

2-Lipoprotein, Gamma-A-Globulin, Gamma-M-Globulin, Gamma-G-Globulin.

Das Nucleoprotein zeigte hierbei mit menschlichen Seren immer wieder die beschriebene Reaktion. Auch im Serum eines Patienten mit einer A-Gamma-Globulinämie trat die Reaktion unverändert auf. Das Präzipitat ist mit Sudanschwarz anfärbbar, dies läßt jedoch keinen Schluß darauf zu, daß es sich bei dem bindenden Protein um ein Lipoprotein handelt, da das Nucleoprotein wie beschrieben einen fest gebundenen, mit Sudanschwarz färbbaren Lipidanteil enthält. Es hat den Anschein, daß es sich bei

dem das Nucleoprotein bindende Serumprotein um ein noch unbekanntes Serumprotein handelt, das nach den angestellten Reaktionen spezifische Bindungseigenschaften für das Nucleoprotein besitzt und dieses im Körper transportiert. Interessant hierbei ist außerdem, daß im Serum das Nucleoprotein nachgewiesen werden kann, also als normaler Serumbestandteil vorkommt.

Herrn Dr. SCHWICK von den Behringwerken Marburg danke ich herzlich für die Überprüfung verschiedener Reaktionen und für die Testung mit den reinen Serumproteinen.

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

Antigene Eigenschaften des Nucleoproteins und Lokalisierung des Nucleoproteins im Gewebe mit der Immunfluoreszenz-Methode

G. WILHELM

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

(Z. Naturforsch. 21 b, 850—852 [1966]; eingegangen am 19. April 1966)

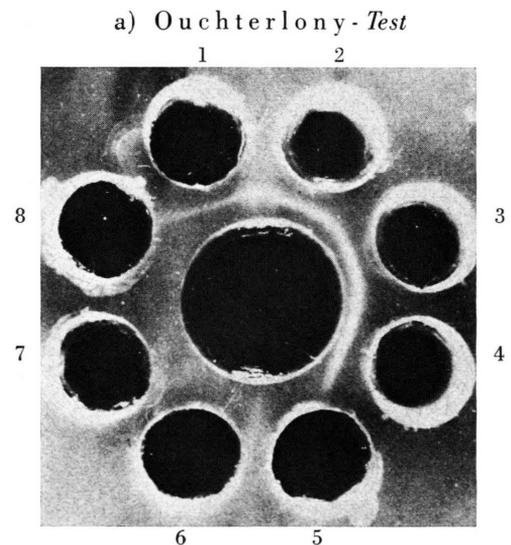
Das aufgefundene Ribonucleoprotein besitzt die Eigenschaft eines Vollantigens. Die durchgeführten Immunisierungsversuche ergaben eine Artspezifität des Antigens. Eine Organspezifität war nicht nachweisbar. Erste Lokalisierungsversuche mit Hilfe der Immunfluoreszenz-Methode ergaben in der Niere eine besondere Anreicherung des Nucleoproteins in den Glomerulokapseln.

A. Antigene Eigenschaften

Die gute Wasserlöslichkeit des Nucleoproteins ließ vermuten, daß der Stoff antigene Eigenschaften besitzt. Es wurden deshalb Kaninchen mit Nucleoprotein aus Rattendarm, Kalbsdarm, Hühnerherz und foetaler menschlicher Leber immunisiert. 10 mg Antigen wurden zusammen mit Freund'schem Adjuvans in die vier Extremitäten injiziert. Nach 10 bis 15 Tagen erhielten die Tiere jeweils 5 bzw. 10 mg i.v. Im Serum der immunisierten Tiere ließen sich in der Präzipitinreaktion, im Ouchterlony-Test und in der Immunelektrophorese Antikörper nachweisen. Als Beispiel soll der Ouchterlony-Test und die Immunelektrophorese von mit Nucleoprotein aus Rattendarm immunisierten Kaninchen dienen.

Abb. 1. In der Mitte ist Nucleoprotein aus Rattendarm in einer Verdünnung von 1 : 100 aufgetragen. Außen Kaninchen-Antiserum, in den Löchern 1, 2, 3 und 4 ist hierbei das Serum vom immunisierten Kaninchen, in 5, 6, 7 und 8 vom nicht

immunisierten Kaninchen aufgetragen. Die unterschiedliche Stärke der Reaktion rührt von einer Verdünnungsreihe des Serums her.



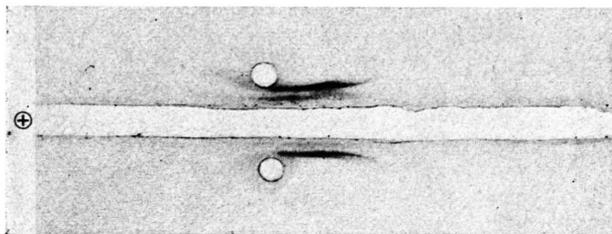
b) *Immunelektrophorese*

Abb. 2. Die Elektrophorese wurde mit Veronalpuffer 0,1-m., pH 8,6 bei 200 V Spannung 1 Stde. durchgeführt. Getrennt ist das Kaninchen-Serum, diffundiert das Nucleoprotein aus Rattendarm in einer Verdünnung von 1 : 200. Auch hier blieb die Kontrolle des nicht immunisierten Tieres negativ.

Um die Spezifität der gebildeten Antikörper zu überprüfen, wurden folgende Kreuzreaktionen durchgeführt. (Die hier gezeigten Testungen sind Ouchterlony-Teste in der Modifikation nach Beale und Mason.)

1.

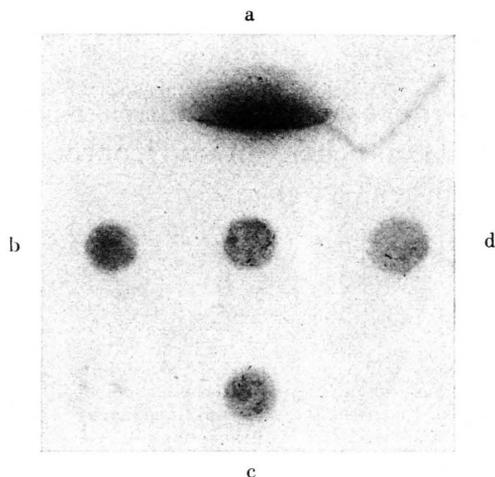


Abb. 3. In der Mitte ist Nucleoprotein aus Kalbsdarm in einer Verdünnung von 1 : 50 aufgetragen. a) Kaninchen-Antiserum gegen Nucleoprotein aus Kalbsdarm. b) Kaninchen-Antiserum gegen Nucleoprotein aus der foetalen menschlichen Leber. c) Kaninchen-Antiserum gegen Nucleoprotein aus Hühnerherz. d) Kaninchen-Serum von einem nicht immunisierten Tier.

Es reagiert lediglich Kaninchen-Antiserum gegen Nucleoprotein aus Kalbsdarm.

Ein weiterer Versuch mit Nucleoprotein aus Rattendarm und Hühnerherz ergab dieselbe Spezifität. Es reagieren lediglich die Kaninchen-Antiseren gegen Nucleoprotein aus Rattendarm bzw. Hühnerherz.

2.

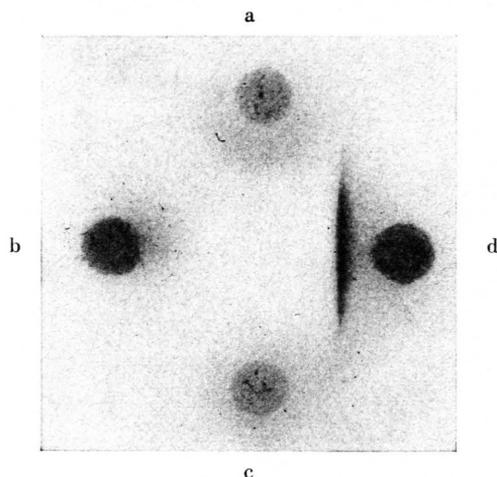


Abb. 4. In der Mitte ist Nucleoprotein aus foetalem Darm des Menschen aufgetragen. Die Reihenfolge der Kaninchenseren entspricht 1. Es reagiert nur das Kaninchen-Antiserum gegen foetale menschliche Leber. Mit diesem Kaninchen-Antiserum reagierte auch das Nucleoprotein aus foetalem menschlichem Darm und menschlicher Niere.

Die Versuche zeigen, daß gegen das Nucleoprotein von Kaninchen hochspezifische Antikörper gebildet werden, die keine Kreuzreaktion in den untersuchten Systemen erkennen lassen. Das Nucleoprotein ist hierbei nicht organspezifisch, da die aus verschiedenen Organen gewonnene Nucleoprotein-Fraktion einheitlich reagiert.

B. Lokalisation des Nucleoproteins im Gewebe mit der Immunfluoreszenz-Methode

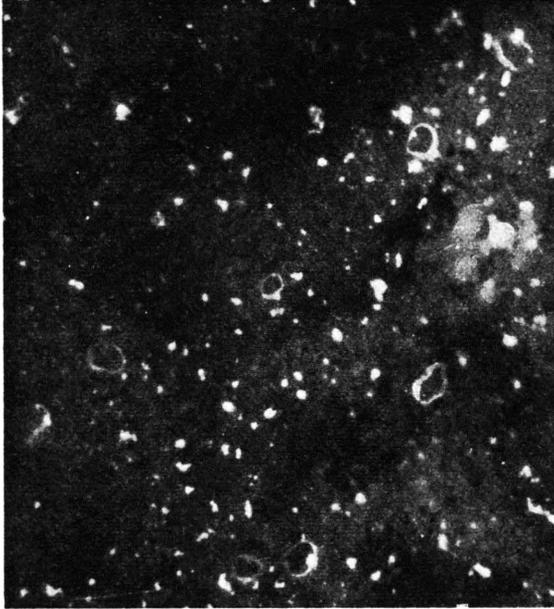
Es wurde hierfür die von WALLER und COONS¹ beschriebene Methode verwandt. Das Prinzip der Methode besteht darin, Gewebeschnitte mit dem entsprechenden Kaninchen-Antiserum zu inkubieren und nach Auswaschen die Bindung von fluoreszierendem Kaninchen-Anti-Gamma-Globulin zu beobachten.

Als Beispiel sei die Lokalisation des Nucleoproteins in der Hühnerniere gezeigt.

Hierbei ist besonders die Lokalisation des Nucleoproteins in den Glomerulokapseln auffällig. Das Nucleoprotein scheint im Bindegewebe lokalisiert zu sein.

Weitere Versuche sollen hier zu einer noch schärferen Erfassung führen.

¹ T. H. WELLER u. A. H. COONS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **86**, 789 [1954].



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

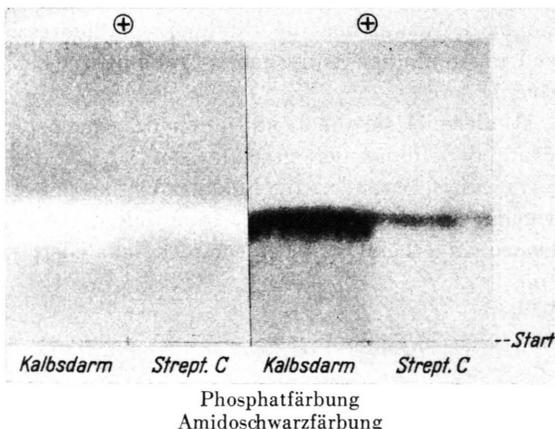
Über ein Nucleoprotein aus Streptokokken der Gruppe A und C, Hautreaktionen bei rheumatischem Fieber und Autoaggressions-Krankheiten mit Nucleoprotein aus Streptokokken und menschlichen Geweben

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.