

DIE QUANTITATIVE ELEKTROPHORESE IN DER MEDIZIN

HERAUSGEGEBEN VON

H. J. ANTWEILER

UNTER MITARBEIT VON

J. BOOIJ · H. EWERBECK · A. LEINBROCK

B. SCHULER · K. STÜRMER

ZWEITE NEUBEARBEITETE UND ERWEITERTE AUFLAGE

MIT 142 ABBILDUNGEN



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

1957

DIE QUANTITATIVE ELEKTROPHORESE IN DER MEDIZIN

HERAUSGEGEBEN VON

H. J. ANTWEILER

UNTER MITARBEIT VON

J. BOOIJ · H. EWERBECK · A. LEINBROCK
· B. SCHULER · K. STÜRMER

ZWEITE NEUBEARBEITETE UND ERWEITERTE AUFLAGE

MIT 142 ABBILDUNGEN



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1957

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten
Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es auch nicht gestattet, dieses
Buch oder Teile daraus auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie)
zu vervielfältigen

Copyright 1952 by Springer-Verlag oHG. in Berlin, Göttingen and Heidelberg

© by Springer-Verlag oHG. Berlin · Göttingen · Heidelberg 1957

Printed in Germany

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw.
in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der
Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-
Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt
werden dürften

Vorwort zur ersten Auflage

Diese Schrift entstand aus der Zusammenarbeit von Ärzten verschiedener Kliniken mit einem analytischen Chemiker. Das Verbindende war die elektrophoretisch-analytische Meßmethode, die in der Naturwissenschaft entwickelt und vorwiegend in der Medizin angewendet wurde.

Das Buch wendet sich an den Arzt, der sich einen Überblick darüber verschaffen will, welche Aussagen die elektrophoretische Trennung der Bluteiweiße nach den bisherigen Erfahrungen zuläßt und wann diese Methode mit Erfolg einzusetzen ist. Das Buch soll eine Übersicht über das geben, was bisher geschaffen wurde; es soll weiterhin ein Nachschlagen des Schrifttums erleichtern.

Die Verfasser beschränkten sich nicht auf eine referierende Darstellung ihrer Gebiete; sie waren bestrebt, ihre eigenen Erfahrungen, die bei der Anwendung der Methode gewonnen wurden, mit den Ergebnissen anderer Beobachter vergleichend auszuwerten. Dabei konnte infolge der zahlreichen noch ungeklärten Probleme nicht vermieden werden, daß die gesamte Literatur kritisch gesichtet werden mußte und daß die Meinung des Bearbeiters nicht immer im Hintergrund bleiben konnte.

Die Autoren hoffen, daß diese Art der Darstellung den Leser anregt und ihm eine eigene Urteilsbildung über das elektrophoretische Meßverfahren in der Klinik erleichtert, auch wenn seine Ansicht vielleicht manchmal in Widerspruch zu dem Vorgetragenen steht.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken die Bearbeiter für die tatkräftige Unterstützung, die sie bei ihren experimentellen Arbeiten erfahren durften. Der Dank gilt auch den Mitarbeitern, die die Untersuchungen durchführten; er gilt besonders Fräulein Dr. G. ENGELS, die aus ihrer großen experimentellen Erfahrung wertvolle Hilfe geben konnte.

H. J. ANTWEILER

Vorwort zur zweiten Auflage

Es war nach relativ kurzer Zeit notwendig geworden, die „Quantitative Elektrophorese in der Medizin“ für eine zweite Auflage zu bearbeiten.

Da die erste Auflage, in der die Bearbeiter besonderen Wert auf kritische Behandlung des Stoffes gelegt haben, Anklang gefunden hat, wurde diese Art der Darstellung auch in der zweiten Auflage beibehalten. Diese berücksichtigt eine sehr große Zahl der bis 1956 veröffentlichten Arbeiten, konnte aber noch weniger die gesamte zugängliche Literatur zitieren, da in noch höherem Maße kritisch gesichtet werden mußte als bei der ersten Auflage. Als weiterer Autor konnte Herr Professor Dr. J. BOOIJ, Amsterdam, gewonnen werden, der über die quantitative Elektrophorese in der Neurologie berichtet.

Die „Hochspannungselektrophorese“ wurde nicht aufgenommen, da bei dem augenblicklichen Stand ihrer Entwicklung nicht abzusehen ist, ob es sich hier um ein quantitatives analytisches Verfahren handelt.

H. J. ANTWEILER

Inhaltsverzeichnis

Zur Methode der quantitativen Elektrophorese

Von H. J. ANTWEILER, a. o. Prof. am Chem. Institut der Universität Bonn

I. Elektrophorese und Elektroosmose	1
II. Die Grundlagen der Elektrophorese	3
1. Die stehenden Fronten	4
2. Die wandernden Fronten	6
3. Die wahren Konzentrationen	8
4. Die apparenten Konzentrationen	8
III. Die Praxis der Elektrophorese	9
1. Das Vorbereiten der Lösung	9
2. Das Trennen in Komponenten	12
3. Das Vermessen der apparenten Konzentrationen	16
a) Die Bestimmung des Gradienten der optischen Dichte	18
Die Schneidenmethode nach TOEPLER und die Modifikation LONGSWORTH	18
Die Skalenmethode von LAMM	19
Die Zylinderlinsenmethode von PHILPOT in der Modifikation von SVENSSON	20
b) Vermessen der Konzentration durch Interferometrie (Mikroverfahren)	21
Das interferometrische Verfahren von LABHARD und STAUB und Modifikation von LOTMAR	21
Das interferometrische Verfahren von PHILPOT-COOK und SVENSSON	23
Die interferometrischen Gradientenverfahren nach SVENSSON und WIEDEMANN	24
Das interferometrische Kompensationsverfahren mit weißem Licht nach ANTWEILER	25
c) Übersicht über die Genauigkeit und Empfindlichkeit der elektrophoretischen Verfahren	26
4. Das Auswerten von Elektrophoresediagrammen	27
a) Das qualitativ analytische Auswerten	27
b) Das quantitativ analytische Auswerten	29
5. Methodische Störungen	30
a) Wärmekonvektion	30
b) Elektroosmotische Strömung	30
6. Elektrophoresegeräte	32
Makroelektrophoresegeräte 32. — Das Halbmikrogerät von MOORE und WHITE 33. — Mikroelektrophoresegeräte 34.	
IV. Die Papirelektrophorese	34
1. Das Trennverfahren	35
2. Die Auswertverfahren	36
a) Integrierende Auswertverfahren	36
Das Verfahren nach TURBA	36
Das Verfahren nach CREMER-TISELIUS	36
b) Verteilungsabhängige Meßverfahren	37
Das direktcolorimetrische Auswertverfahren von GRASSMANN-HANNIG-KNEDEL	37
Die retentionsanalytische Auswertung nach WIELAND-WIRTH	37
V. Die quantitative Elektrophorese in der Medizin	38

Zur Physiologie des Eiweißes

Von H. EWERBECK, Priv.-Doz. und Oberarzt der Universitäts-Kinderklinik Köln

Einleitung	39
I. Die Plasmaproteine	40
1. Normalwerte des Menschen	40
2. Die Stabilität der Fraktionen	42

3. Die elektrophoretischen Fraktionen	43
a) Die Albumine	44
b) Die α - und β -Globuline	45
c) Die γ -Globuline	46
d) Das Fibrinogen	48
4. Die Normalwerte bei Tieren	48
II. Zur Genese der Plasmaproteine	49
Die Entstehung der γ -Globuline 52. — Zusammenfassung 52	
III. Die Proteine der Milch	53
IV. Elektrophoretische Untersuchungen an verschiedenen Proteinen	54

Die Elektrophorese bei inneren Krankheiten

Von B. SCHULER, a. o. Prof. und leit. Arzt des Landesbades Aachen

I. Krankheiten mit Erscheinungen einer allgemeinen Entzündung	57
1. Akute Infektionskrankheiten	57
2. Tuberkulose	60
3. Rheumatische Erkrankungen	62
a) Rheumatisches Fieber	62
b) Chronische Polyarthritis	64
4. Verschiedene chronisch infektiöse oder verwandte Zustände	66
Zusammenfassung	66
Anhang: Die Proteine in Ergüssen	68
II. Erkrankungen des Herzens und der Gefäße	69
1. Entzündliche Herzerkrankungen	69
2. Myokardinfarkt	69
3. Kreislaufdekompensation	70
4. Myokardose	70
5. Arteriosklerose	70
6. Essentielle Hypertonie	71
Zusammenfassung	71
III. Lebererkrankungen	72
1. Entzündliche Lebererkrankungen	72
2. Lebercirrhose	73
3. Obstruktionsikterus, biliäre Cirrhose	75
4. Lebermetastasen und primäres Lebercarcinom	76
Zusammenfassung	76
Anhang: Elektrophorese und Serumlabilitätsproben	78
IV. Nierenerkrankungen	82
1. Nephrotisches Syndrom	82
2. Glomerulonephritis	84
Zusammenfassung	85
V. Krankheiten der endokrinen Drüsen	86
Zusammenfassung	88
VI. Krankheiten des Blutes und des hämatopoetischen Systems	88
1. Erythrocytäres System	88
2. Leukocytäres System	89
a) Leukämien	89
b) Lymphosarkom	90
c) PREIFFERSches Drüsenfieber	90
d) Eosinophiles Granulom	90
3. Reticuloendotheliales System	90
a) Granulomatöse Reticulozellwucherungen	90
1. Lymphogranulomatose	90
2. Großfollikuläres Lymphoblastom (BRILL-SYMMERS)	90
3. Lymphogranuloma benignum (SCHAUMANN), BOECKSches Sarkoid	90
b) Reticulosen	91
1. Monocytenleukämie	91
2. Reticulosen	91
Zusammenfassung	92

VII. Hyperglobulinämien	93
1. Myelomatosis, KAHLERSche Erkrankung, Plasmocytom	93
2. WALDENSTRÖmsche Makroglobulinämie	100
3. Purpura hyperglobulinaemica (WALDENSTRÖM)	101
VIII. Bösartige Neubildungen (Carcinome)	102
Zusammenfassung	104
IX. Das Elektrophorese-Diagramm bei Hypoproteinämie und seine Veränderung nach Verabreichung von Eiweiß	105
1. Hypoproteinämie nach Blutentzug	105
2. Hypoproteinämie nach Eiweißmangelernährung	105
3. Die Wirkung der Infusion von Bluteiweißen auf das Elektrophoresediagramm	106
4. Die Wirkung von Austauschtransfusionen auf das Elektrophoresediagramm	108
5. Hypoproteinämien in höherem Lebensalter	108
6. Idiopathische Hypoproteinämien	108
Zusammenfassung	109
X. Die Zusammensetzung der durch Elektrophorese abgrenzbaren Fraktionen	110
Zusammenfassung	116
XI. Deutung des Elektrophoresediagrammes der Serumproteine als Folge regulierender oder störender Einflüsse von seiten der Gewebe	116
XII. Das Elektrophorese-Diagramm in der Klinik	121

Die Elektrophorese in der Pädiatrie

Von H. EWERBECK, Priv.-Doz. und Oberarzt der Universitäts-Kinderklinik Köln

I. Normalwerte	123
1. Gesamteiweiß	123
2. Elektrophoretische Fraktionen	124
II. Die Eiweißwerte bei Krankheiten	125
1. Unterernährung und Hunger	125
2. Säuglingskrankheiten	126
3. Akute Infektionskrankheiten	127
4. Chronische Infektionskrankheiten	128
Tuberkulose 128. — Lues connata 129. — Morbus Banti 129. — Polyarthrit	
rheumatica 129.	
5. Nephrose	130
6. Innere Erkrankungen im Kindesalter	133
1. Leberkrankheiten 133. — 2. Blutkrankheiten 133. — 3. Multiples Myelom	
133. — 4. Reticuloendotheliose 133. — 5. Purpura fulminans 133. — 6. Essen-	
tielle Hypoglobulinämie im Kindesalter 134. — 7. Agammaglobulinämie 134.	
— 8. Favismus 134.	
III. Zusammenfassung	134

Die Elektrophorese in der Geburtshilfe und der Gynäkologie

Von K. STÜRMER, a. o. Prof. und leit. Arzt der geburtsh.-gynäkologischen Abteilung des St.-Josef-Hospitals Bonn-Beuel

I. Schwangerschaft	135
II. Schwangerschaftstoxikosen	140
III. Geburt und Wochenbett	146
IV. Feten und Neugeborene	148
V. Menstruationscyclus	152
VI. Hormonale Störungen in Klinik und Tierexperiment	153
VII. Maligne Tumoren des weiblichen Genitale und ihre Bestrahlung mit Radium und Röntgen. Gewebsextrakte	155
VIII. Menschliches Sperma	157
IX. Postoperativer Schock	158
X. Schlußwort	162

Die Elektrophorese in der Neurologie

Von J. BOOIJ, früher Chefarzt der Psychiatrisch-Neurologischen Klinik (Valerius-Klinik) der Freien Universität Amsterdam, jetzt Prof. und Dir. des Neurobiochemischen Laboratoriums dieser Universität

I. Historische Übersicht	164
1. Einleitung	164
2. Methodische Schwierigkeiten	164

3. Die älteren Ergebnisse	165
a) Mit dem Verfahren nach TISELIUS-SVENSSON-LONGSWORTH	165
b) Mit dem Mikroelektrophoresegerät nach ANTWEILER	166
c) Mit dem Mikroelektrophoresegerät nach LABHART, STAUB und LOTMAR.	166
d) Die Ungenauigkeit der Ergebnisse	166
4. Das Verfahren der Papierelektrophorese	167
II. Die Einengung des Liquors	169
1. Das Dialyseverfahren.	169
a) Bei erhöhtem Druck.	169
b) Bei Atmosphärendruck und gegen konzentrierte Lösungen hochmolekularer Substanzen	169
2. Die Unterdruckfiltration	169
3. Die Ultrafiltration	170
a) Gegen das Vakuum	170
b) Bei erhöhtem Druck	170
c) Durch Zentrifugo-Ultrafiltration.	170
4. Einengung im Vakuum	170
5. Einengung durch Acetonfällung	171
III. Allgemeines über die Elektrophoresediagramme	171
1. Einschränkungen und Möglichkeiten	171
2. Die Bedeutung von Längsschnittuntersuchungen	171
3. Das Elektrophoresediagramm von normalem Liquor	172
a) Die verschiedenen Fraktionen.	173
b) Die Normalwerte dieser Fraktionen	175
c) Bemerkungen über die einzelnen Fraktionen	175
Die Vorfraktion 175. — Die Albumin- und die α -Globulinfraktion 176. —	
Die β -Globulinfraktion 176. — Die τ -Fraktion 176. — Die φ -Fraktion 177.	
— Die γ -Globulinfraktion 177.	
4. Das Elektrophoresediagramm von pathologischem Liquor	177
a) Linksausfall der Normomastixkurve bei multipler Sklerose	177
b) Änderungen der verschiedenen Fraktionen	178
Änderungen der Vorfraktion 178. — Änderungen der Albuminfraktion 179. —	
Änderungen der α - und β -Globulinfraktion 179. — Änderungen der τ -Fraktion	
179. — Änderungen der γ -Globulinfraktion 180.	
5. Verschiedene Typen des Elektrophoresediagramms	180
a) Die Einteilung nach ESSER	180
b) Die Einteilung nach BAUER.	180
IV. Das Elektrophoresediagramm des Liquors bei neurologischen Krankheiten	182
1. Die entzündlichen Erkrankungen.	182
a) Die Meningitiden	182
b) Die Encephalitiden	183
c) Die Neuritiden	183
d) Die luischen Erkrankungen	184
e) Poliomyelitis anterior acuta	184
2. Nichtentzündliche Erkrankungen	185
a) Die multiple Sklerose	185
b) Tumoren	186
c) Stoppliquor	186
d) Cystenliquor	186
V. Das Elektrophoresediagramm des Serums bei neurologischen Krankheiten	187
1. Meningitis tuberculosa	187
2. Poliomyelitis anterior acuta	187
3. Neuritiden	188
4. Die funikuläre Spinalerkrankung.	188
VI. Über Korrelationen zwischen der relativen Zusammensetzung der Liquor- und Serumproteine.	188
VII. Über proteingebundene Kohlenhydrate und Lipide des Liquors	190
VIII. Über die Elektrophorese der Eiweißkörper des Gehirns	190

Die Elektrophorese in der Dermatologie

Von A. LEINBROCK, a. o. Prof. und Oberarzt der Universitäts-Hautklinik Bonn

I. Dermatitis, Exantheme, Erythrodermien, purpuraartige Veränderungen und Erytheme	192
--	-----

Schwermetall-Hautentzündungen 192. — Medikamentös bedingte Dermatiden 195. — Purpura hyperglobulinaemica 196. — Sekundäre Erythrodermien 197. — Erythema exsudativum multiforme und Erythema nodosum 197. — Erythema elevatum diutinum 198.	
II. Blasenbildende Dermatosen	198
Pemphigus vulgaris und Pemphigus vegetans 198. — Dermatitis herpetiformis DÜHRING 201. — Verbrennungen II. und III. Grades 202. — Epidermolysis bullosa hereditaria 202. — Impetigo herpetiformis 204. — Impetigo bullosa 204. — Vacciniforme Pyodermien 204. — Herpes zoster 204. — Vaccina inoculata 204.	
Zusammenfassung zu Abschnitt I und II	205
III. Entzündungen ungeklärter Genese	206
Ekzeme 206. — Neurodermitis 207. — Acne-Formen 208. — Rosacea 208. — Acne indurativa-conglobata 208. — Lichen ruber planus 208. — Lichen ruber exanthematicus 208. — Lichen ruber reticularis und verrucosus 208.	
Zusammenfassung zu Abschnitt III	208
IV. Auf Stoffwechselstörungen beruhende Dermatosen	209
Psoriasis vulgaris 209. — Xanthomatose 211. — Xanthoma tuberosum 212. — Necrobiosis lipoidica diabetorum 212. — Granulomatosis disciformis chronica 212. — Hyalinosis cutis et mucosae 212. — Myxödem 212. — Myxoedema tuberosum 212. — Myxoedema circumscriptum 213. — Myxomatosis cutis papulosa 213. — Amyloidose, Paramyloidose 213. — Haut-Muskel-Amyloidose 213. — Plasmocytomatose mit tumorösen Einlagerungen in die Haut 213. — Cutane und subcutane knotige Ablagerungen von Eiweißkristallen 213. — Endogene Ochronose 213. — Sklerodermie 213. — Dermatomyositis 214. — Poikilodermatomyositis 215. — Poikiloderma vascularis atrophicans 215.	
Zusammenfassung zu Abschnitt IV	215
V. Atrophien und Dystrophien der Haut	215
Acrodermatitis atrophicans 215. — Dystrophien im Gebiete der Hornbildung 216. — Ichthyosis vulgaris 216. — Erythema ichthyosiforme congenitale 216. — Keratoma palmare et plantare 217. — Morbus Darier 217. — Pseudoxanthoma elasticum 217.	
Zusammenfassung zu Abschnitt V	217
VI. Durch Kreislaufstörungen bedingte Dermatosen	217
Ulcus cruris varicosum 217.	
VII. Dermatosen bei Erkrankung des hämatopoetischen Systems	218
Lymphatische Leukämie 218.	
VIII. Chronisch entzündliche Granulationsgeschwülste unbekannter Ätiologie	219
Mycosis fungoides 219. — Reticulohistioeytose 220. — Lipomelanotische Reticulosen 220. — Basophiles Lymphocytom 220. — Lymphogranulomatose mit Hauptbeteiligungen 220. — Eosinophiles Granulom 220. — BRILL-SYMMERSSCHE Erkrankung 220 — Lymphknotenplasmocytom mit Veränderungen 221. — Lupus erythematodes 221.	
Zusammenfassung zu Abschnitt VIII	223
IX. Echte Geschwülste	224
1. Carcinome der Haut	224
a) Lokalisierte solitäre, nicht ulcerierende Hautcarcinome des Gesichtsbereiches ohne Metastasen 224. — b) Lokalisierte, multiple und stärker ausgedehnte, ulceröse Carcinome ohne Metastasen 224. — c) Lokalisierte oder Hautausgedehntere Haut-Carcinome mit Metastasen 224.	
2. Melano-Carcinome (und Melanome)	225
Unterschenkel-Melano-Ca 225. — Melano-Ca der Großzehe 225. — Melanomalignom-Metastasen 225. — Melano-Ca eines Unterschenkels mit multiplen Metastasen 225. — Melano-Ca bei Naevomatosis 226.	
3. Sarkome der Haut	226
Retothelsarkome 226. — Sarcoma idiopathicum haemorrhagicum multiplex (Kaposi) 226.	
Zusammenfassung zu Abschnitt IX	226
X. Durch pyogene Bakterien, Pilze und tierische Parasiten ausgelöste Dermatosen	227
Erysipel 227. — Impetigo contagiosa 227. — Pyodermien 227. — Gangränöse Pyodermien 227. — Idiopathische Hautgangrän 227. — Aktinomykose der	

Haut 228. — Trichophytien 228. — Superficielle und profunde Formen 228. — Epidermophytie 228. — Favus 228. — Scabies norvegica 228. — Haut- Leishmaniose (Orientbeule) 229.	
Zusammenfassung zu Abschnitt X	229
XI. Hauttuberkulose und Lepra	229
Lupus vulgaris 229. — Tuberculosis cutis colliquativa 230. — Erythema indurativum BAZIN 230. — Morbus Boeck 231. — Tuberculosis cutis papulo- necrotica 231. — Granuloma annulare 231. — Lepra 231.	
Zusammenfassung zu Abschnitt XI	231
XII. Lues	232
Beispiel 1: Lues I seronegativa	235
Beispiel 2: Lues latens	236
Beispiel 3: Lues I seropositiva	236
Beispiel 4: Lues maligna	236
Beispiel 5: Taboparalyse	237
Beispiel 6: Lues III	238
Zusammenfassung zu Abschnitt XII	239
XIII. Elektrophorese und serologische Luesreaktionen	240
XIV. Frambösie, Pinta, Lymphogranuloma venereum und Gonorrhoe	241
Frambösie und Pinta 241. — Lymphogranuloma venereum 241. — Gonorrhoe 241.	
XV. Die löslichen Gewebsproteine der normalen und erkrankten Haut.	241
XVI. Überblick und Schlußfolgerungen.	243
Literatur	250
Sachverzeichnis	303

Zur Methode der quantitativen Elektrophorese

Von

H. J. ANTWEILER

I. Elektrophorese und Elektroosmose

Wenn sich in einer Lösung der gelöste Stoff unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes zu den Elektroden bewegt, so wird dieser Vorgang als *Elektrophorese* bezeichnet. Es ist dabei gleichgültig, ob die gelösten Teilchen, die sich bewegen, primär eine elektrische Ladung tragen oder ob sie sie durch selektive Adsorption von Ionen erhalten.

Bei der *Elektroosmose* bewegt sich eine Lösung gegenüber einer festen Wand oder einem Capillarsystem unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes.

Bei einem *elektrophoretischen* Versuch wird die Bewegung eines Teilchens gegenüber dem Lösungsmittel ausgewertet und vermessen, bei einem *elektroosmotischen* Versuch die Bewegung der Lösung gegenüber der Wand.

Die Geschwindigkeit, mit der sich ein elektrisch geladenes Teilchen im elektrischen Feld bewegt, ist proportional der Stärke des Feldes und liegt in der Größenordnung von 10^{-4} cm/sec, wenn ein Spannungsgefälle von 1 Volt/cm angelegt ist. Unterschiedlich geladene Teilchen gleicher Größe oder gleich geladene Teilchen unterschiedlicher Größe wandern im elektrischen Feld mit unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeit. Durch diese arteigene unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit können unterschiedliche Teilchen räumlich voneinander getrennt werden.

Wenn die Teilchen nach einer elektrophoretischen Trennung isoliert werden, so spricht man von *präparativer Elektrophorese*; wenn nach der elektrophoretischen Trennung ihre Konzentration bestimmt wird, so ist dies eine *quantitative Elektrophorese*.

Wenn die Trennung mit Stoffmengen von mehr als 0,1 g vorgenommen wird, so handelt es sich um eine *Makroelektrophorese*. Die *Mikroelektrophorese* trennt Stoffmengen bis zu 1 mg; Stoffmengen in der Größenordnung von 10 mg werden durch die *Halbmikroelektrophorese* getrennt.

Elektrophorese und Elektroosmose sind zwei Erscheinungen, die im Experiment nicht voneinander zu trennen sind. Bei jeder Elektrophorese findet an der Grenzfläche der Flüssigkeitswand eine Elektroosmose statt, die die Flüssigkeitssäule in Bewegung setzt; bei jedem elektroosmotischen Versuch wandern die elektrisch geladenen Teilchen im Lösungsmittel entsprechend ihrer Ladung elektrophoretisch.

Bei einem vorwiegend *elektrophoretischen* Versuch muß daher mit kleiner begrenzender Fläche und relativ großer Flüssigkeitsmenge gearbeitet werden; beim Studium *elektroosmotischer* Erscheinungen muß das Verhältnis der begrenzenden Fläche zur Flüssigkeitsmenge stark zugunsten der begrenzenden Fläche verschoben sein.

In zwei bekannten einfachen Versuchen seien *elektroosmotische Strömung* und *elektrophoretische Trennung* gegenübergestellt.

Abb. 1 zeigt einen unglasierten Tonteller, der mit einem Elektrolyten angefüllt ist. An der Unterseite des Tellers und an der Oberseite befinden sich zwei Elektroden. Wenn an die Elektroden eine Spannung von etwa 100 Volt gelegt wird, so entsteht in den feinen Poren des Tellers ein Spannungsgefälle, und das Wasser strömt mit großer Geschwindigkeit in Richtung der Kathode, so daß das ursprünglich sehr langsame Fließen des Wassers durch den Teller in einen schnellen Tropfenfall übergeht (die Kathode liegt an der Unterseite des Tellers).

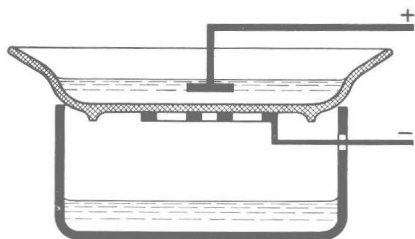


Abb. 1. Elektroosmotischer Versuch. Wenn an die Elektroden Spannung gelegt wird, strömt der Elektrolyt durch den unglasierten Tonteller, so daß ein heftiges Tropfen entsteht

Kathode und die Sulfat- und Bichromationen zur Anode. Man sieht nach einiger Zeit im Kathodenschenkel die blauen Kupferionen und im Anodenschenkel die gelbroten Bichromationen emporsteigen, so daß oberhalb der Mischlösung im Kathodenschenkel eine Schicht Kupfersulfat, die bichromatfrei ist, erscheint; im Anodenschenkel zeigt sich eine Schicht, die oberhalb der Mischlösung Bichromationen ohne Kupferionen enthält.

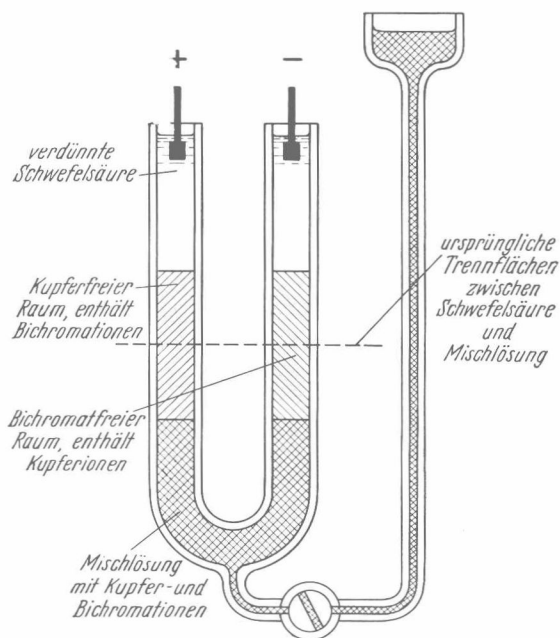


Abb. 2. Elektrophoretische Trennung von Kupfer- und Bichromationen. Wenn an die Elektroden Spannung gelegt wird, so erscheint durch Ionenwanderung im Anodenschenkel ein bichromathaltiger, kupferfreier Raum und im Kathodenschenkel ein kupferhaltiger, bichromatfreier Raum

Auch bei diesem Versuch hat eine Elektrosmose stattgefunden, weil primär Elektrolyt an der Glaswand in dünner Schicht zur Kathode strömt und die äquivalente Flüssigkeitsmenge sekundär unter Wahrung der Flüssigkeitsniveaus in der

Mitte der Flüssigkeitssäule zur Anode floß. Hierdurch resultiert eine Verlagerung der gesamten Flüssigkeitssäule zur Anode hin, die eine größere Geschwindigkeit der Anionen zu Ungunsten der Kationen vortäuscht.

Bei der Papierelektrophorese befindet sich die zu trennende Mischlösung als Fleck oder Strich im Zentrum eines elektrolytgetränkten Filterpapierstreifens. Wenn an die Enden dieses Filterpapierstreifens eine ausreichend hohe Spannung gelegt wird, so wandern die Komponenten der Mischlösung entsprechend ihrer Ladung mit unterschiedlicher Geschwindigkeit; gleichzeitig bewegt sich die gesamte Lösung im Streifen elektroosmotisch in Richtung der Kathode (s. Abb. 3). Im Gegensatz zur Elektrophorese in einem U-Rohr ist hier eine volle räumliche Trennung der Komponenten möglich.

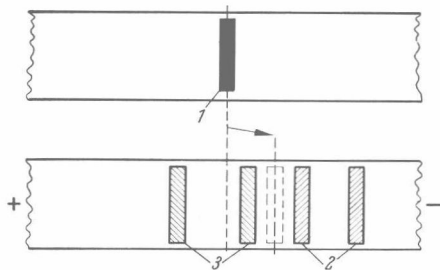


Abb. 3. *Papierelektrophoretischer Versuch.* Die als Strich auf elektrolytgetränktes Filterpapier aufgetragene Mischlösung trennt sich entsprechend der Wanderungsgeschwindigkeit der Komponenten; gleichzeitig findet eine kathodische, elektroosmotische Strömung der ganzen Flüssigkeitssäule statt. 1 Mischlösung, 2 positiv geladene Komponenten, 3 negativ geladene Komponenten

II. Die Grundlagen der Elektrophorese

Es ist Aufgabe der quantitativen Elektrophorese, die Konzentrationen der Komponenten so zu erfassen, wie sie in der ursprünglichen Mischlösung vorliegen. Da aber jede Komponente, wenn sie aus dem Milieu der Mischlösung herauswandert, ihre Konzentration geändert hat, kann aus den verändert gemessenen Konzentrationen nicht mehr ohne weiteres auf die ursprünglich in der Mischlösung vorhandene Konzentration geschlossen werden.

Bei dem Versuch der Elektrophorese einer Kupferchromattrennung, der anfangs geschildert wurde, entspricht die Kupferkonzentration in dem bichromatfreien Raum nicht mehr der Kupferkonzentration der Mischlösung; ebenso, wie die

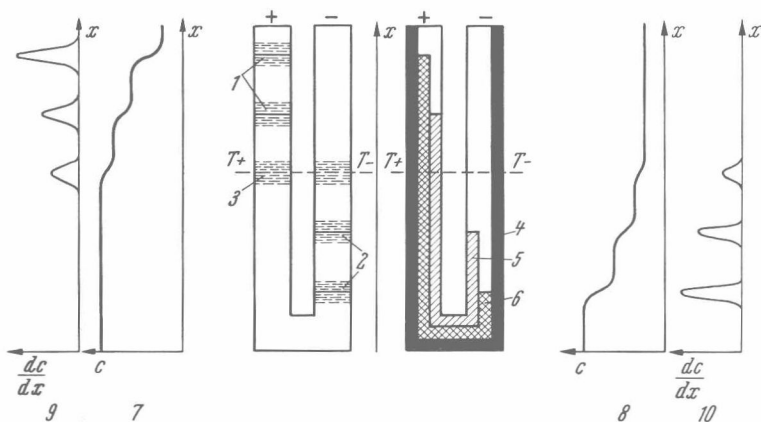


Abb. 4. *Elektrophoretische Trennung eines Zweikomponentengemisches in einem Elektrolyten.* T^- kathodische Trennfläche, T^+ anodische Trennfläche. 1 steigende Fronten, 2 fallende Fronten, 3 stehende Fronten, 4 Elektrolyt M^+ , N^- 5 langsamere Komponente A, 6 schnellere Komponente B, 7 optische Dichte im Anodenschenkel, 8 optische Dichte im Kathodenschenkel, 9 Gradientenkurve des Anodenschenkels, 10 Gradientenkurve des Kathodenschenkels

Bichromatkonzentration in dem kupferfreien Raum nicht mehr der ursprünglichen Bichromatkonzentration entspricht. Es wäre ein grober Fehler, aus den dort vermessenen Einzelkonzentrationen ohne weiteres auf die analytisch zu erfassenden Konzentrationen in der Mischlösung zu schließen.

Bei dem analytisch nicht sehr interessierenden Fall, daß verdünnte Lösungen starker Elektrolyte elektrophoretisch getrennt werden, können die auftretenden Konzentrationsverschiebungen rechnerisch erfaßt werden (9, 41, 45); der experimentelle Nachweis dieser Verschiebungen stimmt quantitativ mit der Theorie überein (27). Wenn das analytisch wichtigere System von Proteintrennungen in einem Elektrolyten rechnerisch genau so behandelt wird wie ein System starker Elektrolyte, so ist damit eine Idealisierung vorgenommen worden, die eine quantitative Übereinstimmung von Theorie und Experiment nicht mehr erwarten läßt. Es ist aber noch eine ausreichende quantitative Übereinstimmung vorhanden, die das Verhalten von Proteingemischen im Trennrohr überblicken läßt.

Im folgenden werden daher die Ionen des Puffers und die Proteine so behandelt, als ob sie Ionen eines starken Elektrolyten wären.

Die Abb. 4 zeigt die Verteilung der optischen Dichte, wie sie vermessen wird, wenn ein Proteingemisch mit den beiden Komponenten (A und B) in einem Begleitsalz (M^+ , N^-) gelöst wurde und in die Begleitsalzlösung gleicher Konzentration wandert.

Vor dem Anlegen des Stromes erzeugten die beiden Proteinkomponenten je einen Dichtesprung (Front) an den Übersichtungsflächen T^+ und T^- ; dieser Dichtesprung hat sich nach Beginn der Elektrophorese in je zwei wandernde Fronten und eine stehende Front aufgelöst. Die beiden stehenden Fronten verharren an der ursprünglichen Trennfläche; zwei Fronten wandern von T^+ nach oben (steigende Fronten) und zwei Fronten wandern von T^- in Richtung T nach unten (fallende Fronten). Diese wandernden Fronten können den beiden Proteinkomponenten mit ihren unterschiedlichen Beweglichkeiten (u_A , u_B) zugeordnet werden; die steigenden Fronten beginnen dort, wo die ersten Anteile der schnellsten Proteinkomponente im überschichtenden Puffer nachweisbar sind, das Ende der fallenden Fronten liegt an der Stelle, wo das letzte Teilchen der langsamen Komponente unterhalb der Trennfläche T^- gefunden wird.

Zunächst sollen die stehenden Fronten diskutiert werden.

1. Die stehenden Fronten

An den Trennflächen T^- und T^+ werden zwei stehende Fronten beobachtet, deren Dichteunterschied keiner Proteinart zugeordnet werden kann, da der Raum, der sich in Richtung der Anode an die Trennfläche T^+ anschließt, qualitativ die gleiche Zusammensetzung haben muß wie der Raum, der sich an dieselbe Trennfläche in Richtung der Kathode anschließt (die Räume enthalten die beiden Proteinkomponenten und das Begleitsalz); das gleiche gilt auch für die Trennfläche T^- : Die Räume unterhalb und oberhalb dieser Trennfläche haben auch hier nach der elektrophoretischen Trennung qualitativ die gleiche Zusammensetzung (Begleitsalzlösung). Im Raum oberhalb der Trennfläche T^+ ist demnach durch den Stromtransport die Pufferlösung durch die Proteinlösung verdrängt worden; im Raum unterhalb T^- hat die Proteinlösung die Pufferlösung verdrängt. Hierdurch entstehen Konzentrationsverschiebungen an den Trennflächen, weil eine gegenseitige Verdrängung nur dann möglich ist, wenn für alle Räume des Trennrohres die Konstante K der beharrlichen Funktion von KOHLRAUSCH gewahrt bleibt (15, 19). Diese Funktion sagt aus, daß in jedem Raumelement des Trennrohres der durch den Strom bewirkte Massentransport die Summe über alle Konzentrationen und reziproken Beweglichkeiten¹ nicht ändern kann². Wenn aus diesem Raumelement eine Ionenart austritt oder eine neue hinzukommt, so müssen trotz Änderung der Ionenzahl die Konstanten gewahrt bleiben.

¹ Die Beweglichkeit (u) eines geladenen Teilchens (I) ist seine Geschwindigkeit in einem elektrischen Feld der Feldstärke $\vec{F} = 1 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$.

² Ein Massentransport, der nicht durch den Strom verursacht wird, z. B. die Diffusion oder Konvektion, kann natürlich die Konstante im Raumelement ändern.

Die beharrliche Funktion lautet

$$K = \frac{C_A}{u_A} + \frac{C_B}{u_B} + \frac{C_C}{u_C} \dots$$

wenn unter C_A (C_B , $C_C \dots$) die Konzentration des Ions A (B , $C \dots$) und unter u_A (u_B , $u_C \dots$) seine Beweglichkeit verstanden wird.

Aus der Anfangsbedingung des Elektrophoreserohres ist daher für das ganze Trennrohr mit zwei Konstanten zu rechnen; die eine (K_E) gilt für den Raum oberhalb der Trennflächen; da diese Räume mit Puffer von der Ionenart M^+ und N^- gefüllt waren, gilt hier

$$K_E = \frac{C_{M^+}}{u_{M^+}} + \frac{C_{N^-}}{u_{N^-}}.$$

Die zweite Konstante (K_P) gilt für die Räume zwischen den Trennflächen T^+ und T^- , die ursprünglich mit der Proteinlösung (Ionen M^+ , N^- , A^+ , B^-) gefüllt waren. Hier ist

$$K_P = \frac{C_{M^+}}{u_{M^+}} + \frac{C_{N^-}}{u_{N^-}} + \frac{C_{A^+}}{u_{A^+}} + \frac{C_{B^-}}{u_{B^-}} + \frac{C_{A^-} + C_{B^-}}{u_{M^+}}$$

In Richtung der Anionenwanderung steigt (Abb. 5) demnach die Konstante K an der Trennfläche T^- von K_E auf K_P , und an der zweiten Trennfläche fällt sie von K_P wieder auf K_E . Dieser Sprung der Konstanten kann durch den Stromdurchgang seine Lage im Trennrohr nicht verändern, er kann nur durch Diffusion der angrenzenden Lösungen unterschiedlicher Konzentration abflachen. Wenn demnach eine Lösung aus dem Gebiet der einen Konstanten in das Gebiet der anderen Konstanten vorschiebt, so müssen Konzentrationsveränderungen auftreten, die dem Unterschied dieser Konstanten entsprechen.

Man kann zusammenfassend formulieren: Alle durch den Stromdurchgang bewirkten Konzentrationsverschiebungen oberhalb der Trennfläche müssen so erfolgen, daß die Konstante K_E gewahrt bleibt; alle Konzentrationsverschiebungen in den fallenden Fronten werden von der Konstanten K_P beherrscht. Wenn sich beide Konstanten ($K_E < K_P$) unterscheiden, so findet man unter der Trennfläche T^- das Begleitsalz im Verhältnis K_E zu K_P konzentrierter vor; oberhalb der Trennfläche T^+ hat sich die Untersuchungs- lösung unter Wahrung des gegenseitigen Konzentrationsverhältnisses im Verhältnis K_E zu K_P verdünnt.

Der an der Trennfläche T^+ der steigenden Fronten entstehende Dichtesprung (Verdünnen der Proteinlösung) wird als δ -Gradient bezeichnet; der an der Trennfläche T^- entstehende Dichtesprung der Begleitsalzlösung als ε -Gradient, der δ -Gradient ist naturgemäß größer als der ε -Gradient, da die Proteinlösung eine

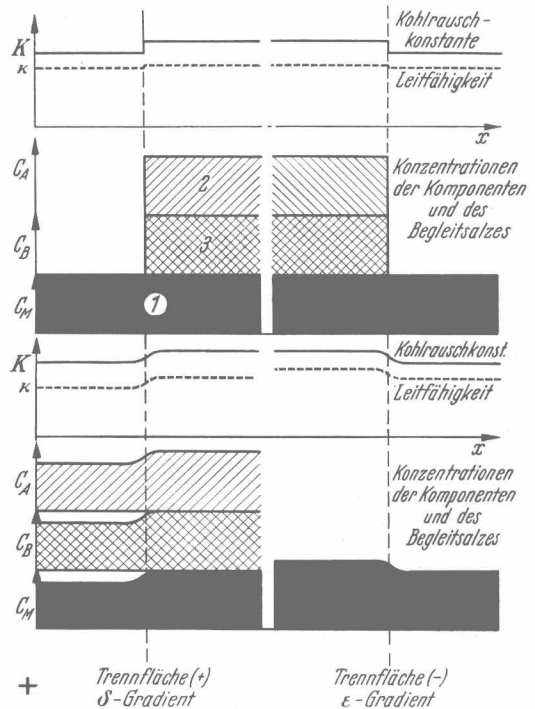


Abb. 5. Die Konzentrationsverschiebung an den Trennflächen; die KOHLRAUSCH-Konstante und die Leitfähigkeit.
1 Begleitsalz, 2 Komponente A, 3 Komponente B

größere Brechungszahl hat als die Pufferlösung und beide ihre Konzentrationen im gleichen Verhältnis verschieben.

Bei gleicher Proteinkonzentration sind die δ - und ε -Gradienten (Extragradients) um so kleiner, je größer die Konzentration des Begleitsalzes ist. Bei gleicher Protein- und gleicher Begleitsalzkonzentration um so kleiner, je kleiner die Beweglichkeit der Ionen des Begleitsalzes ist.

Ein Versuch, bei dem K_P kleiner als K_E ist, kann experimentell nicht durchgeführt werden, weil sich dann unter den Trennflächen eine verdünntere Lösung als oberhalb einstellen würde; dies hätte eine Durchwirbelung der Fronten zur Folge. Wenn die Anfangsbedingungen der Elektrophorese so gewählt werden, daß $K_P = K_E$ wird, so treten keine Extragradients auf. Dies kann experimentell nach einem Vorschlag von LONGWORTH (25) dadurch geschehen, daß die Proteinlösung nach einer Dialyse gegen Puffer verdünnt wird und daß mit dem unverdünnten Puffer überschichtet wird (Angleichen von K_P an K_E) oder nach dem Vorschlag von WIEDEMANN (50), daß die überschichtende Pufferlösung konzentrierter gewählt wird als die bei der Dialyse verwendete (Angleichen von K_E an K_P).

Diese Konzentrationsveränderungen müssen aber vorsichtig vorgenommen werden, damit nicht K_P kleiner als K_E eingestellt wird, wodurch die Analyse unbrauchbar wird. Die Annahme, daß die Extragradients einer üblichen Elektrophorese dadurch bedingt seien, daß das Donnan-Gleichgewicht der Dialyse die Pufferkonzentration angleiche, mit der dialysiert wird, beruht auf einem Irrtum. Es ist zu erwarten und wurde auch gemessen, daß diese Ungleichheit bei der üblichen Dialyse in der Größenordnung von 1% liegt.

2. Die wandernden Fronten

Unter den üblichen Bedingungen der quantitativen Elektrophorese ist eine wandernde Front dadurch gekennzeichnet, daß das Ion (Leit-Ion mit der Beweglichkeit u_L), das die Wanderung der Front bestimmt, in ihr von einer endlichen Konzentration auf die Konzentration Null herabsinkt (Abb. 6); alle anderen Ionen sind diesseits und jenseits der Front vorhanden.

In dieser wandernden Front erfahren außerdem *alle* Ionen eine *individuelle* Konzentrationsverschiebung — im Gegensatz zur stehenden Front, wo alle Ionen die *gleiche* Konzentrationsverschiebung erfahren.

Wenn man mit q das Verhältnis der Leitfähigkeiten (κ_1, κ_2) beider Räume, die durch eine Front voneinander getrennt sind, bezeichnet, so ist für ein beliebiges Ion (z. B. I) mit der Beweglichkeit (u_I), das die Front passiert, die Konzentrationsverschiebung

$$\frac{C_{1I}}{C_{2I}} = q \frac{u_I - u_L}{u_I - q \cdot u_L}.$$

Dies ist die allgemeine Gleichung für die Konzentrationsverschiebungen in Fronten; die stehende Front ist nur der Grenzfall für ($u_L = 0$); hierdurch wird

$$\frac{C_{1I}}{C_{2I}} = q = \frac{\kappa_1}{\kappa_2}.$$

Diese Konzentrationsverschiebungen, die jedes Ion an jeder Front erfährt, müssen natürlich berücksichtigt werden, wenn die Konzentration einer Komponente im Elektrophoreserohr an einer Stelle gemessen wird, die von der Mischlösung durch Fronten getrennt ist. Die Abb. 7 gibt eine Übersicht über die Konzentrations-

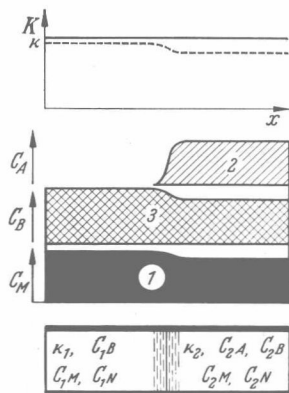


Abb. 6. Die Konzentrationsverschiebungen in einer wandernden Front. 1 Begleit-Ion M, 2 Komponente A (Leit-Ion), 3 Komponente B

verschiebungen einer Proteinlösung mit 2 Komponenten, wie sie bei der Idealisierung, daß die Gesetze der starken Elektrolyte auch für Proteinlösungen gelten, zu erwarten sind. Man erkennt, daß in jeder Front jede Komponente eine Konzentrationsveränderung erfährt. Nach den bis jetzt vorliegenden und unzureichenden experimentellen Untersuchungen an bekannten Proteinmischungen scheinen die experimentell gefundenen Konzentrationsverschiebungen größer (6, 34) zu sein als die nach der vereinfachenden Theorie berechneten; nach eigenen Versuchen mit W. KIRCHNER und U. HERTEL (Diss. Bonn 1952, 1953) an gereinigten Proteinen mit dem Mikrointerferenzverfahren scheinen die Abweichungen von der Theorie

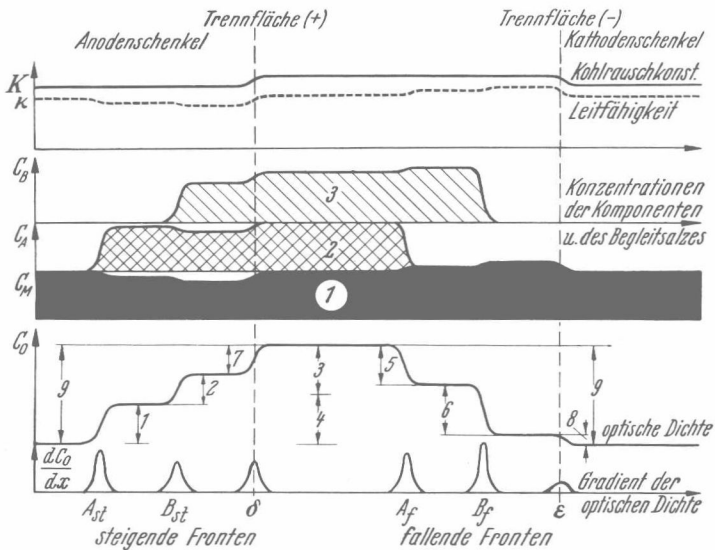


Abb. 7. Die Konzentrationsverschiebungen eines Zweikomponentensystems (A, B) in einem Elektrolyten (schematisch). 1 apparente Konzentration von A (steigend), 2 apparente Konzentration von B (steigend), 3 wahre Konzentration von B, 4 wahre Konzentration von A, 5 apparente Konzentration von A (fallend), 6 apparente Konzentration von B (fallend), 7 δ -Gradient, 8 ϵ -Gradient, 9 wahre Konzentration beider Komponenten

nicht so groß zu sein; die aus dem Schrifttum bekannten größeren Abweichungen der vermessenen Werte von der Theorie wurden im Makroverfahren nach der Meßmethode LONGSWORTH ermittelt.

Es seien einige analytisch wichtige Gesichtspunkte herausgestellt, die sich aus der Theorie erkennen lassen und experimentell gestützt sind:

1. Die Konzentrationswerte, die in den steigenden Fronten vermessenen werden, decken sich nicht mit den Konzentrationen in den fallenden Fronten (weder relativ noch absolut); sie decken sich auch nicht mit den echten Konzentrationen.

2. Die in den fallenden Fronten vermessenden Konzentrationen zeigen sowohl relativ wie absolut kleinere Unterschiede zu den Konzentrationen der Mischlösungen als die in den steigenden Fronten vermessenen; wegen der geringen Trennschärfe eignen sich aber die fallenden Fronten weniger gut zur Analyse als die steigenden Fronten (s. a. Anm. S. 12).

3. Die Konzentrationsverschiebungen der schnellsten Komponente sind um so kleiner, je langsamer die übrigen Komponenten wandern: das 2-Proteinsystem Albumin/ α_1 -Komponente zeigt größere Konzentrationsverschiebungen als das System Albumin/ γ -Komponente.

4. Die Konzentrationsverschiebungen steigen mit steigender Proteinkonzentration und vermindern sich mit steigender Begleitsalzkonzentration.