

DIE PLASMAPROTEINE IN DER KLINISCHEN MEDIZIN

ERGEBNISSE SPEZIFISCHER BESTIMMUNGEN
MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG
IMMUNOCHEMISCHER METHODEN

VON

WALTER H. HITZIG

UNTER MITARBEIT VON

R. BUTLER · H. COTTIER · M. HESS · G. v. MURALT

MIT 109 ABBILDUNGEN



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

1963

Geleitwort

Die Einführung völlig neuer Untersuchungsmethoden in die medizinische Forschung wird zuerst verwirren; der Nichtspezialist wittert Spielerei und nimmt die Sache nicht ernst. Wenn aber die neue Methode den Zugang zu neuen Gebieten eröffnet, merkt auch der reine Kliniker bald, welch enormen Wert sie für die Praxis haben kann. Wie mir vor 7 Jahren Privatdozent Dr. HITZIG seine ersten, schwer deutbaren immunoelektrophoretischen Präparate zeigte, ahnte ich nicht, wieviel wichtige neue Erkenntnis gerade diese Methode, die bis 30 verschiedene Proteine im menschlichen Serum zu unterscheiden erlaubt, bringen würde. Die Literatur darüber ist in den letzten Jahren lawinenhaft angewachsen; leider ist sie weitgehend in Einzelarbeiten aufgesplittert. Dem klinisch tätigen Arzt ist es aus rein zeitlichen Gründen kaum mehr möglich, sich darin zurechtzufinden, um so mehr als die Fachleute auch auf diesem Gebiete in zunehmendem Maße eine Geheimsprache verwenden, die dem Außenstehenden kaum mehr verständlich ist. HITZIG, BÜTLER, COTTIER, HESS und VON MURALT versuchen nun in dieser stattlichen Monographie eine Synthese der wesentlichen Ergebnisse anderer Autoren und ihrer eigenen Forschungen. Da in rascher Folge neue wesentliche Erkenntnisse hinzukommen, ist es besonders schwer, einen wohlabgewogenen Überblick zu geben. Manche heutige Ansicht wird sich später als unrichtig herausstellen — das gilt vor allem für Theorien und Hypothesen; von bleibendem Wert aber sind die gemessenen, gewogenen und gesehenen Fakten. Deshalb ist es besonders verdienstlich, daß die Autoren immer deutlich zwischen Tatsachen und Spekulationen unterscheiden.

Die Gliederung des Buches erlaubt auch dem Nichtspezialisten, sich rasch zu orientieren, sei es über die theoretischen Grundlagen, sei es über die Untersuchungsmethoden oder über die Pathologie der Blutproteine. Neue, sehr wichtige Krankheitsbegriffe wie das Antikörpermangelsyndrom, das enterale Proteinverlustsyndrom, der Mangel an Beta-Lipoproteinen und viele andere werden eingehend geschildert und erklärt. Überall sind die klinischen Aspekte begleitend. Dem Praktiker wird z. B. die Erörterung über Indikation und Dosierung des Gamma-Globulins sehr nützlich sein. Wertvoll ist auch die genetische Analyse vieler neuer Syndrome am Schluß der Monographie.

Das Buch wird zweifelsohne nicht nur den Fachmann interessieren, sondern auch jeden Arzt, der bestrebt ist, mit den Fortschritten der medizinischen Forschung Schritt zu halten und die Ergebnisse derselben in seiner Praxis zu verwerten.

Zürich; im März 1963

Professor G. FANCONI

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Literatur	2

ERSTES KAPITEL

Theoretische Grundlagen. Von W. H. HIRZIG.	3
I. Biosynthese der Proteine	3
II. Allgemeine Immunologie	7
A. Antikörper	7
B. Antigene	10
C. Immunologische Theorien	10
III. Theoretische Grundlagen der Methoden zur Untersuchung von Proteingemischen	15
A. Chemische Analyse	15
B. Physikalische Analyse	15
1. Spezifisches Gewicht	15
2. Spektrophotometrische Absorptionsmessung	16
3. Refraktometrie	16
4. Viscosimetrie	16
5. Lichtzerstreuung	17
6. Optische Aktivität	17
7. Osmometrie	17
8. Ultrazentrifugierung	17
9. Chromatographie und Gelfiltration	18
10. Elektrophorese	18
a) Freie Elektrophorese	19
b) Elektrophorese auf Trägermedien	19
α) Filterpapier	19
β) Stärkeblock-Elektrophorese	20
γ) Stärkegel-Elektrophorese bei niedriger Ionenstärke	20
δ) Agargel	21
e) Cellulose-Acetatfolie	21
C. Physiko-chemische Analyse	21
1. Aussalzungsverfahren.	21
a) Fällung mit Ammoniumsulfat, Natriumsulfit und anderen Kristalloiden	21
b) Phosphatmethoden	21
c) Fällung mit Schwermetallsalzen	21
d) Rivanol	21
e) Heparin	21
2. Fraktionierung mit wasserlöslichen organischen Lösungsmitteln	21
a) Fraktionierung nach COHN	22
b) Fraktionierung nach KEKWICK	22
D. Immunochemische Methoden	22
Die Antiseren	24

	Seite
Die Antigene	26
Praktische Nachweismethoden	26
1. Antikörperverbrauch	26
a) Der Antiglobulinhemmversuch	26
b) Die passive Hämagglutination	26
2. Antigenfixation	28
3. Komplementbindungsreaktionen	28
4. Präzipitatbildung	29
a) Der Ringtest	29
b) Der klassische quantitative Präcipitintest	29
c) Agardiffusionsmethoden	30
α) Eindimensionale Immunodiffusion nach OUDIN	31
β) Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY	34
γ) Die Immunelektrophorese	36
E. Ausnutzung der Vehikelfunktion der Eiweiße	38
F. Enzymmethoden	38
G. Isotopenmarkierung	38
Literatur	39

ZWEITES KAPITEL

Physikalisch-chemische Eigenschaften einzelner Proteinfractionen und spezifische Bestimmungsmethoden. Von W. H. HIRZIG	45
I. Die Präalbumine oder Rho-Fractionen	47
II. Das Albumin	47
III. Die Glykoproteine	49
A. Das α_1 -Seromucoid = Orosomucoid	50
B. Die α_2 -Globuline	51
1. Das α_2 -Makroglobulin	51
2. Die Haptoglobine = Hp	52
3. Das Coeruloplasmin	52
C. Das Transferrin = Siderophilin	53
D. Weniger bekannte Glykoproteinfractionen	54
IV. Die Lipoproteine	54
V. Das Fibrinogen	58
VI. Die Immunglobuline	59
A. Die Gamma-Globuline	60
B. Das β_{1A} -Globulin	61
C. Das β_{2M} -Globulin	61
VII. Kleinere Fractionen	62
A. Das C-reaktive Protein oder γ_2 -Protein	62
B. Das β_{1A} -Globulin	62
C. Das β_{1B} -Globulin	63
D. Das Hämoexin	63
Literatur	64

DRITTES KAPITEL

Klinische Untersuchungen. Von W. H. HITZIG, H. COTTIER und G. VON MURALT . . .	70
Einleitung	70
I. Definitionen	70
II. Die klinische Bedeutung des Serumeiweißbildes	71
III. Untersuchungsmethoden	72
Allgemeiner Untersuchungsgang	73
IV. Fehlerquellen	73
a) Physiologische Fehlerquellen	74
b) Technische Fehlerquellen	74
Literatur	74
Normalbefunde	75
I. Morphologische Orthologie der immunologisch aktiven Gewebe. Von H. COTTIER .	75
A. Nomenklatur der zum lymphoreticulären Gewebe gehörigen Zellarten	75
B. Entstehung, Proliferation, Entwicklungsmöglichkeiten und Funktionen lympho- reticulärer Zellen	77
C. Schicksal von Antigenen im lymphoreticulären Gewebe	84
D. Antikörperbildende Zellen und ihre Herkunft	86
Literatur	95
II. Pränatale Periode und Placentarschranke. Von G. VON MURALT	98
A. Die Serumproteine bei der schwangeren Frau	98
1. Elektrophorese	98
2. Immunologische Methoden	99
B. Die Serumproteine des Fetus	99
1. Elektrophorese	99
2. Immunologische Methoden	100
C. Die Übertragung der humoralen Immunität von der Mutter auf das Kind	104
1. Die transplacentare Passage der mütterlichen Gamma-Globuline	105
2. Produziert die Placenta Proteine, insbesondere Immunglobuline?	107
Literatur	108
III. Normalwerte in der postnatalen Periode. Von W. H. HITZIG	110
A. Normalwerte für Frühgeborene	111
B. Normalwerte für termingerecht geborene Kinder	113
C. Normalwerte bei Erwachsenen	121
Literatur	121
IV. Der normale Eiweiß-Stoffwechsel	123
Literatur	127
Pathologische Veränderungen	127
I. Hypoproteinämie	127
A. Exogene Eiweißmangelsyndrome	128
B. Endogen bedingte Hypoproteinämien	129
1. Verminderte Proteinsynthese	129

	Seite
2. Hyperkatabolismus	130
3. Eiweißverlustsyndrome	130
a) Renaler Verlust	130
b) Cutaner Verlust	130
c) Enterale Proteinverlustsyndrome	130
α) Pathogenetischer Mechanismus	132
β) Klinisches Bild	133
γ) Laborbefunde	133
δ) Immunochemische Untersuchungen	134
ε) Ätiologie	136
ζ) Therapie	136
d) Eiweißverlust in Gewebe	136
Literatur	137
 II. Pathologie der Immunglobuline	 139
A. Einleitung	139
Literatur	140
B. Morphologische Pathologie des antikörperbildenden Zellsystems. Von H. COTTIER	141
1. Zweck morphologischer Untersuchungen bei gestörter Antikörperbildung	141
2. Indikationsstellung zu cytologischen und histologischen Untersuchungen	141
3. Spezielle morphologische Pathologie der antikörperbildenden Zellsysteme	142
Literatur	142
C. Befunde bei einzelnen Krankheitsbildern	142
1. Das Antikörpermangelsyndrom Von W. H. HIRZIG und H. COTTIER	142
a) Definition	142
b) Allgemeines	143
c) Spezielle klinische Erscheinungsformen des Antikörpermangelsyndroms	147
1. Das idiopathische, isolierte AMS	147
1.1 Das idiopathische, isolierte AMS mit lymphoreticulärer Dysplasie	147
1.11 Idiopathisches, isoliertes AMS mit lymphatischer Hypoplasie S. 147; 1.111 Das kongenitale AMS der Knaben ohne Lymphopenie S. 147; 1.112 Die „familiäre Lymphopenie“ oder „hereditäre lymphoplasmocytäre Dysgenese“ S. 149; 1.113 Die reticuläre Dysgenese S. 151; 1.12 Idiopathische, isolierte AMS mit lymphatischer Hyperplasie S. 152.	
1.2 Das idiopathische, isolierte AMS ohne lymphoreticuläre Dysplasie (normo-gamma-globulinämisches AMS)	153
1.3 Die sog. „erworbenen“ idiopathischen, isolierten AMS	154
2. Die symptomatischen Formen des AMS (= „Begleit-AMS“)	154
2.1 Begleit-AMS bei neoplastischen Prozessen des lymphoreticulären Gewebes	154
2.11 Chronische lymphatische Leukämie (Lymphadenose) und Lymphosarkom S. 155; 2.12 Thyron S. 157; 2.13 Die plasmocytoiden Myelome und die Makroglobulinämie Waldenström S. 157	
2.2 Maligne Granulomatosen	157
2.3 Begleit-AMS nach Splenektomie	158
2.4 Begleit-AMS bei endokrinen und metabolischen Krankheiten	159
2.5 Proteinverlustsyndrome	159
2.6 Begleit-AMS bei anderen Leiden oder Zuständen	160
2.61 Perniziöse Anämie S. 160; 2.62 Hämoglobinopathien S. 160; 2.63 Generalisierte progressive Vaccinia, Pyoderma gangraenosum und Purpura fulminans S. 160; 2.64 Sekundärkrankheit nach Übertragung immunbiologisch aktiver Zellen auf einen geschwächten Empfängerorganismus S. 160; 2.65 Amyloidose S. 161; 2.66 Status nach ionisierender Ganzkörperbestrahlung und/oder Verabreichung von Cytostatica und Cytolytica S. 162	

	Seite
3. Das frühkindliche transitorische AMS	162
3.1 Die konnatale A-Gamma-Globulinämie	162
3.2 Die physiologische Hypo-Gamma-Globulinämie des gesunden Säuglings	162
3.3 Die pathologische Hypo-Gamma-Globulinämie	163
3.31 Bei frühgeborenen Kindern S. 163; 3.32 Bei verzögerter Ausreifung der Immunglobuline S. 164	
d) Mögliche Ursachen und Folgen der Antikörpermangelsyndrome	165
e) Zustände mit immunbiologischer Toleranz	170
f) Therapie des AMS	170
g) Die therapeutische Anwendung von Gamma-Globulinpräparaten im allgemeinen	171
Literatur	174
2. Die entzündliche Reaktion. Von W. H. HITZIG	179
a) Beziehungen zum Lebensalter	180
b) Beziehungen zwischen morphologischem Blutzellbild und humoralem Serum-eiweißbild	181
Literatur	183
3. Hyperergische Reaktionen. Von H. COTTIER und W. H. HITZIG	184
4. Sog. Autoimmunisationskrankheiten	185
Literatur	189
5. Sanarelli-Schwartzman-Phänomen. Von W. H. HITZIG	190
Literatur	191
6. Die Paraproteinämien	192
a) Paraproteine als anomale oder „anarchische“ Globuline	193
b) Klinische Bedeutung der Paraproteine	196
c) Klinische Bedeutung besonderer physikalisch-chemischer Eigenschaften von Paraproteinen	198
d) Diagnostische Anwendung immunochemischer Methoden	199
e) Eigene Ergebnisse	204
Literatur	206
III. Eiweißuntersuchungen bei Nierenleiden	209
A. Die Proteinurie	210
1. Die normale Proteinurie	210
a) Serumproteine	210
b) Ausschließlich im Urin vorkommende Proteine	211
α) Das Mucoprotein von TAMM und HORSFALL = Uromucoid	211
β) Weitere Uroproteine	211
2. Proteinurie nach Orthostase, körperlicher Anstrengung und Fieber	211
3. Pathologische Proteinurie	212
B. Beziehungen zwischen Blut- und Urinproteinen	212
1. Clearancestudien	212
2. Metabolische Studien	213
C. Klinische Untersuchungen	214
1. Serumproteine	214
2. Clearancestudien	216
3. Die Immunologie des nephrotischen Syndroms	219
4. Die Paraproteinurien	220
Literatur	220
IV. Dysproteinämie bei Leberleiden	222
Literatur	224
VIERTES KAPITEL	
Genetik	224
Einleitung	224
I. Die Defekt-Pathoproteinämien	226

	Seite
A. Die Analbuminämie	227
B. Wilsonsche Krankheit	230
C. A-Beta-Lipoproteinämie	231
D. Atransferrinämie oder Asiderophilinämie	234
E. Afibrinogenämie	235
II. Serumgruppen-Systeme. Von M. HESS und R. BÜTLER	238
A. Gruppensysteme im Albuminbereich	238
1. Die Doppelalbuminämie	238
2. Das „Albumin-like Protein“	239
3. Weitere Gruppensysteme im Albuminbereich	239
a) Das Quasialbumin	239
b) Postalbumingruppen	240
c) Gruppenspezifische Präalbumine bei Tieren	240
B. Gruppensysteme im α_2 -Globulin-Bereich	240
1. Das Gc-System	240
2. Das Hp-System	241
3. Cholinesterasegruppen	243
C. Gruppensystem im Beta-Globulin-Bereich: das Tf-System	244
D. Gruppensystem im Gamma-Globulin-Bereich: das Gm-System	245
Literatur	247

FÜNFTE KAPITEL

Spezielle Methoden Von W. H. HITZIG, M. HESS, R. BÜTLER und H. COTTIER	253
1. Immunoelktrophorese	253
2. Immunodiffusion in der eindimensionalen Methode nach OUDIN	256
3. Immunodiffusion in der zweidimensionalen Methode nach OUCHTERLONY	258
4. Nephelometrische Messung des Immunpräzipitates	259
5. Gamma-Globulin-Bestimmung durch Zinksulfatfällung	259
6. Haptoglobinbestimmung nach JAYLE	260
7. Coeruloplasminbestimmung nach RAVIN	261
8. Bestimmung der Beta-Lipoproteine nach BURSTEIN	262
9. Bestimmung des C-reaktiven Proteins	263
10. Entnahme von Capillarblut bei Säuglingen	263
Literatur	264
Methoden zur Bestimmung der Serumgruppen. Von M. HESS und R. BÜTLER	264
11. Hp-Gruppen	265
12. Gc-Gruppen	266
13. Gm-Gruppen	268
Methoden zur Gewinnung und Verarbeitung von Gewebs- und Zellmaterial. Von H. COTTIER	270
14. Die Gewinnung von Gewebs- und Zellmaterial	271
15. Herstellung der Präparate, Fixation, Färbung, Spezialmethoden	272
Literatur	275
Verdankungen	276
Sachverzeichnis	278

Einleitung

Die Biochemie der Proteine ist ein relativ junges Forschungsgebiet, das sich erst im Rahmen der makromolekularen Chemie voll entfalten konnte. Die Bezeichnung „Protein“, die den biologischen Vorrang dieser Stoffgruppe ausdrücken sollte, wurde zwar schon 1839 von MULDER [4] geprägt. Trotzdem konnte diese Sonderstellung der Eiweißkörper erst sehr viel später eindeutig bewiesen werden, als in den letzten 2 bis 3 Jahrzehnten Methoden entwickelt wurden, die sichere und bedeutungsvolle Differenzierungen erlauben. Die fast unendliche Vielfalt im Bau so großer Moleküle macht es verständlich, daß für die Auftrennung in verschiedene Gruppen mit gleichartigen Eigenschaften auch viele Techniken notwendig sind. Wie zu erwarten war, hat es sich aber gezeigt, daß die Abgrenzung dieser Gruppen je nach dem berücksichtigten Kriterium sehr verschieden ausfällt. Ein wichtiges Ziel der Proteinchemie ist heute die Darstellung möglichst reiner Fraktionen, deren physikalisch-chemische und biologische Eigenschaften in vitro und in vivo studiert werden. Mit zahlreichen Methoden ist heute eine erstaunlich weitgehende Fraktionierung vor allem des menschlichen Blutplasmas möglich. Eine größere Anzahl der dabei isolierten Eiweißkörper erscheint einheitlich und durch charakteristische Eigenschaften ausgezeichnet. Der Chemiker gewinnt den Eindruck, daß es sich um weitgehend einheitliche Moleküle handle, die von anderen Proteinmolekülen scharf abgegrenzt werden können.

Die Vorstellung von spezifischen und besonderen Aufgaben dienenden Eiweißkörpern wurde, von vorwiegend klinisch orientierten Beobachtungen ausgehend, schon vor 30 Jahren von BENNHOLD [1, 2] geäußert. Seine Konzeption der „Vehikelfunktion“ der Blutproteine ist durch neuere Befunde immer wieder bestätigt worden. Sie nimmt jedoch im Denken des Klinikers noch immer nicht den bedeutsamen Platz ein, der ihr unseres Erachtens zukommt. Zweifellos tragen die großen Lücken in unseren gesicherten Kenntnissen daran die Hauptschuld. Die tiefere Ursache dafür sehen wir in der nur sehr zögernden Anwendung der in der biochemischen Grundlagenforschung erarbeiteten neuen Methoden auf praktische Probleme. Dem Kliniker entgehen dadurch zweifellos wesentliche Einblicke in pathogenetische Zusammenhänge.

Auf der andern Seite sind zwangsläufig nur relativ einfache Methoden für die Einführung in das klinische Routinelaboratorium geeignet. Infolgedessen haben bis jetzt eigentlich nur zwei Verfahren, die Papierelektrophorese und verschiedene Aussalzungsverfahren, in breitem Maßstab Eingang in die klinische Untersuchungstechnik gefunden [3]. Die damit erzielten Ergebnisse sind von den klinisch tätigen Ärzten sofort mit lebhaftem Interesse aufgenommen worden, wie die große Verbreitung entsprechend orientierter Bücher [5, 6] beweist.

Trotzdem sollte eine ganze Anzahl weiterer Techniken auf ihre Eignung zur klinischen Anwendung geprüft werden. Die schon seit der Pionierzeit der Bakteriologie bekannten immunologischen Methoden haben a priori unschätzbare Vorteile: vor allem sind sie außerordentlich empfindlich und hochspezifisch. Die unmittelbare Anwendung auf praktische Probleme hat bisher zahlreiche gute Erfolge gezeitigt. In den letzten Jahren bahnten ferner methodische Arbeiten der Grundlagenforschung den Weg für wesentliche Vereinfachungen und Verfeinerungen

immunochemischer Verfahren, insbesondere verschiedenartiger Agardiffusionstechniken. Sie sind teilweise so leicht zu handhaben, daß sie auch für ein Routine-laboratorium geeignet erscheinen.

Es ist die Aufgabe dieser Monographie, die Ergebnisse von Vorarbeiten mit neueren, vorwiegend immunochemischen, Methoden zusammenzufassen und erste klinische Erfahrungen mitzuteilen. Wir streben damit keinen abschließenden Bericht an, sondern lediglich eine Orientierung über den heutigen unvollkommenen Stand der Forschung. Beim Entziffern der geheimnisvollen Präcipitationslinien unserer Präparate fühlen wir uns oft ähnlich, wie es wohl den Pionieren der Elektrokardiographie zumute gewesen sein mag, als ihre noch unvollkommenen Apparaturen die ersten Schwankungen der Herzstromkurve aufzeichneten; ihren unermüdlichen systematischen Arbeiten ist es gelungen, diese ehemalige Domäne der reinen Forschung zu einer heute unentbehrlichen Stütze der praktischen Diagnostik weiterzuentwickeln.

Wir hoffen, durch dieses Buch andere Ärzte und Chemiker zur Mitarbeit an den zahlreichen ungelösten Problemen auf unserem Gebiete anzuregen. Wir werden nicht auf die Erörterung offener Streitfragen verzichten, da wir uns davon mehr versprechen als von dogmatischen Feststellungen. Zweifellos wird die Immunochemie erst nach Jahren oder Jahrzehnten genügend klare Konturen aufweisen, um den wichtigen Platz in der praktischen Medizin einnehmen zu können, der ihr zukommt.

Literatur

- [1] BENNHOLD, H.: Die Vehikelfunktion der Bluteiweißkörper.
In: BENNHOLD, H., E. KYLIN und St. RUSZNYAK: Die Eiweißkörper des Blutplasmas, S. 220—229. Dresden und Leipzig: Th. Steinkopff 1938.
- [2] — Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. 42, 273 (1932).
- [3] HITZIG, W. H.: Int. Arch. Allergy 19, 145, 284, (1961).
- [4] MULDER, G. J.: Liebigs Ann. 28, 73 (1838). — Bull. sci. phys. et mat. en Nederlands, Rotterdam 1838 u. 1839.
- [5] RIVA, G.: Das Serumweißbild. Bern — Stuttgart: Huber 1957.
- [6] WUHRMANN, F., u. CH. WUNDERLY: Die Bluteiweißkörper des Menschen. 3. Aufl. Basel: Schwabe 1957 (1. Auflage 1947).

Erstes Kapitel

Theoretische Grundlagen

Von

W. H. HIRTZIG

Die Eiweißstoffe oder Proteine sind aus Aminosäuren aufgebaut, die durch Peptidbindungen

$$\begin{array}{ccccccc} & \text{H} & \text{O} & & \text{R}_2 & & \text{H} \\ & | & || & & | & & | \\ \text{— C —} & \text{C — N —} & \text{C —} & \text{C — N —} & \text{C —} & & \text{C —} \\ & | & & | & | & & || \\ & \text{R}_1 & & \text{H} & \text{H} & & \text{O} \end{array}$$

aneinandergeknüpft sind. Die

resultierende Polypeptidkette bildet das Grundgerüst aller Eiweiße. Sie weist Verzweigungen auf und ist innerhalb des Moleküls in gesetzmäßigen räumlichen Strukturen angeordnet. Ferner sind an Seitenketten oft andere chemische Gruppen angehängt, besonders häufig Kohlenhydrate, deren Menge außerordentlich verschieden ist. Diese „zusammengesetzten“ Eiweißkörper werden vielfach als „Proteide“ von den nur aus Aminosäuren aufgebauten „einfachen Proteinen“ abgegrenzt. Eine solche Unterscheidung (die übrigens auf das deutsche Sprachgebiet begrenzt ist) scheint uns weder von wesentlicher Bedeutung noch immer streng durchführbar; wir werden darauf verzichten und durchwegs von „Proteinen“ sprechen, also auch von Glykoproteinen, Lipoproteinen usw. [61].

Zum Verständnis verschiedener neuer Richtungen der Eiweißforschung sowie der immunologischen Methodik müssen einige theoretische Grundlagen kurz skizziert werden.

I. Biosynthese der Proteine

Die Synthese der komplizierten Eiweiß-Makromoleküle erfolgt in drei schematisch voneinander abtrennbaren Schritten, die heute teilweise erforscht sind; sie können folgendermaßen umschrieben werden:

1. Der genetische Bauplan der Proteine wird in der Desoxyribonucleinsäure (DNS) des Zellkerns übermitteln, die den Hauptanteil der sichtbaren Chromosomen ausmacht. DNS besteht aus dem immer gleichen Rückgrat von Phosphorsäure und Desoxyribose, an das in wechselnder Folge vier Basen (die beiden Purine Adenin und Guanin sowie die beiden Pyrimidine Cytosin und Thymin) angefügt sind. Die Sequenz dieser Basen repräsentiert die vererbten Eigenschaften, die darin wie in einer „chemischen Chiffrierung“ aufbewahrt sind [3] (Sequenz-Hypothese von CRICK [3, 38a]). Die genetische Information — der Text des Erbgutes — wird in mehreren Teilschritten auf das Proteinmolekül übertragen; erstaunliche Einzelheiten darüber sind in den letzten Monaten aufgeklärt worden:

a) Vom Originaltext, der im „DNS-Code“ verschlüsselt ist, wird zunächst eine RNS-Kopie hergestellt („RNS-Code“). Diese wird als Abklatsch oder Negativ aufgefaßt, indem jeweils Adenin an Stelle von Thymidin und Guanin an Stelle von Cytosin eingebaut wird und umgekehrt, wobei ferner das Thymidin in DNS durch Uridin in RNS ersetzt wird.

b) Diese getreue RNS-Kopie des DNS-Urtextes löst sich von den Chromosomen ab und verläßt den Zellkern, um die Information als Bote weiterzutragen (daher als „messenger-RNA“ bezeichnet) [32a]. Sie fixiert sich auf den Mikrosomen im Zellplasma, die deswegen auch „Ribosomen“ genannt werden (Abb. 1). An Hand des Codes dieser fixierten oder „sessilen“ oder „Template-RNA“ werden nun die frei in der Umgebung vorhandenen Aminosäuren nach dem unter c) beschriebenen Mechanismus zur Polypeptidkette aneinandergereiht.

Schemat. Darstellung der Protein-Synthese: I. Aufreihung der Aminosäuren-Kette.

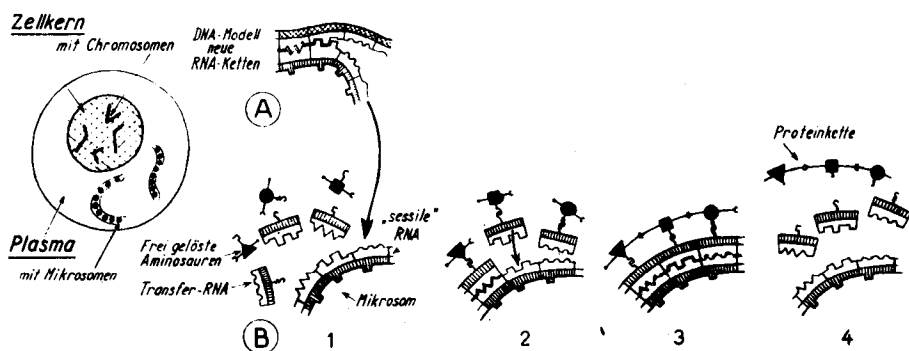


Abb. 1. Schematische Darstellung der Proteinsynthese: Erste Stufe = Aufreihung der Aminosäurenkette. Die Reihenfolge (Sequenz) der Aminosäuren wird durch die auf den Mikrosomen fixierte Ribonucleinsäure (RNA) bestimmt, die ihrerseits wieder eine Kopie der Desoxyribonucleinsäure (DNA) in den Chromosomen ist (A). Die letztere kann als das stoffliche Substrat für „das Erbgut“ angesehen werden. Die individuellen Aminosäuren werden durch spezifische zugehörige Fragmente der Transfer-RNA an die richtige Stelle im großen RNA-Bauplan geleitet (B 1 und 2). Zugleich werden sie aktiviert, so daß sie sich nun mit den benachbarten Aminosäuren durch Peptidbindung vereinigen können (B 3). Die Proteinkette löst sich ab, gleichzeitig werden die Transfer-RNA-Fragmente wieder frei (B 4) (nach HOAGLAND [110]).

c) Ein weiteres Hilffsystem vermittelt diese Aufreihung der Aminosäuren: durch lösliche, spezifische, kleinmolekulare RNS-Fragmente, die Transfer-RNS, werden sie aus der freien Lösung herausgefischt und ihrem richtigen Ort im Bauplan der Messenger-RNS zugeführt; die Transfer-RNS findet ihren richtigen Platz im Code der Messenger-RNS wiederum auf Grund des komplementären Aufeinanderpassens ihrer Purin- und Pyrimidinbasen. Die Basensequenz des RNS-Codes derselben verschlüsselt demnach die Worte und Buchstaben des Informationstextes. Tatsächlich wurde kürzlich nachgewiesen, daß die eindeutige Chiffrierung der 20 Aminosäuren durch Dreierkombinationen der vier verschiedenen Basen erreicht wird: z. B. bestimmt die Basen-Sequenz Uridin-Uridin-Uridin den Einbau der Aminosäure Phenylalanin, oder die Folge von Uridin-Cytosin-Uridin entspricht dem Alanin usw. [38b, 110, 162a, 173a].

d) Die auf diese Weise richtig aufgereihten und durch ATP aktivierten Aminosäuren können sich nun durch Peptidbildung untereinander zur Proteinkette vereinigen, wobei die jeweils übermittelnde Transfer-RNS frei wird [3, 110]. Die

Bildung der Peptidbindungen beginnt an einem Ende und läuft mit großer Geschwindigkeit wie das Zuziehen eines Reißverschlusses über die ganze Kette hinweg. Die Zeit für den Aufbau einer aus 300 Aminosäuren bestehenden Hämoglobinkette wird auf weniger als 1 min geschätzt [205]. Nach dieser neuen Auffassung wird die ganze Proteinkette auf einmal synthetisiert und nicht, wie man früher annahm, schrittweise über verschieden große Polypeptide [205]. Sobald die Peptidbindungen geschlossen sind, löst sich die Proteinkette von den Mikrosomen ab. Gleichzeitig wird die Transfer-RNS frei und steht nun gelöst wieder für die Aminosäurenübertragung zur Verfügung; sie verhält sich also ähnlich wie ein Enzym, das nicht im Reaktionsendprodukt erscheint [3].

2. In einem zweiten Schritt der Eiweißsynthese wird die geradlinig aneinandergereimte Aminosäurenkette in eine bestimmte räumliche Struktur gebracht [46]. Die meisten Proteine werden in eine Spirale aufgewunden (Alpha-Helix, Abb. 2). Zwischen zahlreichen aneinander auf diese Weise nahekommenden Gruppen

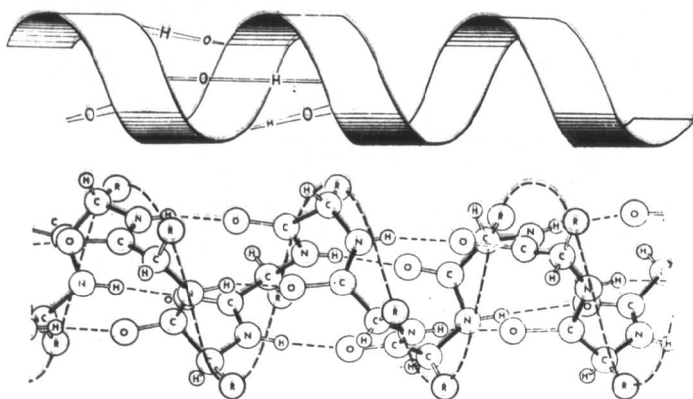
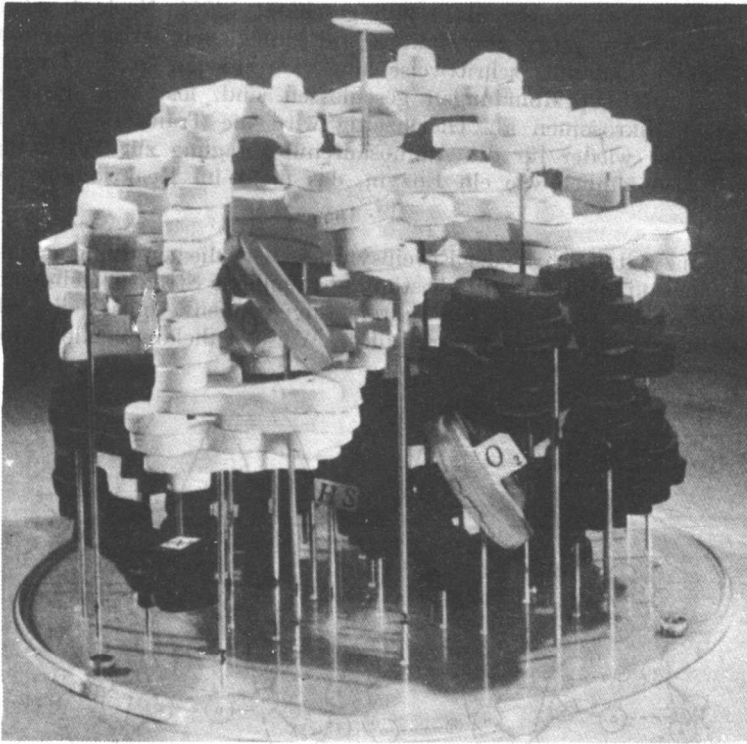


Abb. 2. Zweite Stufe der Eiweißsynthese: Bildung der Alpha-Helix durch Aufwinden der linearen Proteinkette zu einer Spirale. Benachbarte Gruppen gehen untereinander Bindungen ein, die zur Stabilisierung der Spirale beitragen (nach DOTY)

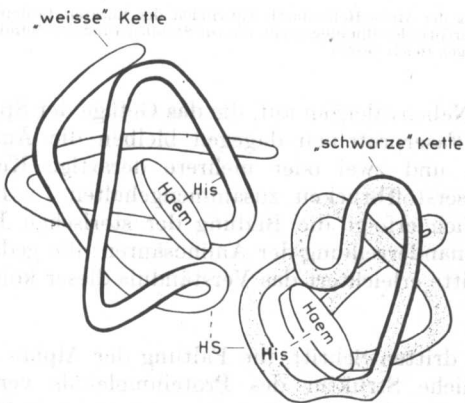
treten innere Verbindungen durch Nebenvalezen auf, die das Gefüge der Spirale stabilisieren. Bei langgestreckten Faserproteinen dagegen bleiben die Aminosäurenketten geradlinig gestreckt, und zwei oder mehrere derartige Ketten werden untereinander durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten (= Beta-Konfiguration) [233]. Wahrscheinlich erfolgt die Bildung der sterischen Konfiguration gleichzeitig mit der Aneinanderreihung der Aminosäuren; die gedankliche Aufteilung in zwei Einzelschritte erleichtert das Verständnis dieser komplizierten Vorgänge.

3. Schließlich wird durch einen dritten Schritt, die Faltung der Alpha- oder Beta-Polypeptidketten, die räumliche Struktur des Proteinmoleküls vervollständigt. Wieder kommen dabei verschiedenartige Gruppen zueinander in Beziehung, indem sie ins Innere des Moleküls oder an besonders exponierte Stellen auf seiner Oberfläche verlagert werden. Die Variationsmöglichkeiten sind hierbei unübersehbar mannigfaltig. Es leuchtet ein, daß die Eigenschaften des Moleküls durch die Art seiner Auffaltung und besonders durch die dabei exponierten aktiven Gruppen entscheidend beeinflußt werden [233, 235]. Diese Tertiärstruktur des

Proteins ist besonders beim Hämoglobinmolekül äußerst intensiv erforscht worden. Die dabei überwundenen technischen Probleme sind fast unvorstellbar groß: von



a



b

Abb. 3a u b. Pferdehämoglobinnmolekül im Modell von PERUTZ: Vier zur Helix aufgewundene Polypeptidketten sind in komplizierter Weise gebogen und gewunden ineinander verschachtelt. Dadurch treten bestimmte Gruppen, vor allem die zu jeder Proteinkette gehörende Hämgruppe, in genau fixierter räumliche Beziehungen zueinander b Vereinfachtes Schema der Hälfte desselben Moleküls (aus: Perutz et al. Nature **185**, 416 [1960])

PERUTZ wurde das Hämoglobinmolekül durch Röntgendiffraktion in 'Serienschnitte' zerlegt, die dann durch eine Wachsplattenrekonstruktion wieder zum Modell des Moleküls zusammengebaut werden konnten. Dabei zeigte es sich, daß

das Pferdehämoglobin aus zwei Paaren gleichartiger Polypeptidketten besteht, den zwei Alpha- und den zwei Beta-Ketten. Diese vier Proteinketten, die je eine Hämgruppe tragen, sind auf komplizierte Weise räumlich ineinander verschachtelt [199] (Abb. 3). Für die vermutlich noch komplizierter gebauten Plasmaproteine gibt es noch keine analogen Untersuchungen.

Die Synthese der Antikörper stellt in diesem Sinne lediglich einen Spezialfall dar, indem in der dritten Phase der Proteinsynthese eine Anpassung an gewisse chemische Strukturen exogener Stoffe, der Antigene, erfolgt [92, 93, 142, 231, 232] (vgl. S. 8, 10).

II. Allgemeine Immunologie

[24, 44, 45, 75, 92, 96, 135, 136, 163, 197, 228, 231, 232, 234, 235]

Schon ganz am Anfang der bakteriologischen Ära der Medizin wurde erkannt, daß Eiweißkörper antigen wirken, d. h. daß sie nach Injektion in einen tierischen Organismus die Produktion von Antikörpern stimulieren. Die Begriffe Antigen und Antikörper sind so eng miteinander verkoppelt, daß jeder von ihnen nur mit Hilfe des anderen überhaupt definiert werden kann. Für die bakteriologische Diagnostik konnte schon sehr früh die hochgradige Spezifität der Antikörper praktisch verwertet werden. Hingegen war die Zeit für die Anwendung immunologischer Methoden in der Proteinforschung noch nicht gekommen. Zwar wurden schon zu Ende des letzten Jahrhunderts Verwandtschaftsbeziehungen zwischen verschiedenen Tierarten mit Hilfe spezifischer Antiseren gegen Blutserum nachgewiesen [178]. Den entscheidenden Wendepunkt brachten jedoch erst die Arbeiten LANDSTEINERS [156], der die chemischen Substrate dieser Spezifität weitgehend aufdecken konnte. Es gelang ihm mit seinen Mitarbeitern in jahrzehntelanger unermüdlicher Arbeit zu zeigen, daß die Empfindlichkeit serologischer Reaktionen noch viel höher ist, als man sich bis dahin vorstellen konnte: in seinen Versuchen konnte er einzelne Azogruppen, die an ein Proteinmolekül gekoppelt wurden, mit spezifischen Antiseren zuverlässig differenzieren. Zu den rein qualitativen Untersuchungen LANDSTEINERS kamen bald darauf quantitative Arbeiten, die nachwiesen, daß Antigen-Antikörperreaktionen unter bestimmten Bedingungen in stöchiometrischen Verhältnissen ablaufen [24, 76, 78, 96—99, 136, 163]. Die Immunologie hatte dadurch eine solide chemische Basis erhalten, und das neu begründete Forschungsgebiet wurde als „Immunochemie“ bezeichnet.

A. Antikörper

Die Bildung spezifischer Antikörper ist ein wesentlicher Bestandteil der Abwehrreaktion jedes Makroorganismus gegen äußere Einflüsse. Ihre Synthese erfolgt in den Zellen des lympho-reticulären Systems (s. S. 75 ff und 18, 25, 56, 57, 91, 117, 180). Vom Moment der Antigenzufuhr bis zum Erscheinen spezifischer Antikörper im Blut verstreicht eine Latenzzeit, die nach der Erstinjektion 6 bis 10 Tage beträgt, sich aber bei wiederholten Injektionen auf 1 bis 3 Tage verkürzt. Dieses Phänomen wird als anamnestiche Reaktion bezeichnet, womit ausgedrückt wird, daß im Produktionssystem eine „Erinnerung“ an frühere Einprägungen des gleichen Antigens zurückbleibe. Außer der zeitlichen Beschleunigung ist die anamnestiche Reaktion in der Regel auch intensiver als die Erstreaktion. Für die Produktion von Antiseren wird diese besondere Reaktionsart berücksichtigt, indem meistens mehrere Injektionen kleinerer, eventuell

steigender, Antigenmengen verabreicht werden (Aufrischungsinjektion, booster, injection de rappel).

Der chemische Bau der Antikörper ist sehr intensiv erforscht worden [121, 124, 135]. Ihre Träger sind heute zum größten Teil recht gut bekannte Gamma- und β_2 -Globuline, die wir in der Gruppe der Immunglobuline zusammenfassen [44, 100, 108]. Andere Autoren ziehen es vor, vom Gamma-Globulinsystem oder

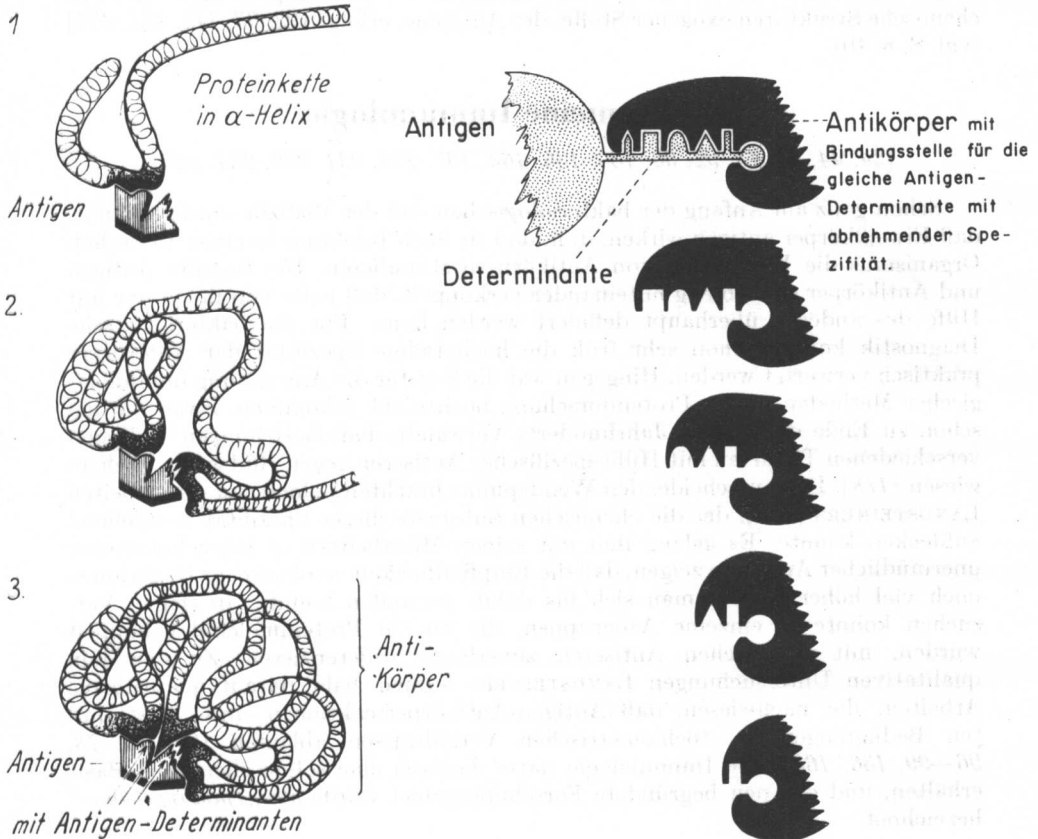


Abb. 4. Synthese der Antikörper nach der Template-Theorie von BURNET: In der dritten Stufe der Eiweißsynthese, der Aufknäuelung der Alpha-Helix, wirken bestimmte Oberflächenstrukturen des Antigens (Antigendeterminanten) modifizierend auf die Faltung des Globulinfadens ein: die benachbarten Partien passen sich spezifisch daran an, so daß eine spiegelbildliche Oberflächenkonfiguration entsteht. Das vorher „inerte“ Globulin ist damit zum „spezifischen Antikörper“ geprägt worden

Abb. 5. Schematische Darstellung der unterschiedlichen Spezifität von Antikörpern gegen ein und dieselbe Antigen-determinante: die Determinante des Antigens (links) besteht aus 6 Chiffrelementen, z. B. 6 verschiedenen Aminosäuren. Rechts sind die Haftstellen von fünf verschiedenen Antikörpern dargestellt. Sie sind an alle 6, bzw. an 5, 4, 3, 2 Aminosäuren angepaßt, d. h. ihre Spezifität zur Erkennung der betreffenden Antigendeterminante nimmt von oben nach unten ab. Jedes Antiserum enthält eine ganze „Familie“ derartiger verschieden spezifischer Antikörper gegen ein und dieselbe Antigendeterminante

von der Gruppe der Gamma-Globuline zu sprechen [101]. Die physiko-chemischen Eigenschaften von Antikörpern sind von denen „inerten“ Gamma-Globuline nicht zu unterscheiden. Das spezifisch geprägte Antikörperglobulin besitzt jedoch an seiner Oberfläche umschriebene Bezirke, deren Konfiguration zu entsprechenden Strukturen der homologen Antigene komplementär ist. [92, 93, 197, 231]. Diese genau aufeinander passenden Bezirke werden beim Antigen als Antigen-Determinanten (antigenic site, motif antigénique), beim Antikörper als