

Herrn Dr. HöVELS vom Paul-Ehrlich-Institut Frankfurt (Main) (Direktor: Prof. Dr. JERNE) danke ich herzlich für die Hilfe bei den Immunfluoreszenz-Ver-suchen.

Abb. 5. Lokalisation des Nucleoproteins in der Hühnerniere.

Über ein aus menschlichen und tierischen Geweben isoliertes Nucleoprotein mit Kollagen-fällenden Eigenschaften V

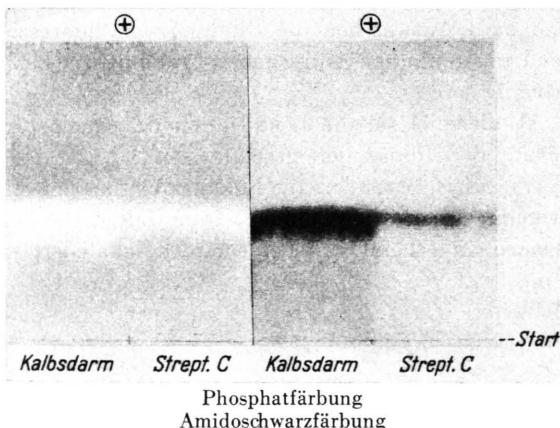
Über ein Nucleoprotein aus Streptokokken der Gruppe A und C, Hautreaktionen bei rheumatischem Fieber und Autoaggressions-Krankheiten mit Nucleoprotein aus Streptokokken und menschlichen Geweben

G. WILHELM

Max-Planck-Institut für Biophysik Frankfurt a. M.

(Z. Naturforschg. 21 b, 852—855 [1966]; eingegangen am 19. April 1966)

In weiteren Versuchen wurden Streptokokken der Gruppe A und C dem in der I. Mitteilung beschriebenen Trennungsgang unterworfen. Es gelang dabei, aus diesen Streptokokken ein Nucleoprotein zu isolieren, das in bezug auf seine elektrophoretischen Eigenschaften, Farbreaktionen, UV-Absorptionskurve, Zuckeranalyse mit dem aus menschlichen und tierischen Organen gewonnenen Nucleoprotein identisch ist.



Das Nucleoprotein aus Streptokokken besitzt dieselben Kollagen-fällenden Eigenschaften wie das beschriebene Nucleoprotein aus menschlichen und tierischen Organen. Es bindet sich im Gegensatz zum Nucleoprotein aus Kalbs-, Ratten- und Hühnerorgan ausgezeichnet an das in der III. Mitteilung beschriebene Serumprotein des Menschen.

Abb. 1. Nucleoprotein aus Kalbsdarm links, rechts Streptokokken der Gruppe C. Bedingungen: Veronalpuffer 0,1-m., pH 8,6, 200 V, 2 Stunden.

Ouchterlony-Test (Modifikation nach Beale und Mason)

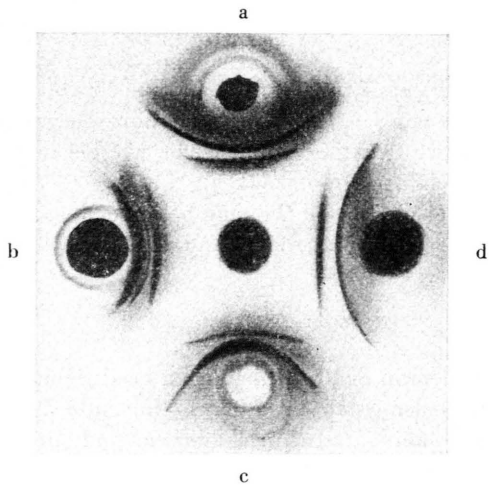


Abb. 2. In der Mitte ist Nucleoprotein aus Streptokokken der Gruppe A aufgetragen, in a, b, c und d sind vier menschliche Seren aufgetragen.

In der Immunelektrophorese zeigt sich sehr deutlich, daß es sich um dasselbe Serumprotein handelt. Es ergab sich aber außerdem, daß das Nucleoprotein mit Gamma-Globulin des Menschen reagiert.

Immunelektrophorese

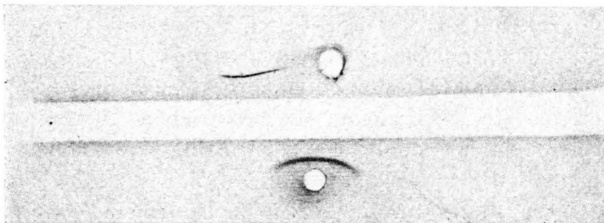


Abb. 3. Oben ist menschliches Serum aufgetrennt, unten menschliches Gamma-Globulin der Behringwerke Marburg. Dagegen diffundiert ist Nucleoprotein aus Streptokokken der Gruppe A.

Hiermit ist gezeigt, daß im menschlichen Serum Antikörper gegen das Streptokokken-Nucleoprotein vorhanden sind.

Bei diesem Befund schienen Hauttestungen bei Menschen erfolgversprechend. Die ersten mit diesem Nucleoprotein durchgeführten Testungen ergaben bemerkenswerte Reaktionen.

Das Nucleoprotein wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, die Verdünnungen betragen 1 : 100 000 und 1 : 1 000 000. Jeweils 0,1 cm³ dieser Lösung wurde intracutan gegeben. Gleichzeitig

wurde mit physiologischer Kochsalzlösung eine Gegenprobe angelegt.

Während bei 15 Erwachsenen und 30 Kindern mit einer Nucleoprotein-Verdünnung von 1 : 100 000 lediglich bei einem Erwachsenen eine deutliche Reaktion auftrat, reagierten 16 Kinder, bei denen auf Grund der Untersuchungen ein rheumatisches Fieber gesichert war, ohne Ausnahme mit einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 sehr stark. Die Erkrankung an rheumatischem Fieber lag bei den Kindern z. T. 1 bis 2 Jahre zurück. Die Reaktion beginnt nach 2 bis 3 Stdn. und erreicht ihren Höhepunkt nach 20 bis 24 Stunden. Sie ist nach 48 Stdn. noch deutlich sichtbar.

Als Beispiel sei die Reaktion nach 20 Stdn. bei zwei Kindern gezeigt.



Abb. 4. Reaktion 20 Stdn. nach Testung bei einem 10-jährigen Jungen, der an rheumatischem Fieber erkrankt war. Antistreptolysin-Titer 7680 E.



Abb. 5. Reaktion 20 Stdn. nach der Testung bei einem 12-jährigen Jungen, der an einem rheumatischen Fieber mit Carditis erkrankt war. Antistreptolysin-Titer 12 500 E.

seiner spezifischen Reaktionsbereitschaft mit Kollagen abgelagert. Zugleich tritt eine Immunisierung gegen dieses Nucleoprotein aus Streptokokken ein. Es kommt letzten Endes zu einer immunologischen Reaktion am Bindegewebsapparat selbst. Um diese Hypothese näher zu belegen, wird in zur Zeit laufenden Versuchen geprüft, ob das Streptokokken-Nucleoprotein in den erkrankten Geweben des rheumatischen Fiebers vorhanden ist. Diese Untersuchung wird mit der Methode der Immunfluoreszenz durchgeführt.

Die Hautreaktionen bei Lebercirrhose und chronischer Nephritis machen eine Immunisation des Organismus gegen das arteigene kollagene Fibrillenbildende Nucleoprotein höchst wahrscheinlich.

Als Arbeitshypothese für weitere experimentelle Untersuchungen auf diesem Gebiet dient uns folgende Vorstellung:

Durch eine primäre Schädigung des Organs (z. B. durch Hepatitis-Viren) kommt es zur Alteration des

Bindegewebsapparates mit Neubildung von kollagenen Fibrillen. Zu dieser Neubildung ist die erhöhte Produktion des Nucleoproteins nötig. Unter unbekanntem Bedingungen bildet der Körper gegen dieses Nucleoprotein Antikörper. Die Folge davon ist eine Antigen-Antikörperreaktion innerhalb dieses jungen Bindegewebes mit erneuter Alteration des Bindegewebsapparates. Es wäre so ein *Circulus vitiosus* entstanden.

Wenn die Untersuchungsreihen auch noch zu klein sind, um endgültige Aussagen zu ermöglichen, so lassen sie doch hoffen, daß hiermit neue Wege zur Diagnostik und weiteren Erforschung der Pathophysiologie dieser Krankheitsbilder gefunden werden konnten.

Meiner Assistentin, Fräulein G. ZIMMERSCHIED, danke ich herzlich für die große Hilfe bei sämtlichen mit ihr gemeinsam durchgeführten Untersuchungen.

Eine Methode zur Darstellung Tritium-markierter cancerogener polycyclischer Kohlenwasserstoffe mit extrem hoher spezifischer Aktivität

HANS EMMERICH und PETER SCHMALEK

Physiologisch-chemisches Institut der Freien Universität Berlin

(Z. Naturforschg. **21 b**, 855—858 [1966]; eingegangen am 14. Mai 1966)

A method is described for the preparation of tritiated polycyclic aromatic hydrocarbons with extremely high specific activity in the presence of AlCl_3 and HTO. The hydrocarbons are purified by preparative thin layer and paper chromatography. The radiochemical purity of the compounds was proved by paper chromatography and dilution analysis. The following specific activities are reached: Anthracene: 54 Curies/mMol, 7,12-Dimethylbenzanthracene: 19 Curies/mMol, 3,4-Benzopyrene: 24 Curies/mMol, and 3-Methylcholanthrene: 44 Curies/mMol.

Die Fortschritte während des letzten Jahrzehnts bei der Erforschung des Stoffwechsels der cancerogenen Kohlenwasserstoffe und ihrer Reaktionen mit Zellbestandteilen sind vor allem durch die Verwendung radioaktiv markierter Kohlenwasserstoffe ermöglicht worden. Für die Autoradiographie mit hohem Auflösungsvermögen sind allein Tritium-markierte Substanzen geeignet. Die aromatischen Kohlenwasserstoffe wurden bisher entweder nach

der WILZBACH-Methode^{1,2} oder durch einen Pt-katalysierten Tritiumaustausch zwischen HTO³ oder tritierter 70-proz. Essigsäure⁴ und den Cancerogenen erhalten. Über eine Hydrierung in vorgegebener Position berichtete kürzlich NEUMANN⁵. Bis dahin hatten GIOVANELLA und Mitarbb.¹ bei reinen Aromaten die höchsten spezifischen Aktivitäten erzielt. Sie liegen je nach Verbindung zwischen 30 und 500 Curie pro Mol.

¹ C. GIOVANELLA, C. W. ABELL, and C. HEIDELBERGER, *Cancer Res.* **22**, 925 [1962].

² W. LJINSKI and H. GARCIA, *Nature* [London] **197**, 688 [1963].

³ J. L. GARNETT, L. HENDERSON, and W. A. SOLLICH, *Proc. of the Symposium on Detection and Use of Tritium in the Physical and Medical Sciences*, Vienna **2**, 47 [1961].

⁴ D. G. CROWTER, E. A. EVANS, and R. RADELL, *Chemistry Ind.* [London] **1962**, 1622.

⁵ H. G. NEUMANN, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **341**, 298 [1965].