

Neuere Ergebnisse der Immunchemie*)

Von Dr. H. RUDY

Chemisches Laboratorium
der Universität Erlangen

Eingeg. 14. Oktober 1936

Inhalt: A. Chemie der Immunstoffe. 1. Antigene und Haptene. 2. Antikörper und serologische Hilfsstoffe (Komplement). — B. Chemie der Immunreaktionen (in-vitro-Methoden).

Die folgende Zusammenfassung stellt keine vollständige Übersicht des Schrifttums der Immunchemie dar. Es soll vielmehr in großen Zügen gezeigt werden, inwiefern die heute im Vordergrund stehende ausgesprochen chemische Arbeitsrichtung auch in der Immunitätsforschung zu neuer Erkenntnis geführt hat. Dabei ist zu beachten, daß nicht nur rein präparative Methoden zur Anwendung kamen — wie etwa bei der Erforschung der Antigene —, sondern in großem Ausmaß auch physikalisch-chemische. Diese haben gerade bei der Untersuchung der Antikörper und der Immunreaktionen große Dienste geleistet.

A. Immunstoffe.

1. Antigene.

Definition. Eine einfache chemische Begriffsbestimmung der Antigene ist nicht möglich, da sie ganz verschiedenen Stoffklassen angehören. Immunbiologisch betrachtet sind Antigene solche organischen, meist hochmolekularen, körperfremden Verbindungen, die im Tier bei parenteraler Verabreichung spezifische, gegen das Antigen gerichtete Abwehrstoffe, die Antikörper bilden¹⁾. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, kann man Antigen und Antikörper nur an ihrer wechselseitigen, aufeinander abgestimmten Wirkung erkennen. Der Nachweis eines Antigens gelingt also nur mit Hilfe eines spezifischen Antiserums und umgekehrt derjenige von Antikörpern nur mit Hilfe der zugehörigen Antigene. Unser Wissen von den Immunstoffen ist aus bakteriologischen und anderen cytologischen Untersuchungen hervorgegangen und hat — dem verwickelten Aufbau der Zellen gemäß — einige unvermeidliche Wandlungen durchmachen müssen. Nachdem morphologische Gründe als Ursache der immunologischen Spezifität unhaltbar geworden waren und gleichzeitig gezeigt worden war (F. Ehrlich u. a.), daß die Zellinhaltsstoffe für diese äußerst feinen Reaktionen verantwortlich sind, ergab sich weiterhin, daß antigene Eigenschaften, d. h. also das Vermögen, beim Tier spezifische Antikörper zu erzeugen, fast immer bei den Eiweißkörpern zu finden waren. Es galt daher lange Zeit als eine unumstößliche Tatsache, daß die immunologische Spezifität ausschließlich auf die Proteine zurückgeht, dies um so mehr, als aus den bekannten Aminosäuren theoretisch eine ungeheure Anzahl von chemisch verschiedenen Proteinen aufzubauen ist, von denen man jedes für eine tatsächlich vorkommende Immunspezifität verantwortlich machen konnte.

Die Entwicklung der letzten 15 Jahre hat hierin einige Umwälzungen gebracht. Untersuchungen an Bakterienantigenen (Dochez und Avery; Parker und Zinsser)²⁾ sowie

am sog. *Forssman*-Antigen ergaben, daß Antigene auch komplexer oder symplexer Natur sein können. *Landsteiner und Simms* fanden 1923³⁾, daß das *Forssman*- (oder heterogenetische) Antigen, das sich z. B. in einem wäßrigen Auszug aus Pferdeniere findet und beim Kaninchen hämolysierende Antikörper (Hämolysine) bestimmter Art erzeugt, aus einem die Spezifität der Hämolysine bestimmenden, alkohollöslichen Anteil und aus Eiweiß besteht. Der alkohollösliche Anteil (das Halb-antigen oder Hapten) hat für sich keine immunisierenden Eigenschaften, reagiert indessen mit dem Antiserum in ganz spezifischer Weise. Das Protein ist zur Erzeugung der Antikörper zwar notwendig, ist aber nicht spezifisch und kann durch andere Eiweißkörper ersetzt werden. Die Bindung Hapten—Eiweiß ist sehr locker: sie wird außer durch Alkohol auch durch andere organische Lösungsmittel gesprengt. Umgekehrt gelingt die Re-synthese des „Vollantigens“ schon durch einfaches Vermischen einer wäßrigen Haptensuspension mit irgendeiner Eiweißlösung, vorausgesetzt, daß das Protein artfremd ist⁴⁾. Mit diesen und anderen Versuchsergebnissen war bewiesen, daß immunbiologische Feinstrukturen auch durch Nichtproteine bewirkt werden können, und daß die Proteine oft nur eine allgemeine Rolle spielen. In der Folgezeit wurde eine große Anzahl von Vollantigenen als „Symplexe“ (*Willstätter*) dieser Art erkannt⁴⁾. Die sich daraus ergebende Frage, ob „reine“ (nur aus Aminosäuren bestehende) Proteine als spezifitätsbestimmend überhaupt noch in Frage kommen, oder ob die Spezifität der Proteine durch kleine prosthetische Gruppen, die bis jetzt übersehen wurden, verursacht wird, läßt sich nicht mit Sicherheit beantworten. Dies hängt von dem Stand der präparativen und analytischen Eiweißchemie ab. Sicher ist, daß die Proteine als Träger oder Schlepper (*H. Sachs*) für die Haptene zur Bildung von Antikörpern bei Infektionen auf natürlichem Wege meist unentbehrlich sind.

Ganz unerschüttert ist ihre Stellung aber auch in diesem Punkte nicht. Im Jahre 1929 fanden *Gonzalez und Armangué*⁵⁾, daß sich Eiweiß als Schlepper vermeiden läßt, wenn man das Hapten auf Kaolin niederschlägt und das Adsorbat als solches parenteral einverleibt⁶⁾. Ihre Ergeb-

³⁾ Diesem unspezifischen Verhalten der Proteine bei der „Synthese“ von Vollantigenen steht eine weit strengere Spezifität bei der „Synthese“ von Fermenten gegenüber. Der kolloide Träger des gelben Oxydationsfermentes von *O. Warburg* u. *W. Christian* muß unter besonderen Vorsichtsmaßregeln dargestellt werden (*H. Theorell*, *Biochem. Z.* 278, 263 [1935]) und ist noch durch keinen anderen ersetzt worden. Die Wirkungsgruppe läßt sich ebenfalls nur innerhalb enger Grenzen variieren (*R. Kuhn* u. *H. Rudy*, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 69, 2557 [1936]).

⁴⁾ Ausführlicheres über den gleichartigen Aufbau von Fermenten und Vollantigenen siehe *H. Rudy*, *Sitz.-Ber. Phys.-Med. Soc. Erlangen* 1936.

⁵⁾ *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* 106, 1007; 110, 216 [1931/32], vgl. auch ⁴⁾.

⁶⁾ Auf die verstärkende Wirkung von Tapioka, Aluminiumhydroxyd, Lipoiden u. a. (*G. Ramon*; *S. Schmidt*) bei Toxinen sei nur verwiesen. Lit. bei *P. Thibault* u. *R. Richou*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* 121, 718 [1936]. Sie ist nicht unmittelbar vergleichbar, weil die Toxine Vollantigene sind.

*) Auf Veranlassung der Schriftleitung.

¹⁾ Ausführliche Definitionen geben a) *G. H. Wells*: Die chemischen Anschauungen über Immunitätsvorgänge, Fischer, Jena 1932; b) *Pick* u. *Silberstein*: *Hdbch. d. pathog. Mikroorg.* 1929, Bd. 2/1, S. 317; *H. Sachs*: *Hdbch. d. norm. u. pathol. Physiol.* 1929, Bd. 13, S. 405; *H. Schmidt*: Fortschritte der Serologie, Steinkopf, 1933.

²⁾ Vgl. *K. Landsteiner*, Die Spezifität der serologischen Reaktionen, J. Springer, Berlin 1934; *M. Heidelberger*, *Chem. Reviews* 3, 403 [1927].

nisse wurden i. allg. auch an anderen Halbantigenen bestätigt, z. T. aber auch so gedeutet, daß noch geringe Eiweißmengen vorhanden gewesen seien⁷⁾. Dessenungeachtet bleibt die starke aktivierende Fähigkeit von Adsorbentien anorganischer Natur bei der Antikörperbildung gegen Haptene unbestritten, und es ergeben sich ganz neue Gesichtspunkte für den Wirkungsmechanismus der Antigene in den Körperzellen, die man noch gar nicht überblicken kann. Es hat auf jeden Fall den Anschein, als ob es bei dieser Teilsynthese von Vollantigenen lediglich darauf ankäme, die niedrigmolekularen Haptene durch Adsorption an Kolloide in einen Zustand geringerer Dispersität überzuführen.

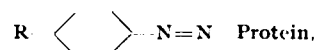
Chemie der Vollantigene und Haptene.

Die **genuinen Proteine** zeichnen sich in serologischer Hinsicht bekanntlich dadurch aus, daß sie für die Tierarten (species) kennzeichnend sind⁸⁾. Chemisch und physikalisch unterscheidbare Eiweiße⁹⁾ der gleichen Art sind auch immunologisch verschieden: so kennt man auch serologisch Serum-globuline, -albumine, -fibrinogene und -mucoide¹⁰⁾. Für die einzelnen Proteine der Milch und des Eiklars gilt dasselbe. Hierbei können die Grenzen der Art-spezifität mehr oder minder verwischt und durch die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Eiweißgruppe (Albumin oder Globulin) überdeckt sein. Diese Beispiele mögen genügen, die Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und serologischer Spezifität kurz zu kennzeichnen; denn zu grundlegenden Ergebnissen konnte man auf diesem analytischen Wege bei den Schwierigkeiten der Eiweißchemie nicht kommen. Zusammenhänge zwischen Spezifität und Gehalt an Aminosäuren in qualitativer und quantitativer Beziehung sind wohl vorhanden, aber sie lassen sich nicht in einfacher Weise ausdrücken.

Künstliche Antigene. Man hat daher bald den synthetischen Weg eingeschlagen, indem man die Proteine in übersichtlicher Weise substituierte und die dabei auftretenden Spezifitätsänderungen studierte¹¹⁾. Als geeignete Methode hierzu hat sich die Kuppelung von Diazoniumsalzen an Proteine nach *W. Pauli* erwiesen (vgl. ²⁾). Da man annehmen darf, daß unter gleichen Bedingungen die Substitution stets an den gleichen Stellen der Eiweißmolekel erfolgt, dürfen wir die eingetretenen Spezifitätsänderungen auf die Art des Substituenten zurückführen. Die so gewonnenen Azoproteine haben ihre ursprüngliche Art-spezifität so gut wie vollständig verloren, so daß in der gleichen Weise verändertes Pferde- und Hühneryoglobulin serologisch identisch sind. Damit ist der ungeheure Einfluß von Substituenten eindeutig bewiesen.

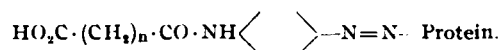
Durch systematische Variation der funktionellen Gruppen substituierter Aniline gelang es *K. Landsteiner* und Mitarb. (vgl. ³⁾), eine Reihe von Regeln aufzustellen, aus denen hervorgeht, daß sowohl die Art als auch die Stellung des Substituenten im Benzolkern von großer

Bedeutung sind. Besonderen Einfluß haben die COOH-, SO₃H-, AsO₃H₂- oder die NH₂- (überhaupt funktionelle) Gruppen, so daß sich Verbindungen der Art



bei denen R einen dieser Reste bedeutet, ohne weiteres serologisch kennzeichnen lassen. Dasselbe gilt für Stellungsisomere.

Führt man weitere organische Reste in den Benzolkern ein, so ergibt sich eine Unzahl von künstlichen Antigenen oder Komplexantigenen (*Landsteiner*) von stets verschiedener „Chemospezifität“. Die Nitranilide von Dicarbonsäuren z. B. ergeben nach Reduktion und Kuppelung des Diazoniumsalzes an Eiweiß Verbindungen folgender Art:



Die Anfangsglieder der Reihe sind streng spezifisch (d. h. das Oxal- und Bernsteinsäurederivat sind gut unterscheidbar), von der Glutar- bzw. Adipinsäure an findet indessen ein Übergreifen auf die Homologen statt, was in schöner Parallele mit einer Reihe physikalischer Eigenschaften der Säuren selbst steht.

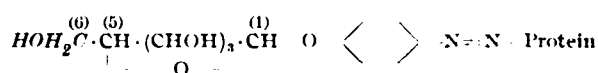
Bei stereo-isomeren Dicarbonsäuren (d-, l- und Mesowinsäure u. a.) ist die Zugehörigkeit zur sterischen Reihe ganz streng, so daß es möglich ist, mit Hilfe „sterisch bekannter“ Antisera die Zugehörigkeit einer unbekannten Substanz zu bestimmen⁴⁾.

Aminosäuren lassen sich über die p-Nitrobenzoylverbindung ebenfalls zu Azoproteinen aufbauen:



Auf diese Weise kann man z. B. Glykokoll, Leucin und Glutaminsäure leicht unterscheiden, während zwischen Glycin und Alanin, bzw. Leucin, Valin und Alanin, bzw. Glutamin- und Asparaginsäure eine gewisse serologische Verwandtschaft besteht⁵⁾. Peptidazoproteine, nach dem gleichen Schema hergestellt, wurden ebenfalls untersucht. Es zeigte sich, daß die Spezifität in erster Linie von der endständigen, die Carboxylgruppe tragenden Aminosäure bestimmt wird⁶⁾. Im Hinblick auf das Vorkommen von Carboxy- und Aminopolypeptidasen wäre die Untersuchung eines Peptid-azoproteins mit freier Aminogruppe am Peptidrest interessant.

Kohlenhydrate wurden über die p-Nitrophenylglucoside an Eiweiß gebunden:



α- und β-Phenylglucoside bzw. -galaktoside sind auf diese Weise gut zu kennzeichnen⁷⁾. Besonders scharf tritt das hervor, wenn man die 6-Acetyl-Derivate verwendet. Daraus ergibt sich, daß die endständige primäre Alkoholgruppe bei der Entstehung der Antikörper in der tierischen Zelle eine große Rolle spielt. An den entsprechenden Disaccharid-azoproteinen β-Phenylmaltosid, -lactosid, -cellobiosid und -gentiobiosid wurde erkannt, daß für die Bildung spezifischer Antikörper in erster Linie das Gesamt-molekül, in zweiter Linie die endständige Hexose und schließlich die Art der Bindung zwischen den beiden Hexosen (ob α- oder β-) verantwortlich sind⁸⁾.

¹²⁾ *J. van der Scheer* u. *K. Landsteiner*, *J. Immunology* **29**, 371 [1935].

¹³⁾ *O. T. Avery* u. *W. F. Goebel*, *J. exp. Medicine* **50**, 533 [1929]; *O. T. Avery*, *W. F. Goebel* u. *F. H. Babers*, ebenda **55**, 769 [1932].

⁷⁾ *J. Jacobs*, *J. exp. Medicine* **59**, 479 [1934]; hingegen *W. Mutsaers*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* **120**, 263 [1935].

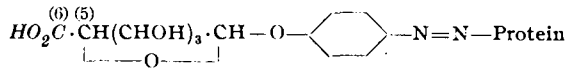
⁸⁾ Vgl. *P. Uhlenhuth* u. *W. Seiffert*: *Hdbch. d. pathog. Mikroorg.* 1929, III/1, S. 107.

⁹⁾ Die Befunde von *S. B. Hooker* u. *W. C. Boyd* (*J. Immunology* **26**, 469 [1934]), nach welchen reines Enteneieralbumin zweierlei Spezifitäten besitzen soll, sind sehr schwer verständlich.

¹⁰⁾ Auch Euglobuline und Pseudoglobuline scheinen serologisch verschieden zu sein, wobei nach *Tz. Harris* u. *H. Eagle* (*J. gen. Physiol.* **10**, 338 [1935]) Begleitstoffe nicht in Frage kommen, sondern die „reinen“ Proteine in Betracht zu ziehen sind.

¹¹⁾ Daß durch chemische Eingriffe die Spezifität geändert werden kann, wußte man aus älteren Untersuchungen von *Obermayer* u. *Pick*, vgl. ¹⁾.

Die Bedeutung der funktionellen OH-Gruppe am Kohlenstoffatom 6 der Zucker zeigt sich vor allem daran, daß das entsprechende Urnsäurederivat, das also statt der Alkohol- eine Carboxylgruppe trägt, immunologisch vollkommen anders reagiert:



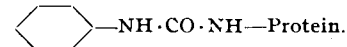
Diese eine funktionelle Gruppe entscheidet also über die Spezifität des gesamten Moleküls¹⁴). Daß indessen auch die Atomanordnung in ihrer Gesamtheit wichtig ist, zeigt das Beispiel der Disaccharid-azoproteine. Bei großen Molekeln werden die Verhältnisse daher sehr verwickelt, und es läßt sich nicht voraussagen, welches die spezifitätsbestimmenden Merkmale einer neuartigen Verbindung sein werden.

Einen bemerkenswerten Anfang, die Elektronenverteilung im Molekül, das Kraftfeld, in immunchemische Betrachtungen hereinzuziehen, haben *H. Erlenmeyer* und *E. Berger*¹⁵) gemacht, die noch andere physikalische Eigenschaften, wie Isomorphie und Neigung zur Bildung von Mischkristallen, verglichen. Ebenso wie sich Arsen- und Phosphorsäure infolge ihrer gleichen Feldwirkung in Kristallen vertreten können, besitzen auch Phenylarsin- und Phenylphosphinsäure ähnliche elektrische Felder und geben daher serologisch übereinstimmende Azoproteine. Die Antimonsäure hingegen besitzt ein anderes Feld, so daß ihre Derivate weder Mischkristalle noch ähnliche Antigene bilden können. In der gleichen Weise wurde die Gültigkeit dieser Anschauungen in der Reihe Schwefel—Selen—Tellur erkannt: SO_3H - und SeO_3H -Gruppen sind serologisch gleich und von der TeO_3H -Gruppe verschieden. Auch Benzol und Thiophen wurden immunologisch als sehr ähnlich erkannt. Trotzdem läßt sich auch auf Grund solcher Betrachtungen bei komplizierteren Molekülen noch keine allgemeine Voraussage machen¹⁶).

In entsprechender Weise äußert sich auch *J. R. Marrack*¹⁷), der die Gestalt, die räumliche Anordnung und Stärke der polaren Gruppen der Molekel verantwortlich macht. Mischkristallbildung und serologische Übereinstimmung sind nach ihm sehr häufig anzutreffen, wobei die Neigung zu Mischkristallen jedoch ein schärferes Kriterium für gleiches elektrisches Feld darstellt als die immunologische Ähnlichkeit. Die Betrachtung der polaren Gruppen bzw. des elektrischen Feldes führt ihn zu der Annahme, daß bei Zellantigenen nicht die eingebauten Moleküle, sondern die nach außen gerichteten Gruppen den Ausschlag bei der Entstehung der Antikörper geben. Hier darf man jedoch nicht übersehen, daß sich physiologische Vorgänge anderer Art, wie die Bakteriolyse und die sog. „Konkurrenz der Antigene“ (*R. Doerr, H. Sachs*)¹⁸) überlagern, so daß m. E. die Nachprüfung dieser Theorie auf Schwierigkeiten stoßen dürfte.

Diazoniumsalze kuppeln nach neueren Untersuchungen im wesentlichen mit Histidin, Tyrosin, Tryptophan, (Oxy-)prolin und den freien Aminogruppen¹⁹). Nachdem sich gezeigt hat, daß die so erhaltenen Azoproteine ihre ursprüngliche Spezifität eingebüßt haben, müssen also diese Bausteine der Proteine auch an der genuinen Eiweißspezifität mitbeteiligt sein. Für die Aminogruppe wird dies in einfacher Weise auch durch die Untersuchung von

Phenylisocyanat-Proteinen erwiesen, bei welchen ebenfalls eine neue Chemospezifität auftritt^{15, 20})



In jüngster Zeit werden neben den Bakterien besonders Virusarten und Bakteriophagen untersucht. Eine Besprechung der zahlreichen Ergebnisse ist indessen auch nicht andeutungsweise möglich. Im allg. gilt, daß die Proteine das Substrat der Artspezifität darstellen, während für die Unterscheidung in Typen oder Gruppen Nichtproteine, oft von Haptencharakter, verantwortlich sind (vgl. Bakterienpolysaccharide).

Besondere Beachtung verdienen die **Fermente als Antigene**²¹). Es ist möglich, gegen „reine“ Fermente, wie Urease, Trypsin, Chymotrypsin, Chymotrypsinogen u. a., echte Antikörper zu erzeugen, welche das jeweils entsprechende Fermentantigen in reversibler Weise inaktivieren. Die Fermente sind also besondere Antigene, die man außer auf serologischem Weg bekanntlich auch unmittelbar im Reagensglas nachweisen kann.

Eine lange Zeit sehr umstrittene Gruppe von Antigenen sind die **Hämoglobine**. Globine und Hämoglobine sind immunologisch verschieden²²). Aber auch die Hämoglobine verschiedener Tierarten sind trotz gleicher prosthetischer Gruppe serologisch unterscheidbar, und zwar infolge der chemischen Verschiedenheit der Globine²³). In diesem Falle gibt also nicht der Farbstoff, sondern das Globin den Ausschlag bezüglich der immunologischen Spezifität.

Hormone können — soweit sie Proteine sind — Vollantigene sein (Thyreoglobulin, Insulin)²⁴). Die Angaben über antigene Wirkung sog. eiweißfreier Hormone (Thyroxin, Prolan)²⁵) sind nicht immer überzeugend.

Toxine zeigen — wie seit langem bekannt — neben ihren antigenen Fähigkeiten stark giftige Eigenschaften. Die Vielheit der physiologischen Eigenschaften dieser interessanten Stoffe, teils pflanzlichen, teils bakteriellen und tierischen Ursprungs, hatte *Ehrlich* zu der Annahme einer ebenso großen Anzahl von Bestandteilen bzw. Abwandlungsformen geführt. Heute darf man mit großer Sicherheit von einer einzigen Substanz mit einer Vielzahl von Reaktionen sprechen²⁶). Die Tatsache, daß Toxine durch Formaldehyd ohne Verlust ihrer antigenen Eigenschaften entgiftet werden, läßt sich so erklären, daß zwei verschiedene funktionelle Gruppen für beide physiologische Funktionen maßgebend sind. Wenn auch der Mechanismus der Anatoxin- oder Formoltoxoidbildung durch Formalin alles andere als aufgeklärt ist²⁷), so scheinen doch freie Aminogruppen für die Toxizität wichtig zu sein^{28, 29}).

¹⁴) *S. J. Hopkins u. A. Wormald*, *Biochemical J.* **27**, 740, 1704 [1933]; **28**, 228, 2125 [1934]. Auch Insulin verliert dadurch seine genuine Spezifität und erwirbt eine neue chemospezifische. *Gavant, Higgins u. Wormald*, *Nature* **136**, 438 [1935].

²⁰) Das scheint indessen nicht allgemeine Gültigkeit zu haben; denn Desaminierung von Casein ändert weder die Spezifität noch die antigenen Fähigkeiten, *J. H. Lewis*, *J. inf. dis.* **55**, 203 [1934].

²¹) Vgl. ¹⁵); ferner *J. St. Kirk u. J. B. Sumner*, *J. Immunology* **26**, 495 [1933]; *J. biol. Chemistry* **100**, 667 [1933].

²²) *L. Hektoen u. K. Schulhof*; siehe auch *F. Ottensoosser u. E. Strauß*, *Biochem. Z.* **193**, 42 [1928]; *K. Landsteiner*, loc. cit. ³); *G. Bruynoghe*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* **118**, 824 [1935].

²³) *C. A. Johnson u. W. B. Bradley*, *J. inf. dis.* **57**, 70 [1935].

²⁴) *L. Hektoen, Fox u. Schulhof*, ebenda **40**, 647 [1927]; ferner loc. cit. ¹⁹).

²⁵) *J. Bauer, Kernerwälder u. Schächter*, *Wien. klin. Wschr.* **1936**, 36; *R. Brandt u. H. Goldhammer*, *Z. Immunitätsforsch. exp. Therap.* **88**, 79 [1936].

²⁶) *G. Ramon*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* **108**, 613 [1931].

²⁷) *L. F. Hewitt* fand, daß durch Formaldehyd kein Verlust an freien Aminogruppen eintritt (*Biochemical J.* **24**, 983 [1930]).

²⁸) *D. Kassin u. L. Bronstein*, *Z. Immunitätsforsch. exp. Therap.* **66**, 210 [1930].

²⁹) *S. Schmidt*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* **108**, 146, 149, 151, 154 [1931]; *Z. Immunitätsforsch. exp. Therap.* **71**, 101 [1930]; **78**, 27, 323, 339 [1932].

¹⁴) *W. F. Goebel*, ebenda **64**, 29 [1936].

¹⁵) Vgl. die Zusammenfassung von *E. Berger*, *Klin. Wschr.* **14**, 1377 [1935].

¹⁶) *E. Berger*, *Chemiker-Ztg.* **60**, 786 [1936].

¹⁷) *The chemistry of Antigens and Antibodies*, London 1934.

¹⁸) *H. Eagle u. P. Vickers*, *J. biol. Chemistry* **114**, 193 [1936].

Die chemische Natur der Toxine ist weitgehend ungeklärt. Vielfach werden sie als Fermente bezeichnet, wozu vor allem die Hitzeempfindlichkeit und auch die Inaktivierung durch Oxydation (H_2O_2), durch Cu_2O und durch bestimmte Hg-Salze sowie die Reaktivierung durch Hydrosulfit, Cyankalium u. a. beigetragen haben³⁰⁾. Dieses an Papain und andere Fermente erinnernde Verhalten läßt vermuten, daß für die Toxizität auch SH-Gruppen verantwortlich sein können (Schwachmann l. c.).

Neben diesen die Proteinnatur hervorhebenden Untersuchungen gibt es andere, die auf ein kleines Molekül schließen lassen. Das (die Tetanuskrämpfe erzeugende) Tetanusspasmusin wurde (u. a. durch Adsorption und Elution) so weitgehend gereinigt³¹⁾, daß die Biuret-, Ninhydrin- und Millon-Reaktion nur noch ganz schwach waren und die Präparate bereits langsam dialysierten. — Meningokokkentoxin soll ebenfalls dialysieren und ebenso wie Scharlach- und Erysipeltoxin aus einem stabilen Kohlenhydrat und einer labilen stickstoffhaltigen Gruppe bestehen, welche letztere die Toxizität hervorbringen soll³²⁾. Für das Meningokokkentoxin wird ein $[\alpha]_D = -91^\circ$ und eine Summenformel $C_4H_4O_2N$ angegeben, für Scharlach- und Rotlaufotoxin soll Ähnliches gelten. Man wird indessen diese Angaben noch mit Vorsicht aufnehmen müssen. — Das gilt auch für eine Reihe anderer Untersuchungen, nach welchen die „Endotoxine“ von Coli-, Dysenterie- und anderen Bakterien Fettsäureester von Kohlenhydraten sein sollen. Der angegebene Fettsäuregehalt ist durchschnittlich 20%, die Glucosewerte (nach Hydrolyse mit Mineralsäure) liegen um 50%. Diese Zuckerfettsäureester dialysieren nicht und verhalten sich wie Vollantigene. Die durch Säuren oder Fermente abgespaltenen Kohlenhydrate besitzen keine immunisierenden Eigenschaften mehr, sind also Halbantigene oder Haptene und sind ungiftig. Danach wären manche Toxine zwar hochmolekular, aber stickstofffrei³³⁾. Doch muß die Reinheit und Einheitlichkeit der Präparate stark in Frage gestellt werden.

Möglicherweise lassen die Ergebnisse, die von F. Miceel und K. Kraft an Schlangengiften erhalten wurden, auch grundsätzliche Rückschlüsse auf die chemische Natur der Bakterientoxine zu³⁴⁾. An dem Neurotoxin der Kobra *Naja flava* wurde festgestellt, daß es sich bei schonender Isolierung gegenüber Ultrafiltern wie ein Albumin verhält. Nach Behandlung mit verdünnten Säuren können jedoch bis zu 85% die Membran passieren. Dabei scheint nicht das Toxin selbst, sondern sein kolloider Träger abgebaut zu werden; denn durch Zusatz von Albumin, Gelatine oder von Albumose kann eine Reaktivierung bis zu 100% erreicht werden, was wohl auf eine Adsorption zurückzuführen ist. Wir finden hier also die gleichen Vorstellungen, wie sie bei der Besprechung der Vollantigene mitgeteilt wurden: ein kolloider, mehr oder minder spezifischer Träger „adsorbiert“ eine niedriger molekulare aktive Gruppe und bildet damit eine chemisch und physiologisch neue Verbindung, nämlich das Toxin. Der dialysierbare Anteil hat ein Mol.-Gew. von 2500–4000 und enthält 45,2% C,

7,0% H, 14,7% N, 5,5% S und 3% (fest gebundene) Aschebestandteile. Zwischen pH 2–8 ist das Neurotoxin beständig. Bei pH 9–10 ist es reversibel oxydierbar. Möglicherweise enthält es eine Thiolactolgruppierung^{35, 36)}.

Als **Anaphylaktogene** bezeichnet man solche Stoffe, die anaphylaktischen Schock hervorrufen³⁷⁾. Im Grunde geschieht dies durch alle wahren Antigene, d. h., sie alle erzeugen beim Meerschweinchen schon durch einmalige Verabreichung Antikörper in solchem Ausmaß, daß bei einer späteren Injektion schwere Erscheinungen (Temperaturerhöhung u. a.) oder Tod eintreten. Auch Halbantigene können bei „sensibilisierten“ Tieren derartige Schocks auslösen, so daß dieser Tierversuch eine allgemeine Antigen-Antikörperreaktion darstellt (loc. cit. ³⁷⁾).

Die **Allergene**³⁷⁾, d. h. diejenigen Stoffe, die auf natürlichem Weg Überempfindlichkeit (Hautentzündungen, Idiosynkrasie, Heuschnupfen, Asthma bronchiale usw.) hervorrufen, können hier nur erwähnt werden, obwohl sie vom Standpunkt der Heilkunde überaus wichtig sind. Zu ihnen gehören alle möglichen chemischen Verbindungen, angefangen vom Polleneiweiß (als „Erreger“ des Heuschnupfens)³⁸⁾ über das Idiosynkrasin ($C_{14}H_{18}O_3$ oder $C_{14}H_{20}O_3$) (Karrer und Bloch) bis zu den Medikamenten (Hg-Verbindungen, Salvarsan, Antifebrin, Veronal, Chinin) und zum elementaren Jod (vgl. ³⁷⁾). Da es sich wohl in allen Fällen von Allergie um Antigen-Antikörperreaktionen im Organismus handelt, muß man bei den einfachen, an sich nicht antigenen Stoffen annehmen, daß sie sich mit körpereigenem Eiweiß zu neuen chemospezifischen Antigenen verbinden und auf diese Weise zur Bildung von Antikörpern Anlaß geben. Dafür hat man eine Reihe von experimentellen Anhaltspunkten³⁹⁾.

Von den **Bakterieninhaltsstoffen** sind die Proteine, wie bereits erwähnt, i. allg. artspezifisch und demgemäß für die serologische Unterscheidung der verschiedenen Bakterienarten (ob Coli-, Tuberkel- oder Dysenteriebazillen) maßgebend. Feinere biochemische Strukturen sind indessen auf **Polysaccharide** zurückzuführen. An den Pneumokokken hat man im Laufe der letzten 15 Jahre geradezu Grundlegendes für die Immunchemie erkannt (Avery, Dochez, Goebel, Heidelberger)⁴⁰⁾. Die Unterteilung der Pneumokokken in verschiedene Typen ist eine Folge verschiedenen chemischen Aufbaues der Kapselsubstanz, die vornehmlich durch polymere Kohlenhydrate dargestellt wird. Neben typenspezifischen Kohlenhydraten gibt es nur vereinzelt artspezifische und inaktive. Ab und zu findet allerdings ein serologisches Übergreifen auf andere Mikroorganismen oder höhere Pflanzen statt. In solchen Fällen liegen dann mehr oder minder übereinstimmende Zellsubstrate vor. Z. B. enthält Hefe, die sich serologisch als verwandt mit dem Pneumokokkentypus II erwiesen hat, ein chemisch ähnliches Kohlenhydrat⁴¹⁾. Die zoologische

³¹⁾ F. Miceel u. F. Jung, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **239**, 217 [1936].

³²⁾ D. Blumenthal, J. biol. Chemistry **113**, 433 [1936], weist ganz allgemein auf die Bedeutung von SH-Gruppen für die antigenen Fähigkeiten von Proteinen hin.

³³⁾ R. Doerr: Hdbch. d. norm. u. pathol. Physiol. Bd. XIII, 1929.

³⁴⁾ A. H. W. Caulfield, C. Cohen u. G. S. Eadie, J. Immunology **12**, 153 [1926]; W. T. Longcope, D. P. O'Brien u. W. A. Perlzweig, ebenda **11**, 253 [1925]; M. u. R. Bouilleune, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **104**, 131 [1930]; A. Stull, R. A. Cooke u. R. Chobot, J. biol. Chemistry **92**, 569 [1932].

³⁵⁾ K. Landsteiner u. J. Jacobs, J. exp. Medicine **61**, 643 [1935].

³⁶⁾ O. T. Avery u. M. Heidelberger, ebenda **38**, 73 [1923]; M. Heidelberger u. W. Goebel, J. biol. Chemistry **74**, 613, 619 [1927]; Avery u. Goebel, J. exp. Medicine **58**, 731 [1933]; W. Goebel, J. biol. Chemistry **110**, 391 [1935], Zusammenfassung loc. cit. ³⁾; ferner M. Heidelberger, Ann. Rev. Biochem. **1**, III, IV [1932, 1934, 1935].

⁴¹⁾ M. G. Savag, C. Cattaneo u. L. Maiweg, Liebigs Ann. Chem. **519**, 111 [1935]; F. Klopstock u. A. Veronella, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. **88**, 446 [1936]; dort ältere Lit.

³⁰⁾ Pneumokokken-hämolyisin: O. T. Avery u. Neill, J. exp. Medicine **44**, 199 [1926]; Schwachmann, Kellermann u. Cohen, J. biol. Chemistry **107**, 257 [1934]; Staphylokokkenlysin: J. Forssman, Biochem. Z. **265**, 291 [1933].

³¹⁾ K. Felix u. C. Engel, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. **71**, 41 [1930]; E. Maschmann, E. Küster u. W. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **64**, 2174 [1931]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **201**, 219 [1931].

³²⁾ W. A. Krestownikova u. E. M. Rjachina, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. **83**, 164 [1934].

³³⁾ A. Boivin, L. Mesrobian, G. u. A. Maghern, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **120**, 1276, 1279 [1935/36]; **121**, 172 [1936]; L. Mesrobian u. G. Calalb, ebenda **122**, 496 [1936]; Z. Paraschivesco, ebenda **121**, 175 [1936].

³⁴⁾ Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. 1935, S. 85.

und bakteriologische Unterteilung stimmt also nicht immer mit der immunbiologischen überein. Die immunologische Spezifität ihrerseits beruht auf Unterschieden in der chemischen Struktur.

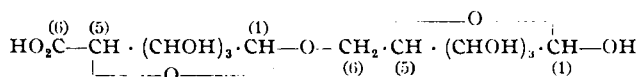
Torfbazillen enthalten spezifische, die Pneumokokkenpolysaccharide spaltende Fermente. Läßt man diese auf die Bakterien selbst einwirken, dann wird die die Kohlenhydrate enthaltende Kapsel so geschwächt, daß

Typen-spezifische Kohlenhydrate von Pneumokokken.

	$[\alpha]_D$	Äquiv.-Gew. (NaOH)	C %	H %	N %	NH ₂ /N %	P %	Acetyl %	„Glucose“ %	Art der Spaltprodukte (durch Mineralsäuren)
Typ 1 { a) + 297°		535	43,3	5,8	5,1	2,5	0	0	27,6	Galakturonsäure, N-haltig. Kohlenhydrat, Essigsäure
b) + 277°		576	42,6	6,7	4,9	2,2	0	6,0	32,0	
Typ 2 + 74°		1250	45,8	6,4	0	0	0	0	70	Glucose, Glucuron-, Aldobionsäure
Typ 3 - 33°		340	42,6	5,6	0	0	0	0	75	Glucose, Glucuron-, Aldobionsäure
Typ 4 + 30°		1550	—	—	5,5	0,1	0	5,8	71	N-haltiges Kohlenhydrat
Typ 8 + 125°		750	—	—	—	—	—	—	76	Glucose, Glucuron-, Aldobionsäure
Typ A - 100°		430	43,5	6,0	0	0	0	0	65	Glucose, Glucuron-, Aldobionsäure
Typ B + 100°		680	44,6	6,1	0	0	0	0	70	Glucose, Glucuron-, Aldobionsäure
Typ C + 100°		680	—	—	—	—	—	—	76	Glucose, Glucuron-, Aldobionsäure
Kohlenhydrat aus Hefe (Sacch. cerev.)										
+ 148°		—	44,8	6,7	0,35	0,27	0,27	9,4	100 (70)	Glucose, keine Galakturonsäure

Bei den beträchtlichen chemischen Unterschieden ist das andersartige serologische Verhalten der einzelnen Pneumokokken-Kohlenhydrate verständlich. Das unter Vermeidung von Alkali isolierte Polysaccharid des Typs 1 (1b) enthält Essigsäure und verhält sich wie ein Antigen: es schützt Mäuse, Kaninchen und Affen gegenüber der Infektion durch den Pneumokokkentyp 1 und gibt auch beim Menschen spezifische Antikörper⁴²⁾. Die meisten anderen Kohlenhydrate (auch die aus Hefe) sind indessen Haptene; sie bilden Antikörper erst in Verbindung mit Eiweiß oder nach Adsorption an Kollodium⁴³⁾.

Bei gelinder Hydrolyse erhält man aus den Polysacchariden Spaltprodukte von einem Mol.-Gew. von 500 bis 600, die noch mit den Antisera gegen das unversehrte Kohlenhydrat reagieren. Demnach ist die Spezifität schon in einfachen Atomgruppierungen (Oligosacchariden) ausgeprägt, die sich wohl in dem großen Molekül des öfteren wiederholen. Durch energische Hydrolyse entstehen Glucose und Uronsäuren (Glucuron- und Galakturonsäure) in verschiedenem, für die einzelnen Kohlenhydrate charakteristischem Verhältnis. Unter bestimmten Bedingungen kann man sog. Aldobionsäure fassen. Aus dem Kohlenhydrat des Typus 1 erhält man eine Galakturonoglucose, bei welcher das glucosidische OH der Galakturonsäure mit einem alkoholischen OH der Glucose reagiert hat. Die Aldobionsäure des Typus 3 und 8 (Glucuronoglucose bzw. Glucoseglucuronid) sind unter sich identisch und von der des Typus A verschieden. Der Unterschied zwischen dem Polysaccharid 3 und 8 besteht nur darin, daß das Verhältnis von Glucose zu Glucuronsäure anders ist, und zwar 7:2 gegen 1:1. Die Aldobionsäure des Typus 3 bzw. 8 ist im Prinzip folgendermaßen aufgebaut⁴⁴⁾:



Das oben beschriebene Phenyl-β-glucuronid-azoprotein zeigt eine gewisse serologische Verwandtschaft mit den Kohlenhydraten aus Typ 2, 3 und 8, die Glucuronsäure enthalten, nicht aber mit dem des Typus 1, welches Galakturonsäure enthält; es liegt also auch in dem einfachsten Baustein Glucuronsäure eine beträchtliche Spezifität vor.

⁴²⁾ O. T. Avery u. W. Goebel, loc. cit.; ferner T. Francis, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **31**, 493 [1933]; J. Zozaya u. J. Clark, ebenda **30**, 44 [1935]; R. Brown, ebenda **32**, 859 [1936].

⁴³⁾ Vgl. M. Heidelberger, loc. cit. ⁴⁰⁾; ferner J. Zozaya, J. exp. Medicine **55**, 325 [1932].

⁴⁴⁾ Neuerdings sind von Goebel (Chemiker-Ztg. **60**, 786 [1936]) synthetische Aldobionsäuren dargestellt worden, und zwar ein Glucose-6-β-glucuronid (Gentiobionsäure) und ein Galaktose-6-β-glucuronid.

die Pneumokokken den Abwehrstoffen des Körpers (Lysinen, Phagen) gegenüber keinen Widerstand mehr leisten können. Auf diese Weise konnten Mäuse und Affen — allein durch die Injektion des Ferments — gegen Infektion geschützt bzw. nach erfolgter Infektion geheilt werden⁴⁵⁾.

Die Pneumokokkenpolysaccharide sind am besten untersucht. Man hat in der Zwischenzeit aus anderen Bakterien ungefähr 100 weitere Kohlenhydrate von mehr oder minder großem Reinheitsgrad isoliert. Sie müssen hier übergangen werden⁴⁶⁾. Von Bakterieninhalts- bzw. -ausscheidungsstoffen sei nur noch das **Tuberkulin** erwähnt. Dieses Tuberkulin von R. Koch ist von anderen Antigenen bzw. Haptenen der Bazillen, von denen man 2 Proteine, 2 Kohlenhydrate und mindestens ein Phosphatid kennt⁴⁷⁾, zu unterscheiden. Die Frage nach der chemischen Natur des Tuberkulins ist sehr häufig angeschnitten worden. Teils wurde es als hochmolekular⁴⁸⁾, wasserlöslich, teils als lipoidlöslich⁴⁹⁾, teils als niedermolekular und dialysabel⁵⁰⁾ angesehen. Nach dem heutigen Stand gilt folgendes⁵¹⁾: Wird bei der Darstellung des Tuberkulins höhere Temperatur vermieden, dann erhält man ein Vollantigen mit Proteinatur, d. h. dieses Tuberkulin erzeugt in normalen Tieren ebensolche Antikörper, wie man sie nach einer Infektion vorfindet. Das hochmolekulare Tuberkulin gibt auch die charakteristischen Hauterscheinungen beim sensibilisierten Tier. Geschieht die Darstellung des Tuberkulins aber unter Erhitzen, dann ergibt sich ein niedrigmolekulares Präparat, das wohl die Hauterscheinungen gibt, aber zur Antikörperbildung unfähig ist. Die Hauterscheinungen zeigen Tuberkulinpräparate von einem Mol.-Gew. von 25000 bis 2000. Auf N bezogen hat das kleinste Molekül die gleiche Wirksamkeit wie das größte (!). Die Spezifität wird also bereits durch das Hapten bestimmt. Der Beweis für diese Auffassung wurde dadurch erbracht, daß man das niedrigmolekulare Tuberkulin durch Adsorption an Aluminiumhydroxyd zum Vollantigen aufbauen konnte. Es besteht kein Zweifel darüber,

⁴⁵⁾ Vgl. O. T. Avery, Naturwiss. **21**, 777 [1933]; ferner loc. cit. ⁴⁰⁾. R. Dubos, J. exp. Medicine **62**, 259, 271 [1935].

⁴⁶⁾ Siehe die Zusammenfassung von E. Mikulaszek, Weich, Arch. Hyg., Bakteriologie, **17**, 415 [1935].

⁴⁷⁾ Pinner, Amer. Rev. Tubercul. **18**, 497 [1928]; Doan, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **26**, 672 [1928]; Kaj Pedersen-Bjergard, Z. Immunitätsforsch., exp. Therap. **82**, 258 [1933]; M. Heidelberger u. A. E. Menzel, J. biol. Chemistry **104**, 655 [1934]; E. Chargoff u. W. Schaefer, ebenda **112**, 393 [1935].

⁴⁸⁾ Vgl. Pick u. Silberstein, loc. cit. ¹⁾.

⁴⁹⁾ A. Boquet u. G. Sandor, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **116**, 938 [1934].

⁵⁰⁾ E. Maschmann u. E. Küster, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **193**, 215 [1930].

⁵¹⁾ A. Boquet u. G. Sandor, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **114**, 434 [1934]; F. B. Seibert, J. Immunology **28**, 425 [1935]; P. Kallós u. C. Zobóli, Acta med. scand. **83**, 197 [1935].

daß diese Fortschritte in der Aufklärung des Tuberkulins, die viele ältere widersprechende Angaben verständlich machen, nur auf Grund der allgemeinen Erkenntnisse von der Natur der Vollantigene möglich waren.

Der niedermolekulare Anteil — auch β -Tuberkulin genannt —, der z. B. für Kongofarbstoff durchlässige Filter passiert, soll Polypeptid- bzw. Proteosenatur besitzen⁵²). Damit ist der Befund der Ätherlöslichkeit⁴¹), sofern diese nicht vorgetäuscht ist, allerdings unvereinbar. Als Zusammensetzung wird angegeben: C 44,5, H 7,5, N 9,85, P 1,44, S = 0%. Der Tryptophangehalt soll der Stärke der Hautwirkung parallel gehen.

Von den beiden spezifischen **Blutgruppensubstanzen** A und B, die die chemische Ursache für die Einteilung in die 4 menschlichen Hauptblutgruppen A, B, AB und O sind, ist die Substanz A am besten untersucht. Dieses Gruppenmerkmal liegt in verschiedenen immunbiologischen Stufen vor: die Blutkörperchen sind Vollantigene, d. h. man kann mit ihrer Hilfe bei Tieren spezifische Antisera erzeugen. Alkoholische Extrakte hingegen sind Haptene. Im Harn findet sich — angeblich neben einem A-Vollantigen⁵³) — eine wasserlösliche Form, die ebenfalls als unvollständiges Antigen anzusprechen ist⁵⁴). Die daraus isolierte Substanz stellt ein stickstoffhaltiges Polysaccharid dar⁵⁵). Die reinsten Präparate wurden aus Pferdespeichel, Pepsin und anderem tierischen Material gewonnen.

		Blutgruppensubstanz A.								
Ausgangsmaterial	$[\alpha]_D$	C %	H %	N %	NH ₂ /N %	N-Acetyl %	„Glucose“ %	Andere Bestandteile %		
Harn	+ 5°	43,0	6,25	5,3	0,55	9,5	45	Spuren S u. P	} 55)	
„Tierische Organe“	+ 25°	37,6	7,3	5,8	—	6,5	—	S = 0		
Pferdespeichel	+ 11°	44,6	6,9	7,1	—	9,5	58	S = 1,78; P = 0,23	} 56)	
Pepsin	+ 16°	46,9	6,6	6,2	—	9,95	70,7	S = 0,08; P = 0,1		

Die Unterschiede in der Zusammensetzung sind noch ungeklärt. Dabei ist zu beachten, daß die Wirksamkeit der Präparate aus Speichel, Pepsin und „tierischen Organen“ praktisch gleich ist. Die reinsten Präparate enthalten keine Uronsäuren, hingegen in allen Fällen beträchtliche Mengen von Galaktose. Während die Urin-A-Substanz Aminohexose enthält, fehlt diese in dem anderen Präparat von *Freudenbergy*. *Landsteiner* hingegen gibt bei der Pepsin-A-Substanz bis zu 27% Aminoglucose an.

Die A-Substanz aus Urin wird durch Speichel⁵⁷) oder Schneckenferment gespalten, nicht aber durch Diastase und Amylase⁵⁵). Auch Polysaccharid-spaltende Enzyme aus Bakterien zerstören sie⁵⁸). Gegen chemische Angriffe durch H₂O₂ oder Jod ist sie beständig, nicht aber gegen Alkali. Hierbei wird die Acetylgruppe abgespalten, und es ergibt sich ein serologisch inaktives Präparat. Durch nachträgliche Acetylierung kann die Wirksamkeit wiederhergestellt werden⁵⁵).

Die sog. **Lipoidhaptene** sind Substanzen, deren Spezifität i. allg. über die Grenzen der Tierarten hinausgeht.

⁵²) P. Kallós u. G. Hoffmann, Biochem. Z. **266**, 132 [1933]; A. Boquet u. G. Sandor, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **121**, 99 [1936].

⁵³) E. Jorpes u. G. Norlin, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. **81**, 152 [1933].

⁵⁴) F. Schiff, Über die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers, Jena 1931.

⁵⁵) K. Freudenberg u. H. Eichel, Liebigs Ann. Chem. **510**, 240 [1934]; **518**, 97 [1935]; K. Freudenberg, O. Westphal u. Ph. Groenewoud, Naturwiss. **24**, 522 [1936].

⁵⁶) K. Landsteiner u. M. W. Chase, J. exp. Medicine **68**, 185, 813 [1936].

⁵⁷) Fr. Schiff u. Akune, Münch. med. Wschr. **1931**, 657; Klin. Wschr. **14**, 750 [1935]; O. Sievers, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. **86**, 130 [1935].

In ihrem natürlichen Verband mit Eiweiß sind sie Vollantigene. Durch Alkohol werden diese gespalten und die Haptene in organisch-löslichem Zustand erhalten⁵⁸). Ob sie aber wirklich Lipide sind, ist sehr fraglich; denn sie werden mit zunehmendem Reinheitsgrad mehr und mehr wasserlöslich⁵⁹).

Das *Forssmansche* heterogenetische Hapten ist frei von Phosphor und Schwefel, enthält (im jetzigen Reinheitsgrad) noch Stickstoff. Es ist möglicherweise ein Kohlenhydrat, dessen Löslichkeit in Alkohol oder Chloroform nur vorgetäuscht ist⁶⁰). Vielleicht handelt es sich aber auch um einen Ester einer höheren Fettsäure mit einem Kohlenhydrat. Durch Säuren wird es unter Entstehung reduzierender Zucker zerstört.

Hirn und Nerven enthalten Antigene von organspezifischem Gepräge, d. h. die Spezifität gilt für das Organ ohne Unterschied der Tierart⁶¹). Chemisch einigermaßen charakterisiert sind das in kaltem Alkohol lösliche Hirn- oder Neurohapten und das sog. Protagonehapten⁶²), das sich in der Protagonefraktion findet und im Gegensatz zu dem ersteren nur in heißem Alkohol löslich ist. Das Hirnhapten verhält sich zunächst wie ein echtes Lipoid, wird aber mit fortschreitender Reinigung immer wasserlöslicher. Es ist phosphor- und schwefelfrei, enthält in dem vorliegenden Reinheitsgrad noch Stickstoff, Fettsäuren und Zucker in gebundener Form. Es gehört weder zu den Sterinen noch zu den Phosphatiden, Cerebrosiden,

Fetten oder zu kreatininähnlichen Körpern. Durch Säuren wird es leicht zerstört, durch Lauge nur langsam⁶³).

Zu den Lipoidhaptenen im engeren Sinne gehört noch das sog. Syphilishapten, mit dessen Hilfe der Nachweis der syphilitischen Blutveränderung geschieht und das man in guter Ausbeute durch alkoholische Extraktion von Rinderherz erhält. Es ist im Tierreich weit verbreitet⁶⁴). Die Entstehung von Antikörpern gegen dieses überall vorkommende Hapten kann man sich so vorstellen, daß die eingedrungenen Spirochäten es irgendwie mobilisieren und zum Vollantigen ergänzen (*H. Sachs* loc. cit.¹). Das Syphilishapten enthält in dem bisher erreichten Reinheitszustand Stickstoff, wenig Phosphor, Fettsäuren und Spuren von gebundenem Zucker. Es ist sowohl gegen Säuren als auch gegen Laugen empfindlich⁶⁵).

Die drei genannten Lipoidhaptene lassen sich durch ihr Verhalten gegen Adsorbentien unterscheiden und präparativ trennen⁶³). Sie diffundieren (in organischen Solvenzien) durch Pergament⁶⁶).

Mit Lipoiden bekannter Natur lassen sich nach Vernischen mit einem artfremden Serum vielfach spezi-

⁵⁸) O. Fischer u. O. D. Günsberger behaupten neuerdings, das gereinigte *Forssman*-Antigen sei ein Vollantigen, trotz seiner Löslichkeit in Chloroform, ebenda **87**, 400 [1936].

⁵⁹) P. Levene u. K. Landsteiner, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **28**, 343; **24**, 693 [1926/27]; H. Rudy, Kolloid-Z. **65**, 356 [1933].

⁶⁰) K. Landsteiner u. Ph. Levine, J. Immunology **28**, 75 [1932].

⁶¹) Siehe die Zusammenfassung von F. Plaut, Z. ges. Neur. u. Psych. **128**, 365 [1930]; Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. **81**, 46 [1933].

⁶²) O. Schwab, ebenda **87**, 426 [1936].

⁶³) H. Rudy, Biochem. Z. **248**, 426; **258**, 204; **267**, 77 [1932/33].

⁶⁴) H. Sachs u. Mitarb. loc. cit.¹).

⁶⁵) O. Fischer, A. J. Weil, A. Wadsworth u. Mitarb., E. Balbi, H. Rudy, Zusammenfassung loc. cit.⁶³).

⁶⁶) O. Fischer u. J. Steinert, Klin. Wschr. **18**, 337 [1934].

fische Antisera gewinnen. Diese „komplexen Antigene“ stellen das Gegenstück zu den oben genannten „künstlichen“ dar, bei welchen die die Spezifität bestimmende Gruppe durch Hauptvalenzen an das Protein gebunden ist. Während bei diesen Hauptvalenzverbindungen das Protein seine ursprüngliche Spezifität verliert, entstehen bei der Immunisierung mit einem Gemisch eines Lipoidhaptens mit dem Eiweiß, bei dem es sich wohl um eine Adsorptionsverbindung handelt, jeweils zwei Arten von Antikörpern: solche gegen das Hapten und solche gegen das Protein (R. Doerr; H. Sachs, loc. cit.¹⁾). Hier hat das Eiweiß eine wahre Träger- oder Schlepperfunktion.

Aus Milz wurde ein Poly-diamino-phosphatid von Haptencharakter isoliert⁶⁷⁾. Einfache natürliche Cerebroside, Lecithine und Kephale sind indessen keine Haptene⁶⁸⁾. Dagegen lassen sich gegen Sterine ganz allgemein regelmäßig Antikörper erzeugen⁶⁹⁾. Die Spezifität ist indessen nicht ganz scharf ausgeprägt. Wohl reagieren nur Sterine mit Sterinantisera, aber innerhalb der Gruppe findet ab und zu ein Übergreifen statt. Cholesterin und Dihydrocholesterin, Ergosterin und Sitosterin sind z. B. serologisch ähnlich⁷⁰⁾. Schärfster ist die Unterscheidung zwischen Ergosterin und Vitamin D₂. — Bei diesen größeren „prothetischen“ Molekeln macht sich anscheinend bereits das gesamte elektrische Feld, das in gewissem Sinne ähnlich ist, als ein gleichmachender Faktor bemerkbar: es tritt eine gewisse Verwaschung ein. Wichtig für den Haptencharakter ist bei allen Sterinen die freie OH-Gruppe; denn mit Estern kann man nicht immunisieren und erhält auch im Reagensglas keine Reaktionen.

2. Antikörper.

Die serologischen Reaktionen können hier nur kurz gestreift werden, trotzdem sie natürlich die Grundlagen der Immunchemie bilden⁷¹⁾. Die älteste Reaktion ist wohl die Agglutination (Verklumpung), die dann eintritt, wenn ein Antiserum auf zellgebundenes Antigen einwirkt: die einzelnen Zellen (Erythrocyten oder Bakterien) ballen sich zu makroskopischen oder mikroskopischen Aggregaten zusammen. Liegt das Antigen (oder Hapten) in Lösung vor, dann erfolgt auf Zugabe des entsprechenden Antisera eine Präzipitation oder Flockung. Unter besonderen Bedingungen, nämlich dann, wenn noch Ergänzungstoffe (Komplement) vorhanden sind, kann eine spezifische Antigen-Antikörperreaktion sich auch als Zellauflösung (z. B. Hämolyse) äußern. Darauf gründet sich eine der wichtigsten serologischen Reaktionen, die sog. Komplementbindungsreaktion. Da nämlich bei jeder Antigen-Antikörperreaktion vorhandenes Komplement gebunden wird und das System Erythrocyten + hämolytischer Antikörper einen Indicator auf freies Komplement darstellt, ist dieser Hämolyseversuch dazu geeignet, beliebige Antigen-Antikörperreaktionen nachzuweisen. — Die Antitoxine zeigen neben ihren die Toxizität unterbindenden Eigenschaften auch die üblichen serologischen Reaktionen. — Der anaphylaktische Schock (vgl. oben) ist eine sehr wichtige Antigen-Antikörperreaktion in vivo. Schließlich sei noch als gut ausgearbeitete Methode die Abwehrfermentreaktion (E. Abderhalden) genannt⁷¹⁾.

⁶⁷⁾ C. Tropp u. A. Baserga, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 88, 234 [1934].

⁶⁸⁾ K. Landsteiner u. J. van der Scheer; F. Plaut u. H. Rudy; A. Wadsworth, E. u. F. Maltauer; loc. cit.⁵⁹⁾.

⁶⁹⁾ H. Sachs u. A. Klopstock, Biochem. Z. 159, 491 [1925]; F. Hahn u. Hasato, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 88, 16 [1936]; F. Plaut u. H. Kassowitz, ebenda 66, 152 [1930]; A. J. Weil u. F. Besser, Biochem. Z. 255, 429 [1932].

⁷⁰⁾ E. Berger u. H. Scholer, ebenda 262, 196; 264, 113 [1933].

⁷¹⁾ Vgl. ¹⁾ u. ²⁾, ferner Lehrbücher.

Chemie der Antikörper. Die Vielzahl der immunologischen Reaktionen hat begreiflicherweise zu der Auffassung geführt, daß eine ebenso große Anzahl verschiedener Antikörper vorhanden sein müsse. Gestützt wurde dies bis in die jüngste Zeit hinein besonders dadurch, daß der „Titer“ eines Antisera bei verschiedenen Reaktionen ganz verschieden sein kann, d. h., daß sich z. B. die Cytolyse bis zu einer Serumverdünnung von 1:10000, die Präzipitation jedoch nur bis zu einer Verdünnung von 1:500 nachweisen läßt. Solche Effekte sind jedoch auf sekundäre Faktoren (Kolloidlabilität, Salzgehalt u. dgl.) zurückzuführen. Zinsser⁷²⁾ hat demgemäß seit längerer Zeit die unitarische Auffassung vertreten, nach welcher alle Äußerungen einem einzigen Antikörper zuzuschreiben sind, vorausgesetzt, daß nur ein Antigen angewandt wurde. Felton⁷³⁾ hat seine ebenfalls schon länger begonnenen Arbeiten in dieser Richtung weiter ausgebaut und neuerdings an 39 Pneumokokken-Polysaccharid-Immunsera nachgewiesen, daß der Schutztiter bei der Maus dem Gehalt an „Agglutininen“, „Präzipitinen“ und an neutralisierenden Antikörpern streng parallel geht. Zu dem gleichen Ergebnis kommen auch andere Forscher⁷⁴⁾, z. T. unter Verwendung hoch gereinigter Antikörper⁷⁵⁾. Ein davon unabhängiger Weg besteht in der Messung der kataphoretischen Wanderungsgeschwindigkeit. Girard⁷⁶⁾ hat gefunden, daß die „Agglutinine“ und „Hämolsine“ gleich schnell wandern und denselben isoelektrischen Punkt haben, somit identisch sind.

Die stoffliche Natur und Selbständigkeit der Antikörper wurde lange Zeit abgelehnt. Vielfach glaubte man an rein kolloidchemische Veränderungen oder man hatte die Vorstellung, daß das Antigen nach der Injektion einfach die normalen Serumproteine mechanisch umhülle, und daß dieses Gebilde den Antikörper darstelle. Noch 1930 glaubte man, Antitoxine seien Toxinderivate⁷⁷⁾. In Wirklichkeit wird aber das Antigen weder chemisch noch physikalisch als solches „eingebaut“. Zu dieser Erkenntnis verhalfen in vorzüglicher Weise die künstlichen Antigene, die man leicht chemisch nachweisen konnte. R. Doerr⁷⁸⁾ hat zuerst mit Sicherheit erkannt, daß das Antigen weder als solches noch teilweise (mit der spezifitätsbestimmenden Gruppe) in den Antikörper eintritt; denn Antisera gegen Atoxyl-azoprotein (mit der substituierten Arsensäure als spezifischer Atomanordnung) sind arsenfrei. Auch mit verfeinerter Analysenmethode konnte in späteren ähnlichen Versuchen kein Arsen im Antiserum gefunden werden (außer der Normalmenge)⁷⁹⁾. Durch Verwendung eines gefärbten Antigens wäre der Nachweis im Antikörper noch leichter zu führen. Auch diese Versuche konnten eine unmittelbare Abhängigkeit der Antikörper vom Antigen nicht nachweisen⁸⁰⁾. Hierbei wurde außerdem festgestellt, daß aus 1 Teil Antigen mehr als 200 Teile Antikörper entstehen (Analyse des Präzipitats) oder — unter Berücksichtigung der Molegewichte — daß 1 Mol Antigen mehr als 70 Mol Antikörper erzeugt (wobei diese Zahlen nicht endgültig sind). Eine andere ebenso interessante Rechnung zeigt⁸¹⁾,

⁷²⁾ H. Zinsser: Resistance to Infectious Diseases, New York 1931.

⁷³⁾ L. D. Felton, J. Immunology 11, 197 [1924]; 21, 341 [1930].

⁷⁴⁾ K. G. Falk, G. McGuire, E. Valentine u. E. Whitney, J. Immunology 21, 199, 221 [1930]; A. B. Sabin, J. exp. Medicine 57, 159 [1932].

⁷⁵⁾ M. Heidelberger u. E. A. Kabat, ebenda 63, 737 [1936].

⁷⁶⁾ P. Girard u. M. Lourau, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 116, 1010 [1934].

⁷⁷⁾ G. Ramon, ebenda 102, 381 [1930].

⁷⁸⁾ R. Doerr u. Friedeli, cit. nach K. Landsteiner ²⁾, S. 70.

⁷⁹⁾ E. Berger u. H. Erlenmeyer, Z. Hyg. Infekt.-Krankh. 113, 79 [1931].

⁸⁰⁾ M. Heidelberger u. F. E. Kendall, Science, New York 72, 253 [1930]; J. exp. Medicine 58, 137 [1933] u. loc. cit.⁴⁰⁾.

⁸¹⁾ S. B. Hooker u. W. C. Boyd, J. Immunology 28, 465 [1932].

daß 1 Mol Pneumokokken-antigen eine Agglutininmenge erzeugt, die für 600 Bakterien ausreicht, was natürlich unmöglich wäre, wenn das Antigen unmittelbar in einen Antikörper umgewandelt würde.

Die Reindarstellung von Antikörpern ging grundsätzlich zwei Wege: einen unspezifischen, der auf der Anwendung von Fällungs-, Aussalz-, Adsorptions- und Elutionsmethoden und Elektrophorese beruht, und einen spezifischen, der darin besteht, daß man die Antikörper zuerst mit dem spezifischen Antigen niederschlägt und dann das Präzipitat zerlegt (unter Abtrennung des Antigens). Der 2. Weg ist der bessere. Auf der spezifischen Bindung der Antikörper an das homologe Antigen beruht auch die Möglichkeit, aus einem Serum, das mehrere Arten von Antikörpern enthält, jeweils die erwünschten zu entfernen⁸²). Diese „spezifische Adsorption“ ist in der Serologie eine weitverbreitete Methode geworden und geht schon auf Versuche von *Ehrlich* zurück. Eine Kombination von unspezifischer und spezifischer Adsorption sei noch erwähnt: man kann zunächst das Antigen an ein Adsorbens (Kaolin) binden und mit diesem Adsorbat dann Antikörper adsorbieren⁸³).

Was nun die chemische Natur der Antikörper angeht, so hielt man sie vielfach für Nichtproteine, weil man in einigen Fällen glaubte, sie eiweißfrei isoliert zu haben⁸⁴). Die Tatsache, daß sie fast immer in der Globulinfraktion angetroffen werden, sprach natürlich weder für noch gegen die Eiweißnatur. Versuche zur Spaltung durch proteolytische Fermente, die des öfteren negativ ausgefallen waren und scheinbar gegen die Eiweißnatursprachen, konnten widerlegt werden (*F. Breinl* u. *F. Haurowitz*)⁸⁵), so daß schon darin gewisse Anhaltspunkte dafür vorlagen, daß die Antikörper Proteinnatur besitzen. Gestützt wird dies weiter durch die Tatsache, daß Eiweißgehalt und Antitoxinwirkung parallel gehen⁸⁶), und daß die Stärke der Eiweißdenaturierung mit der Abnahme des Agglutinitäts übereinstimmt⁸⁷). Der stärkste Beweis konnte mit Hilfe der Pneumokokken-polysaccharide geführt werden; denn, da man in diesem Falle mit einheitlichen, reinen (und z. T. stickstofffreien) Antigenen arbeiten konnte, waren schon allein auf Grund der chemischen Analyse der spezifischen Präzipitate weitgehende Schlußfolgerungen möglich⁸⁸). Dies um so mehr, als gezeigt werden konnte, daß die Fällungen nicht unspezifisch sind und daß die abgetrennten stickstoffhaltigen Bestandteile des Präzipitats immer wieder vollständig spezifisch fällbar sind⁸⁹). Auf dieser Tatsache fußt auch die quantitative Bestimmung von Antikörpern.

Für den Nachweis der Proteinnatur der Antikörper sind noch die folgenden Versuche wichtig. Durch Einwirkung von Jod, Formaldehyd und besonders von Diazoniumsalzen verlieren die Antikörper ihre Spezifität⁹⁰).

Wie wir aus der Chemie der Antigene wissen, gilt dies auch für die Proteine. Insbes. die Kupplung der Diazoniumsalze unter Verlust der Antikörperwirkung ist ein starker Anhaltspunkt für die Eiweißnatur. Dabei verschwindet die Aktivität bei verschiedenen Sera verschieden schnell, und zwar in der folgenden Reihenfolge: Menschliches Syphilisserum (fast momentan) → Kaninchen-Eieralbumin-Antiserum → Typhusagglutinine (langsam)⁹¹). Daß freie Aminogruppen für die Wirksamkeit von Antikörpern sehr wichtig sind, zeigen diejenigen Versuche, bei denen mit Keten acetyliert wurde, das in wäßrigem Medium nur mit NH_2 -Gruppen reagiert; dabei verschwand die Antikörperwirkung ebenso wie mit Formaldehyd⁹²). HNO_2 soll trotz Desamidierung indessen keinen Einfluß auf hämolytische Antikörper haben⁹³).

Die Antikörper finden sich meist in der Globulinfraktion, ohne daß dies allerdings streng gilt, da die Fällbarkeit sehr von der Gesamtzusammensetzung des Serums abhängig ist (vgl. ¹⁷). Antikörper gegen das ubiquitäre Syphilislipid fallen mit Salzsäure meist in der Globulinfraktion aus, während die heterogenetischen Antikörper (Hämolysine) anscheinend immer regelmäßig in der Albuminfraktion bleiben, so daß auf diese Weise eine Trennung von verschiedenen Antikörpern möglich erscheint⁹⁴). Demnach gäbe es auch Antikörper von Albuminnatur, vorausgesetzt, daß kein Sekundäreffekt vorliegt.

Nachdem so mit großer Sicherheit erwiesen ist, daß die Antikörper Proteine sind, erhebt sich die weitere Frage nach ihrer engeren Klassifizierung. Aus der Unmöglichkeit, sie von den Globulinen präparativ zu trennen, darf man schon auf ihre Globulinnatur schließen. Die vorliegenden rein chemischen Daten lassen noch keinen eindeutigen Schluß zu; denn einerseits wurde gefunden⁹⁵), daß die Immunglobuline basischer sind als die normalen, andererseits aber wurden beide als gleich stark basisch festgestellt (loc. cit. ⁹²). Diphtherieantitoxin soll von Normalglobulin hinwiederum verschieden sein⁹⁶). Für die Selbständigkeit der Immunglobuline spricht die Tatsache, daß sie langsamer elektrophoretisch wandern als die normalen (loc. cit. ⁷⁹). Neue Messungen an der Ultrazentrifuge⁹⁷) ergaben, daß durch verschieden starke Denaturierung bei der Aufarbeitung Unterschiede vorgetäuscht werden können. In einem Pferde-antipneumokokkenserum wurde gefunden, daß die spezifisch präzipitierbaren Antikörper eine Sedimentationskonstante $\sigma_{20} = 17 \cdot 10^{-13}$ besitzen (isoelektrischer Punkt bei p_H 4,8). Normalglobuline haben ein σ_{20} von $7 \cdot 10^{-13}$, mit einem geringen Anteil von einem $\sigma_{20} = 17 \cdot 10^{-13}$. In einem Kaninchen-Pneumokokken- und -Eieralbumin-Antiserum wurden nur Globuline mit $\sigma_{20} = 7 \cdot 10^{-13}$ aufgefunden (isoelektrischer Punkt bei p_H 6,6). Die Frage, ob im Antikörper normales Globulin vorliegt oder nicht, ist also noch nicht endgültig entschieden, obwohl vieles für die Selbständigkeit spricht⁹⁷).

Chemie des Komplements. Als Komplement wird ein verhältnismäßig labiles System von Serumbestandteilen bezeichnet, das zur spezifischen Auflösung von Zellen (Cytolyse) durch die entsprechenden Antikörper unentbehrlich ist. Es gehört zu seinen Eigenheiten, daß

⁸²) Vgl. *H. Sachs* ¹); ferner *L. Hektoen* u. *E. Delves*, J. inf. dis. 50, 237 [1931].

⁸³) *D'Alessandro*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 84, 237 [1935]; *K. Meyer* u. *A. Pic*, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 120, 772 [1935].

⁸⁴) *M. Fränkel* u. *L. Olitzki*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 75, 43 [1932]; *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 28, 49 [1932].

⁸⁵) *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 192, 45 [1930]; Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 77, 176 [1932]; *L. D. Felton*, J. Immunology 22, 453 [1932]; 27, 379 [1934]; *J. St. Kirk* u. *J. B. Sumner*, ebenda 29, 41 [1935].

⁸⁶) *M. Barr*, *A. T. Glenny* u. *C. G. Pope*, Brit. J. exp. Pathol. 12, 217 337 [1931].

⁸⁷) *L. A. Silber* u. *M. Demidowa*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 77, 504 [1932].

⁸⁸) *L. D. Felton*, loc. cit. ⁷⁹).

⁸⁹) *M. Heidelberger* u. *F. E. Kendall*, J. exp. Medicine 61, 559 [1934/35].

⁹⁰) *J. Bronfenbrenner*, *D. M. Heller* u. *J. O. Eagle*, Science, New York 73, 455 [1931]; *F. Breinl* u. *F. Haurowitz*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 77, 176 [1932].

⁹¹) *H. Eagle*, *D. F. Smith* u. *P. Vickers*, J. exp. Medicine 68, 617 [1936].

⁹²) *B. F. Chow* u. *W. F. Goebel*, ebenda 62, 179 [1935].

⁹³) *H. v. Euler* u. *E. Brunius*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 72, 65 [1931].

⁹⁴) *G. E. Selter*, vgl. *H. Sachs*, loc. cit. ¹); *A. Lewin*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 87, 289 [1935].

⁹⁵) *L. D. Felton* u. *G. Kauffmann*, J. Immunology 25, 165 [1933].

⁹⁶) *G. Ramon*, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 116, 917 [1934].

⁹⁷) *M. Heidelberger*, *K. O. Pedersen* u. *A. Tiselius*, Nature 138, 165 [1936]; s. a. *J. Biseve*, *F. Hercik* u. *R. W. G. Rykoff*, Science, New York 83, 603 [1936].

es (zum mindesten teilweise) bei jeder beliebigen Antigen-Antikörperreaktion (wohl adsorptiv) „gebunden“ wird. — Komplement findet sich in jedem nativen Blutserum, allerdings in stark wechselnder Menge. Beim Altern, durch Erwärmen auf 56° und beim Belichten wird es rasch zerstört. Man hat Grund zu der Annahme, daß es nur ein Komplement gibt⁹⁸⁾.

Die ersten Versuche, die zu einer Unterteilung des Komplements führten, liegen schon längere Zeit zurück⁹⁸⁾. Es wurde festgestellt, daß der eine Teil, das sog. „Mittelstück“, entweder ein Globulin oder eng damit vergesellschaftet ist; denn es läßt sich durch Dialyse oder durch verd. Salzsäure oder Kohlensäure ausfällen (*Ferrata, H. Sachs u. Altmann, Liefmann*)⁹⁹⁾. Als „Endstück“ bezeichnet man den auf diese Weise in der Albuminserumfraktion bleibenden Anteil. Das Mittelstück (Globulinanteil) ist wesentlich temperaturempfindlicher als das Endstück in der Albuminfraktion, was mit den allgemeinen Eigenschaften der beiden Proteinarten übereinstimmt. In neuerer Zeit wurde aus den durch Säure fällbaren Serumanteilen ein „Protein C“ gewonnen, das bei mäßiger Wärme ausfällt, sich in der Kälte aber wieder löst und vielleicht mit dem Mittelstück identisch ist⁹⁹⁾.

Neben diesen beiden thermolabilen Bestandteilen gibt es noch mindestens zwei thermostabile, die sich durch ihre verschiedene Resistenz gegenüber chemischen Eingriffen unterscheiden lassen. Die „3. Komponente“ wird durch Kobragift, Formaldehyd oder Natriumhydrosulfid zerstört und an Hefe oder Filtrierpapier adsorbiert¹⁰⁰⁾. Die „4. Komponente“ wird durch Ammoniak inaktiviert¹⁰¹⁾. Die 3. Komponente fällt ziemlich regelmäßig mit den Globulinen aus, die 4. bleibt dabei in der Albuminfraktion. Durch Kollidengifte verschwindet die 3., durch Viperidengift die 4. Komponente. Diese wird zusammen mit dem Mittelstück bei Antigen-Antikörperreaktionen besonders stark adsorbiert¹⁰²⁾ und läßt sich mit Äther und Chloroform ausschütteln. Durch Zugabe des Extraktückstandes wird wieder volle Komplementwirkung erreicht¹⁰³⁾. Damit dürfte die stoffliche Natur dieser 4. Komponente bewiesen sein. *H. Sachs* (loc. cit. ⁹⁸⁾) bezweifelt, daß alle 4 Komponenten stoffliche Existenz besitzen. Nach *Girard*¹⁰⁴⁾ wandert „Komplement“ (bzw. auf Französisch „alexine“) bei p_H 8 schneller zur Anode als Hämolyse und Agglutinine und ungefähr so rasch wie Globuline. Gemeint ist damit wohl das Mittelstück, womit dessen Zugehörigkeit zu den Globulinen weiter gestützt wird.

Auf die viel erörterten Zusammenhänge von Komplement und (Pro-) Thrombin sei nur verwiesen¹⁰⁵⁾.

B. Immunreaktionen.

Die Bedeutung der serologischen Methoden in diagnostischer Hinsicht hat es mit sich gebracht, daß die Zahl der Einzelbeobachtungen und der Variationen in der Technik fast unermesslich groß ist¹⁰⁶⁾. Für unsere Betrachtungen

über das Wesen der Immunreaktionen kommen allerdings nur wenige in Betracht. Es leuchtet besonders ein, daß in diesem Rahmen von den Vorgängen bei Antigen-Antikörperreaktionen im Organismus abgesehen werden muß; denn sie sind zu verwickelt und außerdem wenig geklärt. Daher beschränken wir uns auf die Reagensglasmethoden.

Die ursprüngliche Auffassung von *P. Ehrlich*, daß rein chemische Ursachen im Vordergrund stehen, die von *L. Arrhenius* und *T. Madsen* mit den klassischen Gesetzen der Chemie zu erklären versucht wurde, und die Annahme von *G. Bordet*, daß die Immunreaktionen reine Adsorptionsvorgänge seien, werden auch heute noch eifrig verfochten. Dazu gesellen sich indessen Bestrebungen, einen vermittelnden Standpunkt einzunehmen. Wenn den neueren Versuchen mehr Beweiskraft zukommt als den weiter zurückliegenden, so liegt dies daran, daß man heute mit reinen Antigenen und weitgehend gereinigten Antikörpern arbeiten und damit eine Reihe von Fehlerquellen ausschalten kann, während man früher hauptsächlich auf die unreinen Toxine angewiesen war.

Die Beobachtung, daß die Bindung des Antigens an den Antikörper reversibel ist, und die Anschauung, daß demgemäß nur schwache Affinitäten vorliegen, ist alt¹⁰⁷⁾, ebenso die Einteilung des Vorganges in zwei Stufen, wobei in der 1. Stufe die spezifische, nicht sichtbare „Bindung“, in der 2. Stufe dann die sichtbare Reaktion (Flockung usw.) eintritt. Diese Unterteilung hat sich als sehr fruchtbar erwiesen, ebenso wie die ganz ähnlichen Betrachtungen in der Fermentchemie (*L. Michaelis*).

Das Sichtbarwerden (2. Stufe) der eingetretenen Reaktion ist ein kolloidchemischer Vorgang, der in Vielem den Gesetzen der Kolloidchemie gehorcht. Die Flockung eines gelösten Antigens bzw. die Agglutination von Zellen sind demgemäß stark von den äußeren Bedingungen abhängig (Temperatur, Salzgehalt, Lipoidgehalt, p_H u. dgl.). Zwischen p_H 5 und p_H 8, bei Temperaturen zwischen 0° und 37° und bei physiologischem Salzgehalt sind die Bedingungen i. allg. günstig, allerdings nicht ohne Ausnahme. Die näheren Ursachen des Sichtbarwerdens wurden besonders an Bakterien erforscht. Es ergab sich, daß Agglutination nur eintritt, wenn das Oberflächenpotential zwischen Teilchen und Umgebung unter einen kritischen Wert sinkt, der bei 15 mV liegt (unter den genannten optimalen Bedingungen). Was nun bei der spezifischen Agglutination dieses Potential, das normalerweise über dem kritischen Wert liegt, so stark erniedrigt, ist die Bindung des Antikörpers an das Antigen. Man hat dies in einer Reihe von Versuchen durch Messung der kataphoretischen Wanderungsgeschwindigkeit beweisen können (der isoelektrische Punkt verschiebt sich bis zu dem der Antikörper)¹⁰⁸⁾.

Eagle hat diese Vorstellung auch auf gelöste Antigene übertragen und nimmt an, daß die Antikörper einen Film um das Antigen bilden. Schwierigkeiten macht hierbei (besonders bei gelösten Proteinen) indessen die Beantwortung der Frage, warum dadurch eine Präzipitation eintreten soll. *Eagle* erklärt dies damit, daß die Antikörper (Globuline) dadurch, daß die polaren Gruppen dem Antigen zugewandt werden und einen Film bilden, denaturiert werden und damit samt dem Antigen ausfallen. Da sich aus der Analyse der Präzipitate indessen ergibt, daß der Antikörper in einem großen Überschuß gebunden wird,

¹⁰⁷⁾ Sie ist an sich schon in der Seitenkettentheorie *Ehrlichs* enthalten.

¹⁰⁸⁾ *Dean* [1917]; *Mudd* [1926]; *Shibley* [1926]; vgl. *Marrack*, loc. cit. ¹⁷⁾ [1934]. Neben den Kataphoreseversuchen wurden noch andere Anordnungen benützt, die zu demselben Ergebnis führten (*Mudd u. Mudd; Smith u. Marrack*).

⁹⁸⁾ Zusammenfassung *H. Sachs*: Hdbch. d. pathogenen Mikroorg. 1929, Bd. II/2, S. 779.

⁹⁹⁾ *M. Doladilhe u. M. Michel*, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 202, 1950 [1936]; dort auch ältere Literatur.

¹⁰⁰⁾ *H. Ritz u. H. Sachs*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 26, 483 [1917]; ferner *Coca*; siehe auch *O. Bier*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 77, 187 [1932]; 85, 181 [1934/35].

¹⁰¹⁾ *J. Gordon, H. R. Witehead u. A. Wormall*, Biochemical J. 19, 618 [1925]; 20, 1028 [1926].

¹⁰²⁾ *T. Misawa*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 88, 130; 86, 505 [1935]; *Y. Takano*, ebenda 87, 29, 72 [1935].

¹⁰³⁾ *T. Toda u. B. Mitsue*, ebenda 78, 62 [1932].

¹⁰⁴⁾ *P. Girard, M. Lourau u. E. Pitres*, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 119, 408 [1935].

¹⁰⁵⁾ *H. J. Fuchs*, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap. 67, 266 [1930]; *A. J. Quick*, J. Immunology 29, 87 [1934/35].

¹⁰⁶⁾ Vgl. Lehr- und Handbücher.

glaubt *Marrack* — nach einer gründlichen Durchrechnung — diese Vorstellung von einem Film aus räumlichen Gründen ablehnen zu müssen. Er schlägt statt dessen nicht eine Denaturierung, sondern einfach eine Herabsetzung der normalen Löslichkeit der Immunglobuline vor. Diese soll so zustande kommen, daß die polaren wasserbindenden Gruppen vom Antigen beansprucht werden, ohne daß aber die Antikörper einen wahren Film bilden.

Bei gröber dispersen Systemen wie Lipoidemulsionen hat *Eagle*¹⁰⁹) indessen volle Übereinstimmung von Versuch und Berechnung festgestellt. Er findet z. B. im Präzipitat 9,3% Protein und berechnet aus der unabhängig davon gemessenen Teilchenoberfläche unter der Annahme einer unimolekularen Schicht 10% Protein. Bei der Adsorption der Antikörper steigt der isoelektrische Punkt der Antigenmicelle von p_H 1,9 auf p_H 4,2 bis 4,9, bei der Behandlung mit Normalglobulinen nur auf p_H 2,8 bis 3,5. Flockung tritt schon ein, wenn nur ein Teil des Antigenteilchens besetzt ist ($1/_{20}$ der Oberfläche beim Syphilishapten, $1/_{40}$ beim heterogenetischen). Es wird daraus berechnet, daß noch 0,0015 mg Antikörper in 100 cm³ Serum festgestellt werden können, womit eine annähernde Bestimmung von Immunkörpern gegeben ist. Von großer Bedeutung ist in diesen Versuchen, daß sich das syphilitische Patientenserum wie ein wahrer Antikörper verhält, was vielfach angezweifelt wurde.

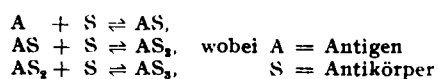
Im Gegensatz zu *Marrack* und in Übereinstimmung mit *Eagle* sind *Boyd* und *Hooker*¹¹⁰) der Auffassung, daß Filmbildung auch bei kleinen Antigenteilchen stattfinden kann, und zwar von Mol.-Gewichten von 4000 an. Die Übereinstimmung von Berechnung und Versuchsergebnissen ist sehr gut, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

Verhältnis von Antikörper zu Antigen (= 1) im Präzipitat (Gew.-Teile.)

	Mol.-Gew.	ber.	gef.
Pneumokokken-Polysacch. S.	4000	58	60
Eieralbumin	34500	13,4	13
Hämoglobin	68000	9,7	10
Pseudoglobulin	103800	7,3	4 (!)
Hämocyanin	$2 \cdot 10^6$	1,47	1,57

Es muß jedoch für die Beurteilung dieser Versuche ausdrücklich betont werden, daß die Zusammensetzung des Präzipitats, welche die Grundlage aller Betrachtungen ist, sehr von den Versuchsbedingungen abhängt¹¹¹). Dies läßt sich besonders leicht bei der Verwendung gefärbter Antigene feststellen. Hämoglobin verbindet sich z. B. mit seinem Antiserum in einem Molverhältnis von 1:2 bis 1:9, je nach Umständen (*F. Breinl* u. *F. Hawowitz*)¹¹²).

Die Schwierigkeiten, stets einwandfreie Versuchsbedingungen zu haben, sind selbst unter Verwendung von reinen Antigenen und stark gereinigten Antikörpern nicht immer zu beheben. *Heidelberger* und *Kendall*¹¹³), die sich um den Mechanismus der Antigen-Antikörperreaktion sehr bemüht haben, mußten aus diesem Grunde ihre anfängliche Vorstellung, daß es sich um eine einfache Reaktion nach dem Massenwirkungsgesetz handle¹¹⁴), zugunsten einer komplizierteren aufgeben. Während die frühere Formulierung lautete:



soll heute die folgende Überlegung gelten: die chemische Vereinigung von Antigen (bzw. Hapten) und

Antikörper ist eine bimolekulare Reaktion wie in der obigen Gleichung. An diese erste schließt sich eine Reihe weiterer bimolekularer Reaktionen an, bis Präzipitation erfolgt (infolge sekundärer Einflüsse). Mit Hilfe einer Formel können so Vorgänge mathematisch erfaßt werden, die zu ganz wechselnd zusammengesetzten Präzipitaten führen (Antikörper : Kohlenhydrat = 40 : 1 bis 5:1). Die Versuche wurden sowohl an Azofarbstoff-Azo-Proteinen als auch an Eieralbumin und Pneumokokkenkohlenhydraten ausgeführt. Sie alle haben besonders für die quantitative Bestimmung von Immunkörpern große Wichtigkeit.

Die Anwendbarkeit des Massenwirkungsgesetzes auf Immunreaktionen gilt nicht unbestritten. Die stark wechselnde mengenmäßige Zusammensetzung wird mit einem Adsorptionsvorgang erklärt, selbst bei molekular-dispersen Antigenen¹¹⁵). Von anderer Seite wird das Massenwirkungsgesetz für gelöste Antigene angenommen, für zellgebundene aber abgelehnt¹¹⁶). Einen vermittelnden Standpunkt nimmt *P. Lecomte de Noüy* ein, der von einer „spezifischen Adsorption“ spricht¹¹⁷). Damit soll ausgedrückt werden, daß die Bindung zwar durch chemische Kräfte beherrscht, aber von Adsorptionsvorgängen überlagert wird, die den eigentlichen Prozeß im engeren Sinne darstellen. Damit kommen wir auf den Primärvorgang zu sprechen, den wir aus bestimmten Gründen hintangestellt hatten.

Diese 1. (unsichtbare) Reaktion zwischen Antigen und Antikörper ist am wenigsten geklärt. Daß spezifisch aufeinander eingestellte Atomanordnungen oder (weniger scharf ausgedrückt) Elektronenanordnungen vorhanden sein müssen, ergibt sich aus der Spezifität der Vorgänge. Grobe Veränderungen (besonders neue funktionelle Gruppen) dürften am Antikörper indessen kaum vorliegen, sonst wären die Unterschiede zwischen Normal- und Immunglobulin beträchtlicher. Den bis jetzt vorliegenden Verhältnissen wird die Hypothese von *Breinl* und *Hawowitz*¹¹⁸) am ehesten gerecht. Danach würden die Antigene (oder ihre spezifische Atomgruppierung) lediglich so wirken, daß durch ihre Anwesenheit die normale Globulinbildung in spezifischer Weise gestört wird. Diese „Störung“ im normalen Bau des Globulins stellt dann den spezifischen Antikörper dar.

Daß tatsächlich eine gewisse Bindung zwischen dem Antikörper und der spezifitätsbestimmenden Gruppe des Antigens besteht, ergibt sich aus mehreren Tatsachen. Nach *Landsteiner* und *Halban* (loc. cit. 2) wird die Präzipitation eines Komplexantigens der oben geschilderten Art durch das entsprechende Antiserum dann verhindert, wenn man das die Spezifität bestimmende Hapten vorher auf das Antiserum einwirken läßt. Das ist nur so zu erklären, daß die „Bindungsstellen“ des Immunkörpers durch das Hapten spezifisch besetzt werden und dem Vollantigen die Reaktion verwehren. *Marrack* und *Smith* (loc. cit. 17) haben den unmittelbaren Beweis für die Vereinigung von Antikörper und spezifischer Antigengruppierung so erbracht, daß sie nachwiesen, daß z. B. ein Azo-Atoxyl-Immunserum, das sich im Innern einer Dialysierhülle befindet, aus dem diese umgebenden (Farbstoff-)Hapten Bis-[azo-atoxyl]-tyrosin beträchtliche Mengen aufnimmt, im Gegensatz zu Normalglobulin. (Das Verhältnis der in beiden Fällen aufgenommenen Haptenmengen ist 12:1). Die

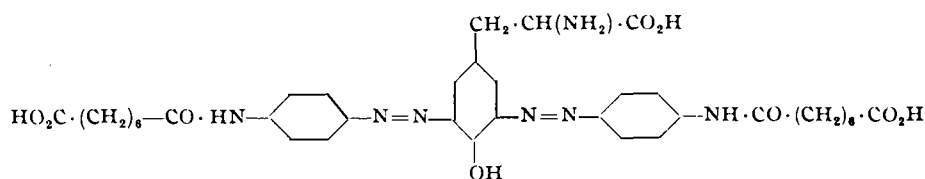
¹¹⁰) *H. Schmidt, W. Scholz u. Y. Parry, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap.* **78**, 475, 517; **74**, 427; **75**, 191, 192 [1932]; ferner *Marrack*, loc. cit.

¹¹¹) *G. Ivanovics, Z. Immunitätsforsch. exp. Therap.* **86**, 165 [1935].

¹¹²) *Ber. ges. Physiol. exp. Pharmacol.* **91**, 203 (Referat) [1934].

¹¹³) *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **192**, 45 [1930], vgl. auch *S. Mudd, J. Immunology* **28**, 423 [1932].

Spezifität dieser Erscheinung wird noch dadurch bewiesen, daß andere Farbstoffe von Normal- und Immunglobulin in gleichem Maß aufgenommen werden. Einen weiteren Beweis für die unmittelbare Bindung von Hapten an Antikörper haben *Haurowitz* und *Breinl* erbracht¹¹⁹⁾. Selbst in vivo können derartige Haptene mit den entsprechenden Antikörpern reagieren (*E. Berger* und *H. Erlenmeyer*)¹²⁰⁾. — Nicht ausflockende Hapten-Antikörperverbindungen (aus niedrigmolekularen Haptenen) unterscheiden sich von den Antigen-Antikörperverbindungen im wesentlichen durch eine höhere Dissoziationskonstante und ein größeres Löslichkeitsprodukt. Hat das Hapten ein höheres Molekulargewicht, dann können beide Konstanten so weit abnehmen, daß eine Präzipitation eintritt. Dafür das folgende Beispiel¹²¹⁾: Das Diazoniumsalz des



p-Amino-korksäureanilids ist ein einfaches oder „Halb“-hapten. Durch Kuppelung an Tyrosin oder Resorcin entsteht ein Vollhapten, das ohne weiteres präzipitiert:

Dieses Beispiel zeigt den großen Einfluß der Molekülgröße auf den Verlauf serologischer Reaktionen ganz eindeutig.

Trotz all dieser Versuche bleibt die Frage nach dem Wesen der Bindung im Antigen-Antikörper-Komplex weiterhin offen¹²²⁾. [A. 138.]

¹¹⁹⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **214**, 111 [1933].

¹²⁰⁾ Biochem. Z. **255**, 434 [1932].

¹²¹⁾ K. Landsteiner u. J. van der Scheer, loc. cit. 2); vgl. auch E. Berger u. H. Erlenmeyer, Biochem. Z. **264**, 113 [1933].

¹²²⁾ Daß es sich um eine einfache Verbindung von Säure und Base handelt, wie B. F. Chow u. W. F. Goebel (J. exp. Medicine **62**, 179 [1935]) für die Vereinigung von Polysaccharid und Antikörper vorschlagen, ist für andere Fälle nicht vorstellbar.

Über Zusammenhänge zwischen analytischen Daten und der Zündwilligkeit von Dieseldkraftstoffen

Von Dr.-Ing. M. MARDER*)

Institut für Braunkohlen- und Mineralölforschung an der Technischen Hochschule Berlin

Eingeg. 17. August 1936

Nach der Anschauung, die in vielen Arbeiten der Fachliteratur zum Ausdruck kommt, bestehen keine quantitativen Beziehungen zwischen den physikalischen und analytischen Daten und der Zündwilligkeit von Kraftstoffen im Dieselmotor, obwohl die Zündwilligkeit durch die chemische Zusammensetzung der Kraftstoffe gegeben ist. Im Gegensatz dazu wurden mit Hilfe physikalischer Konstanten bereits mehrere Laboratoriumsmethoden zur Bestimmung der Zündwilligkeit ausgearbeitet, die sich auch schon in der Praxis bewährt haben. Neben kombinierten Konstanten, z. B. dem Kennzündwert, dem Dieselindex und dem Parachor kann dabei auch die Dichte bei Berücksichtigung der Siedekennziffer der Kraftstoffe zur Zündwilligkeitsuntersuchung herangezogen werden. Zum Beweis der Brauchbarkeit der Dichte zur Zündwilligkeitsbestimmung ist in Abb. 1 die Dichte von zahlreichen Dieseldkraftstoffen verschiedenster Herkunft gegen ihre im C.F.R.-Motor gemessene Cetenzahl unter Benutzung eines Umrechnungsfaktors für die Siedekennziffer aufgetragen. Es tritt eine hervorragende Abhängigkeit zutage, aus der ohne weiteres eine quantitative Cetenzahlbestimmung abgeleitet werden kann.

Nun steht aber die Dichte nicht nur zur Zündwilligkeit, sondern auch zu einer großen Zahl analytischer Daten in Beziehung. Solche Beziehungen wurden bereits in einer früheren Arbeit¹⁾ für Braunkohlenöle aufgestellt; sie bestehen jedoch auch für Mineralöle jeder anderen Herkunft, wie in einer kürzlich erschienenen Arbeit²⁾ gezeigt wurde. Der Verlauf der für Braunkohlenöle geltenden Beziehungen ist aus den Diagrammen in Abb. 2 und 3 ersichtlich, in denen der Kohlenstoff- und der Wasserstoffgehalt, das Kohlenstoff-Wasserstoff-Verhältnis und die Heizwerte von Braunkohlenölen verschiedener Herkunft

und Herstellungsweise gegen die Dichte aufgetragen sind. Diese Beziehungen sind ebenso wie bei Mineralölen anderer Herkunft so ausgeprägt, daß sie in ausgezeichneter Weise zu einer einfachen Bestimmung der genannten Daten direkt

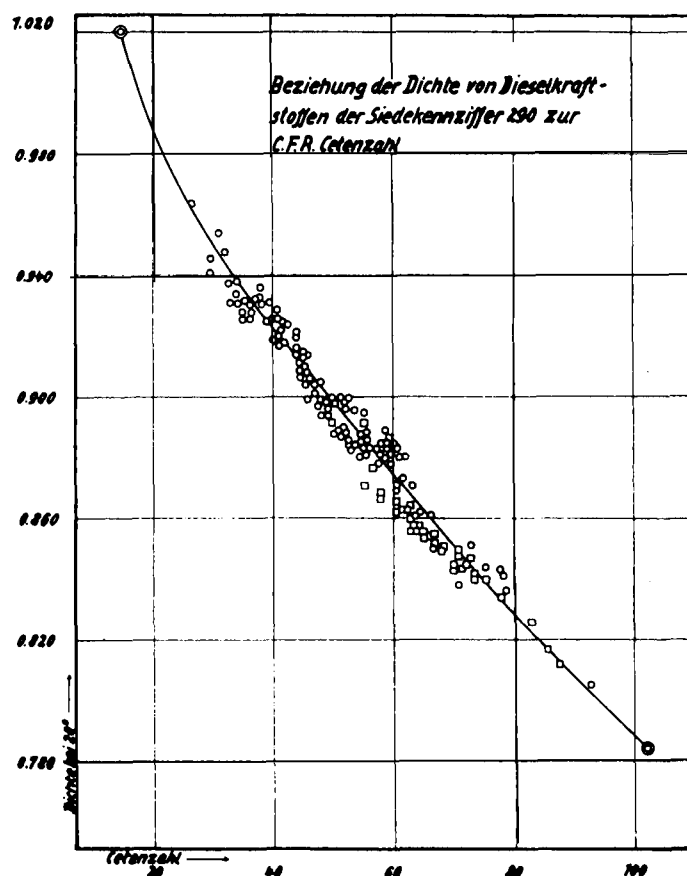


Abb. 1.

*) Unter Mitarbeit von Dipl.-Ing. F. Sommer. Vorgetragen in der Fachgruppe für Brennstoff- u. Mineralölchemie auf der 49. Hauptversammlung des V. D. Ch. in München am. 9. Juli 1936.

¹⁾ M. Marder, Brennstoff-Chem. **17**, 181 [1936].

²⁾ M. Marder, Öl u. Kohle **12**, 1061 u. 1087 [1936].