

Untersuchungen über die Lokalisation des Antihumanhämoglobins im Kaninchenserum*

Irmela Klose

Abteilung Gerichtsmedizin der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen (BRD)

Eingegangen am 20. Januar 1973

Studies on the Localisation of the Antihumanhemoglobin in the Rabbit-Serum

Summary. In 1962 Yada and Yamasawa described an antibody in certain human sera, which agglutinates human erythrocytes that had been sensitized by a rabbit-anti-human-hemoglobin-serum. Investigation of 12 parents with 24 children suggested recessive inheritance. In 1971 Klose expanded these studies on 118 parents with 214 children and found no exception from the assumed recessive inheritance. Derived from the german "Kaninchen" (rabbit) 1963 Klein and Klose named this genetic factor "Ka." — In these investigations we studied the localisation of the anti-human-hemoglobin in the rabbit-serum. Nowotny described 1969, that 2-mercaptoethanol destroys 19 S IgM. 7 S IgG will be not destroyed by 2-mercaptoethanol. Our investigations by this method showed, that rabbits — immunised by human erythrocytes — produce an 7 S IgG antibody.

Zusammenfassung. Über das Ka-System berichteten 1962 Yada u. Yamasawa. Die Benennung „Ka“ erfolgte 1963 von Klein u. Klose nach der Herkunft des Antiserums vom Kaninchen. Der von Yada u. Yamasawa — nach Untersuchung von 12 Elternpaaren mit 24 Kindern — vermutete recessive Erbgang wurde 1971 durch Klose — nach Untersuchung von 118 Elternpaaren mit 214 Kindern — bestätigt. — 1969 teilte Nowotny mit, daß ein 19 S-IgM durch die Einwirkung von 2-Mercaptoethanol zerstört wird. Ein 7 S-IgG wird durch 2-Mercaptoethanol nicht angegriffen. Unsere Untersuchungen nach dieser Methode kamen zu dem Ergebnis, daß das für das Ka-System immunisierte Kaninchen einen 7 S IgG-Antikörper bildet.

Key word: Ka-System, Antikörper im Kaninchenserum.

1962 berichteten Yada u. Yamasawa über einen Antikörper in bestimmten menschlichen Seren, der menschliche Erythrocyten — die mit einem Kaninchen-Antihumanhämoglobin-Serum sensibilisiert worden waren — agglutinierte. Sie fanden keine Beziehung dieses Antikörpers zu anderen serologischen Merkmalen. Ihre Untersuchungen an 12 Elternpaaren mit insgesamt 24 Kindern ließen eine recessive Vererbung vermuten. Diese Untersuchungen wurden 1971 durch Klose auf 118 Elternpaare mit insgesamt 214 Kindern erweitert. Bei den Ergebnissen fand sich keine Ausnahme vom recessiven Erbgang.

Die Methode zur Darstellung des von ihnen beschriebenen Antikörpers wurde von Yada u. Yamasawa in großen Zügen — in einigen Punkten nur im Prinzip — angegeben. Die Technik wurde von Klein u. Klose (1963) und Klose (1965) so ausgearbeitet, daß sie reproduzierbar ist. Sie gaben dem Merkmal die Bezeichnung Ka, weil zu seinem Nachweis ein Kaninchen-Immunserum gebraucht wird.

* Herrn Professor Dr. B. Mueller zum 75. Geburtstag.

1970 untersuchte Klose die Ontogenese der Merkmale Gm(1) und Ka an 330 Mutter-Kind-Paaren. Hierbei wurde weitgehend analoges Verhalten dieser Eigenschaften festgestellt, das mit der Lokalisation beider Merkmale im Gammaglobulinbereich des Menschenserums zu erklären ist.

Ziel der nachstehend beschriebenen Untersuchungen war die Frage nach der Lokalisation des im Kaninchenserum gebildeten Antikörpers, der zur Beladung der Testerythrocyten dient.

Da in der Regel ein solcher Immunantikörper in der Gammaglobulinfraktion zu finden ist, ist die Annahme begründet, daß es sich bei den sensibilisierten Antikörpern auch im Ka-System um ein durch Immunisierung modifiziertes Gammaglobulin handelt, das an die Testerythrocyten geheftet wird und hier durch die Einwirkung des Ka-Merkmals im Menschenserum die sensibilisierten Testerythrocyten zur Agglutination bringt.

Schon Yada u. Yamasawa haben darauf hingewiesen, daß sich der im menschlichen Serum gelegentlich vorkommende „Ka-anti-anti-Körper“ gegen einen — in der Gammaglobulinfraktion des Kaninchen-Immunserums — gebildeten Antikörper richtet. Als Beweis für diese Möglichkeit erwähnen sie lediglich die Möglichkeit, daß dieser „Anti-Ka-anti-Körper“ aus dem menschlichen Serum leicht durch Absorption mit einer kleinen Dosis Kaninchen-Gammaglobulin entfernt werden könnte.

Diesen Beweis versuchten wir mit serologischen und biochemischen Verfahren zu erhärten:

Bekanntlich wird das in der serologischen Diagnostik der vitalen Erythroblastose gebrauchte Anti-Globulin-Serum durch Immunisierung von Kaninchen mit menschlichem Gammaglobulin-Serum gewonnen. Im Falle einer Erythroblastose sind die Erythrocyten des Neugeborenen mit mütterlichem — also menschlichem — Gammaglobulin beladen und werden durch dieses Anti-Gammaglobulin-Serum von Kaninchen agglutiniert (positiver direkter Coombs-Test). — Ein analoger Versuch wurde mit dem beschriebenen Human-anti-Hämoglobin-Serum von Kaninchen vorgenommen.

Zur Erzielung einer dem Coombs-Test entsprechenden Reaktion benötigten wir ein gegen Kaninchen-Gammaglobulin gerichtetes Serum einer anderen Species. Dieses Serum — das durch Immunisierung eines Schafs gewonnen war — wurde uns von der Serum-Industrie zur Verfügung gestellt (Hyland- bzw. Sycco-Sylvania-Seren aus Los Angeles, USA, bezogen über die Firma Travenol-International GmbH, München).

Zum Versuch wurden menschliche Erythrocyten der Gruppe 0 mit den jeweils optimalen Verdünnungen eines Antihuman-Hämoglobin-Serums beladen und in einer 2. Versuchsreihe zur Kontrolle mit entsprechenden Verdünnungen eines Kaninchennormal-Serums versetzt. Die Sensibilisierung der Testerythrocyten erfolgte für 2 Std im Wasserbad bei 37°C. Danach wurden die Erythrocyten 3mal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen.

Sodann wurden diese gewaschenen Erythrocyten mit dem erwähnten Anti-Kaninchen-Gamma-Serum vom Schaf in entsprechenden Dosen versetzt. Als bald zeigten die mit Anti-Hb vorbehandelten Erythrocyten eine Agglutination, während die mit Kaninchennormal-Serum vorbehandelten Erythrocyten keine Agglutination aufwiesen.

Schon aus diesen Befunden kann — vorausgesetzt eine strenge Spezifität des Anti-Kaninchen-Globulin-Serums — geschlossen werden, daß es tatsächlich das an den Testerythrocyten haftende Kaninchen-*Gammaglobulin* ist, gegen welches sich das Ka-Merkmal im Menschenserum richtet.

Zu der Frage, ob der sensibilisierende Antikörper ein Makromolekül (19 S-IgM) oder ein 7 S-IgG darstellt, wurde nach der von Nowotny (1969) angegebenen Methode eine Prüfung mit 2-Mercaptoaethanol vorgenommen. Ein 19 S-IgM wird durch die Einwirkung von Mercaptoaethanol zerstört, während ein 7 S-IgG nicht angegriffen wird.

Versuchsordnung

1. Herstellung der 1 M 2-Mercaptoaethanol-Lösung. Ausgangs-Substanz: 2-Mercaptoethanol C_2H_5OS , „Merck“ Art. Nr. 5740, Mol.-Gew. 78,13, Spez. Gew. 1,1, 7 ml (7,8 g) mit physiologischer NaCl-Lösung auf 100 ml aufgefüllt.

2. Ansatz mit Serum vom immunisierten Kaninchen Ka I.

a) 0,2 ml Serum von einem immunisierten Kaninchen + 0,2 ml 1 M 2-Mercaptoaethanol-Lösung + 1,6 ml physiologische NaCl-Lösung.

Kontrolle

b) 0,2 ml Serum vom immunisierten Kaninchen Ka I + 1,8 ml physiologische NaCl-Lösung. Beide Gemische 1 Std bei Zimmertemperatur stehenlassen.

3. Durchführung des Ka-Testes wie bei Klose (1965) beschrieben.

Ergebnis

1. Ka-Test mit einem Ka-negativen und zwei Ka-positiven Menschseren nach Sensibilisierung der Testerythrocyten mit dem unter 2a beschriebenen Ansatz.

Agglutination der Testerythrocyten nach Zusatz von

Ka-neg. Serum „Bo.“	Ka-pos. Serum „Kl.“	Ka-pos. Serum „La.“
—	+++	+++

2. Ka-Test mit zwei Ka-positiven und einem Ka-negativen Menschseren nach Sensibilisierung der Testerythrocyten mit dem unter 2b beschriebenen Ansatz.

Agglutination der Testerythrocyten nach Zusatz von

Ka-neg. Serum „B“	Ka-pos. Serum „Kl.“	Ka-pos. Serum „La.“
—	+++	+++

Da der sensibilisierende Antikörper durch die Einwirkung von 2-Mercaptoethanol nicht geschwächt wurde, handelt es sich bei dem vom Kaninchen gebildeten Antikörper um ein 7 S-IgG.

Literatur

- Klein, H., Klose, I.: Eine weitere Serumgruppe. *Klin. Wschr.* **41**, 954 (1963).
 Klose, I.: Weitere Untersuchungen über die Serumeigenschaft Ka. *Klin. Wschr.* **45**, 171 (1965).
 Klose, I.: Zur Ontogenese der Erbmerkmale im Gm-System. *Beitr. gerichtl. Med.* **27**, 289 (1970).

- Klose, I.: Untersuchungen zur Berechnung der Genfrequenzen des Merkmals Ka und die Höhe der Ausschlußwahrscheinlichkeit bei Anwendung dieses Merkmals in serologischen Vaterschaftsgutachten. Beitr. gerichtl. Med. 28, 137 (1971).
- Nowotny, A.: Basic exercises in immunochemistry. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Yada, S., Yamasawa, K.: An antibody in normal human sera against rabbit gammaglobulin and its inheritance. Jap. J. Leg. Med. 16, 58 (1962).

Dr. med. Irmela Klose
Abteilung Gerichtsmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule
D-5100 Aachen, Lochnerstraße 4—20
Bundesrepublik Deutschland