

## Die normale Zusammensetzung des Plasmaproteinfilmes an der Oberfläche von Kaninchenerthrocyten

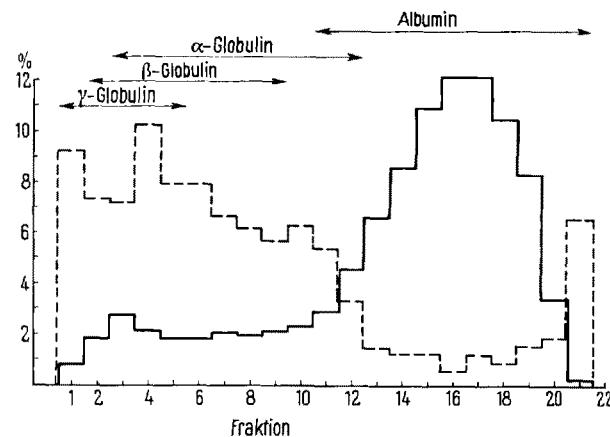
In einer Reihe von Arbeiten<sup>1-5</sup> konnte gezeigt werden, dass sich die prozentuale Zusammensetzung der adsorptiv an die Oberfläche von menschlichen Erythrocyten gebundenen Plasmaproteine wesentlich von der Zusammensetzung dieser Proteine im Plasma unterscheidet. Als Ergebnis der Untersuchungen fanden wir eine besonders starke Anreicherung von Präalbumin, Lipoprotein und  $\gamma$ -Globulin, eine geringere Anreicherung von Fibrinogen und  $\alpha_2$ -Makroglobulin und endlich eine Anreicherung von Albumin und Transferrin<sup>2,3</sup>. Die Untersuchungen wurden mit  $^{131}$ Jod-markierten Proteinen durchgeführt. Dabei kamen einmal im Handel befindliche Reinproteine (Behring-Werke, Marburg) zur Verwendung<sup>1-4</sup>. Zum andern wurde unter schonendsten Bedingungen  $^{131}$ Jod-markiertes Humanserum in der Vertikalektrophorese (Beckman, Modell CP) aufgetrennt und untersucht<sup>5</sup>. Trotzdem konnte in keinem dieser Fälle ein Denaturierungseffekt an den verwendeten Proteinen mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden. Veränderungen der Eigenschaften nativer Proteine sind einerseits durch den industriellen Herstellungsprozess, andererseits durch die Markierung mit  $^{131}$ Jod durchaus vorstellbar.

Aus diesem Grund markierten wir in der vorliegenden Arbeit Kaninchenproteine *in vivo* durch Einführen  $^{35}$ S-markierter Aminosäuren. Dazu wurde einem Kaninchen  $^{35}$ S-Cystin (5 mC) und  $^{35}$ S-Methionin (5 mC) (bezogen vom Radiochemical Centre, Amersham) zusammen mit anderen, unmarkierten, essentiellen Aminosäuren intraperitoneal injiziert und das Blut des Tieres nach 10 Tagen gewonnen. Das Plasma wurde in einer Vertikalektrophorese (Beckman, Modell CP) in 21 Einzelfraktionen aufgetrennt und damit die Untersuchungen durchgeführt. Wie zusätzliche elektrophoretische Untersuchungen zeigten, bestand die Fraktion 1 aus reinem  $\gamma$ -Globulin und die Fraktionen 13-21 aus reinem Albumin, während die Mittelfraktionen 2-12 die Proteine des Gesamtspektrums in wechselndem Mischungsverhältnis enthielten. Der Gehalt an freiem, nicht an Protein gebundenem  $^{35}$ S lag in allen Fraktionen unter 3%. Zur Untersuchung wurden jeweils 5 ml Kaninchenblut (mit Na-Oxalat ungerinnbar gemacht) mit den einzelnen Proteinfractionen inkubiert; dabei wurden stets die gleichen Aktivitäten und damit gleiche Proteinkonzentrationen eingesetzt. Innerhalb von 2 h stellt sich ein Gleichgewicht ein zwischen frei gelösten Proteinen und Proteinen, die adsorptiv an der Erythrocytenoberfläche gebunden sind. Danach wurden die Einzelproben einer Waschprozedur unterworfen. Hierbei nimmt die Menge der in der Lösung vorhandenen Proteine schneller ab als die Menge der an der Erythrocytenoberfläche adsorptiv gebundenen Proteine. Es wird für verschiedene Proteine verschieden schnell und bei verschiedener Konzentration eine sogenannte Gleichgewichts-Menge<sup>2</sup> erreicht, die konventionell so definiert ist, dass im Überstand und an der Erythrocytenoberfläche gleich grosse Aktivitäten und damit gleich grosse Proteinkonzentrationen vorhanden sein sollen. Aus dem Vergleich der Gleichgewichtsmengen der einzelnen Fraktionen ergibt sich die Zusammensetzung der Proteine an der Erythrocytenoberfläche (gestrichelter Streckenzug der Figur), die sich ganz wesentlich von der Zusammensetzung der Proteine im Plasma (ausgezogener Streckenzug der Figur) unterscheidet.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse an Reinproteinen<sup>3</sup> beim Menschen lassen sich den Fraktionen der Figur folgende Proteine zuordnen: Der Peak der Fraktion

1 und der Erythrocytenoberfläche entspricht reinem  $\gamma$ -Globulin. Der Peak der Fraktion 4 ist vermutlich auf Lipoproteine der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinfraktionen zurückzuführen. Die Fraktionen 13-20 repräsentieren reines Albumin und es ergibt sich auch hier eine deutliche Verarmung des Proteinfilmes der Erythrocytenoberfläche an Albumin. In Fraktion 21 muss neben geringen Mengen Albumin das Präalbumin vermutet werden, das von allen Plasmaproteinen an der Erythrocytenoberfläche die stärkste Anreicherung erfährt, wie wir bei früheren Untersuchungen mit reinem Präalbumin feststellen konnten<sup>2-4</sup>.

Es kann auf Grund der dargelegten Tatsachen gezeigt werden, dass der Plasmaproteinfilm an der Erythrocytenoberfläche von Kaninchen grundsätzlich die gleiche Zusammensetzung besitzt wie der Plasmaproteinfilm bei menschlichen Erythrocyten<sup>5</sup>. Außerdem bestätigen die vorliegenden Untersuchungen die früheren Arbeiten insoweit, als mögliche Denaturierungseffekte an den  $^{131}$ Jod-markierten Proteinen keine wesentlichen Verfälschungen der Ergebnisse herbeigeführt haben<sup>6</sup>.



Die Zusammensetzung der Proteine im Plasma (ausgezogene Linie) und an der Erythrocytenoberfläche (gestrichelte Linie).

**Summary.** A plasma protein film is adsorbed at the surface of the red cells of rabbit. The percentage composition of this plasma protein film is different from the protein composition of plasma.  $\gamma$ -Globulin, lipoprotein and prealbumin are increased, albumin is decreased at the surface of the red cells.

H. E. MÜLLER und F. GRAMLICH

*I. Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität Mainz (Deutschland), 2. August 1963.*

<sup>1</sup> H. E. MÜLLER und F. GRAMLICH, Acta haematol., 29, 135 (1963).

<sup>2</sup> H. E. MÜLLER und F. GRAMLICH, Hoppe Seylers Z., im Druck.

<sup>3</sup> H. E. MÜLLER und F. GRAMLICH, Naturwissenschaften 50, 447 (1963).

<sup>4</sup> H. E. MÜLLER und F. GRAMLICH, Blut, in Vorbereitung.

<sup>5</sup> F. GRAMLICH und H. E. MÜLLER, Acta haematol., in Vorbereitung.

<sup>6</sup> Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.