic tests. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **120**, 455 (1965).
2. IRLIN, S. L.: Immunofluorescent demonstration of a specific surface antigen in cells infected or transformed by polyoma virus. *Virology* **32**, 725 (1967).
3. FAGRAEUS, A., and A. ESPMARK: Use of a 'Mixed haemadsorption' method in virus-infected tissue cultures. *Nature (Lond.)* **190**, 370 (1961).
4. ITO, M., and A. BARRON: Surface antigen produced by herpes simplex virus (HSV). *J. Immunol.* **3**, 711 (1972).
5. MIYAMOTO, H., and S. KATO: Immune hemadsorption by cells infected with poxviruses. *Biken J.* **11**, 343 (1968).
6. BANDLOW, G., F. KIELING und R. THOMSEN: Viren als immunologische Adjuvantien für die Produktion von Antikörpern gegen Wirtszellantigene. *Arch. ges. Virusforsch.* **34**, 287 (1971).
7. BURGER, M.: A difference in the architecture of the surface membrane of normal and virally transformed cells. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **62**, 994 (1969).
8. INBAR, M., and L. SACHS: Interaction of the carbohydrate-binding protein Concanavalin A with normal and transformed cells. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **63**, 1418 (1969).
9. NACHMAN, R., B. FERRIS, and J. G. HIRSCH: Macrophage Plasma Membranes I. Isolation and studies on protein components. *J. exp. Med.* **133**, 785 (1971).
10. WARREN, L., M. C. GLICK, and M. K. NASS: Membranes of animal cells I. Methodes of isolation the surface membrane. *J. cell. Physiol.* **68**, 169 (1966).
11. MUNRO, G. F., A. L. DOUNCE, and S. LERMAN: Nucleic acid and protein composition of HeLa cell nuclei isolated by three methods. *Exp. Cell Res.* **55**, 46 (1969).
12. REIFENRATH, R.: Eine Methode zur Isolierung von HeLa-Zellkernen. (In Vorbereitung.)
13. NEWTON, A., and M. G. P. STOKER: Changes in nucleic acid content of HeLa cells infected with Herpes virus. *Virology* **5**, 549 (1958).
14. PENMAN, S.: RNA Metabolism in the HeLa cell nucleus. *J. molec. Biol.* **17**, 117 (1966).
15. UEDA, Y., M. ITO, and I. TAGAYA: A specific surface antigen induced by poxviruses. *Virology* **38**, 180 (1969).
16. MIYAMOTO, H., and S. KATO: Cell surface antigens induced by poxviruses I. Effects of antimetabolites on cell surface antigens. *Biken J.* **14**, 311 (1971).
17. ZARLING, J. M., and S. S. TEVETHIA: Expression of Concanavalin A binding sites in rabbit kidney cells infected with vaccinia virus. *Virology* **45**, 313 (1971).
18. ROANE, PH. R., and B. ROIZMAN: Studies of the determinant antigens of viable cells. II. Demonstration of altered antigenic reactivity of HEp-2 cells infected with herpes simplex virus. *Virology* **22**, 1 (1964).
19. JUNGWIRTH, C., and W. K. JOKLIK: Studies on "early" enzymes in HeLa cells infected with vaccinia virus. *Virology* **27**, 80 (1965).
20. BANDLOW, G., W. FISCHER und R. THOMSEN: Untersuchungen zum Mechanismus der immunologischen Adjuvanswirkung des Vacciniavirus. *Arch. ges. Virusforsch.* 1972 (im Druck).
21. KAMAT, V. B., and D. F. HOELZL-WALLACH: Separation and partial purification of plasma-membrane fragments from Ehrlich-Ascites carcinoma microsomes. *Science* **148**, 1343 (1965).
22. SPEAR, P. G., J. M. KELLER, and B. ROIZMAN: Proteus specified by Herpes simplex virus II. Viral Glycoproteins associated with cellular membranes. *J. Virol.* **5**, 123 (1970).

Anschrift der Verfasser: Dr. G. BANDLOW, Hygiene-Institut der Universität Göttingen, Kreuzberg 57, D-3400 Göttingen, Bundesrepublik Deutschland.