

# *Acta Medica Okayama*

---

*Volume 4, Issue 1*

1934

*Article 4*

FEBRUAR 1934

---

## Über die Zustandpezifität des Serumeiweißes (I. Mitteilung). Präzipitin- und Komplementbindungsversuche.

Sadamu Uwazumi\*

\*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

# Über die Zustandpezifität des Serumeiweißes (I. Mitteilung). Präzipitin- und Komplementbindungsversuche.\*

Sadamu Uwazumi

## Abstract

1. Das Antiserum, das aus bei 120°C; 30 Minuten lang erhitztem Serum hergestellt wurde, zeigt die typische Zustandsspezifität; es reagiert auf Alkali-Hitze-Eiweiß und Formalin-Hitze-Eiweiß und nur schwach auf native Antigene. Die Reaktion auf Jodeiweiß und Nitroeiweiß bleibt immer negativ. 2. Das 120°C;-Eiweiß zeigt sowohl eine Zustandsspezifität als auch eine Artspezifität. 3. Der Isoantikörper des 120°C;-Eiweißes kann nur durch mehrmalige Injektionen erzielt werden. 4. Das Antijod- und Antinitroeiweißimmunserum zeigen nach der Antigenverdünnungsmethode die absolute Zustandsspezifität, nach der Antikörperverdünnungsmethode bleiben jedoch beide Spezifitäten erhalten, vorwiegend Zustands- und relative Artspezifität. 5. Der Isoantikörper von Jodeiweiß und Nitroeiweiß kann nur durch mehrmalige Injektionen erzielt werden. 6. Der Autoantikörper des Jodeiweißes wurde nur bei einem Kaninchen aus einer Zahl von 6 Kaninchen erzielt. 7. Die Spezifitätsvariation ist durch die konstitutive Versuchsanordnung nach der Antikörperverdünnungsmethode klarer erkannt worden. Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. M. Ogata für seine freundliche Hilfeleitung während der Durchführung meiner Untersuchungen meinen besten Dank aussprechen.

Aus dem Hygienischen Institut der Med. Fakultät Okayama  
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

**Über die Zustandsspezifität des Serumeiweißes  
(I. Mitteilung).  
Präzipitin- und Komplementbindungsversuche.**

Von

**Sadamu Uwazumi.**

*Eingegangen am 27. Oktober 1932.*

**Einleitung.**

Die Erforschung der Spezifität des Antigens in der Immunitätslehre ist seit mehr als 20 Jahren Gegenstand eifrigster Bemühungen. Die Grundlagen dieser Bestrebungen bilden die Arbeiten von *Obermayer* u. *Pick*. Ihre Ergebnisse wurden vielfach bestätigt und erweitert; sie bestehen auch noch heute unverändert zu Recht. Inzwischen ist der Stand der Frage, soweit sie sich auf Grund dieser Arbeiten aufbauen und erweitern läßt, von *Landsteiner* und *G.h. Wells* kurz dargelegt worden. *Obermayer* und *Pick* zeigten, daß Antigen mit bedeutender Molekülgröße im Gegensatz zu Antigen mit geringerem Gewicht durch bestimmte physikalisch-chemische Eingriffe neuartige Spezifitätsqualitäten erwirbt. Diese auf Grund der physikalischen und chemischen Zustandsveränderungen des Gesamtmoleküls entstandenen neuen Spezifitäten nannten die Autoren Zustandsspezifität.

Die bedeutende Molekülgröße und die durch dasselbe bedingten physikalischen Eigenschaften des Antigen ermöglichen es, daß sich bei manchen Antigenen besondere Spezifitätsqualitäten künstlich herbeiführen lassen, die bei Antigenen von geringerem Molekulargewicht nicht nachgewiesen werden können. Hierher gehören jene Eiweißantigene, welche durch Erhitzen sogleich eine derartige Zustandsänderung erfahren, daß sich große Kolloidkomplexe bilden, welche unter Umständen—z.B. bei saurer Reaktion und Anwesenheit von Neutralsalzen—zu sichtbarere Koagulation führen können. Die durch Hitze vorbehandelten Antigene ändern ihre ursprüngliche Antigenität so weit, daß dadurch gebildete Immunkörper am stärksten auf diese veränderte Antigene reagierbar sind.

Als originäre und konstitutive Spezifität bezeichnen *Obermayer* und *Pick* jene spezifischen Antigeneigenschaften, die mit dem struktur-chemischen Aufbau des

Moleküls zusammenhängen und nur durch mehr oder weniger intensive chemische Eingriffe beeinflussbar sind. Es liegt selbstredend in der Natur der Sache, daß eine scharfe Trennung zwischen dieser und der Zustandsspezifität nicht gelingt, und daß wir überall Übergänge sowie gegenseitige Beeinflussung finden. Die früher angeführten experimentell erzeugten Änderungen der Spezifität haben stets die Artspezifität des Antigens intakt gelassen. Sie stellten hauptsächlich die Veränderung des physikalisch—chemischen Zustandes des Gesamtmoleküls dar, entsprechen also dem, was wir nach der Definition *Picks* als Änderung der Zustandsspezifität bezeichnen müssen.

Durch intensive chemische Eingriffe auf Eiweißantigene werden naturgemäß viel weitgehendere Beeinflussung derselben herbeigeführt, ohne daß diese Eingriffe zu einem weitgehenderen Zerfall des ganzen Moleküls führen. Es genügt, wenn es zum Ersatze einzelner Gruppen im Moleküle kommt, sodaß struktur-chemische Differenzen entstehen. Auf diese Weise läßt sich die spezifische Wirkung eines Antigens von Grund aus umgestalten. Man gewinnt hierdurch den Eindruck, daß trotz der Bedeutung, welche den physikalisch-chemischen Momenten der Spezifitätswirkung zukommt, deren Einfluß dennoch nicht überschätzt werden darf, und daß die wichtigsten Grundlagen der differenten spezifischen Antigenwirkungen in den struktur-chemischen Eigenschaften des Moleküls zu suchen sind.

Das native Eiweißantigen wird nach *Obermayer* und *Pick* durch bestimmte chemische Einwirkungen irgend eine Veränderung des Eiweißmoleküls besonders an gewissen chemischen Gruppen hervorrufen. Die auf diese Weise substituierten Eiweißkörper wirken, wie ein anderer Stoff, auf die erneuerte Spezifität durch Substitution. Die diesbezüglichen Versuche von *Obermayer* und *Pick* haben gezeigt, daß die verschiedenen chemischen Gruppen an verschiedenen Stellen im Eiweißmolekül die Antigenspezifität in recht mannigfacher Weise beeinflussen. Bei bestimmten Prozessen gehen die so charakteristische Arteigenheit unter völliger Umprägung des ursprünglichen Charakters verloren, während bei anderen das Antigen entsprechend der eingeführten Gruppen und der durch diese gesetzten Veränderungen des Moleküls eine neue besondere Spezifität unter Beibehaltung der Artspezifität annimmt.

*Obermayer* und *Pick* bezeichnen jene Spezifität, welche die Arteigenheit des Eiweißantigens bedingt, als originäre Spezifität, und die dieser etwa zugrundeliegende charakteristische chemische Konfiguration des Eiweißes als originäre Gruppierung desselben. Den anderen Spezifitätsfall, in welchem sich bei erhaltener Artspezifität durch den chemischen Eingriff eine neue scharf ausgeprägte Spezifität entwickelt hat, nennen sie konstitutive Spezifität und kommen dabei zu der Annahme, daß bei struktur-chemischen Verhältnissen, welche diese letztere Spezifität bedingen, die sog. konstitutive Gruppierung verschieden ist, von derjenigen der originären Spezifität. Es ist natürlich, daß diese zwei Spezifitätsformen, welche zunächst, und wohl hauptsächlich, auf der chemischen Konfiguration des Moleküls basiert sind, auch auf die früher besprochene Zustandsspezifität bis zum einen gewissen Grad richtunggebend sein können, ebenso wie es ja auch in der chemischen Natur dieser beiden Spezifitätsformen gelegen ist, daß eine gegenseitige Beeinflussung der originären durch die konstitutive und umgekehrt wohl möglich ist.

Mehrere Autoren haben die sogenannte Zustandsspezifität, besonders die Beziehung zwischen Zustandsspezifität und Artspezifität durch die Einwirkung von Hitze, verschiedene Chemikalien, und

Ferment studiert. Die Resultate ihrer Untersuchungen sind verschieden. *M. Makino* studierte genau die Zustandsspezifität des Serumeiweißes durch Hitze und verschiedene Chemikalien und entdeckte, daß die Meinungsverschiedenheiten der Zustandsspezifität ganz abhängig sind von der Untersuchungsmethode. Nach der Antikörperverdünnungsmethode veröffentlichte er die endgültigen Resultate unter Berücksichtigung der Immunkörpermenge.

Bei dieser Sachlage schien es mir nun geboten, durch Messung der Antikörpermengen mit Hilfe der *Ogatasche* Verdünnungsmethode einmal näher zu prüfen, in welchem Verhältnisse die chemisch tief eingegriffene Serumeiweiße, wie Jodeiweiß und Nitroeiweiß biologisch bestehen. Darüber haben *Obermayer* und *Pick* den Nachweis der absoluten Zustandsspezifität, und andere interessante Einzelheiten veröffentlicht.

### Untersuchungsmethode.

#### 1) Die Herstellungsmethode der verschiedenen Antigene.

- a) 70°C-Eiweiß und 100°C-Eiweiß. Frisches Serum wurde mit destilliertes Wasser 10 fach verdünnt. 10 cc der Lösung wurde in Reagenzgläser gegossen, und die Reagenzgläser wurden mit Watte fest verstopft, und 30 Minutenlang bei 70°C und 100°C im Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung im kaltem Wasser fügten wir kristallisiertes Kochsalz hinzu, sodaß die Emulsion eine physiologische Kochsalzlösung enthielt. Die abgekühlte Lösung wurde als Immunogen und Präzipitinogen benützt.
- b) 120°C-Eiweiß. 5 cc frisches Serum wurden im Autoklav 30 Minutenlang bei 120°C erhitzt. Das koagulierte Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur Menge 10 cc versetzt, und dann 24 Stunden lang bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt, um das erhitzte Eiweiß gut extrahieren zu können. Das Extrakt wird abzentrifugiert und die Abgußlösung als Immunogen und Präzipitinogen benützt.
- c) Alkohol-Eiweiß. Frisches Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt und mit gleicher Menge 70%igen Alkohols versetzt und eine Zeitlang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der zugesetzte Alkohol wurde folgendermaßen wieder aus diesem Gemisch frei gesetzt. Die Lösung wurde in einen Destillator von niedrigem Druck gestellt und vollständig destilliert. Das verdunnstete Wasser wurde wiederum mit destilliertem Wasser bis zur ursprünglichen Menge versetzt, und dann als Präzipitinogen benützt.
- d) Alkali-Hitze-Eiweiß. Frisches Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt. 2 cc der Lösung wurde mit einem Tropfen 10%iger Lösung von Natrium carbonicum versetzt und bei 100°C 30 Minuten lang erhitzt. Nach Abkühlung wurde die Lösung als Präzipitinogen angewandt.
- e) Formalin-Hitze-Eiweiß. Frisches Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt. 2 cc der Lösung wurde mit einem Tropfen 40%iger Formaldehydlösung versetzt, und bei 100°C 30 Minuten lang erhitzt. Nach Abkühlung wurde die Lösung als Präzipitinogen benützt.

Bei der oben erwähnten Herstellung der verschiedenen Präzipitinogene wurde die durch Erhitzung verdunstete Wassermenge immer vor dem Versuche bis zur ursprünglichen Menge ersetzt.

f) Pepsin-HCl-Eiweiß. Frisches Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt. 1 cc der Lösung wurde mit 0.5 cc 10%iger Pepsinlösung (Merk) und 0.25 cc von N/10 Salzsäurelösung versetzt, und bei 37°C 4 Tagelang im Brutschrank aufbewahrt und mit 0.25 cc N/10 Natronlauge neutralisiert. Diese Lösung wurde als Präzipitinogen benützt.

g) Trypsin-Eiweiß. Frisches Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt. 1 cc der Lösung wurde mit 1 cc 10%iger Trypsinlösung (Merk) versetzt, und bei 37°C 4 Tage lang im Brutschrank aufbewahrt. Diese Lösung wurde als Präzipitinogen benützt. Als Kontrolle wurde das 10 fach verdünnte Serum auch 4 Tage lang im Brutofen aufbewahrt.

h) Jod-Eiweiß. *Högyes* und *Zeller* stellten zum ersten Male das Jodeiweiß her durch Zusammenbringen von Roheiweiß mit Jodjodkaliumlösung, welches das Jod in lockerer Bindung enthält. *Blum* stellte das Jodeiweiß durch Mengen von Sera, Jodkalilösung und Natriumbikarbonat her, und *Hofmeister* durch Mengen von Sera, Jodkalium, und jodsauerm Kalium und Schwefelsäure. Ich habe das Jodeiweiß auf folgende Weise hergestellt.

200 cc frisches Serum werden mit 10 g Jodkalium, 5 g jodsauerm Kalium und 20 cc 20%iger Schwefelsäure versetzt und 4 Stunden lang bei 70°C auf dem Wasserbade im Kolben erhitzt. Nach Abkühlung in kaltem Wasser wird der erhaltene rötliche bräunliche Niederschlag abfiltriert, abgepreßt und ca. 1.5 Liter Wasser unter Ammoniakzusatz gelöst. Die Lösung wird nochmals klar filtriert, und das Filtrat mit Essigsäure gefällt. Um frisches Jod möglichst aus dem Niederschlag zu beseitigen, wird der Niederschlag in folgende Weise behandelt. Der weiße flockige Niederschlag wird aufs Filter gebracht, gut gewaschen, stark abgepreßt. Der rötlichbräunliche Niederschlag wird noch mal in 5%iger Sodalösung gelöst, abermals klar filtriert, und das Filtrat wiederum mit Essigsäure gefällt. Dieses Fälln mit Essigsäure und Lösen mit Sodalösung wird 3 mal wiederholt und jedesmal mit Wasser gut gewaschen, und der beim letzten Mal erhaltene dünne gelbliche Niederschlag wird bei Zimmertemperatur abgetrocknet, und als Jodeiweißpulver im Exsikkator aufbewahrt. Bei diesem Prozesse begünstigt der Säurezusatz nicht bloss die Jodeinwirkung, sondern ist auch unentbehrlich, um die Koagulation des Eiweißes bei Beginn des Erhitzens zu verhüten.

## 2) Herstellungsmethode der Antigene für Immunisierung.

Vom Jodeiweißpulver wird 0.05 g mit 1 cc physiologischer Kochsalzlösung versetzt, und 24 Stunden lang bei 37°C in Brutschrank aufbewahrt. Das Pulver wird dabei beinahe gelöst. Der Eiweißgehalt der Lösung wird durch Sulfosalzylsäure und die Essigsäureferrozyankaliprobe bestimmt und entspricht einer 100 fachen Verdünnung des normalen Rinderserums. Diese Stammlösung wird als Präzipitinogen und Immunogen gebracht. Das Kaninchen wurde jeden fünften Tag erst mit 10 cc von dieser Jodeiweißlösung und dann in aufsteigender Dosis bei 4 tägigen Pause mehrmals intravenös injiziert, und 7-10 Tage nach der letzten Injektion wurde das Blut der Carotis entnommen. Die mehrfach wiederholten Immunisierungen sind nötig, um das Präzipitin des Jodeiweißes zu bekommen. Schon von *H. Freund* wurde berichtet, daß die Jodeiweißimmuntiere nie vor der 5, zuweilen erst nach der 7 bis 9 Injektionen

Präzipitin erzeugen können.

a) Nitro-Eiweiß. Fußend auf dem *Obermayer* und *v. Fürthsche* Nitrierungsverfahren habe ich das Nitroeiweiß auf folgende Weise hergestellt. 100 cc frischen Serums wird tropfenweise konzentrierte Salpetersäure bis zur 2 fachen Menge zugesetzt und das Gemisch wird gut geschüttelt und in Zimmertemperatur eine Stunde lang stehen gelassen. Nach Dekantierung mit 1 L. Wasserzusatz wird der entstandene dünn gelbliche Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen, abgepreßt, und in 5 %iger Sodalösung gelöst und mit Essigsäure wieder gefällt. Dieses Fällen mit Essigsäure und Lösen mit Sodalösung wird 3 mal wiederholt, die übrig bleibende Salpetersäure gut gewaschen und der erhaltene dünn gelbliche Niederschlag bei Zimmertemperatur abgetrocknet und als Nitroeiweißpulver im Exsikkator aufbewahrt. Der Eiweißgehalt der Nitroeiweißlösung, wovon 1 cc 0.01 g Nitroeiweißpulver enthält, entspricht ungefähr einer 50 fachen Verdünnung des normalen Rinderserums.

b) Jodiertes Nitroeiweiß. 0.6 g von dem durch oben erwähnte Methode hergestellten Nitroeiweiß wird in 20 cc Aq. dest. gelöst und mit 1.0 g Jodkalium, 0.5 g jodsaurem Kalium und 2 cc 20 %iger Schwefelsäure versetzt. Dieses Gemisch wird weiter wie beim oben erwähnten Verfahren der Jodierung behandelt, und das schließlich erhaltene Pulver nannte ich jodiertes Nitroeiweißpulver.

c) Nitriertes Jodeiweiß. 0.8 g von dem durch die oben erwähnte Methode hergestellten Jodeiweiß wurden tropfenweise in 40 cc konzentrierter Salpetersäure gebracht, und dieses Gemisch wurde durch oben erwähnte Nitrierungsverfahren nitriert. Das erhaltene Pulver nannte ich nitriertes Jodeiweiß.

### 3) Immunisierung.

Als Versuchstiere wurden Kaninchen benützt, die durch chemisch vorbehandelte Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferd-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnersera immunisiert worden waren. Dem Tiere wurde eine Art von chemisch vorbehandelten Serumantigenen in 3 - 4 tägigen Pausen intravenös injiziert, 10 Tage nach der letzten Injektion wurde das Blut aus der Carotis entnommen. Manchmal wiederholte ich die Immunisierung nach ungefähr einmonatlicher Pause, bis ein erwünschter Titer des Präzipitins erreicht war.

### 4) Präzipitinreaktion.

Als Präzipitinogen wurden klare Extrakte von chemisch vorbehandelten Serumeiweißen angewandt, und dabei wurde die Stammlösung jedesmal so hergestellt, daß ihr Eiweißgehalt immer einer Verdünnung von Ca. 1/100 des normalen Rinderserums entsprach. Zur Präzipitinbestimmung benützte ich die folgenden zwei Methoden (Ringprobe), wobei die Reaktion bei Zimmertemperatur je nach 1/4 Std., 1/2 Std., 1 Std. und 2 Stunden abgelesen wurde:

a) *Uhlenhuthsche* Methode (die originale Methode). Das Präzipitinogen wurde in absteigender Weise mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und auf das Originalserum überschichtet.

b) *Ogatasche* Immunkörperverdünnungsmethode. Wenn die in absteigender Richtung verdünnten Präzipitinogene auf das Immunserum, das mit 1 %iger Gummilösung oder 1 %iger Stärkelösung oder 10 %igem Meerschweinchenserum in gleicher Weise verdünnt ist, überschichtet werden, so kann das bis zu einem gewissen Grad verdünnte Antigen mit Immunserum im höchsten Verdünnungsgrad reagieren. Dieser Grad der Antigenverdünnung heißt die Bindungszone des Immunserums, und den höchsten Verdünnungsgrad des Immunserums nennen wir den Präzipitintiter nach

der Immunkörperverdünnungsmethode oder der Präzipitintiter. Bei der ersten Antigenverdünnungsmethode wird immer die Antigenität auf eine bestimmte Antikörpermenge untersucht, während durch die zweite Methode weitere diesbezügliche Feststellungen bei gleichzeitiger Variierung der Menge beider Reagine vorgenommen werden.

#### 5) Komplementbindungsreaktion.

Als Hämolyse benützte ich ein inaktiviertes Kaninchenimmenserum für Ziegenblut (in 2 fach gelöster Dosis), als Komplement das frische Meerschweinchenserum (in minimaler Komplementdosis). Die rote Emulsion war das gewaschene 5%ige defibrinierte Ziegenblut. Die eigentliche Versuchsanordnung gestaltete sich folgendermaßen: eine Reihe von verdünnten Antigenen (je 0.5 cc) wurde mit 0.5 cc Komplement und absteigend verdünntem Immenserum gemischt, dann wurde die Mischung 1 Stunde lang im Brutschrank bei 37°C angestellt. Nach Zusatz eines hämolytischen Systems wurden die Versuchreagenzgläser wieder 2 Stunden lang im Brutschrank gehalten. Bei jedem Versuch stellte ich immer die nötigen Kontrollen an. Auch bei dieser Probe verwandte ich, wie bei der Präzipitinreaktion, die Bindungszone, in der das Antigen sich mit dem höchst verdünnten Immenserum verbinden kann, um den Serumwert zu bestimmen.

#### 6) Absättigungsverfahren.

Mit bestimmten Serumantigenen sättigte ich das Immenserum folgendermaßen ab: zuerst hielt ich das Gemisch beider Substanzen 2 Stunden lang im Brutschrank, dann über Nacht im Eisschrank, schließlich wurde dieses Gemisch stark abzentrifugiert. Der Abguß wurde mittels Präzipitinreaktion und Komplementbindungsreaktion nochmals geprüft.

## Experimente.

### Experiment 1. Hitzewirkung auf Antigene.

Über die Zustandsänderung des Serumeiweißes durch Hitzewirkung sagte *Smith*, daß die Reagierbarkeit der Serumantigene durch langsame Erhitzung bis zu 64°C in 3 Minuten ganz erloschen sei. *Schmidt* hat darauf hingewiesen, daß das Pferdeserum durch Erhitzen bei 70°C seine Reaktionsgeschwindigkeit mit Antinativimmenserum vermindert, daß aber trotz einem einstündigen Erhitzen bei 90°C die präzipitinbildende Fähigkeit noch vorhanden ist, daß aber nach dem Erhitzen bei 100°C in 30 Minuten diese Präzipitinogenität endlich vollständig erloschen sei, *Doerr* und *Russ* bestätigten durch ihre Untersuchungen, daß das Schafserum beim Erhitzen über 90°C seine Präzipitabilität mit Antischafimmenserum schon einbüßt. Nach *Fornett* und *Müller* oder *Sakai* sind die Ergebnisse etwas verschieden, weil das Pferdeserum durch 30 Minutenlanges Erhitzen bei 100°C die Reaktionsfähigkeit noch behält und schließlich versicherten sie, daß eine Differenz zwischen nativen und erhitzten Serum in Bezug auf Artspezifität besteht. Die Ergebnisse von *Obermayer* und *Pick* sind sehr interessant, indem bei einmaliger Immunisierung von gekochtem Rinderserum die Präzipitinreaktion am stärksten mit gekochtem Rinderserum ist, aber schwächer wird mit bis 60°C oder 80°C erhitztem Rinderserum, und gleich null mit nativem Rinder-



serum. Dagegen reagierte des Immunserum bei mehrmaliger Immunisierung von gekochten Rinderserum positiv sowohl mit nativem Rinderserum als auch mit gekochtem Rinderserum. *Okamoto* weist experimentell nach, daß die stark gekochte Menschenmilch (15 minutenlanges Erhitzen bei 120°C) die Antigenität zur Antikörperbildung noch behält, während die Reagierbarkeit mit dem Antiserum von roher Milch ganz erlischt. *Schmidt* sagte, daß das Antiserum, das durch erhitztes Serum gewonnen wird, (30 Minuten lang bei 70°C) sowohl mit erhitztem Serum als auch mit gekochtem und nativem Serum reagiert. Das Antiserum von Alkali-Hitze-Eiweiß, das mit 30 Minuten lang auf 70°C erhitztem und weiterhin nach Verdünnung mit Alkali nochmal 15 - 20 Minutenlang erhitztem Serumantigen hergestellt wurde, reagiert sowohl mit dem Alkali-Hitze-Eiweiß als auch mit dem erhitztem Serum, aber nicht mit dem nativen Serum. Nach dem Experiment von *Takizawa* reagiert das mit dem Formalin-Hitze-Serum hergestellte Immunserum stark mit dem Formalin-Hitze-Serum, schwach mit dem erhitzten Serum und gar nicht mit dem nativen Serum.

Die Einwirkung von Kälte auf Zustandsänderungen der Antigene wurde zunächst von *Perrone* an bei -15°C bis -17°C 6 Stunden lang gekühlten Typhuskulturen gezeigt; er hat dabei festgestellt, daß nach Verimpfung derartiger Kulturen im Serum der vorbehandelten Tiere ein viel beträchtlicheres Agglutinationsvermögen auftrat als bei solchen, die mit normalen Kulturen geimpft worden waren. Außerdem wiesen die gekühlten Kulturen eine bedeutend abgeschwächte, bei Zimmertemperatur jedoch reversible Virulenz gegenüber den normalen Kulturen auf: die mit vorbehandelten Tiere erlangten auch bemerkenswerterweise keine Immunität gegen virulente Kulturen. Noch interessantere Ergebnisse erzielte *Olivi*, welcher mit bei +1 und +2°C gekühlten Blutkörperchen des Meerschweinchens, die schon an sich vom spezifischen, mit normalen Blutkörperchen hergestellten Immunhämolyse schlechter gelöst werden als normale Blutkörperchen, Kaninchen vorbehandelte: er erzielte auf diese Weise in einem von 5 Kaninchen ein Immunhämolyse (Hypothermolysin), das vorzüglich die gekühlten Erythrozyten löste, aber nur wenig oder erst im großen auf normale Blutkörperchen wirkte.

*M. Makino* in unserem Institut beschäftigte sich mit der Frage der Zustandsspezifität der Serumantigene nach der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion und stellte fest, daß man durch Einspritzung von mäßig erhitzten Antigensera, die bei 80°C eine halbe Stunde lang im Wasserbade digeriert wurden, weiter reagierendes Antiserum, das auf natives Serum, auf 100°C erhitztes Serum und auch auf mit Karbol oder Alkohol vorbehandelte Sera stark reagiert, bekommen konnte, und daß das Antiserum, das aus auf 100°C erhitztem Antigen Serum hergestellt wurde, die typische Zustandsspezifität zeigt und nur selten auf native Antigene reagiert. Mit der Beziehung zwischen Zustands- und Artsspezifität bestätigen sich die Untersuchungen von *Obermayer* und *Pick*, *Schmidt*, *Schütze*, und *Fornet* und *Müller* usw.. *Obermayer* und *Pick* behaupteten, daß das mit dem erhitzten Serum hergestellte Präzipitin sowohl eine Artsspezifität wie auch eine Zustandsspezifität besitzen müsse, weil das Präzipitin nicht nur mit dem erhitzten Serum, sondern auch mit dem nativen Serum reagiert. *Torigata* immunisierte Kaninchen mit den 30 Minuten lang erhitzten Serumeiweißen und bemerkte, daß das damit hergestellte Präzipitin sowohl Artsspezifität wie auch Zustandsspezifität hat. *Schmidt* und *Schütze* behaupteten, daß das mit erhitztem oder gekochtem Serum hergestellte Immunserum wie das Antinativimmun-

serum eine Artspezifität hat. Andererseits immunisierten *Fornet* und *Müller* Kaninchen mit den bei 65°C erhitzten und dann gepreßten Fleischsuppen und bemerkten, daß das damit hergestellte Präzipitin eine so starke Artspezifität wie Antinativfleichimmunpräzipitin nicht mehr hat, weil eine Artspezifität durch eine starke Zustandsspezifität beinahe bedeckt wurde. *Zinsser* und *Ostenberg* immunisierten Kaninchen mit den erhitzten Sera und berichteten, daß das damit hergestellte Präzipitin eine ebenso starke Artspezifität wie Antinativimmunpräzipitin hat. Neuerdings berichtete *Yamazaki* auf Grund seiner Studien über Präzipitinkörnchen, daß das durch erhitztes Serum hergestellte Immuneserum eine starke Artspezifität hat.

Wie aus den oben erwähnten Tatsachen ersichtlich ist, ist eine Zustandsspezifität der Antigene leicht nachweisbar mit Immuneserum, das durch erhitztes Serum hergestellt wurde. Über die Frage der Artspezifität bei erhitzten Antigenen gehen die Meinungen vieler Autoren auseinander. *Obermayer* und *Pick*, *Schmidt*, *Torigata* und *Sakai* behaupteten, daß sowohl Zustandsspezifität als auch Artspezifität in dem mit erhitztem Serum hergestellten Immuneserum nachweisbar seien. Dem widersprachen *Fornet* und *Müller*, *Zinsser* und *Ostenberg* mit der Behauptung, daß in einem solchen Immuneserum eine Artspezifität durch eine starke Zustandsspezifität bedeckt würde. *M. Makino* in unserem Institut studierte genau die Beziehung zwischen Zustandsspezifität (Hitze) und Artspezifität des Serumantigens mittels der Präzipitinreaktion. Er bestätigte hinsichtlich des Immunpräzipitins, das durch erhitzte Serumantigene (bei 70°C 30 Minuten im Wasserbade) immunisiert wurde, daß bei schwach immunisiertem Präzipitin die Art- und die Zustandsspezifität nach der Antigenverdünnung nachweisbar sind, jedoch bei hoch immunisiertem Präzipitins serum nur die Zustandsspezifität, weil die Artspezifität durch die Zustandsspezifität beinahe bedeckt wird. Er konnte beide Spezifitäten sowohl bei schwach als auch bei hoch immunisiertem Antiserum nach der Antikörperverdünnungsmethode nachweisen. Das Immuneserum, das man durch stark erhitztes Antigens serum (bei 100°C 30 Minuten) bekam, zeigte nach der Antigenverdünnungsmethode nur die Zustandsspezifität, aber nach der Antikörperverdünnungsmethode ließen sich beide Spezifitäten nachweisen. Ich untersuchte die biologische Beschaffenheit des Serumantigens, das bei 120°C 30 Minuten lang erhitzt wurde, besonders im Hinblick auf die Beziehung zwischen dem 120°C-Eiweiß und diesen chemisch intensiv angegriffenen Eiweißen, wie Jod- und Nitroeiweiße, und erzielte die folgenden Resultate.

### *Versuch 1. Zustandsänderung der Präzipitinogene.*

Um festzustellen, ob die chemisch intensiv eingegriffenen Antigene, wie Jodeiweiß, Nitroeiweiß, nitriertes Jodeiweiß und jodiertes Nitroeiweiß, noch ein geringeres natives Eiweiß enthalten, untersuchte ich mit der Präzipitinreaktion und Komplementbindungsreaktion mittels hochwertigem Immuneserum, das durch mehrmalige Injektionen von nativem Ziegens serum in Kaninchen hergestellt wurde, und das den Titer 1:10,000 nach *U'scher* Methode und die Bindungszone 1:250 und den Verdünnungstiter 1:2,560 nach der Verdünnungsmethode besitzt, wie die Tabelle 1 zeigt. Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, reagiert das Immuneserum positiv mit schwach

chemisch oder physikalisch vorbehandelten Antigenen, wie erhitztes Eiweiß, Alkohol-Eiweiß, Alkali-Hitze-Eiweiß, Formalin-Hitze-Eiweiß, auch mit durch Ferment vorbehandeltem Serumeiweiß wie Pepsin-HCl-Eiweiß, Trypsin-Eiweiß, aber gar nicht mit chemisch intensiv eingegriffenem Serumeiweiß, wie Jodeiweiß, Nitroeiweiß, nitriertes Jodeiweiß, jodiertes Nitroeiweiß. Analog der chemischen Einwirkung ist auch die physikalische Einwirkung auf Antigene, weil mit steigender Temperaturwirkung sich die Reaktionsfähigkeit der Antigene mit diesem Immunserum vermindert und das 120°C-Eiweiß nicht mehr reagiert. Durch Chemikalien und Ferment vorbehandeltes Eiweiß zeigt eine etwas weniger starke Reaktionsfähigkeit als erhitztes Eiweiß und es bleibt dabei eine 0.78 - 25%ige Originalantigenität bestehen. Mittels Komplementbindungsreaktion können diese Tatsachen auch erklärt werden, und diese chemisch intensiv eingegriffenen Eiweiße konnten keine positive Reaktion zeigen. Hier kann man sagen, daß die Zustandsänderung der Präzipitinogene nicht so leicht erzielbar ist, und daß besonders bei Verwendung von hoch immunisiertem Serum der positiv reagierbare Stoff mehr oder weniger zurückbleibt. Aber das Jodeiweiß, Nitroeiweiß, usw. enthalten keine Substanzen, die mit diesem Immunserum reagieren können.

Ich möchte diese Beziehung mit spezifischem Immunserum umgekehrt nachweisen (Tabelle 1 u. 2).

Tabelle 1. Antiziegenkaninchenimmunserum.

Antig. verd.	Antik. verd.	—	40	80	160	320	640	1,280	2,560	5,120
		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
1: 10		###	###	###	###	###	##	—	—	—
1: 25		###	###	###	###	###	##	—	—	—
1: 50		###	###	###	###	###	###	##	—	—
1: 100		###	###	###	###	###	###	##	+	—
1: 250		###	###	###	###	###	###	##	++	—
1: 500		###	###	###	###	###	###	++	++	—
1: 1,000		###	###	##	###	##	++	++	—	—
1: 2,500		##	##	++	+	—	—	—	—	—
1: 5,000		##	++	++	—	—	—	—	—	—
1: 10,000		+								
1: 25,000		—								

Bindungszone: 1:250, Verdünnungstiter: 1:2,560.

Tabelle 2. Reaktion des Antiziegenserums von Kaninchen (Nr. 48) auf verschiedenen Antigenen.

Arten der Antigene	Titer	Präzipitinreaktion				Komplementbin- dungsreaktion		
		U'sche Methode		O'sche Methode		O'sche Methode		
		U'sche Titer	Verwandt. grad %	B.z.	V.t.	Verwandt. grad %	B.z.	V.t.
natives Eiweiß	1 : 10,000	100	1 : 250	1 : 2,560	100	1 : 1,000	1 : 640	100
70°C-Eiweiß	1 : 2,000	20	1 : 100	1 : 3,320	12.5	1 : 250	1 : 160	25
100°C-Eiweiß	1 : 100	1	1 : 50	1 : 20	0.78	1 : 100	1 : 10	1.5
120°C-Eiweiß	0	0	—	—	0	—	0	0
Alkohol-Eiweiß	1 : 5,000	50	1 : 250	1 : 640	25	1 : 500	1 : 160	25
A.-H.-Eiweiß	1 : 800	8	1 : 250	1 : 160	6.25	/	/	/
F.-H.-Eiweiß	1 : 1,000	10	1 : 250	1 : 160	6.25	/	/	/
P.-H.-Eiweiß	1 : 200	2	1 : 100	1 : 160	6.25	/	/	/
Trypsin-Eiweiß	1 : 2,500	25	1 : 100	1 : 640	25	/	/	/
Jod-Eiweiß	0	0	—	0	0	—	0	0
Nitro-Eiweiß	0	0	—	0	0	—	0	0
n. Jod-Eiweiß	0	0	—	0	0	—	0	0
j. Nitro-Eiweiß	0	0	—	0	0	—	0	0

A.-H.-Eiweiß = Alkali-Hitze-Eiweiß, F.-H.-Eiweiß = Formalin-Hitze-Eiweiß, P.-H.-Eiweiß = Pepsin-HCl-Eiweiß, n. Jod-Eiweiß = nitriertes Jodeiweiß, j. Nitro-Eiweiß = jodiertes Nitroeiweiß.

### Versuch 2. Antiserum von übererhitzten (120°C) Serumantigenen.

M. Makino meinte, daß die Reaktion zwischen Anti-100°C-Eiweißimmenserum mit nativem Serum von allen Tieren immer negativ bleibt, während die Reaktion zwischen diesen mit Hitze, Alkohol und Karbol vorbehandeltem Serum von nahen und sogar entfernten Spezies positiv geht. Dabei wird die Artspezifität deutlicher. Er stellte fest, daß bei der Benützung des Immenserums, das mit dem bei 100°C 30 Minuten lang erhitzten Serum hergestellt wurde, die Artspezifität durch die Zustandsspezifität nach U'scher Methode beinahe bedeckt wurde. Aber nach der Antikörperverdünnungsmethode sind sowohl die Zustandsspezifität als auch die Artspezifität nachweisbar.

Um diese interessante Tatsache weiter zu prüfen, habe ich ein solches Serum hergestellt, das mit Ziegen-120°C-Eiweiß hergestellt wurde, und das den Titer 1 : 1,000 nach U'scher Methode und die Bindungszone 1 : 500 und den Verdünnungstiter 1 : 64 nach O'scher Methode besitzt. Ich habe schon aus dem Versuche 1 erkannt, daß

das Ziegen-120°C-Eiweiß mit dem hoch immunisierten Antiziegenimmunserum keine, auch nicht einmal eine schwache Präzipitinreaktion zeigt. Deshalb kann man vermuten, daß eine dem nativen Eiweiß entsprechende Substanz in dem Ziegen-120°C-Eiweiß nicht mehr vorhanden ist. Mittels der Präzipitin und Komplementbindungsreaktion untersuchte ich die Reaktionen zwischen diesem Immunserum und dem 120°C-Eiweiß von allen Tieren, Rindern, Schweinen, Pferden, Meerschweinchen, Kaninchen, Hühnern oder nativem Serum. Nach U'scher Methode zeigt das Hauptantigen, Ziegen-120°C-Eiweiß, den Titer 1 : 1,000, das Rinder-120°C-Eiweiß den gleichen Titer, Schwein- und Pferde-120°C-Eiweiß zeigten einen 50%igen Verwandtschaftsgrad und Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühner-120°C-Eiweiß konnten nicht einmal mehr eine schwache positive Reaktion nachweisen. Nach O'scher Methode reagiert das Hauptantigen Ziegen-120°C-Eiweiß viel stärker als andere 120°C-Eiweißantigene. Rinder-120°C-Eiweiß zeigt einen 50%igen Verwandtschaftsgrad und den Titer 1 : 32. Schwein- und Pferde-120°C-Eiweiß zeigten den Titer 1 : 16. Das Meerschweinchen-, Kaninchen-, und Hühner-120°C-Eiweiß reagierten ganz negativ. Doch die Zustandsänderung bei 120°C-Eiweiß ist nicht vollkommen, weil das entsprechende Antiserum mit nativem Mutterserum und dem nahe verwandten nativen Rinderserum positiv reagiert. Nach Absättigung dieses Immunserums mit dem nativen Mutterserum im Mengenverhältnisse von 1 (Immunserum) : 0.03 (Antigen) versuchte ich nocheinmal die Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion. Dabei bleibt die Reaktion des Abgußserums auf erhitztem Eiweiß beinahe unverändert, ausgenommen bei Ziegen- und Rinder-120°C-Eiweiß. Auf Grund dieser Reaktion kann man vermuten, daß die Antikörperbildende Kraft bei Erhitzung auf 120°C noch unverändert bleibt und das Antiserum mit nativen Antigenen reagiert oder nach Absättigung mit nativem Serum die Verminderung der Reagierbarkeit bemerkbar ist, und die Zustandsspezifität des erhitzten Serums nicht deutlich nachgewiesen werden kann. Aus der obigen Untersuchung möchte ich über die Zustandsspezifität der hoch erhitzten Sera zusammenfassend kurz folgendes schließen. Das auf 120°C erhitzte Serumantigen zeigt einerseits als Präzipitinogen andererseits als Immunogen eine neue Eigenschaft, die noch deutlicher als beim auf 100°C erhitzten Antigen nachweisbar ist. Dabei wird die Artspezifität des Immunserums viel undeutlicher gegenüber den gleich vorbehandelten Serumantigenen. Das Antiserum von übererhitzten Antigenen reagiert jedoch schwach positiv mit den nativen Muttersera. Deswegen ist diese Zustandsspezifität nicht absolut, eine Tatsache, die ich im folgenden stufenweise nachweisen werde. (Tabelle 3.)

Tabelle 3. Antiziegen-120°C-Eiweißimmunserum.

Reaktion Antigen Verd. Arten der Antigene.	U'sche Methode				Präzipitinreaktion				Komplementbindungsreaktion						
	Verwandt. grad. %				Antik. verd. B.z.	O'sche Methode				Antik. verd. B.z.	O'sche Methode				
	1 : 250	1 : 500	1 : 1,000	1 : 2,500		2	4	8	16		32	64	128	Verwandt. grad. %	
Ziegen-120°C-Eiweiß	/	##	++	—	500	##	##	##	—	100	/	+	+	—	100
Rinder	/	##	++	—	500	##	##	##	—	50	/	+	+	—	50
Schwein	/	+	—	—	250	##	##	##	—	25	/	+	+	—	25
Pferd	/	+	—	—	250	##	##	##	—	25	/	+	+	—	25
Meerschw.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	/	—	—	—	0
Kaninch.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—
Huhn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—
Ziegenserum	++	—	—	—	500	++	+	—	—	6.25	/	—	—	—	0
Rinderserum	++	—	—	—	—	++	—	—	—	3	/	—	—	—	—
Nach der Absättigung mit Ziegenserum (1 : 0.03)															
Ziegen-120°C-Eiweiß	++	+	—	—	500	##	##	##	+	100	/	+	+	—	100
Rinder	++	+	—	—	500	##	##	##	+	50	/	+	+	—	50
Schwein	++	—	—	—	250	##	##	##	—	25	/	+	+	—	0
Pferd	+	—	—	—	250	##	##	##	—	25	/	+	+	—	—
Meerschw.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	/	—	—	—	—
Kaninch.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—
Huhn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—
Ziegenserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	/	—	—	—	—
Rinderserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—

*Versuch 3. Reaktion des Antiserums von übererhitzten Antigenserum auf verschiedene Antigene.*

Bei dieser Untersuchung wird der Reaktionsgrad zwischen Antiserum von auf 120°C erhitztem Ziegenserum und verschiedenen vorbehandelten Serumarten ermittelt. Das Ziegenserum wurde physikalisch, chemisch oder biologisch vorbehandelt, und diese vorbehandelten Antigene wurden als Präzipitinogen für Immunpräzipitin, das durch auf 120°C erhitztes Ziegenserum und entsprechendes auf 120°C erhitztes hergestellt wurde, verwandt. Als Kontrolle wurden dabei nicht vorbehandeltes natives Ziegenserum und entsprechendes auf 120°C erhitztes Ziegenserum benützt. Wie vorher angedeutet, geht die Beziehung zwischen Hitzewirkung und Reaktionsgrad ungefähr parallel, d.h. der Präzipitintiter zwischen diesen Immunsera und erhitzten Antigenen ist entsprechend bei 120°C am stärksten und es folgt 100°C-70°C-natives. Nach U'scher Methode kann man sogar die Differenz zwischen auf 120°C und auf 100°C erhitzte Antigene nicht bemerken. Nach der Verdünnungsmethode ist dieser Unterschied sehr deutlich, wie 120°C 100%, 100°C 50%, 70°C 25%, natives 7%.

Tabelle 4. Reaktion des Antiserums von übererhitzten Antigenserum.

Reaktion Arten der Antigene		Präzipitinreaktion			
		U'sche Methode		O'sche Methode	
		U'sche Titer	Verwandt. grad %	B.z.	V.t.
natives Eiweiß	1: 250	25	1: 50	1: 4.5	7
70°C-Eiweiß	1: 400	40	1: 100	1: 16	25
100°C-Eiweiß	1: 1,000	100	1: 250	1: 32	50
120°C-Eiweiß	1: 1,000	100	1: 500	1: 64	100
Alkohol-Eiweiß	1: 400	40	1: 100	1: 16	25
A.-H.-Eiweiß	1: 1,000	100	1: 250	1: 32	50
F.-H.-Eiweiß	1: 1,000	100	1: 250	1: 32	50
Pep.-HCl-Eiweiß	1: 400	40	1: 100	1: 16	25
Trypsin-Eiweiß	1: 400	40	1: 50	1: 16	25
Jod-Eiweiß	0	0	—	0	0
Nitro-Eiweiß	0	„	—	0	„
n. Jod-Eiweiß	0	„	—	0	„
j. Nitro-Eiweiß	0	„	—	0	„

A.-H.-Eiweiß = Alkali-Hitze-Eiweiß, F.-H.-Eiweiß = Formalin-Hitze-Eiweiß, Pep.-HCl-Eiweiß = Pepesin-HCl-Eiweiß, n. Jod-Eiweiß = nitriertes Jodeiweiß, j. Nitro-Eiweiß = jodiertes Nitroeiweiß.

Die Angabe von *Makino* werden in dieser Untersuchung auch bestätigt, da mit Alkohol vorbehandelte Antigene und auf 70°C erhitztes Antigen im Reaktionsgrad gegen dieses Immunserum beinahe gleich stehen. Bei Alkali- oder Formalin-Hitze-Eiweißen konnte ich mit bloß auf 100°C erhitzten Eiweißen nicht differenzieren. Die Fermentwirkung auf Eiweiße hat in diesem Fall sowohl bei Pepsin-HCl- wie als auch bei Trypsinverdauung ungefähr denselben Reaktionsgrad und zeigt 25% zu auf 120°C erhitztes Antigen. Aus dem negativen Erfolg mit dem chemisch intensiv eingegriffenen Eiweißen kann man wohl schließen, daß die von *Obermayer* und *Pick* genannte konstitutive Veränderung ganz anders ist als die durch Hitze hervorgerufene Zustandsveränderung des Serumeiweißes. (Tabelle 4.)

*Versuch 4. Die Reaktion zwischen Antiserum von auf  
120°C erhitztem Rinderserum und verschiedenen  
Serumarten.*

Nach *U'scher* Methode zeigt der Titer bei dem Hauptantigen Rinder-120°C-Eiweiß 1:2,500 und bei Ziegen-, Schwein- und Pferde-120°C-Eiweiß hat man einen ganz gleichen Reaktionsgrad. Bei Meerschweinchen- und Kaninchen-120°C-Eiweiß war die Reaktion etwas schwächer, bei Meerschweinchen-120°C-Eiweiß zeigte sie einen 20%igen und bei Kaninchen-120°C-Eiweiß einen 10%igen Verwandtschaftsgrad, bei nativem Rinderserum einen 20%igen. Nach der Antikörperverdünnungsmethode ist der Präzipitintiter beim Hauptantigen Rinder-120°C-Eiweiß 1:80, bei Ziegen-120°C-Eiweiß 1:40, bei Schwein-, und Pferde-120°C-Eiweiß 1:20, bei Meerschweinchen-120°C-Eiweiß 1:10 und bei Kaninchen-120°C-Eiweiß 1:5. Das Hühner-120°C-Eiweiß hat keine Reaktion mit diesem Immunserum. Das native Rinderserum und Ziegenserum zeigt eine schwache positive Reaktion, aber andere Sera haben keine Reaktionen. Die Bindungszone des Hauptantigens ist 1:500, Ziegen- und Pferde-120°C-Eiweiß haben die gleichen Bindungszonen mit dem Hauptantigen. Die Bindungszone von Schwein-, Meerschweinchen- und Kaninchen-120°C-Eiweiß ist 1:250 und niedriger als die des Hauptantigens. Nach der Absättigung mit Rinderserum im Mengenverhältnisse von 1 (Immunserum) : 0.03 (Antigen) bleibt das Resultat unverändert, wie die Tabelle 5 zeigt, mit Ausnahme bei Schwein- und Pferde-120°C-Eiweiß nach *U'scher* Methode. Mittels der Komplementbindungsreaktion konnte ich Meerschweinchen- und Kaninchen-120°C-Eiweiß wegen der Eigenhemmung des Serums nicht prüfen. Das Rinder-120°C-Eiweiß zeigte den Titer 1:40, das Ziegen-120°C-Eiweiß zeigt einen 25%igen, Meerschweinchen- und Pferde-120°C-Eiweiß zeigte



Tabelle 5. Die Reaktion zwischen Antiserum von auf 120°C erhitzte Rinderserum und verschiedenen Serumarten.

Reaktion		Präzipitinreaktion										Komplementbindungsreaktion															
		U'sche Methode					O'sche Methode					U'sche Methode					O'sche Methode										
		Antigen verd.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.										
Arten der Antigene		1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000		5	10	20	40	80	150		5	10	20	40	80	150		5	10	20	40	80	150
Rinder-120°C-Eiweiß		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Ziegen		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Schwein		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Pferd		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Meerschw.		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Kaninch.		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Hühner		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Rinderserum		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Ziegenserum		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Nach der Absättigung mit Rinderserum (1:0.03)																											
Rinder-120°C-Eiweiß		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Ziegen		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Schwein		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Pferd		##	##	##	##	##	500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Meerschw.		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Kaninch.		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Hühner		##	##	##	##	##	250	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Rinderserum		##	##	##	##	##	0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Ziegenserum		##	##	##	##	##	0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##

keinen Verwandtschaftsgrad. Im allgemeinen geht die Bindungszone im Vergleich zu der des Präzipitintiters über die höhere Verdünnung des Antigens. Bei der Präzipitinreaktion reagiert das Rinder-120°C-Eiweißimmenserum mit dem Kaninchen- und Meerschweinchen-120°C-Eiweiß von entfernten Tierspezies bei beiden Präzipitinversuchen. Nach U'scher Methode kann man Ziegen-, Schwein- und Pferde-120°C-Eiweiß aus dem Hauptantigen nicht unterscheiden, und eine starke Zustandsspezifität ist nachweisbar. Nach O'scher Methode aber kann man das Ziegen-120°C-Eiweiß aus dem hauptantigen klar unterscheiden, und je entfernter die Spezies ist, desto schwächer ist die Reaktionsfähigkeit. Eine Artspezifität ist deswegen bei der Zustandsspezifität auch nachweisbar. Aus der oben erwähnten Tatsache kann man wohl schließen, daß das Rinder-120°C-Eiweiß sowohl eine starke Zustandsspezifität als auch eine Artspezifität besitzt. (Tabelle 5.)

#### *Versuch 5. Versuch mit erhitztem Hühnerserum.*

Im vorigen Experiment habe ich schon die Reaktionen der Sera von Kaninchen, die mit Rinder- und Ziegen-120°C-Eiweiß vorbehandelt waren, auf 120°C-Eiweiße von verschiedenen Säugetieren und Vogelarten (Huhn) untersucht. War also durch obige Experimente die sehr interessante Tatsache festgestellt worden, daß fast alle Sera von mit 120°C-Eiweiß von mehreren Säugetieren immunisierten Kaninchen in 120°C-Eiweiß von verschiedenen Säugetieren, nicht aber in Hühner-120°C-Eiweiß eine Reaktion ergeben, so fragt es sich doch andererseits, wie sich denn Hühner-120°C-Eiweißimmenserum dem 120°C-Eiweiß von Säugetieren gegenüber verhält. Um diese Frage näher zu untersuchen, habe ich ein Kaninchen mit Hühner-120°C-Eiweiß vorbehandelt. Mit dem gewonnenen Antiserum wurde die Präzipitinreaktion angestellt. Wie man aus der Tabelle 6 ersieht, gibt das Hühner-120°C-Eiweißimmenserum eine Reaktion gegen Hühner-120°C-Eiweiß, aber nicht gegen die Antigene von Säugetieren. Nach U'scher Methode zeigt das Hühner-120°C-Eiweiß den Titer 1 : 1,000. Andere 120°C-Eiweißantigene von Säugetieren zeigten keine Reaktionen. Nach O'scher Methode zeigt das Hühner-120°C-Eiweiß den Titer 1 : 32 und die Bindungszone 1 : 250. Aus dem obigen Resultat kann man ersehen, daß die Zustandsänderung des Serumantigens durch Übererhitzung nicht absolut ist, da man zwischen entfernten Serumarten keine gemeinsame Reaktion zustandebringen kann. (Tabelle 6.)

Tabelle 6. Der Versuch mit erhitztem Hühnerserum.

Arten der Antigene	Reaktion  Antigen verd.	Präzipitinreaktion					
		U'sche Methode			O'sche Methode		
		1: 250	1: 500	1: 1.000	1: 2.500	Verwandt. grad %	Antik. verd.
Hühner-120°C-Eiweiß	+++ + -	100	250	### ## + + -	100		
Rinder "	---	0	—	---	0		
Ziege "	---	"	—	---	"		
Schwein "	---	"	—	---	"		
Pferd "	---	"	—	---	"		
Meerschw. "	---	"	—	---	"		
Kaninch. "	---	"	—	---	"		
Hühnerserum	++ ---	25	250	++ + ---	12.5		
Rinderserum	---	0	—	---	0		
Meerschw. serum	---	0	—	---	0		

*Versuch 6. Über die Frage der Isoantikörperbildung durch übererhitzte Antigene.*

Nach dem Versuche von Fürth scheint mir die Isoantikörperbildung durch Koktantigene möglich zu sein, da bei dem Antiserum von Koktantigen mit übererhitztem isogenetischem, d.h. mit demselben Tierserum, das als Immuntier benützt wurde, Serumantigen eine schwache Trübung in der Mischung beobachtet wurde. Dabei immunisierte er Kaninchen mit erhitztem (bei 100°C 5 Minuten lang) Kaninchenserum und die Meerschweinchen mit erhitztem Meerschweinchenserum. Es ist auch eine interessante Tatsache, daß das Antikoktserum, wenn es von entfernten Spezies hergestellt wurde, mit dem Koktserum vom Immuntier ziemlich stark reagieren konnte. Deswegen habe ich diese Frage mit hoch immunisiertem Antiserum von Kaninchen sicher nachgeprüft, wobei ich als Antigene für die Immunisierung isogenetisches auf 120°C erhitztes Kaninchenserum benützte.

Vier Versuchskaninchen injizierte ich wiederholt das Kaninchen-120°C-Eiweiß. Nur bei einem männlichen Tier, Körpergewicht 2300 g, das 8 malige intravenöse und 3 malige subkutane Injektionen erhalten hatte, konnte ich das Präzipitin im Blut nachweisen, und zwar zeigte es 5-11 Tage nach der letzten Injektion veranschaulicht. Die Bindungszone ist 1:500 und der Verdünnungstiter 1:2 für Kaninchen-120°C-Eiweiß. Dieses Präzipitins serum reagiert auch mit Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde- und Meerschweinchen-120°C-Eiweiß, aber ganz und gar nicht mit Hühner-120°C-Eiweiß. Die Reaktion bleibt

auch negativ mit nativem Kaninchenserum. Mittels der Komplementbindungsreaktion erzielte ich auch ein positives Resultat, wie es in der Tabelle 7 gezeigt wird. Bei der Verdünnung (1:500) des Kaninchen-120°C-Eiweißantigens bindet das Immunsrum (1:4) ein wenig. Es ist bemerkenswert, daß bei auf 100°C erhitztem Kaninchenserum die Präzipitinreaktion zwischen isogenetischem Antikörper und Kockantigen beinahe die Reaktionsgrenze zeigt, und daß bei dem noch auf 120°C erhitzte Serum diese Präzipitinreaktion sicher positiv auftritt. (Tabelle 7.)

Tabelle 7. Über die Frage der Isoantikörperbildung durch übererhitzte Antigene.

Arten der Antigene	Antig. verd.		1:250	1:500	1:1,000	1:2,500
	Antik. verd.					
Kaninchen 120°C-Eiweiß	1:1		##	##	+	—
	1:2		##	##	+	—
	1:4		##	+	±	—
	1:8		+	+	—	—
	1:16		—	—	—	—
Rinder 120°C-Eiweiß	1:1		##	##	±	—
	1:2		+	+	—	—
	1:4		—	—	—	—
Ziegen 120°C-Eiweiß	1:1		##	+	+	—
	1:2		±	+	—	—
	1:4		—	—	—	—
Schwein 120°C-Eiweiß	1:1		##	##	+	—
	1:2		+	+	—	—
	1:4		—	—	—	—
Pferd 120°C-Eiweiß	1:1		##	+	+	—
	1:2		±	+	—	—
	1:4		—	—	—	—
Meerschwein. 120°C-Eiweiß	1:1		##	##	+	—
	1:2		+	+	+	—
	1:4		±	+	—	—
	1:8		—	—	—	—
Hühner 120°C-Eiweiß	1:1		—	—	—	—
	1:2		—	—	—	—
Komplementbindungsreaktion						
Kaninchen 120°C-Eiweiß	1:1		/	/	/	/
	1:2		/	/	/	/
	1:4		+	+	±	—
	1:8		—	—	—	—

*Kurze Zusammenfassung.*

Die Reaktionsfähigkeit des antinativen Immunserums auf entsprechende Antigene wird allmählich abgeschwächt, wenn die Eiweißantigene durch Hitze, Chemikalien, und proteolytische oder oxydative Spaltung vorbehandelt werden. Aus meinem Experiment wird dies klar nachgewiesen, weil das stark erhitzte 120°C-Eiweiß und die chemisch intensiv eingegriffenen Eiweiße, wie Jodeiweiß und Nitroeiweiß, die *Obermayer* und *Pick* die konstitutiv zustandsveränderten Eiweiße nannten, auf antinatives Immunserum nicht reagieren. In dem nativen Eiweiß wird bei Zustandsänderung durch intensive chemische Wirkung die originale Antigenität als Präzipitinogen verändert. Es ist jedoch ein Unterschied zwischen Immunogen und Präzipitinogen derselben Antigene in vieler Hinsicht vorhanden. Das gilt auch von meinem Antiserum von auf 120°C erhitztem Serumantigen. Das 120°C-Eiweißantiserum reagiert stark mit den durch Chemikalien und Ferment vorbehandelten und es zeigt sogar mit dem nativen Eiweiß eine schwache positive Reaktion. Man kann wohl daraus schließen, daß das Antiserum von stark veränderten Antigenen einerseits die spezifische Reaktion zwischen entsprechenden Antigenen stark zeigt, andererseits schwächer mit den Antigenen, bei denen auf ganz andere Weise die Zustandsänderung hervorgerufen wird, reagiert und endlich mit originalem nativem Serum eine nur sehr geringe positive Reaktion erzeugen kann. Interessanterweise können die chemisch intensiv eingegriffenen Eiweiße, wie Jodeiweiß und Nitroeiweiß, mit dem Anti-120°C-Eiweißimmunserum gar nicht reagieren. So scheinen diese Eiweiße eine ganz andere, veränderte Beschaffenheit zu haben, die unabhängig von der durch starke Erhitzung herbeigeführten Zustandsveränderung ist. Ferner untersuchte ich den Reaktionsgrad der 120°C-Eiweiße von verschiedenen Tieren mit dem Antiziegen-, Antirinder- und Antihühner-120°C-Eiweißimmunserum. Die 120°C-Eiweiße von nahen und auch von entfernten Spezies reagieren ziemlich stark mit dem Immunserum, und die 120°C-Eiweiß von nahen Spezies waren gelegentlich von dem Hauptantigen durch Präzipitinreaktion besonders nach *U*'scher Methode schwer zu unterscheiden. Aus der bemerkenswerten Tatsache, daß das 120°C-Eiweiß von Kaninchen ein Isoantikörper bilden kann, kann man das Vorhandensein einer spezifischen Antigenität des 120°C-Eiweiße, d.h. eine Zustandsspezifität desselben, ohne weiters annehmen. Andererseits ist noch die Artspezifität bei diesen erhitzten Antigenen vorhanden, weil, je mehr die Spezies aus dem Hauptantigen entfernt ist, desto schwächer der Reaktionsgrad wird.

Nach der Antikörperverdünnungsmethode ist diese Beziehung

durch Präzipitintiter leicht unterscheidbar. Sie ist auch durch die Reaktion zwischen Vögelerum und Säugetierserum nachweisbar, weil die Antikörper durch beide erhitzte Sera keine positive Reaktion zwischen den beiden Sera, die gleicherweise stark erhitzt wurden, zeigen. Mit anderen Worten: es scheint die Zustandsänderung des Serums durch starke physikalische Hitzewirkung als Präzipitinogen absolut zu sein, jedoch ist diese Zustandsänderung aus der Artspezifität oder aus der Immunkörper bildenden Fähigkeit als relative Änderung des Eiweißes zu erklären.

### Experiment 2. Über die chemische Zustandsspezifität.

Die Zustandsveränderung der großmolekularen Systeme führen eine Änderung der spezifischen Antigenwirkung herbei, wie z. B. Alkalbuminatbildung, die ja zum Teil auch beim Erhitzen statt, Azidalbuminbildung, die Einwirkung von Formaldehyd auf Eiweiße oder die längere Einwirkung von Stoffen, welche das Eiweiß durch Förderung der Bildung größerer Molekularkomplexe in ähnlicher Weise verändert wie die Hitzewirkung, so z. B. die langsame Einwirkung von Toluol oder Chloroform. Der Eintritt von Metallionen, wie Blei, Eisen, Quecksilber, in das Bakterieneiweiß ändert ebenfalls in ähnlichem Sinne wie das Erhitzen der Bakterien die Spezifität derselben, wie sich dies in dem Agglutinationsvermögen der betreffenden Immunsera ausdrückt (*O. Schwarz*). Alle diese Prozesse bewirken keine durchgreifende Änderung der Struktur des Eiweißes, sondern nur eine Zustandsänderung, die, wenn auch zweifellos mit chemischen Prozessen einhergehend, der Hauptsache nach das physikalisch-chemische Gefüge des großen Moleküls ändern und dadurch die Spezifität des Antigens beeinflussen kann. *Schmidt* behauptete, daß die Präzipitinogenität des Serumeiweißes sofort nach der Einwirkung der 1/2 normalen Natronlaugelösung, und 7 Stunden nach der Einwirkung der 1/40 normalen Natronlaugelösung verändert wird. *Takazawa* studierte die Verminderung der Präzipitinogenität durch die Einwirkung des Formalins und meinte, daß der Verminderungsgrad der Präzipitinogenität den Mengen und der Reaktionstemperatur proportional sei. *Kodama* studierte ebenfalls die Antigenitätsverminderung des Serumeiweißes bei der Komplementbindungsreaktion und sagte, daß der Verminderungsgrad dem Prozentgehalt und der Einwirkungsdauer der Chemikalien proportional sei. *Michaelis* und *Oppenheimer* wiesen experimentell nach, daß wenn 10 cc Rinderserum mit 1 cc normaler Natronlauge und 0.3 g Pepsin (Riedel) 30 Minuten lang stehen gelassen wurden, die Präzipitinogenität mit Antirinderserum ganz erloschen war. Weiter bestätigten sie, daß durch Verdauung bei 1 cc von 20%igem Rinderserum, mit verschiedenen Mengen von 5%igen Trypsinlösung 40 Stunden lang bei 37°C stehen gelassen, die Präzipitinogenität allmählich vermindert wird und bei der Benützung von 0.25 cc Trypsin ganz erloschen ist. *Oppenheimer* verdaute das Serumeiweiß mit Trypsin und berichtete, daß die Präzipitinreaktion mit Anticiereiweißimmunsersum stark abgeschwächt wurde. *Haku* wies die Präzipitinogenitätsverminderung des Serums in der Weise nach, daß 1 cc von 10%igen nativen Pferdeserum mit 1 cc von 10%igem Trypsin (Merk) 4 Stunden lang bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt wurde. Die Präzipitinogenität nach *U'scher*

Methode zeigt dann die Herabsetzung des Tieres um ein Viertel. Nach der Antikörperverdünnungsmethode bleibt der Präzipitintiter unverändert, aber die Bindungszone geht allmählich über die niedrige Verdünnung des Antigens und die Verhältnisse stimmen mit dem U'schen Präzipitintiter überein. Weiterhin bestätigte er, daß bei Digerierung, wenn 1 cc von 20%igem Pferdeserum mit 1 cc von 10%igem Trypsin 24 Stunden lang bei 37°C stehen gelassen wird, der U'sche Präzipitintiter eine ein Viertel Verminderung, und nach 48 Stunden eine ein Achtel Verminderung zeigt. Er verglich die Zustandsveränderung durch Trypsinverdauung mit der durch Salzsäure herbeigeführten Zustandsveränderung des Serumeiweißes. Der Zustand des Serumeiweißes wird zweifellos durch Salzsäure verändert, aber nicht ganz zerstört oder nicht zu anderen Substanzen verwandelt. Solch verändertes Serumeiweiß reagiert noch gut mit Antinativeiweißimmunserum. Die Zustandsveränderung ist ganz ebenso wie die des durch Hitze herbeigeführten Serumeiweißes. Dabei zeigt sich eine Verminderung des Verdünnungstiters, aber nicht beim U'schen Präzipitintiter. Infolgedessen schloß er, daß die Untersuchung der Zustandsänderung des Antigens immer und ausnahmslos durch die Antikörperverdünnungsmethode ausgeführt werden müsse. Bei der Zerstörung des Antigens, wie durch Trypsinverdauung des Eiweißes geht die Herabsetzung der Präzipitinogenität mit der Verminderung des U'schen Präzipitintiters und mit der Erniedrigung der Bindungszone parallel, aber der Verdünnungstiter wird nicht beeinflusst. Verhältnismäßig gut kann man die Zustandsänderung des Serumeiweißes von der Zustandsveränderung durch Trypsin unterscheiden.

*Obermayer* und *Pick* beobachteten eine Änderung der konstitutiven Spezifität durch die Trypsinverdauung, indem sie durch Trypsinverdauung von koaguliertem Rinderserumeiweiß oder Eiereiweiß selbst nach langdauernder tryptischer Einwirkung, die in einzelnen Fällen bis zum Schwund der Biuretreaktion fortgesetzt wurde, noch Präzipitinogene erhielten, die imstande waren, ein Immunserum zu erzeugen, das nahezu ausschließlich mit dem tryptischen Spaltungsgemisch und gar nicht oder nur sehr schwach mit dem Ausgangseiweißkörper reagierte; dagegen blieb in diesen Fällen die originäre Gruppierung völlig erhalten, was sich dadurch kundgab, daß dasselbe Immunserum nicht imstande war, mit den Trypsinverdauungsprodukten, die aus Pferdeserumeiweiß erhalten worden waren, einen spezifischen Niederschlag zu liefern. Zu den durch Substitutionsprozesse bedingten Änderungen der konstitutiven Spezifität scheinen *Pick* auch die von *Dungern* und *Coca* ausgeführten Hämolyseversuche mit durch Osmium veränderten roten Blutkörperchen in näherer Beziehung zu stehen. *Dungern* und *Coca* fixierten durch Behandlung mit Osmiumsäure Rinderblutkörperchen derart, daß sie durch destilliertes Wasser nicht mehr gelöst wurden, und immunisierten mit den so veränderten roten Blutkörperchen Kaninchen; Das mit Osmiumblut erzeugte Hämolyse löste viele stärker osmierte Blutkörperchen als das normale Immunhämolyse, während in der Einwirkung auf normale Blutkörperchen kein nennenswerter Unterschied der beiden Immunsera zu konstatieren war.

Die experimentellen Grundlagen für die konstitutiven Spezifitäten werden durch nachfolgende Tatsachen angegeben: jodiert oder nitriert man Eiweißkörper, so werden die antigenen Eigenschaften des Eiweißkörpers in Bezug auf die Immunkörper bildende Fähigkeit nicht zerstört, sondern nur in ihrer Spezifität derart verändert, daß die Artspezifität des betreffenden Eiweißes mit einem Schlage verschwunden ist. Dies erhellt am sichersten daraus, daß solche substituierten Eiweißantigene nunmehr

imstande sind, auch bei jener Tierart, der sie selbst entstammen, immunisatorisch zu wirken, sich also so verhalten wie artfremde Antigene. Stellt man z.B. aus Kaninchenserumeiweiß durch Vorbehandlung desselben mit konzentrierter Salpetersäure ein Nitroeiweiß, das sogenannte Xanthoprotein her, so gelingt es leicht, mit demselben Kaninchen zu immunisieren und ein Immunpräzipitin zu erhalten, das sich in seiner Wirkung durchaus nicht von einem Präzipitin unterscheidet, welches mit einem Xanthoprotein einer artfremden Abstammung hergestellt worden war; beide so gewonnene Immunsera vermögen mit den Xanthoproteinen der ganzen Tierreihe zu präzipitieren, während sie die Fähigkeit, mit dem normalen Serumeiweiß zu präzipitieren, mehr oder weniger eingebüßt haben. Ähnliche Verhältnisse bieten die jodierten Eiweißkörper dar. Man kann so Jod in Xanthoprotein, andererseits Nitrogruppen in Jodeiweiß einführen, und ersieht, daß schon durch diese wenigen Prozesse eine relativ große Variationsfähigkeit der Antigene erzielt werden kann, welcher auch im großen und ganzen ein Wechsel der Spezifität entspricht. Recht deutlich zeigt sich die Abhängigkeit der Spezifität von den hintereinander eingeführten Gruppen, wenn man die so vorbehandelten Antigene als Präzipitinogene verwendet und die erhaltenen Immunsera einmal mit den einfach, das andere Mal mit den mehrfach substituierten Eiweißderivaten in Reaktion treten läßt; die spezifische Präzipitatbildung läßt dann erkennen, in welcher Weise die eingeführten Gruppen die Spezifität beeinflusst haben. Man ersieht leicht, daß jeder Eingriff eine besondere Spezifität schafft, und daß auch die Reihenfolge der Substitution nicht gleichgültig ist und ihren Ausdruck in der Spezifität findet; so unterscheidet sich schon sehr wesentlich das jodierte Xanthoprotein vom nitrierten Jodeiweiß in seinen biologischen Eigenschaften, ebenso wie auch diese beiden Produkte sich in ihren spezifischen Eigenschaften von dem einfach substituierten Jodeiweiß oder Xanthoprotein scharf sondern.

Die angeführten von *Obermayer* und *Pick* mittels der Präzipitinreaktion experimentell festgestellten Tatsachen sind in dankenswerter Weise zunächst von *H. Freund* an jodiertem Eiweiß nachgeprüft und durchaus bestätigt worden; auch *Freund* fand, daß die Antikörper, welche durch Jodeiweißinjektion erzielt werden, mit Jodeiweiß ohne Unterschied der Abstammung, sogar mit jodiertem arteigenen Eiweiß reagieren, und schließt aus seinen Versuchen, daß der artspezifische Atomkomplex an die aromatischen Kerne des Eiweißmoleküls gebunden ist. Wie aus den oben erwähnten Tatsachen ersichtlich ist, nennt man theoretisch die konstitutive Spezifität, die mit den struktur-chemischen Aufbau des Moleküls zusammenhängt und mehr oder weniger durch intensive chemische Eingriffe beeinflussbar ist. Man nennt auch die Zustandsspezifität, bei der die Artspezifität immer intakt bleibt, und die mit dem physikalisch-chemischen Zustand des Gesamtmoleküls zusammenhängt.

Bei dem Jodeiweiß und Nitroeiweiß, die nach *Obermayer* und *Pick* Vertreter der konstitutiven Spezifität sind, habe ich die Beziehung zwischen der Zustands- und Artspezifität mittels der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion untersucht.

### *Versuch 1. Antiziegenjodeiweißimmunserum.*

Schon habe ich erwähnt, daß das stark erhitzte 120°C-Eiweiß biologisch keine Beziehung zu den chemisch intensiv eingegriffenen Eiweißen hat, und berichtet, daß diese Eiweiße eine ganz andere Beschaffenheit haben als das 120°C-Eiweiß. In diesem Experiment



habe ich bei Antiziegenjodeiweißimmunserum die biologische Beziehung zwischen den durch Hitze, Chemikalien und Ferment vorbehandelten Eiweißen und diesen chemisch intensiv vorbehandelten Eiweißen und die Spezifitätsveränderung durch Versuchsanordnung in diesem Jodeiweiß und Nitroeiweiß untersucht. Ich bekam ein Antiziegenjodeiweißimmunserum, das durch 6-malige intravenöse und 2-malige subkutane Injektionen von 10 cc Ziegenjodeiweißlösung, die 0.5 g Jodeiweißpulver enthält, hergestellt wurde, und das den Titer 1 : 2,500 nach U'scher Methode, den Verdünnungstiter 1 : 128 und die Bindungszone 1 : 250 nach der Antikörperverdünnungsmethode besitzt, wie die Tabelle 8 zeigt.

Wie aus der Tabelle 9 ersichtlich ist, zeigt das Rinderjodeiweiß nach U'scher Methode den Titer 1 : 2,500 und einen 100%igen Verwandtschaftsgrad. Andere Jodeiweiße von 4 Säugetieren, Schwein, Pferde, Meerschweinchen und Kaninchen, zeigen einen 50%igen Verwandtschaftsgrad. Das Hühnerjodeiweiß besitzt auch den Titer 1 : 1,000 und zeigt den gleichen Verwandtschaftsgrad bei den 4 Säugetieren. Bei diesem Experiment hat das native Ziegen Serum interessanterweise gar keine positive Reaktion mit diesem Immunserum. Nach der Antikörperverdünnungsmethode reagiert das Ziegenjodeiweiß mit dem Titer 1 : 128, Rinder- und Schweinjodeiweiß haben einen 50%igen Verwandtschaftsgrad. Pferde-, Kaninchen- und Meerschweinchenjodeiweiße zeigen den Titer 1 : 32, das Hühnerjodeiweiß zeigt eine mäßige positive Reaktion und besitzt einen 12.5%igen Verwandtschaftsgrad. Die Bindungszone von Ziegen-, Rinder- und Schweinjodeiweiß ist 1 : 250, die Bindungszone von anderen Antigenen 1 : 100. Bei diesem Versuche haben Ziegen Serum und Rinderserum keine positive Reaktion, daher bedarf es nicht des Absättigungsverfahrens.

Bei der komplementbindungsreaktion ist das Resultat fast ebenso wie bei der Präzipitinreaktion. Mit diesem Immunserum reagiert das Ziegenjodeiweiß mit dem Verdünnungstiter 1 : 64. Das Rinderjodeiweiß zeigt einen 50%igen, das Hühnerjodeiweiß sogar einen 12.5%igen Verwandtschaftsgrad. Mittels der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion kann ich bestätigen, daß dieses Antiziegenjodeiweißimmunserum nicht nur mit dem Jodeiweiß von Säugetieren, sondern auch stark mit dem Jodeiweiß von Vögelarten (Huhn) reagieren kann. Nach U'scher Methode reagiert das Rinderjodeiweiß bei dem gleichen Titer des Hauptantigens, und alle anderen fünf Jodeiweißantigene haben den gleichen Verwandtschaftsgrad. So wird die Artspezifität durch die starke Zustandsspezifität bedeckt. Nach der Antikörperverdünnungsmethode ist das Rinderjodeiweiß leicht unterscheidbar von dem Hauptantigen, das Hühnerjodeiweiß

zeigt einen 12.5%igen Verwandtschaftsgrad und ist biologisch von den Jodeiweißen von Säugetieren unterscheidbar. Nach der Antikörperverdünnungsmethode kann man bei Ziegenjodeiweiß eine schwache, aber nennenswerte Artspezifität unter der starken Zustandsspezifität nachweisen. (Tabelle 8 und Tabelle 9.)

Tabelle 8. Antiziegenjodeiweißimmunerum.

Präzipitinreaktion									Komplementbindungsreaktion									
Antik. verd.									Antik. verd.									
	-	4	8	16	32	64	128	256		-	4	8	16	32	64	128		
Antig. verd.	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	Antig. verd.	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
1: 100	###	###	###	###	###	++	+	-		1: 100	/	/	+	+	+	+	-	
1: 250	###	###	###	###	###	++	+	-		1: 250	/	/	+	+	+	+	-	
1: 500	###	###	###	###	++	++	-	-		1: 500	/	/	+	+	+	+	-	
1: 1,000	++	++	++	+	-	-	-	-		1: 1,000	/	/	+	+	-	-	-	
1: 2,500	+	+	-	-	-	-	-	-		1: 2,500	/	/	+	-	-	-	-	
1: 5,000	-	-	-	-	-	-	-	-		1: 5,000	/	/	-	-	-	-	-	
	Bindungszone 1: 250									Bindungszone 1: 500								
	Verdünnungstiter 1: 128									Verdünnungstiter 1: 64								

*Versuch 2. Reaktion des Antiziegenjodeiweißes auf verschiedene vorbehandelte Ziegeneiweiße.*

Nach U'scher Methode reagiert das nitrierte Ziegenjodeiweiß mit einem 40%igen Verwandtschaftsgrad und zeigt den Titer 1:1,000, das jodierte Ziegennitroeiweiß zeigt eine schwache positive Reaktion und den Titer 1:250. Jedoch hat das Nitroeiweiß keine positive Reaktion. Andere, durch Ferment, Chemikalien, und Hitze vorbehandelte Eiweiße zeigen gar keine oder nicht einmal eine schwache positive Reaktion mit diesem Immunerum. Nach der Antikörperverdünnungsmethode vermindert sich der Reaktionsgrad des nitrierten Jodeiweißes und jodierten Nitroeiweißes. Das nitrierte Jodeiweiß besitzt die Bindungszone 1:250 und den Verdünnungstiter 1:8, das jodierte Nitroeiweiß zeigt einen 6%igen Verwandtschaftsgrad und besitzt den Titer 1:4 und die Bindungszone 1:250. Andere Antigene haben keine Reaktion mit diesem Immunerum, wie bei der U'schen Methode. Aus der Tatsache, daß die chemisch intensiv eingegriffenen Eiweiße, z.B. nitriertes Jodeiweiß und jodiertes Nitroeiweiß, eine Reaktionsfähigkeit mit diesem Immunerum haben, kann man wohl auf die Existenz von struktur-chemisch gemeinschaftlichen

Tabelle 9. Antiziegenjodeiweißimmunsrum.

Reaktion Antigen- verd. Arten der Antigene	Präzipitinreaktion				Komplementbindungsreaktion			
	U'sche Methode		O'sche Methode		U'sche Methode		O'sche Methode	
	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.
Ziegen-Jodeiweiß	100 250 500 1000 2500 5000	250	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	1000	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	1000
Rinder	100 250 500 1000 2500 5000	250	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	1000	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	1000
Schwein	100 250 500 1000 2500 5000	250	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	1000	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	1000
Pferd	100 250 500 1000 2500 5000	100	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	500	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	500
Meerschwein.	100 250 500 1000 2500 5000	100	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	500	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	500
Kaninchen	100 250 500 1000 2500 5000	100	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	250	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	250
Hühner	100 250 500 1000 2500 5000	100	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	250	100 50 25 12.5	100 50 25 12.5	250
Ziegen Serum	100 250 500 1000 2500 5000	0	0	0	—	0	0	0
Rinderserum	100 250 500 1000 2500 5000	0	0	0	—	0	0	0

Substanzen mit dem Jodeiweiß schließen, und der negative Ausfall beim Nitroeiweiß ist hinreichend, die folgenden Ergebnisse zu erklären, daß nämlich das Nitroeiweiß durch Einführung von Nitrogruppen zu einem ganz andere Molekularstruktur besitzenden Eiweiß verändert wird. Bei dem vorigen Experiment reagierten dieses Jodeiweiß und jodiertes Nitroeiweiß nicht mit einem solchen Immuns serum, das durch mit Hitze vorbehandeltes 120°C-Eiweiß hergestellt wurde. Bei diesem Experiment wurde festgestellt, daß das Jodeiweiß biologisch etwas anderes ist als die durch Hitze, Chemikalien, und Ferment vorbehandelten Eiweiße. (Tabelle 10.)

Tabelle 10. Reaktion des Antiziegenjodeiweißes auf verschiedenes vorbehandeltes Ziegeneiweiß.

Untersuchungs- methode	U'sche Methode		O'sche Methode							
	Antigen- verd.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.						
				2	4	8	16	32	64	128
Arten der Antigene	1: 250 1: 500 1: 1,000 1: 2,500 1: 5,000			1: 2 1: 4 1: 8 1: 16 1: 32 1: 64 1: 128						
Ziegen Jod-Eiweiß	###++-	100	250	###++++	+	+	+	+	+	100
„ n. Jod-Eiweiß	+++--	40	250	###+---						12.5
„ j. Nitro-Eiweiß	+-----	10	250	++-----						6
„ Nitro-Eiweiß	---	0	—	---						0
„ Trypsin-Eiweiß	---	„	—	---						„
„ P.-H.-Eiweiß	---	„	—	---						„
„ F.-H.-Eiweiß	---	„	—	---						„
„ A.-H.-Eiweiß	---	„	—	---						„
„ Alkohol-Eiweiß	---	„	—	---						„
„ 120-Eiweiß	---	„	—	---						„
„ natives Eiweiß	---	„	—	---						„

### Versuch 3. Antirinderjodeiweißimmuns erum.

Bei Antirinderjodeiweißimmuns erum zeigt das Hauptantigen, Rinderjodeiweiß, den Titer 1:10,000 nach U'scher Methode, das Ziegenjodeiweiß besitzt einen 100%igen Verwandtschaftsgrad und das Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und Kaninchenjodeiweiß haben einen 50%igen und das Hühnerjodeiweiß einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Rinderserum und Ziegenserum ergeben keine Reaktion mit diesem Immuns erum. Nach der Antikörperverdün- nungsmethode besitzt das Hauptantigen, Rinderjodeiweiß, den Ver-

dünnungstiter 1 : 64, Ziegenjodeiweiß hat einen 50%igen, das Schwein-, Pferde- und Meerschweinchenjodeiweiß zeigen einen 25%igen Verwandtschaftsgrad, das Kaninchenjodeiweiß zeigt einen 12.5%igen und das Hühnerjodeiweiß einen 6.25%igen Verwandtschaftsgrad. Bei diesem Versuch hat das Rinderserum keine Reaktion mit diesem Immunserum. Die Bindungszone ist 1 : 1,000 beim Hauptantigen, 1 : 500 bei Ziegen-, Schwein- und Pferdejodeiweiß. Andere Antigene haben die Bindungszone 1 : 250. Das Resultat bei der Komplementbindungsreaktion ist fast ebenso wie bei der Präzipitinreaktion. Das Rinderjodeiweiß zeigt den Titer 1 : 32, das Ziegenjodeiweiß hat einen 50%igen, das Schwein-, Pferde- und Meerschweinchenjodeiweiß haben einen 25%igen, das Kaninchenjodeiweiß hat einen 12.5%igen Verwandtschaftsgrad, und das Hühnerjodeiweiß kann wegen der Eigenhemmung des Serums keine positive Reaktion zeigen. Mittels Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion vermag das Antirinderjodeiweißimmunserum mit den Jodeiweißen von allen Säugetieren, sogar mit dem Immuntier-(Kaninchen)-jodeiweiß, ferner mit dem Hühnerjodeiweiß zu reagieren. Es ist beachtenswert, daß das Immunserum von Jodeiweiß gegen das native Eiweiß nicht reagieren kann.

Aus den folgenden Tatsachen, daß nach *U*'scher Methode das Ziegenjodeiweiß einen gleichen Titer wie das Hauptantigen zeigt, 4 andere Antigene von Säugetieren einen gleichen Titer zeigen, und das Hühnerjodeiweiß mit diesem Immunserum stark reagiert, und daß andererseits nach der Antikörperverdünnungsmethode das Ziegenjodeiweiß am stärksten in allen Jodeiweißen von Säugetieren reagiert, und je entfernter zoologisch das Tier vom Rinde ist, desto schwächer der Reaktionsgrad des Antigens ist, kann man wohl schließen, daß das Rinderjodeiweiß nicht nur eine starke Zustandsspezifität, sondern auch eine bemerkbare Artspezifität hat. (Tabelle 11.)

#### *Versuch 4. Antischweinjodeiweißimmunserum.*

Das zu dieser Untersuchung benützte Antischweinjodeiweißimmunserum zeigt den Titer 1 : 25,000 nach *U*'scher Methode, den Verdünnungstiter 1 : 32 und die Bindungszone 1 : 2,500. Nach *U*'scher Methode zeigen das Rinderjodeiweiß und Ziegenjodeiweiß einen 100%igen Verwandtschaftsgrad mit diesem Immunserum und 4 andere Antigene, Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnerjodeiweiß besitzen den gleichen Titer 1 : 10,000. Das native Schweinserum reagiert nicht mit diesem Immunserum. Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigen die fünf Antigene, Rinder-, Ziegen-,

Tabelle 11. Antirinderjodeiweißimmenserum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.
Arten der Antigene	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000
Rinder-Jodeiweiß	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Ziegen "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Schwein "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pferd "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meerschwein. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kaninchen "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hühner "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rinderserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ziegenserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 12. Antischweinjodeiweißimmenserum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.
Arten der Antigene	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000	1:100,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000	1:100,000	1:10,000	1:25,000
Schwein-Jodeiweiß	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Rinder "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ziegen "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pferd "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meersch. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kaninchen "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hühner "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Schweinseserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rinderserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Pferde-, Meerschweinchen- und Kaninchenjodeiweiß, einen gleichen 50%igen Verwandtschaftsgrad und nur das Hühnerjodeiweiß besitzt einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Die Bindungszone von Rinder-, Ziegen-, Meerschweinchen- und Kaninchenjodeiweiß ist 1 : 500, die Bindungszone von Pferde- und Hühnerjodeiweiß ist 1 : 250. Also bedarf es nicht eines Absättigungsverfahrens, da das native Schwein serum mit diesem Immunserum nicht reagieren kann. Mittels der Komplementbindungsreaktion zeigt das Hauptantigen, Schweinjodeiweiß, den Titer 1 : 16, Rinder-, Ziegen-, Pferde-, Meerschweinchen- und Kaninchenjodeiweiß besitzen einen 50%igen Verwandtschaftsgrad und das Hühnerjodeiweiß hat keine positive Reaktion. Das Resultat bei der Komplementbindungsreaktion ist fast ebenso wie bei der Präzipitinreaktion.

Zusammengefaßt das oben erwähnte Resultat : bei der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion reagiert das Antischweinjodeiweißimmunserum nicht nur mit dem Schweinjodeiweiß am stärksten sondern auch mit den anderen Jodeiweißen von Säugetieren, ja sogar auch mit dem Hühnerjodeiweiß. Nach der Antigenverdünnungsmethode reagieren das Rinder- und Ziegenjodeiweiß mit einem gleichen Titer, wie der des Hauptantigens ist. Man kann das Hühnerjodeiweiß aus den Jodeiweißen von Säugetieren nicht unterscheiden, da das Hühnerjodeiweiß einen 50%igen Verwandtschaftsgrad zeigt. Die Artsspezifität wurde vollständig durch eine starke Zustandsspezifität bedeckt. Nach der Antikörperverdünnungsmethode jedoch können das Rinder- und Ziegenjodeiweiß aus dem Hauptantigen unterschieden werden, und das Hühnerjodeiweiß reagiert mit diesem Immunserum schwächer als die Jodeiweiße von Säugetieren. So kann man nach der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion die Artsspezifität dieses Schweinjodeiweißes noch nachweisen. (Tabelle 12.)

#### *Versuch 5. Antipferdejodeiweißimmunserum.*

Wie aus der Tabelle 15 ersichtlich ist, reagiert das Hauptantigen, das Pferdejodeiweiß, nach U'scher Methode am stärksten (1 : 10,000) mit dem Antipferdejodeiweißimmunserum, das durch 9 malige intravenöse und 2 malige subkutane Injektionen von Pferdejodeiweiß hergestellt wurde. Das Rinder-, Ziegen- und Schweinjodeiweiß zeigten einen 100%igen Verwandtschaftsgrad und sind von dem entsprechenden Hauptantigen schwer zu unterscheiden. Auf Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnerjodeiweiß reagiert es etwas schwächer, doch zeigt es den Titer 1 : 5,000.

Nach der Antikörperverdünnungsmethode haben die 3 Jodei-

weiße, das Rinder-, Ziegen- und Schweinjodeiweiß einen 50%igen Verwandtschaftsgrad im Vergleich zum Pferdejodeiweiß, das Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnerjodeiweiß haben einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Die Bindungszone des Hauptantigens ist 1 : 1,000, die Bindungszone von Ziegen- und Schweinjodeiweiß ist 1 : 500, die 3 anderen Antigene liegen in der niedrigen Verdünnung 1 : 250. Bei der Komplementbindungsreaktion zeigt das Hauptantigen den Titer 1 : 64. Das Resultat ist im allgemeinen fast gleich dem bei der Präzipitinreaktion. Das native Pferdeserum reagiert ganz und gar nicht mit diesem Immuneserum. Nach U'scher Methode kann man also das Rinder-, Ziegen- und Schweinjodeiweiß von dem Hauptantigen nicht unterscheiden, und die Differenzierung zwischen dem Hühnerjodeiweiß und dem Meerschweinchen- und Kaninchenjodeiweiß ist mit diesem Immuneserum schwer. Die Artspezifität wurde durch die starke Zustandsspezifität bedeckt, die Zustandsspezifität scheint beinahe absolut zu sein. Aus der Antikörpermenge kann durch Präzipitinreaktion, besonders durch Komplementbindungsreaktion die noch zurückbleibende Artspezifität nachgewiesen werden. (Tabelle 13.)

#### *Versuch 6. Antihühnerjodeiweißimmuneserum.*

Die Beziehung zwischen jodiertem Vogel- und Säugetierserum möchte ich in diesem Experiment mit Antikörper von Hühnerjodeiweiß noch umgekehrt nachweisen. Ich bekam ein Antihühnerjodeiweißimmuneserum, das durch 7 malige intravenöse Injektionen von Hühnerjodeiweiß hergestellt wurde, und das den Titer 1 : 5,000 nach U'scher Methode, den Titer 1 : 64 und die Bindungszone 1 : 500 nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigte. Nach U'scher Methode reagieren die 6 Säugetierantigene, alle mit einem 50%igen Verwandtschaftsgrad. Das native Hühnerserum reagiert nicht mit diesem Immuneserum.

Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigen das Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde- und Meerschweinchenjodeiweiß den gleichen Titer 1 : 16. Nur das Immuntierjodeiweiß, d.h. jodiertes Kaninchenserum, reagiert noch schwächer auf dieses Immuneserum, Titer 1 : 8 und 12.5%iger Verwandtschaftsgrad. Die Bindungszone von Rinder-, Ziegen- und Pferdejodeiweiß ist 1 : 250, die Bindungszone der 3 anderen Antigene 1 : 100.

Das Resultat bei der Komplementbindungsreaktion ist fast gleich dem bei der Präzipitinreaktion.

Aus dem obigen Experimente ist leicht ersichtlich, daß das Antihühnerjodeiweißimmuneserum nicht nur mit dem Hühnerjod-



Tabelle 13. Antipferdejodeiweißimmenserum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.
Arten der Antigene	1:1,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:2,500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:5,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:10,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:25,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
Pferd-Jodeiweiß	100	1000	1000	100	1000	1000	100	1000	1000	100	1000	1000
Rinder	100	250	250	100	250	250	50	1000	1000	50	1000	1000
Ziegen	100	500	500	100	500	500	50	1000	1000	25	1000	1000
Schwein	100	500	500	100	500	500	50	1000	1000	25	1000	1000
Meersch.	50	250	250	50	250	250	25	500	500	25	500	500
Kaninchen	50	250	250	50	250	250	25	500	500	25	500	500
Hühner	50	250	250	50	250	250	25	500	500	25	500	500
Pferdserum	0	—	—	0	—	—	0	—	—	—	—	—

Tabelle 14. Antihühnerjodeiweißimmenserum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.
Arten der Antigene	1:500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:1,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:2,500	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:5,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1:10,000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
Hühner-Jodeiweiß	100	500	500	100	500	500	100	1000	1000	100	1000	1000
Rinder	50	250	250	50	250	250	25	500	500	25	500	500
Ziegen	50	250	250	50	250	250	25	500	500	25	500	500
Schwein	50	100	100	50	100	100	25	250	250	25	250	250
Pferd	50	250	250	50	250	250	25	500	500	25	500	500
Meersch.	50	100	100	50	100	100	25	250	250	25	250	250
Kaninchen	50	100	100	50	100	100	12.5	250	250	12.5	250	250
Hühnerserum	0	—	—	0	—	—	0	—	—	—	—	—

jodeiweiß, sondern auch mit den anderen Jodeiweißen von Säugetieren ziemlich stark reagiert, und daß eine Reagierbarkeit gegen natives Hühnerserum in diesem Immunserum nicht nachweisbar ist. Mit anderen Worten: durch das Jodierungsverfahren verändert sich das native Eiweiß sehr stark in bezug auf seine Antigenität, wodurch die Reaktion zwischen Säugetier- und Vogelserum auftritt. Wir können das Vorhandensein der Zustandsspezifität bei Jodeiweiß sicher bestätigen. Andererseits ist diese Zustandsspezifität durch die Antikörperverdünnungsmethode bei der Präzipitinreaktion oder bei der Komplementbindungsreaktion nicht absolut, wie es vorher allgemein anerkannt war. (Tabelle 14.)

#### *Kurze Zusammenfassung.*

Die obigen Befunde über die Zustandsspezifität des Jodeiweißes lassen sich folgendermaßen zusammenfassen. Durch Jodierung des nativen Serums wird eine neue Antigenität geschaffen, weil die nativen Eiweiße und die durch Hitze, Chemikalien und Ferment vorbehandelten Eiweiße auf die Antikörper dieser jodierten Antigene nicht mehr reagieren, sondern nur die durch das Jodierungsverfahren hergestellten Sera, die nicht nur Säugetiersera, sondern auch Vogelsera umfassen. Das Jodeiweiß scheint also in bezug auf Spezifität ein typisches Beispiel von Zustandsspezifität zu sein, da nach der Präzipitinreaktion dieser Reaktionsgrad zwischen verschiedenen jodierten Säugetiersera, sogar zwischen Säugetier- und Vogelsera, gleich steht. Nach der Antikörperverdünnungsmethode kann man die Differenz zwischen dem als Antigen für Immunisierung benützten Tiereserum und anderen Tieresera oder die zwischen Säugetier- und Vogelserum feststellen. Eine Bestätigung der sogar schwächeren Artspezifität in den starken Zustandsspezifität, die bis jetzt infolge der angewandeten Methode unmöglich war, wird durch meine Experimente klar erreicht. Die Resultate mittels der Komplementbindungsreaktion stimmen in den meisten Fällen mit denen der Präzipitinreaktion überein, jedoch ist der Titer aus der Immunkörperverdünnung oft einen gewissen Grad niedriger, wogegen die geeignete Antigenmenge für Präzipitin (Bindungszone) umgekehrt höher steht. Im ganzen gehen die beiden Reaktionen bei der Antikörperverdünnung parallel und es scheint eine feste Basis zu bestehen, die, was die Bindungszone anbelangt, zur Erklärung der strukturchemisch-gemeinschaftlichen Beschaffenheit der verschiedenen Jodeiweißantigene dienen kann, weil sie bei dem entsprechenden Antigen und Antikörper immer in der höchsten Verdünnung des Antigens steht.

*Versuch 7. Antiziegenitroeiweißimmunserum.*

Wie aus der Tabelle 15a ersichtlich ist, bekam ich Antiziegenitroeiweißimmunserum, das durch 8-malige intravenöse Injektionen von Ziegenitroeiweiß durch Kaninchenimmunisierung hergestellt wurde, und das den Titer 1:5,000 nach U'scher Methode, den Verdünnungstiter 1:64 und die Bindungszone 1:250 besitzt. Mit diesem Immunserum untersuchte ich die Reaktion mit den verschiedenen Eiweißantigenen, die aus den durch Hitze, Chemikalien und Fermente vorbehandelten Ziegeneiweißen bestanden. Wie man aus der Tabelle 15b ersieht, zeigte das jodierte Nitroeiweiß einen 20%igen Verwandtschaftsgrad und das nitrierte Jodeiweiß einen 4%igen Verwandtschaftsgrad nach U'scher Methode. Dagegen bleibt auf Jodeiweiß die Reaktion negativ. Die anderen vorbehandelten Ziegensera, wie Trypsin-Eiweiß, Alkohol-Eiweiß, 120°C-Eiweiß und natives Eiweiß, reagieren ganz und gar nicht mit diesem Immunserum. Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigt das jodierte Nitroeiweiß den Verdünnungstiter 1:8 und die Bindungszone 1:100, das nitrierte Jodeiweiß hat einen 3%igen Verwandtschaftsgrad mit diesem Immunserum. Verschiedene andere Antigene zeigen keine Reaktionsfähigkeit mit diesem Immunserum. Bei der Komplementbindungsreaktion zeigt nur das Hauptantigen eine positive Reaktion, eine Reaktion mit anderen Antigenen wurde wegen der Eigenhemmung des Immunserums nicht beobachtet. Das Antiziegenitroeiweißimmunserum reagiert am stärksten mit dem entsprechenden Nitroeiweiß, das jodierte Nitroeiweiß und das nitrierte Jodeiweiß zeigen eine ganz schwache positive Reaktion.

Tabelle 15 a. Antiziegenitroeiweißimmunserum.

Antigen- verd.	Antik. verd.	1	4	8	16	32	64	128
		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
1: 50		##	##	##	##	+	++	—
1: 100		##	##	##	##	++	+	—
1: 250		##	##	##	##	++	+	—
1: 500		##	++	++	++	+	++	—
1: 1,000		##	++	++	—	—	—	—
1: 2,500		++	++	+	—	—	—	—
1: 5,000		+	—	—	—	—	—	—
1: 10,000		—	—	—	—	—	—	—

Bindungszone 1:250      Verdünnungstiter 1:64

Tabelle 15 b. Reaktion des Immunserrums (Tabelle 17a) auf verschiedenen Antigenen.

Reaktion Antigen- verd. Arten der Antigene	Präzipitinreaktion					Komplementbindungsreaktion							
	U'sche Methode		O'sche Methode		Antik. verd. B.z.	U'sche Methode		O'sche Methode		Antik. verd. B.z.	O'sche Methode		Verwandt. grad %
	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.		Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.				
Ziegen-Nitroeiweiß	100	250	100	250	100	1:500	100	1:500	100	1:500	100	100	
" j. Nitroeiweiß	20	100	20	100	100	—	13	—	0	—	0	0	
" n. Jodeiweiß	4	100	4	100	100	—	3	—	—	—	—	—	
" Jodeiweiß	0	—	0	—	—	—	0	—	—	—	—	—	
" Trypsin-Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	
" P.-H.-Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	
" F.-H.-Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	
" A.-H.-Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	
" Alkohol-Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	
" 120-Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	
" natives Eiweiß	"	—	"	—	—	—	"	—	—	—	—	—	

S. Uwazumi :

Man kann daraus wohl schließen, daß durch 2-maligen Eingriff, wie bei jodiertem Nitroeiweiß und nitriertem Jodeiweiß, das Antigen in die dem Nitroeiweiß entsprechende Molekülgruppe eingeführt wurde. Aus augenblicklichem Materialmangel werde ich die Reaktion des Antiserums gegen andere nitrierte Tiersera erst im folgenden Kapitel mit dem Antirindernitroeiweißimmunserum zusammen beschreiben. (Tabelle 15.)

#### *Versuch 8. Antirindernitroeiweißimmunserum.*

Nach U'scher Methode zeigt das Hauptantigen, das Rindernitroeiweiß, den Titer 1:5,000, das Ziegenitroeiweiß hat den gleichen Titer und das Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnerjodeiweiß zeigt einen 50%igen Verwandtschaftsgrad. Auf dieses Immunserum reagiert das native Rinderserum nicht mehr. Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigt das Rindernitroeiweiß den Titer 1:32, das Ziegenitroeiweiß zeigt eine starke positive Reaktion bei 100%igem Verwandtschaftsgrad. Diesen 100%igen Verwandtschaftsgrad habe ich zuerst bei Immunserum von nitrierten Antigenen erzielt. Die anderen Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und Kaninchennitroeiweiß von Säugetieren haben einen 50%igen Verwandtschaftsgrad, das Hühnernitroeiweiß besitzt einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Das native Rinderserum hat keine Reaktion mit diesem Immunserum. Die Bindungszone des Hauptantigens ist 1:100, die Bindungszone von Ziegen- und Schweinitroeiweiß ist 1:250. Diese 3 anderen Antigene von Säugetieren besitzen die Bindungszone 1:100, die des Hühnernitroeiweißes ist 1:50. Bei der Komplementbindungsreaktion zeigt das Rindernitroeiweiß den Titer 1:16, die 5 anderen Nitroeiweiß von Säugetieren haben einen 50%igen Verwandtschaftsgrad und den Titer 1:8. Das Hühnernitroeiweiß zeigt keine positive Reaktion wegen der Eigenhemmung des Immunserums. Bei der Komplementbindungsreaktion steht die Bindungszone in der höheren Verdünnung des Antigens, und der Verwandtschaftsgrad des nitrierten Ziegenserums wird um 50% vermindert. Nach U'scher Methode haben die 4 anderen Nitroeiweiße von Säugetieren und sogar das Hühnernitroeiweiß den gleichen Titer, daher kann man die Nitroeiweiße von Säugetieren und die von Vogelarten nicht unterscheiden. Nur nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigt das Hühnernitroeiweiß eine schwächere Reaktion als das Nitroeiweiß von Säugetieren. Die Zustandsspezifität ist in diesem Fall stärker als Jodeiweiß bemerkbar. (Tabelle 16.)

*Versuch 9. Antischweinnitroeiweißimmunserum.*

Ich bekam ein Antischweinnitroeiweißimmunserum, das durch 7-malige intravenöse Injektion von Schweinnitroeiweiß hergestellt wurde, und das den Titer 1:10,000 nach U'scher Methode, den Verdünnungstiter 1:128 und die Bindungszone 1:500 nach der Antikörperverdünnungsmethode besitzt.

Nach U'scher Methode zeigten das Rinder-, Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnernitroeiweiß den gleichen Titer und besitzen einen 50%igen Verwandtschaftsgrad. Bei diesem Experiment reagiert das Ziegenitroeiweiß mit diesem Immunserum mit dem gleichen Titer wie das Hauptantigen. Das Schweinserum ergibt keine Reaktion mit diesem Immunserum. Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigen das Rinder- und Ziegenitroeiweiß einen 25%igen Verwandtschaftsgrad und den Titer 1:32, das Pferde-, Meerschweinchen- und Kaninchennitroeiweiß einen 12,5%igen Verwandtschaftsgrad. Das Hühnernitroeiweiß reagiert mit diesem Immunserum am schwächsten und zeigt den Titer 1:8. Die Bindungszone von Ziegen- und Pferdenitroeiweiß ist 1:250, die Bindungszone von Rinder-, Meerschweinchen- und Kaninchennitroeiweiß ist 1:100, die des Hühnernitroeiweißes 1:50. Das Resultat bei der Komplementbindungsreaktion ist fast gleich dem bei der Präzipitinreaktion. Das Hauptantigen zeigt den Titer 1:64 und die Bindungszone 1:1,000. Das Hühnernitroeiweiß zeigt einen 12,5%igen Verwandtschaftsgrad und den gleichen Titer wie die Nitroeiweiße von Meerschweinchen und Kaninchen. Die Bindungszonen liegen im allgemeinen in einer höheren Verdünnung des Antigens als bei der Präzipitinreaktion.

Nach U'scher Methode kann man nicht nur die Nitroeiweiße von Säugetieren aus dem Schweinnitroeiweiß, sondern auch das Hühnernitroeiweiß aus den Nitroeiweißen von Säugetieren mittels der Präzipitinreaktion nicht unterscheiden. Die starke Zustandsspezifität ist in der Reaktion nachweisbar.

Nach der Verdünnungsmethode können das Rinder- und Ziegenitroeiweiß, die in einem nahen Verwandtschaftsgrad zu dem Schweinnitroeiweiß stehen, von dem Hauptantigen unterschieden werden. Die Nitroeiweiße von Kaninchen und Meerschweinchen, die zu vom Schwein entfernten Spezies gehören, zeigen eine schwächere Reaktion mit diesem Immunserum als das Rinder- und Ziegenitroeiweiß, das Hühnernitroeiweiß reagiert mit diesem Immunserum ziemlich stark, kann aber von den Nitroeiweißen von Säugetieren unterschieden werden. Man kann also eine zurückbleibende Art-spezifität in der starken Zustandsspezifität annehmen. (Tabelle 17.)

Tabelle 16. Antirindernitroweißimmunsrum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Antigen-verd.	Verwandt. grad %	B.z.	Antik. verd.	Verwandt. grad %	B.z.	Antik. verd.	Verwandt. grad %	B.z.	Antik. verd.	Verwandt. grad %	B.z.
Arten der Antigene	1:500	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000	1:10,000
Rinder-Nitroweiß	+++	+++	+++	+++	+++	100	100	100	100	100	100	100
Ziegen	++	++	++	++	++	100	100	100	100	100	100	100
Schwein	+	+	+	+	+	50	50	50	50	50	50	50
Pferd	+	+	+	+	+	50	50	50	50	50	50	50
Meerschw.	+	+	+	+	+	50	50	50	50	50	50	50
Kaninchen	+	+	+	+	+	50	50	50	50	50	50	50
Hühner	+	+	+	+	+	50	50	50	50	50	50	50
Rinderserum	—	—	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 17. Antischweinnitroweißimmunsrum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Antigen-verd.	Verwandt. grad %	B.z.	Antik. verd.	Verwandt. grad %	B.z.	Antik. verd.	Verwandt. grad %	B.z.	Antik. verd.	Verwandt. grad %	B.z.
Arten der Antigene	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:25,000	1:25,000	1:25,000	1:25,000	1:25,000	1:25,000	1:25,000	1:25,000
Schwein-Nitroweiß	+++	+++	+++	+++	+++	100	100	100	100	100	100	100
Rinder	++	++	++	++	++	50	50	50	50	50	50	50
Ziegen	+	+	+	+	+	25	25	25	25	25	25	25
Pferd	+	+	+	+	+	25	25	25	25	25	25	25
Meerschw.	+	+	+	+	+	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
Kaninchen	+	+	+	+	+	100	100	100	100	100	100	100
Hühner	+	+	+	+	+	100	100	100	100	100	100	100
Schweinsrum	—	—	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0
Rinderserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ziegenserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

*Versuch 10. Antihühnernitroeiweißimmunserum.*

Wie aus der Tabelle 18 ersichtlich ist, reagiert das Hauptantigen, das Hühnernitroeiweiß, mit dem Antihühnernitroeiweißimmunserum am stärksten, es zeigt den Titer 1:2,500 nach U'scher Methode. 6 andere Nitroeiweiße von Säugetieren reagieren mit diesem Immunserum mit dem gleichen Titer und zeigen einen 50%igen Verwandtschaftsgrad zu dem Hauptantigen. Das Hühnerserum ergibt keine Reaktion mit diesem Immunserum. Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigt das Hühnernitroeiweiß den Verdünnungstiter 1:32 andere Nitroeiweiße von Säugetieren zeigen den Titer 1:8 und einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Die Bindungszone des Hühnernitroeiweißes ist 1:250, die von Rinder- und Schweinnitroeiweiß 1:100, die von 4 anderen Antigenen von Säugetieren 1:50. Das native Hühnerserum zeigt bei diesem Versuche keine positive Reaktion. Mittels der Komplementbindungsreaktion zeigt nur das Hühnernitroeiweiß eine positive Reaktion und den Titer 1:16. Andere Antigene konnten keine positive Reaktion zeigen. Sowohl nach U'scher Methode als auch nach der Antikörperverdünnungsmethode reagieren die Nitroeiweiße von Säugetieren ziemlich stark mit dem Antihühnernitroeiweißimmunserum, während das Hauptantigen, das Hühnernitroeiweiß, spezifisch am stärksten reagiert. Daher ist der Unterschied zwischen den Nitroeiweißen von Säugetieren und Vogelarten deutlich nachweisbar. (Tabelle 18.)

*Kurze Zusammenfassung.*

Mit dem Antirindernitroeiweißimmunserum reagierten die Antigene, die mittels Nitrierungsverfahrens hergestellt und als Immunogen injiziert wurden, stark spezifisch, weil das native Eiweiß und die durch Hitze, Chemikalien und Ferment vorbehandelten Eiweiße mit diesem Immunserum nicht reagieren können. Hinsichtlich der Beziehung zwischen der Zustandsspezifität und der Artspezifität haben sowohl bei der Antigenverdünnungsmethode wie auch in einigen Fällen bei der Antikörperverdünnungsmethode die Nebenantigene den gleichen Titer wie das Hauptantigen; das Hühnernitroeiweiß zeigt auch den gleichen Verwandtschaftsgrad wie das Nitroeiweiß von Säugetieren. Also werden die Antigensera bei der Nitrierung ebenso wie bei der Jodierung angegriffen.

**Experiment 3. Isoantikörperbildung durch Jodeiweiß und Nitroeiweiß.**

Wie die obigen Experimente zeigten, reagieren Jodeiweiß und Nitroeiweiß nicht mit dem hoch immunisierten Antinativimmunserum, auch das native Eiweiß reagiert



Tabelle 18. Antihühnereitroeiweißimmunsrum.

Reaktion	Präzipitinreaktion						Komplementbindungsreaktion					
	U'sche Methode			O'sche Methode			U'sche Methode			O'sche Methode		
	Antigen- verd.	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.	Verwandt. grad %	Antik. verd.	B.z.
Arten der Antigene	1 : 250 1 : 500 1 : 1.000 1 : 2.500 1 : 5.000	1 : 1 1 : 2 1 : 4 1 : 8 1 : 16 1 : 32 1 : 64			1 : 1 1 : 2 1 : 4 1 : 8 1 : 16 1 : 32 1 : 64			1 : 1 1 : 2 1 : 4 1 : 8 1 : 16 1 : 32 1 : 64			1 : 1 1 : 2 1 : 4 1 : 8 1 : 16 1 : 32 1 : 64	
Hühner-Nitroeiweiß	++	+	100	100	##	##	100	500	/	+	+	100
Rinder	++	+	50	25	##	##	25	—	/	—	—	0
Ziegen	++	+	50	25	##	##	25	—	/	—	—	0
Schwein	++	+	50	25	##	##	25	—	/	—	—	0
Pferd	##	+	50	25	+	+	25	—	/	—	—	0
Meerschw.	++	+	50	25	+	+	25	—	/	—	—	0
Kaninchen	++	+	50	25	##	##	25	—	/	—	—	0
Hühnerserum	—	—	0	0	—	—	0	—	/	—	—	0

nicht mit dem Antijodeiweißimmunerum oder Antinitroeiweißimmunerum. Man kann wohl vermuten, daß bei dem Jodeiweiß und Nitroeiweiß die originale Spezifität durch die Zustandsspezifität ganz bedeckt wird, daß daneben aber das Kaninchenjodeiweiß und Kaninchennitroeiweiß, trotzdem das Kaninchen als Immuntier benützt wurde, auf das Immunerum reagieren können. Über die Beziehungen der Organspezifität debattierten manche Autoren schon längere Zeit und es war schon bekannt, daß die Organe, die eine beinahe absolute Organspezifität besitzen, wie z.B. die die Augenlinse, gleichsam als eine fremde Substanz gegen die Immuntiere wirken, wenn sie im dem Tierkörper resorbiert werden. Es ist klar festgestellt, daß bei den Organen, die eine starke Organspezifität besitzen, immer die Fähigkeit der Isoantikörperbildung vorhanden ist.

Über die Isoantikörperbildung durch die zustandverändernden Antigene gibt es nur einem Versuch von *J. Fürth*. Er immunisierte mit Koktkaninchenserum und mit Koktmeerschweinchenserum alle betreffenden Tiere und stellte so das Antiserum her. Er bekam jedoch kein befriedigendes Resultat. *Freund* immunisierte Kaninchen mit Jodkanincheneiweiß und versuchte einen Isoantikörper des Jodeiweißes zu bilden, konnte aber nach 7 Injektionen von Jodkanincheneiweiß den Isoantikörper im Blute nicht nachweisen.

Ich habe die Isoantikörperbildung mit Jodeiweiß und Nitroeiweiß bei Kaninchen nochmals geprüft. Ich wählte männliche, gut ausgewachsene Kaninchen, welchen jeden fünften Tag die durch die schon erwähnte Methode hergestellte Jodeiweißlösung und Nitroeiweißlösung bei 4 tägiger Pause mehrmals intravenös injiziert wurden. Das eine von 4 Kaninchen, die mit Jodeiweißlösung vorbehandelt wurden, starb nach der 2ten Injektion sofort. Nach etwa 6-10-maligen Injektionen von etwa 10 cc Jodeiweißlösung und Nitroeiweißlösung waren die Isojodeiweißpräzipitine in 2 Kaninchen, und die Isonitroeiweißpräzipitine in 2 Kaninchen von allen 4 Kaninchen nachweisbar. Dabei erhielt man das Präzipitin frühestens am fünften Tage, spätestens am siebenten Tage nach der letzten Injektion.

Wie aus der Tabelle 19 ersichtlich ist, konnte ich Isoantikörper von mäßig hohem Präzipitintiter durch mehrmalige Injektionen erlangen. Der Verlauf des Antikörpers vom Immuntier war fast ebenso wie der des Antikörpers von heterogenen Jodeiweißen und Nitroeiweißen. Der Isojodeiweißantikörper von Kaninchen Nr. 77, der den Titer 1 : 2,500 nach *U'scher* Methode, den Verdünnungstiter 1 : 32 und die Bindungszone 1 : 250 nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigte, ist auch mittels der Komplementbindungsreaktion nachweisbar, wie die Tabelle 20 angibt.

Wie aus der Tabelle 21a ersichtlich ist, reagierten das Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde- und Hühnerjodeiweiß mit dem Isojodeiweißimmunerum und zeigten einen 40%igen Verwandtschaftsgrad nach *U'scher* Methode. Nur das Meerschweinchenjodeiweiß zeigte den Titer 1 : 2,500 des Kaninchenjodeiweißes. Nach der Antikörper-

verdünnungsmethode zeigten die fünf Nebenantigene von Säugertieren, Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde- und Meerschweinchenjodeiweiß einen 50%igen Verwandtschaftsgrad und das Hühnerjodeiweiß allein einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Man kann eine starke Zustandsspezifität im Kaninchenjodeiweiß nachweisen. Der Isonitroeiweißantikörper von Kaninchen Nr. 57, der den Titer 1:5,000 nach U'scher Methode, den Verdünnungstiter 1:64, die Bindungszone 1:250 nach der Antikörperverdünnungsmethode besitzt, ist auch mittels Komplementbindungsreaktion stark positiv nachweisbar. Mit diesem Isonitroeiweißimmunserum reagierten das Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und Hühnernitroeiweiß mit dem gleichen Titer 1:1,000 und zeigten einen 20%igen Verwandtschaftsgrad nach U'scher Methode. Nach der Antikörperverdünnungsmethode zeigen die 5 anderen Antigene von Säugetieren einen 50%igen Verwandtschaftsgrad. Die beinahe absolute Zustandsspezifität ist bei diesen beiden Isoantikörpern nachgewiesen. Besonders bei Isoantikörpern von nitriertem Eiweiß kann man den Reaktionsunterschied zwischen Säugetieren und Vogelarten angeben.

Wie aus meinem Experiment ersichtlich ist, ist die Isoantikörperbildung durch Jodeiweiß und Nitroeiweiß sicher nachgewiesen. Die Eigenschaft des Isoantikörpers ist ganz gleich derjenigen der heterogenen Nitroeiweiße und Jodeiweiße und in Bezug auf die Zustandsspezifität sind das Kaninchenjodeiweiß und das Kaninchennitroeiweiß noch schärfer als der heterogenetische Antikörper. (Tabelle 19, 20 und 21.)

Tabelle 19. Isoantikörperbildung durch Jod- und Nitroeiweiß.

Arten der Antigene	Kn. Nr.	K.G. (g)	Injek. zahl	Zeit der Blutentnahme n. d. letz. Inj.	Präzipitintiter			positive Dauer d. Präzips. Tage	Bemerkungen
					U'scher Titer	O'scher Titer			
						B.z.	V.t.		
Jod-eiweiß	75	2400	8	6	1000	100	16	11	tot n. d. 2te Injek.
	76	2350	2	/	/	/	/	/	
	77	2400	8	6	2500	250	32	13	
	76	2500	8	6	—	—	—	—	
Nitro-eiweiß	57	2500	7	7	5000	250	64	14	
	58	2650	7	6	—	—	—	—	
	59	2450	9	5	50	50	8	11	
	60	2500	9	5	—	—	—	—	

Tabelle 20 a. Isojodeiweißimmenserum (Kn. Nr. 77).

	Antik. verd.		1:	8:	16:	32:	64:
	Antig. verd.		1:	8:	16:	32:	64:
Präzipitinreaktion	1: 100		##	+	+	++	
	1: 250		+++	++	+	++	
	1: 500		+++	++	+	++	
	1: 1,000		+++	++	+	++	
	1: 2,500		+	—	—	—	—
	1: 5,000		—	—	—	—	—
Komplementbindungsreaktion	1: 100		///	++	+	—	—
	1: 250		///	+++	+	—	—
	1: 500		///	++	+	—	—
	1: 1,000		///	—	—	—	—
	1: 2,500		///	—	—	—	—
			///	—	—	—	—

Tabelle 20 b. Isonitroeiweißimmenserum (Kn. Nr. 57).

	Antik. verd.		1:	8:	16:	32:	64:	128:
	Antig. verd.		1:	8:	16:	32:	64:	128:
Präzipitinreaktion	1: 50		##	##	++	++	++	—
	1: 100		###	###	+++	+++	+++	—
	1: 250		+++	+++	+++	+++	+++	—
	1: 500		+++	+++	+++	+++	+++	—
	1: 1,000		+++	+++	+++	+++	+++	—
	1: 2,500		++	—	—	—	—	—
	1: 5,000		++	—	—	—	—	—
	1: 10,000		—	—	—	—	—	—
			—	—	—	—	—	—
Komplementbindungsreaktion	1: 50		///	///	+	++	—	—
	1: 100		///	///	++	+++	—	—
	1: 250		///	///	++	+++	—	—
	1: 500		///	///	+	++	—	—
	1: 1,000		///	///	—	—	—	—
	1: 2,500		///	///	—	—	—	—

Tabelle 21 a. Reaktion des Isojodeiweißantikörpers von Kaninchen (Nr. 77) auf verschiedene Jodeiweiße.

Arten der Antigen	Antigenverd.	Präzipitinreaktion										
		U'sche Methode			O'sche Methode							
		500	1,000	2,500	Verwandt. grad %	Antik. verd.	Verwandt. grad %					
		1: 500	1: 1,000	1: 2,500	1: 5,000	4	8	16	32	64		
Kaninchen-Jodeiweiß		+++	+++	+++	100	250	++	++	++	++	—	100
Rinder		++	+	—	40	250	++	+	+	—	—	50
Ziegen		++	+	—	40	250	+	+	+	—	—	50
Schwein		++	+	—	40	50	++	+	+	—	—	50
Pferd		++	+	—	40	100	++	+	+	—	—	50
Meerschw.		+	+	+	100	100	++	+	+	—	—	50
Hühner		+	+	—	40	50	++	+	—	—	—	25

Tabelle 21 b. Reaktion des Isonitroeiweißantikörpers von Kaninchen (Nr. 57) auf verschiedene Nitroeiweiße.

Arten der Antigene	Reaktion Antigen- verd.	Präzipitinreaktion									
		U'sche Methode			O'sche Methode						
		500 1:1,000	2,500 1:2,500	5,000 1:5,000	10,000 1:10,000	Verwandt. grad %	Antik. verd. B.z.	4 1:4	8 1:8	16 1:16	32 1:32
Kaninchen-Nitroeiweiß	+++ + -	100	250	+++ + -	100						
Rinder	++ + - - -	20	100	++ + - - -	50						
Ziegen	+ + - - - -	20	100	+ + + - - -	50						
Schwein	++ + - - -	20	50	++ + - - -	50						
Pferd	+ + - - - -	20	50	+ + + - - -	50						
Meerschwein.	+ + - - - -	20	100	++ + - - -	50						
Hühner	+ + - - - -	20	50	+ + + - - -	50						

### Experiment 4.

#### (a) Autoantikörper-(Präzipitin)-bildung durch Jodeiweiß.

Wenn die Organe, die eine starke Organspezifität haben, durch irgendeine Methode im demselben Tierkörper resorbiert wurden, dann wurde die Autoantikörperbildung als fremdes Eiweiß wegen ihrer Spezifität erzielt. Ohki konnte neuerdings die Autoantikörperbildung durch Hoden- und Spermaantigene mittels der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion und der Anaphylaxieversuche nachweisen. Goto wies ebenfalls den Autoantikörper der Linse nach. In den obigen Experimenten habe ich schon die absolute Zustandsspezifität von Jodeiweiß und Nitroeiweiß nachgewiesen, und es ist auch klar geworden, daß durch das Jodierungs- und Nitrierungsverfahren das Originalserum zu einer ganz anderen Antigenität hinübergeführt wird.

6 gesunde, stark gewachsene Kaninchen von etwa 2500 g Körpergewicht wurden ausgewählt. 7 cc Blutserum wurden aus jedem Kaninchen und nach einer Pause von einem Tag wieder 8 cc Blutserum entnommen und die gesamte Blutmenge von 15 cc wurde durch die oben erwähnte Methode jodiert. Ein Drittel der hergestellten Jodeiweiße, 0,45 g als einmalige Injektionsmenge, wurde den Kaninchen injiziert, und zwar jeden vierten Tag 3 mal. Nach der letzten Injektion untersuchte ich die Präzipitinbildung jeden Tag. Nur bei einem von 6 Kaninchen konnte ich das Präzipitin am 5. Tage nach der letzten Injektion nachweisen. Der Ablauf des Präzipitins ist folgendes:

Kaninchen 2750 g. Am 24./Feb. wurde die letzten Injektion ausgeführt. Am 1./März konnte ich zum ersten Male das Präzipitin für Jodeiweiß nachweisen. (Nach

U'scher Methode Titer 1 : 500, nach O'scher Methode Titer 1 : 2 und Bindungszone 1 : 100). Am 3/März, Bindungszone 1 : 100, Verdünnungstiter 1 : 8. Am 5/März nahm Präzipitintiter ab und betrug 1 : 2, Bindungszone 1 : 100. Am 7/März konnte ich das Präzipitin nicht mehr nachweisen. (Tabelle 22 a.)

Tabelle 22 a. Verlauf und Reaktion des Autojodeiweißpräzipitins. (Kaninchen Nr. 91, 2750 g).

Datum	Antig. verd.		1 : 100	1 : 250	1 : 500	1 : 1,000
	Antik. verd.					
6/Febr.	1te Blutentnahme (Serummenge 8 cc)					
8/ „	2te Blutentnahme (Serummenge 7 cc)					
18/ „	1te Injektion (0.15 g)					
21/ „	2te „ „					
24/ „	3te „ „					
1/März	1 : 1		+	+	+	—
	1 : 2		+	±	—	—
	1 : 4		—	—	—	—
3/ „	1 : 1		++	++	+	—
	1 : 2		++	+	—	—
	1 : 4		+	+	—	—
	1 : 8		±	—	—	—
	1 : 16		—	—	—	—
5/ „	1 : 1		++	+	+	—
	1 : 2		+	±	—	—
	1 : 4		—	—	—	—
7/ „	1 : 1		—	—	—	—

Wie aus der Tabelle 22b ersichtlich ist, reagiert das Präzipitin sowohl mit Kaninchenjodeiweiß als auch mit Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und Hühnerjodeiweiß. Das 3/März entnommene Serum wurde benützt, weil dabei der Präzipitinwert am höchsten war. Die 5 Jodeiweißantigene von Säugetieren haben einen 50%igen Verwandtschaftsgrad, und nur das Hühnerjodeiweiß einen 25%igen Verwandtschaftsgrad. Ich versuchte auch den Antikörper nach der Komplementbindungsreaktion nachzuweisen, aber ich konnte wegen der Eigenhemmung des Serums das Ziel nicht erreichen. (Tabelle 22.)

Tabelle 22 b. Reaktion des Autojodeiweißpräzipitins von Kaninchen Nr. 91 auf verschiedene Jodeiweißantigene.

Arten der Antigene	Antik. verd. B.z.	-	2	4	8	16	Verwandt. grad %
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	
Kaninchen-Jodeiweiß	250	++	++	+	+	-	100
Meerschwein. „	100	++	+	+	-	-	50
Rinder „	100	++	+	+	-	-	50
Ziegen „	100	++	+	+	-	-	50
Schwein. „	100	++	++	±	-	-	50
Pferd „	100	++	+	+	-	-	50
Hühner „	100	++	+	-	-	-	52

(b) *Autoantikörperbildung durch Nitroeiweiß.*

11 gesunde, gut genährte Kaninchen von etwa 2500 g Körpergewicht wurden ausgewählt. Das erste mal wurden 7 cc Blutserum und das zweiten mal nach einer Pause von einigen Tagen 8 cc Blutserum aus jedem Kaninchen entnommen, und die gesamte Serummenge von 15 cc durch die oben erwähnte Methode nitriert. Ein Drittel der hergestellten Nitroeiweiße, 0.6 g als einmalige Injektionsmenge, wurde den Kaninchen injiziert und zwar jeden 4 Tage 3 mal intravenös. Nach der letzten Injektion wurde die Präzipitinbildung jeden Tag untersucht. Aber in keinem von den 11 Kaninchen konnte ich das Präzipitin nachweisen. Es war für uns sehr schwierig, den Autoantikörper des Nitroeiweißes zu bilden.

*Kurze Zusammenfassung über den Autoantikörper von Jodeiweiß und Nitroeiweiß.*

Als Ganzes ist die Autoantikörperbildung von Jodeiweiß und Nitroeiweiß sehr schwierig. Das beruht selbstverständlich auf dem Mangel an kleinen Mengen der Antigene für die Injektion. Bei der Präzipitinbildung von heterogenem Jodeiweiß und Nitroeiweiß bedarf es mehrmaliger Injektionen. Nur bei einem Kaninchen konnte ich mit knapper Not das Antijodeiweißpräzipitin am 5ten Tag nach der letzten Injektion nachweisen. Dieses Präzipitin reagierte nicht nur mit Kaninchenjodeiweiß, sondern auch mit Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und Hühnerjodeiweiße. Das Serum des Immuntieres wird dadurch struktur-chemisch ganz verändert und wirkt auf die Kaninchen wie ein heterogenes Antigen.

### Experiment 5. Über die Spezifitätsänderung durch Substitutionsanordnung.

Durch die obigen Versuche ist die ursprüngliche Artspezifität des nativen Serums durch chemische intensive Einwirkungen wie durch Jodierung oder Nitrierung ganz verschwunden, und an ihre Stelle tritt eine neue Spezifität. Obermayer und Pick haben schon behauptet, daß diese Erscheinung durch den Charakter und die Stellung der substituierenden Gruppen im aromatischen Kern und durch die den Substituierungsprozess begleitende Änderung der Gesamtstruktur des Moleküls bedingt werden. Es bleibt bemerkenswert, daß zwischen den nitrierten und jodierten Produkten eine gegenseitige Antigeneigenschaft besteht und das Jodeiweiß mit Antinitroeiweiß-immunserum nicht reagieren kann. Führt man in der geschilderten Weise statt einer Gruppe gleich zwei ein, so kann man auf bequemer Weise die Stärke der gegenseitigen Beeinflussung der einzelnen Gruppen auf das Zustandekommen der Spezifität prüfen.

Man ersieht, daß schon durch diese wenigen Prozesse eine relativ große Variationsfähigkeit der Antigene erzielt werden kann, welcher auch im großen und ganzen ein Wechsel der Spezifität entspricht. Recht deutlich zeigt sich die Abhängigkeit der Spezifität von den hintereinander eingeführten Gruppen, wenn man die so vorbehandelten Antigene als Präzipitinogene verwendet und die erhaltenen Immunsere einmal mit den einfach, das andere Mal mit dem mehrfach substituierten Eiweißderivaten in Reaktion treten läßt.

Ein Immunserum gegen nitriertes Jodeiweiß und jodiertes Nitroeiweiß, die miteinander durch zwei chemische Behandlungen, Jodieren und Nitrieren hergestellt wurden, wurden bekommen. Ich untersuchte den Reaktionsgrad des Immunserum mit nitriertem Jodeiweiß, jodiertem Nitroeiweiß, Jodeiweiß und Nitroeiweiß nach der Antikörperverdünnungsmethode, führte die Absättigung mit demselben Antigen aus und konnte die Spezifität sehr klar nachweisen.

Wie aus der Tabelle 23a ersichtlich ist, hat das Antiziegen-(nitriertes Jodeiweiß)-immunserum den Titer 1 : 32 und die Bindungszone 1 : 250. Das jodierte Nitroeiweiß zeigt den Titer 1 : 16, das Jodeiweiß zeigen den Titer 1 : 2. Es wurde biologisch festgestellt, daß das Immunserum zwei Präzipitine gegen Jodeiweiß und Nitroeiweiß enthält, und daß das jodierte Nitroeiweiß, welches in umgekehrter Versuchsanordnung im Vergleich zu dem nitrierten Jodeiweiß steht, von dem nitrierten Jodeiweiß unterschieden werden kann. Nach der Absättigung von Immunserum mit nitriertem Jodeiweiß im Verhältnis von 1 (Immunserum) : 0.06 (Antigen) reagierten alle Antigene gar nicht, und nach der Absättigung von Immunserum mit Jodeiweiß im Verhältnis von 1 (Immunserum) : 0.08 (Jodeiweiß) blieb der Titer des nitrierten Jodeiweißes und des Nitroeiweißes unverändert, und das jodierte Nitroeiweiß zeigte den Titer 1 : 8. Das Jodeiweiß zeigte



keine Reaktion mehr. Nach der Absättigung mit Nitroeiweiß war das Resultat fast ebenso wie nach der Absättigung mit Jodeiweiß. (Tabelle 23).

Tabelle 23.

a) Reaktion des Antiziegennitriertesjodeiweißimmunerums von Kaninchen auf verschiedene Ziegeneiweiße.

Arten der Antigene	Antik. verd. B.z.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	Verwandt. grad %
		nitriertes Jodeiweiß	250	++	++	++	+	
jodiertes Nitroeiweiß	100	++	++	++	++	-	-	50
Jodeiweiß	100	+	+	-	-	-	-	12.5
Nitroeiweiß	50	+	+	-	-	-	-	12.5

b) Nach der Absättigung des Immunerums mit nitrierten Jodeiweiß.

Immuneserum : nitriertes Jodeiweiß = 1 : 0.06

Arten der Antigene	Antik. verd. B.z.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	Verwandt. grad %
		nitriertes Jodeiweiß	-	-	-	-	-	
jodiertes Nitroeiweiß	-	-	-	-	-	-	-	0
Jodeiweiß	-	-	-	-	-	-	-	0
Nitroeiweiß	-	-	-	-	-	-	-	0

c) Nach der Absättigung des Immunerums mit Jodeiweiß.

Immuneserum : Nitroeiweiß 1 : 0.08

Arten der Antigene	Antik. verd. B.z.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	Verwandt. grad %
		nitriertes Jodeiweiß	200	++	++	++	+	
jodiertes Nitroeiweiß	100	++	+	+	-	-	-	25
Jodeiweiß	-	-	-	-	-	-	-	0
Nitroeiweiß	50	+	+	-	-	-	-	12.5

d) Nach der Absättigung des Immunsersums mit Nitroeiweiß.  
 Immunsersum : Jodeiweiß 1 : 0.08

Arten der Antigene	Antik. verd. B.z.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	Verwandt. grad %
		nitriertes Jodeiweiß	250	++	++	++	+	
jodiertes Nitroeiweiß	100	++	+	+	-	-	-	25
Jodeiweiß	100	+	+	-	-	-	-	12.5
Nitroeiweiß	-	-	-	-	-	-	-	0

Wie aus der Tabelle 24 ersichtlich ist, bekam ich ein Antiziegen-(jodiertes Nitroeiweiß)-immunsersum, das den Titer 1:16 und die Bindungszone 1:250 besitzt. Bei diesem Immunsersum zeigt das nitrierte Jodeiweiß den Titer 1:4 und konnte von dem Hauptantigen biologisch klar unterschieden werden. Jodeiweiß und Nitroeiweiß haben den Titer 1:2. Das Antiziegen-(jodiertes Nitroeiweiß)-immunsersum hat auch zwei Antikörper gegen Jodeiweiß und Nitroeiweiß.

Aus dem obigen Resultat ist ersichtlich, daß das Immunsersum, das mit einem durch zwei Vorbehandlungen gewonnenen Antigen hergestellt wurde, zwei Präzipitine gegen zwei Vorbehandlungen besitzt. Nach der Antikörperverdünnungsmethode ist die Spezifitätsvariation durch Versuchsanordnung deutlich nachweisbar, da das jodierte Nitroeiweiß bei dem Antiziegen-(nitriertes Jodeiweiß)-immunsersum von dem Hauptantigen und das nitrierte Jodeiweiß bei dem Antiziegen (jodiertes Nitroeiweiß) immunsersum von dem Hauptantigen unterschieden werden konnte. (Tabelle 24.)

Tabelle 24. Reaktion des Antiziegenjodiertesnitroeiweiß-immunsersums von Kaninchen auf verschieden Ziegeneiweiße.

Arten der Antigene	Antik. verd. B.z.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	Verwandt. grad %
		jodiertes Nitroeiweiß	250	++	+	+	
nitriertes Jodeiweiß	250	+	+	-	-	-	25
Jodeiweiß	100	+	-	-	-	-	12.5
Nitroeiweiß	100	+	-	-	-	-	12.5
Ziegensersum	-	-	-	-	-	-	0

### Schlußwort.

Bezüglich der serologischen Studien über Jodeiweiß und Nitroeiweiß mittels der Präzipitinreaktion veröffentlichten *Obermayer* und *Pick* zum ersten Male die interessante Tatsache, daß diese chemisch intensiv eingegriffenen Eiweiße eine beinahe absolute Zustandsspezifität haben und daß eine Artspezifität ganz verschwunden ist. Sie nannten diese starke Zustandsspezifität die sogenannte konstitutive Spezifität und haben sie von der allgemeinen physikalisch-chemischen Zustandsänderung des Gesamtmoleküls durch Hitze und Chemikalien unterschieden, weil diese chemisch intensiv eingegriffenen Eiweiße durch Einführung von Jod- oder Nitrogruppen hergestellt werden. Danach stellte *H. Freund* genaue Forschungen über diese Eiweiße an und äußerte sich über das Vermögen der Reaktionsfähigkeit des arzeigenen Jodeiweißes mit Antijodeiweißimmenserum. *G. H. Wells*, *Pick* u. *Yamanouchi*, *Schittenhelm* u. *Stroebel* untersuchten die immunologische Bedeutung dieser Eiweiße bei dem Anaphylaxieversuche und diskutierten über die Identität des Präzipitins und des anaphylaktischen Antikörpers, konnten aber die Zustandsspezifität wie bei der Präzipitinreaktion nicht nachweisen. In einer 2ten Mitteilung will ich auf die Beschaffenheit dieser Eiweiße bei der Anaphylaxie näher eingehen.

Es ist keine Frage, daß bei der Spezifitätsuntersuchung die Bestimmungsmethode der Reaktionsfähigkeit eine Hauptrolle spielt. Viele Forscher, die bei der Spezifitätsforschung mit der Präzipitinmethode arbeiteten, wandten die *Uhlenhuths*che Ringprobe an, die in Aufsichtung der mit physiologischer Kochsalzlösung stufenweise verdünnten Antigene auf das Immenserum besteht. Unter solchen Umständen erscheint es mir natürlich, daß die Forschung über die Spezifität nicht von der Immunkörperseite aus, sondern von der Antigenseite aus vorgenommen wurde, und daß die an Hand der bisherigen Präzipitinmethode erzielten Resultate je nach den verschiedenen Forschern auseinander gehen, und daß selbst ein und derselbe Forscher von einander abweichende Ergebnisse meldet. Diese Meinungsverschiedenheit beruht zum Teile auf der Bestimmungsmethode des Präzipitintiters, da nach *U'scher* Methode nur das Antigen verdünnt wird, während man bei allen anderen serologischen Reaktionen, wie z.B. Agglutination, Hämolyse, Bakteriolyse usw. den Titerwert eines Serums dadurch bestimmt, daß man fallende Mengen des Antiserums auf bestimmte Mengen des Antigens treten läßt.

Auf diesen Gesichtspunkt hat *Sunouchi* in unserem Institut Rücksicht genommen und mit seinem Serumversuche die Differenzierung der Gruppenreaktion zwischen den nahverwandten Spezies mittels einer anderen Methode festgestellt, und zwar hat er durch die *Ogata*sche Immunkörper- anstatt Antigenverdünnung Erfolg gehabt. Die mannigfachen Spezifitäten, wie Artspezifität, Organspezifität, Fraktionsspezifität und Zustandsspezifität prüften mehrere Forscher in

unserem Institut nach beiden Untersuchungsmethoden, verglichen die Erscheinung der Spezifität und bestätigten, daß das richtige Resultat immer nur nach der Antikörperverdünnungsmethode erzielt werden kann. Nach dieser Methode wurde festgestellt, daß sogar die Augenlinse, die bis jetzt als ein Vertreter absoluter Organspezifität angesehen wurde, eine relative Artspezifität hat. Vor der Untersuchung von Jodeiweiß und Nitroeiweiß stellte ich Untersuchungen an über stark erhitztes 120°C-Eiweiß und über die biologische Beziehung zwischen 120°C-Eiweiß und dem chemisch intensiv angegriffenen Jodeiweiß und Nitroeiweiß.

Bezüglich des Antiserums, das auf 100°C 5 Minuten lang erhitzten Antigensera hergestellt wurde, wies Fürth eine ziemlich starke Reagierbarkeit mit dem bei 120°C 30 Minuten lang erhitzten Antigen Serum und eine Unfähigkeit, mit dem nativen Serumeiweiß zu reagieren, nach. Makino meinte, daß das Antiserum, das auf 100°C erhitzten Antigensera hergestellt wurde, die typische Zustandsspezifität zeigt und nur selten auf natives Antigen reagiert, ferner daß die Reaktion auf mit Alkohol oder Phenol vorbehandeltes Antigen dabei aber immer positiv bleibt, und nach der Antigenverdünnungsmethode nur die Zustandsspezifität, aber nach der Antikörperverdünnungsmethode beide Zustands- und Artspezifität gezeigt werden. Nach meinen Experimenten ist die Reaktionsfähigkeit des 120°C-Eiweißes mit hoch immunisiertem Antinativimmunserum ganz erloschen. Andere, durch schwache Erhitzung, Chemikalien und Ferment vorbehandelte Antigensera erhalten noch ihre Reagierbarkeit mit Antinativimmunserum. Das native Eiweiß hat keine Zustandsspezifität mehr und je stärker es durch Vorbehandlung angegriffen wurde, desto mehr wurde die Präzipitinogenität abgeschwächt. Das Anti-120°C-Eiweißimmunserum zeigte die typische Zustandsspezifität mit den erhitzten, mit Chemikalien vorbehandelten Eiweißen und reagierte schwach auf natives Antigen, das Immunserum jedoch kann eine Reaktion mit diesen chemisch intensiv angegriffenen Eiweißen, Jodeiweiß und Nitroeiweiß, nicht haben.

Aus der Bildungsfähigkeit des Isoantikörpers kann man auf eine neue Antigeneigenschaft des 120°C-Eiweißes schließen, die in der starken Zustandsspezifität bei allen Antisera von 120°C-Eiweißen der Säugetiere und der Vögel gezeigt wurde. Da die Reaktionsfähigkeit des Hühner-120°C-Eiweißes mit diesem Anti-120°C-Eiweißimmunserum von Säugetieren immer negativ blieb, und da nach der Antikörperverdünnungsmethode die Nebenantigene von dem Hauptantigen unterschieden werden konnten, und auch aus der Tatsache, daß je entfernter die Spezies des Tieres von dem Hauptantigen ist, desto schwächer der Verwandtschaftsgrad ist, kann man eine relative

stärkere Artspezifität nicht leugnen. Aber andererseits ist eine Artspezifität auch nachweisbar, weil das 120°C-Eiweiß der Vogelarten mit dem Antiserum der 120°C-Eiweiße von Säugetieren niemals reagieren kann.

Alle von mir hergestellten Antijodeiweißimmunsera reagieren gar nicht mit dem nativen Serum. Gegen Antijodeiweißimmunserum reagierten nur das Jodeiweiß, das nitrierte Jodeiweiß und das jodierte Nitroeiweiß zustandsspezifisch, die das Jodierungsverfahren durchgemacht haben. Andere durch Chemikalien und Fermente vorbehandelten Eiweiße können mit dem Antijodeiweißimmunserum nicht reagieren. Bei allen Antisera, die mit Jodeiweiß von Säugetieren hergestellt wurden, ist eine beinahe absolute Zustandsspezifität nachweisbar. Das Hühnerjodeiweiß zeigte immer eine starke Reaktionsfähigkeit mit dem Antiserum, das mit dem Jodeiweiß von Säugetieren hergestellt wurde, und es kann von den Jodeiweißen von Säugetieren biologisch nicht unterschieden werden.

Aus den folgenden Tatsachen, daß der Isoantikörper des Jod- und Nitroeiweißes bei 2 Kaninchen von 4 Kaninchen durch hohe Immunisierungswiese hergestellt wurde, daß die Erscheinung der Präzipitinbildung sehr ähnlich der der Präzipitinbildung von heterogenem Jodeiweiß und Nitroeiweiß ist, daß ich den Isoantikörper dieser Eiweiße 5-7 Tage nach der letzten Injektion nachweisen konnte, daß die positive Dauer gleichfalls 10-14 Tage betrug, und daß das Präzipitin sowohl mit Kaninchen-, als auch mit Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und Hühnerjodeiweiße reagierte, kann man eine starke zustandsspezifische Eigenschaft dieser Eiweiße bestätigen. Die Autoantikörperbildung von Jod- und Nitroeiweißen war sehr schwierig. Das Autopräzipitin wurde 5 Tage nach der letzten Injektion positiv nachgewiesen, die positive Dauer betrug gleichfalls 5 Tage. Das Präzipitin reagierte nicht nur mit Kaninchenjodeiweiß, sondern auch mit Rinder-, Ziegen-, Schwein-, Pferde-, Meerschweinchen- und sogar Hühnerjodeiweiß.

### Zusammenfassung.

1. Das Antiserum, das aus bei 120°C 30 Minuten lang erhitztem Serum hergestellt wurde, zeigt die typische Zustandsspezifität; es reagiert auf Alkali-Hitze-Eiweiß und Formalin-Hitze-Eiweiß und nur schwach auf native Antigene. Die Reaktion auf Jodeiweiß und Nitroeiweiß bleibt immer negativ.

2. Das 120°C-Eiweiß zeigt sowohl eine Zustandsspezifität als auch eine Artspezifität.

104 S. Uwazumi: Über die Zustandsspezifität des Serumeiweißes (I).

3. Der Isoantikörper des 120°C-Eiweißes kann nur durch mehrmalige Injektionen erzielt werden.

4. Das Antijod- und Antinitroeiweißimmenserum zeigen nach der Antigenverdünnungsmethode die absolute Zustandsspezifität, nach der Antikörperverdünnungsmethode bleiben jedoch beide Spezifitäten erhalten, vorwiegend Zustands- und relative Artspezifität.

5. Der Isoantikörper von Jodeiweiß und Nitroeiweiß kann nur durch mehrmalige Injektionen erzielt werden.

6. Der Autoantikörper des Jodeiweißes wurde nur bei einem Kaninchen aus einer Zahl von 6 Kaninchen erzielt.

7. Die Spezifitätsvariation ist durch die konstitutive Versuchsanordnung nach der Antikörperverdünnungsmethode klarer erkannt worden.

Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. *M. Ogata* für seine freundliche Hilfleitung während der Durchführung meiner Untersuchungen meinen besten Dank aussprechen.

### Literaturverzeichnis.

*Blum*, Zeitschr. f. physiolog. Chemie Bd. 28, S. 288, 1899. — *Dörr u. Russ*, Zeitschr. f. Imm. Bd. 3, S. 706, 1910. — *Dungern u. Coca*, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 46, S. 1471, 1907. — *Fornet u. Müller*, Zeitschr. f. Hygiene Bd. 66, S. 215, 1910. — *Freund*, Biochem. Zeitschr. Bd. 20, S. 503, 1909. — *Fürth*, Journ. of Imm. Vol. 10, p. 777, 1925. — *Goto u. Itoh*, Arbeiten aus d. med. Fakultät Okayama Bd. 3, S. 172, 1932. — *Hofmeister*, Zeitschr. f. Imm. Bd. 1, S. 698, 1909. — *Högyes*, Archiv f. exper. Patho. u. Pharm. Bd. 10, S. 228, 1879. — *Landsteiner*, Handbuch d. path. Mikroorgan. Bd. 2, 1, S. 344, 1929. — *Maķino*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 42, S. 2178, S. 2386, 1930. — *Michaelis u. Oppenheimer*, Arch. f. Anat. u. Physiolog. Supplementb. S. 436 u. S. 336, 1902. — *Michaelis u. Oppenheimer*, Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 28, S. 733, 1902. — *Obermayer u. Fürth*, Zeitschr. f. Imm. Bd. 1, S. 694, 1909. — *Obermayer u. Pick*, Wien. klin. Wochenschr. Nr. 12, S. 646 u. Nr. 10, S. 265, 1904. — *Oķamoto*, Tokyo Ijishinshi Nr. 2476, S. 1588, 1926 (Japanisch). — *Ohķi*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 43, Nr. 5, S. 1259 u. 2441, 1931. — *Olivi*, Zeitschr. f. Physiolog. Chemie Bd. 53, S. 484, 1907. — *Pick u. Yamanouchi*, Zeitschr. f. Imm. Bd. 1, S. 676, 1909. — *Sakai*, Chugai Ijishimpo Nr. 1103, S. 367 u. Nr. 1104, S. 450, 1926 (Japanisch). — *Schmidt*, Biochem. Zeitschr. Bd. 14, S. 294, 1908. — *Derselbe*, Zeitschr. f. Imm. Bd. 13, S. 182, 1912. — *Schütze*, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38, S. 487, 1901. — *Sunouchi*, Okayama Igakkai Zasshi Nr. 1, S. 1, 1929. — *Schwarz*, Zeitschr. f. Imm. Bd. 1, S. 77, 1909. — *Takizawa*, Nippon Biseibutsu Gakkai Zasshi Bd. 16, S. 866, 1922 (Japanisch). — *Torigata*, Koktopräzипtinogene Koktoimmunogene 1917 S. 382. — *Wells*, Am. Chem. Soc. Monog. Ser. New-York, 1924. — *Derselbe*, Journ. of inf. diseases Vol. 5, p. 449, 1908. — *Yamazaki*, Shakai Igaku Zasshi Nr. 500, S. 867, 1928 (Japanisch). — *Zinsser u. Ostenberg*, Proceeding N.Y. Pathol. Soc. XIV, 1914. — *Zeller*, Zeitschr. f. physiolog. Chemie Bd. 8, S. 70, 1883.