

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 169—170

Anwendung monospezifischer heterophiler Präzipitine in der quantitativen Immunelektrophorese

VON G. UHLENBRUCK, W. STEPHAN UND Ina SPRENGER

*Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Abteilung Immunbiologie, Köln und der Wissenschaftlichen Abteilung
der Biotest-Serum-Institut GmbH Frankfurt/Main*

(Eingegangen am 17. Dezember 1971)

Die diagnostischen Möglichkeiten der quantitativen Immunelektrophorese können durch Einbeziehung monospezifischer heterophiler Präzipitine aus Pflanzen und Avertebraten beträchtlich erweitert werden, wie am Beispiel der Blutgruppensubstanz A und des Präzipitins aus der Eiweißdrüse von *Helix pomatia* demonstriert wird.

The use of monospecific heterophilic precipitins in quantitative immunoelectrophoresis

The diagnostic possibilities of quantitative immunoelectrophoresis can be considerably extended by using monospecific heterophilic agglutinins from plants and invertebrates. This is demonstrated by blood-group-A-substance and the agglutinin from the albumin gland of *Helix pomatia*.

Auf die Bedeutung der zweidimensionalen LAURELL-Elektrophorese für die klinische Diagnostik und forensische Medizin, insbesondere als Mikromethode durch quantitative Simultan-Immunelektrophorese, ist in vorhergehenden Arbeiten hingewiesen worden (1, 2). In dieser Mitteilung soll nun darüber berichtet werden, daß bei dieser Technik nicht nur Antiseren (Immunglobuline) angewandt werden können, sondern auch heterophile präzipitierende antikörperähnliche Substanzen aus Pflanzen (Lektine) und Avertebraten (Protektine), die in der Regel monospezifisch gegen vorwiegend endständige terminal angeordnete Kohlenhydratstrukturen gerichtet sind (3). Als Beispiel soll hier das Verhalten des Anti-A Präzipitins aus der Eiweißdrüse der Weinbergschnecke *Helix pomatia* gegenüber Blutgruppensubstanz A aus Pepton demonstriert werden.

Material und Methodik

Blutgruppensubstanz A wurde durch Phenol-NaCl-Extraktion aus Pepton S der Firma Brunnengräber (Lübeck) hergestellt (4).

Helix pomatia-Extrakt wurde aus Eiweißdrüsen der Weinbergschnecke *Helix pomatia* isoliert wie früher beschrieben (5).

Quantitative Immunelektrophorese: aufgetrennt wurden 1,5 µl einer 2,5proz. Lösung der Blutgruppensubstanz A in physiol. NaCl-Lösung.

Die „Antikörper“-haltige Agarose bestand aus 0,25 ml des *Helix-pomatia*-Extraktes in der Verdünnung 1:2, 1:4 und 1:8, 1,4 ml Barbituratpuffer, 0,075 M, pH 8,6 und 1,4 ml eines 2proz. wäbr. Agarose-Gels.

Die Analyse wurde in der „Meath“-Elektrophorese-Kammer (Hersteller: Fa. Paines und Byrne, Greenford, England) mit einem Puffervolumen von 3 Litern je Tank und Temperierung auf 23° durch Wasserkühlung durchgeführt. Die erste Dimension dauerte 3 Stdn. bei 200 Volt = 15 mA; das entsprach einer Auftrennstrecke des Albumins von 2,0 cm in einer mitgeführten Kontrollanalyse von Serum. Für die zweite Dimension wurden 20 Stdn. bei 200 Volt = 15 mA benötigt.

Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 1 zeigt, daß die Darstellung der Blutgruppensubstanz A als Antigen durch den *Helix pomatia*-Extrakt als „Antiserum“ in der quantitativen Immunelektrophorese möglich ist und daß eine quantitative Auswertung zulässig ist. Die durch *Helix pomatia*-Extrakt als „Antiserum“ in den Verdünnungen 1:2, 1:4 und 1:8 dargestellten Peaks der Blutgruppensubstanz A entsprechen in ihrer Fläche (Wägemethode) dem Verdünnungsausmaß: die Kurve ist annähernd linear (Abb. 3). Abbildung 2 (eine Photomontage) zeigt, daß die A-Substanz eine Beweglichkeit zwischen IgG und Transferrin hat.

Die vorliegenden Ergebnisse sagen, daß sich heterophile präzipitierende Agglutinine bzw. antikörperähnliche Substanzen für die zweidimensionale LAURELL-Elektrophorese eignen. Der Anwendungsbereich dieser erweiterten Methodik ist evident:

1. Es lassen sich quantitative vergleichende Bestimmungen von verschiedenen Substanzen mit gleicher serologischer Spezifität bzw. Kohlenhydratstruktur durchführen. Im vorliegenden Fall wären dies

a) verschiedene Substanzen mit Blutgruppen-A-Spezifität bzw. α -glykosidisch gebundenem N-Acetyl-D-Galaktosamin sowie heterophile blutgruppen-A-aktive Verbindungen aus *Tubifex*, Magenschleimhaut, von Tieren (Schwein), Bakterien, aus Ovarcysten, Sperma, FORSSMAN Antigene u. a.

b) Glykoproteine, welche nach Abspaltung endständiger Neuraminsäure dieses Hexosamin in terminaler Position aufweisen (neuraminidase-behandelte Erythrocytenmucoide, Submaxillarismucin u. a. m.).

2. Prinzipiell gleiche Überlegungen gelten für andere heterophile Präzipitine, z. B. dasjenige aus Samen der

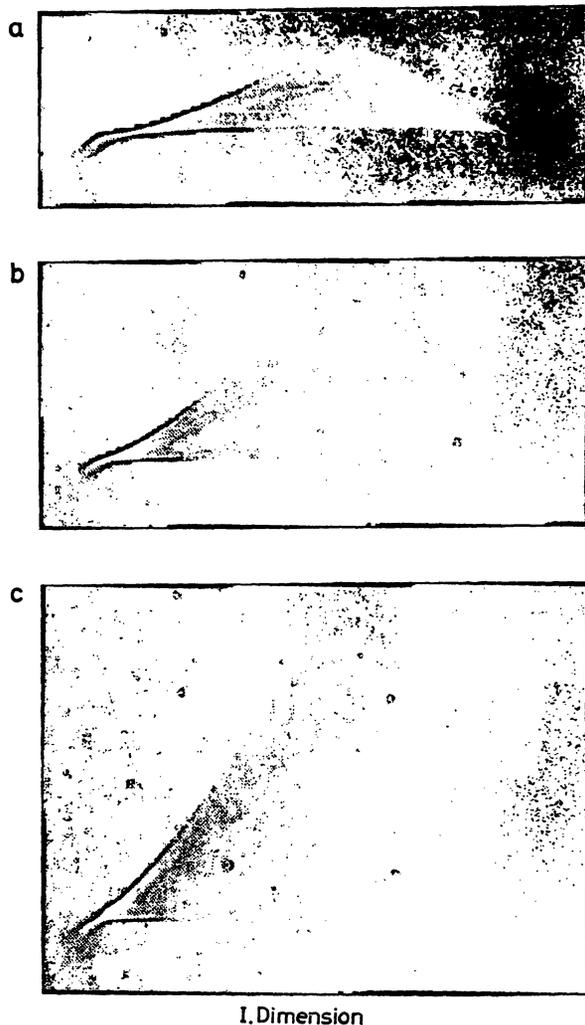


Abb. 1

LAURELL-Elektrophorese: Blutgruppensubstanz A dargestellt mit *Helix pomatia*-Extrakt in verschiedenen Verdünnungen: a: 1:2, b: 1:4, c: 1:8

Pflanze *Ricinus communis*, welches mit terminalen β -Galaktosido-Strukturen reagiert. Verschiedene normale und neuraminidase-behandelte Glykoproteine werden hierdurch präzipitiert. Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang, daß sich in einem Gemisch von Proteinen und Glykoproteinen die letzteren auf diese Weise selektiv darstellen lassen. Zu diesem Zwecke wären aus einer Probe zwei Pherogramme anzufertigen, von denen das eine mit einem spezi-

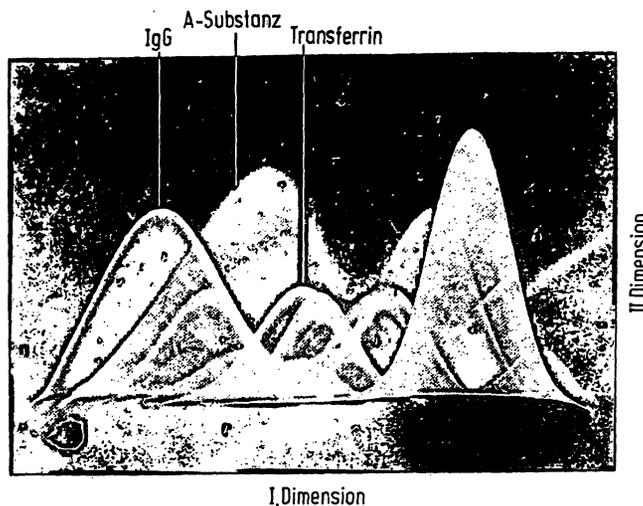


Abb. 2

Photomontage: LAURELL-Peak der A-Substanz projiziert in LAURELL-Elektrophoretische Auftrennung eines Normal-Humanserums

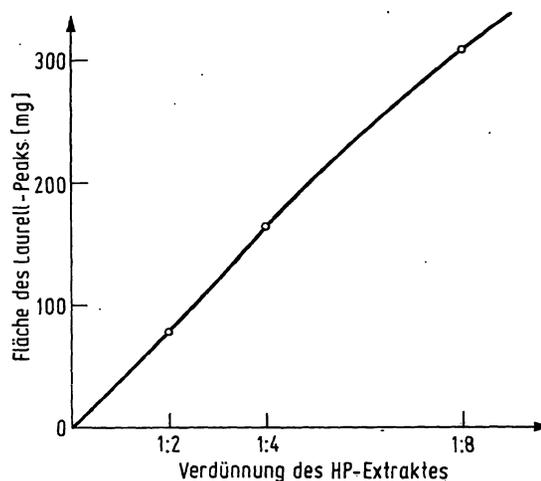


Abb. 3

Einfluß der Konzentration des „Antiserums“ (*Helix pomatia* (HP)-Extrakt) auf die quantitative Bestimmung der Blutgruppensubstanz A. Die Peakflächen wurden ausgeschnitten und gewogen

fischen Antiserum, das andere mit einem heterophilen Präzipitin entwickelt werden müßte. Die Beweglichkeiten wären dann in einer Photomontage (siehe Abb. 2) vergleichbar.

3. Durch Anwendung der umgekehrten Technik und Einsatz von *Helix pomatia*-Extrakt als Antigen und A-Substanz als „Antiserum“ kann außerdem Aufschluß über die Heterogenität dieser antikörperähnlichen Substanzen gewonnen werden.

Literatur

- STEPHAN, W. und U. FRAHM, diese Z. 8, 469 (1970). — 2. STEPHAN, W. und U. FRAHM, diese Z. 9, 224 (1971). — 3. UHLENBRUCK, G., „Immunbiologie“, Wilhelm Goldmann Verlag, München (1971).
4. UHLENBRUCK, G., I. SPRENGER und G. I. PARDOE, Z. Immun.-Forsch. 140, 496 (1970). — 5. UHLENBRUCK, G., Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 356, 672 (1969).

Prof. Dr. G. Uhlenbruck und Dr. I. Sprenger
Abteilung Immunbiologie
5 Köln 41
Kerpener Str. 15

Dr. W. Stephan
6 Frankfurt-Niederrad
Flughafenstr. 4