

Acta Medica Okayama

Volume 3, Issue 2

1932

Article 3

AUGUST 1932

Über die Auto- und Isoantikörperbildung durch Linsenantigene.

Yoshisada Gotoh*

Kazuwo Itoh†

*Okayama University,

†Okayama University,

Über die Auto- und Isoantikörperbildung durch Linsenantigene.*

Yoshisada Gotoh and Kazuwo Itoh

Abstract

Obwohl die Antikörperbildung durch Auto- und Isolinsenantigene von mehreren Forschern behandelt wurde, so sind die Resultate nicht übereinstimmend. Es erweckt den Anschein, als ob die Antikörperbildung durch Autolinsenantigen leichter erzielbar sei als die durch Isolinsenantigen. Wir beschäftigten uns auch mit diesem Thema und konnten folgende Resultate erzielen: 1. Die Antikörper (Prazipitin)-bildung durch Autolinsenantigen. Wir vermochten durch Einverleibungsmethoden ohne Diszision, mittels deren wir bei ca. 20% aller Versuchstiere eine positive Prazipitinbildung nachweisen konnten, das Ziel nicht zu erreichen. Wir konnten Autoprazipitin 4-5 Tage nach der Diszision nachweisen, und die positive Dauer betrug gleichfalls 4-5 Tage. Nachdem das durch einseitige Diszision gebildete Autoprazipitin verschwunden war, konnten wir am Tage nach der anderseitigen Diszision Prazipitin wiederum nachweisen, und die positive Reaktion hielt 4 Tage an. Das Prazipitin reagierte nicht nur mit Kaninchenlinse, sondern auch mit Rinder- und Hundelinsenantigen. 2. Die Antikörper (Prazipitin)-bildung durch Isolinsenantigen. Bei einem von 10 Kaninchen konnten wir Isolinsenprazipitin 4-7 Tage nach der letzten Injektion dauernd nachweisen. Das Prazipitin reagierte auch sowohl mit Kaninchen- als auch mit Rinder-, Pferde-, Hunde- und Hühnerlinse. Wenn man Isolinsenemulsion mit Schweine- oder Hühnerserum als Schleppe injiziert, ist die Antikörperbildung anscheinend etwas leichter erzielbar. Wir konnten bei Kaninchen also Auto- und Isoantikörper (Prazipitin)-bildung durch Linsenantigene konstatieren. Wie bei früheren Untersuchungen ist die Autoprazipitinbildung leichter als die Iso-prazipitinbildung zu erzielen. Diese Tatsache stimmt mit dem Resultate von Ohki überein, der sich mit der Auto- und Isoantikörperbildung durch Hoden- und Spermaantigene beschäftigt hat. 3. Das durch Immunisierung mit 30 Minuten lang gekochten isogenetischen Linsenantigenen erzeugte Immuneserum zeigt keine Reaktion mehr für rohe Linsenantigene. Es wird die Zustandsspezifität erzeugt. 4. Wir konnten zwischen der Linse des Immuntieres und dem Antilinsenimmuneserum desselben Tieres nach der Antikörperverdünnungsmethode eine interessante Erscheinung beobachten, die sich bei der gewöhnlichen, d. h. Uhlenhuthschen, Methode nicht zeigt. Es reagiert nämlich die Linse von Immunderen mit dem Antilinsenimmuneserum desselben Tieres am schwachsten. Doch wurde die Ursache dieser verminderten Reaktion durch unseren Versuch noch nicht klargestellt. Zum Schlusse erfüllen wir die angenehme Pflicht, unserem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. M. Ogata, für seine freundliche Anregung und Leitung bei Ausführung dieser Arbeit unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

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

Über die Auto- und Isoantikörperbildung durch Linsenantigene.

Von

Yoshisada Gotoh und Kazuwo Itoh.

Eingegangen am 17. Dez. 1931.

Einleitung.

Die Studien über die Auto- und Isoantikörperbildung standen von Anfang an in inniger Beziehung zur klinischen Untersuchung der paroxysmalen Hämoglobinurie. Serologisch wurde diese Frage betreffs Linsenantigen oder Spermaantigen von mehreren Forschern studiert, und *Ohki*¹⁾ aus dem hiesigen Institute konnte neuerdings die Auto- und Isoantikörperbildung durch Hoden- und Spermaantigene mittels der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion und der Anaphylaxie genauer studieren. Gelegentlich der Untersuchung über das Linsenantigen (*Gotoh*) beschäftigten wir uns auch mit der Frage, ob in gleicher Weise wie bei Sperma ein Antikörper durch die Auto- oder Isoimmunisierungsmethode hergestellt werden kann, weil die Linse von allen Organen am auffallendsten organspezifisch ist.

Es ist allgemein bekannt, dass zur Immunisierung des Kaninchens mit der Rinderlinse der entstandene Antikörper (Präzipitin) nicht nur auf die Rinderlinse, sondern auch auf andere Tierspezies, Vogel-, Amphibien-, und sogar Fischlinsen, reagieren kann. Doch ist nach der Präzipitinverdünnungsmethode in unserem Institute (*Ogata*) die Menge des Präzipitins dabei etwas verschieden, und dieses Mengenverhältnis geht für die Tierarten parallel mit der zoologischen Entfernung. Auch bemerken wir, dass der dabei gebildete Linsenantikörper auf Immuntierlinse, also Antirinderlinsenserum von Kaninchen auf Kaninchenlinse, etwas schwächer reagiert als bei anderen Säugetierlinsen.

Untersuchungsmaterial und Methode.

Versuchstier: Wir benützten als Versuchstiere bei allen Versuchen hauptsächlich

Y. Gotoh u. K. Itoh: Üb. d. Auto- u. Isoantikörperbildung durch Linsenantigene. 173

gesunde Kaninchen vom Körpergewichte 2,000–2,500 g. Bezüglich der Verwendung anderer Tierarten für Sonderversuchszwecke werden wir an Ort und Stelle besondere Angaben machen.

Antigen: Wir benützten als Antigen für Immunisierung die Linsen von Kaninchen und Rindern, und als Antigen für die Reaktion Linsen von Kaninchen, Rindern, Pferden, Schweinen, Hunden, Meerschweinchen, Hühnern, Enten und Truthühnern. Alle Linsen wurden gut getrocknet und aufbewahrt.

Herstellungsmethode des Antigens für die Immunisierung: 0.2 g der getrockneten Linsensubstanz wurde mit 10 cc physiologischer Kochsalzlösung versetzt und 24 Stunden lang im Eisschranke extrahiert. Das Autolinsenantigen muss man wegen seiner begrenzten Menge nach Trocknung der enukleierten Linse besonders vorsichtig aufbewahren. Zur Injektion benützten wir die grösste Dosis der Linsenemulsion, die das Tier ertragen kann.

Herstellungsmethode des Antigens für die Reaktion: Wie bei Herstellung des Antigens für die Immunisierung wurde die Linsenemulsion 24 Stunden lang im Eisschranke extrahiert. Nach Zentrifugierung und Filtrierung mit dem neuen Seitz-Filterapparate wurde die klare Extraktlösung, in der das Eiweiss aus Linsenantigenen gewöhnlich 1/2–1/4 des Eiweisses des Blutserums beträgt, als Antigen für die Reaktion benützt. In den folgenden Versuchen ist der Verdünnungsgrad des Linsenantigens auf den Verdünnungsgrad des Blutserums umgerechnet.

Immunisierungsweise: Zur Immunisierung mit Autolinsenantigenen spritzten wir nach obengenannter Methode hergestelltes Antigen ohne Zentrifugierung aus Materialmangel an jedem vierten oder fünften Tage intravenös, subkutan oder in die Hoden ein. Jeden zweiten Tag prüften wir die Präzipitinreaktion. Ausserdem benützten wir als Einverleibungsmethode des Autolinsenantigens die Diszision. (Bezüglich der Diszision siehe weiter unten!) Wir untersuchten die Autoantikörperbildung jeden zweiten Tag nach der Diszision. Zur Immunisierung mit Isolinsenantigenen spritzten wir jeden vierten oder fünften Tag 3.0–5.0 cc Antigenemulsion ohne Zentrifugierung intravenös oder subkutan ein. Zeitweise prüften wir die Serumreaktion mit der Präzipitinmethode; in negativen Fällen setzten wir die Injektionen fort und wiederholten danach die Untersuchung. Zur Immunisierung mit Heterolinsenantigenen spritzten wir jeden vierten oder fünften Tag 5.0 cc Antigenemulsion wiederholt intravenös ein. Zuweilen prüften wir den Präzipitintiter. Wenn das Serum den gewünschten Präzipitinwert erreicht hatte, liessen wir das Blut aus der Carotis aus. Nach Isolierung des Serums vom Blutkuchen bewahrten wir es im Eisschranke auf.

Die Prüfung der Präzipitinreaktion führten wir nach der *Uhlenhuthschen* und der Antikörperverdünnungsmethode nach *Ogata* aus. Die Reaktion wurde 15 Minuten, 30 Minuten, 1 und 2 Stunden nach der Prüfung beobachtet, und ihre Ergebnisse wurden hier mit den Zeichen IIII IIII ++ + versehen. Eine negative Reaktion, nach Beobachtung von 2 Stunden, bezeichnen wir mit dem Zeichen —.

a. *Uhlenhuthsche Methode* (Antigenverdünnungsmethode). Das Präzipitinogen wurde in absteigender Weise mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und auf das Originalserum überschichtet. Man nennt den höchsten Grad der Verdünnung, der positive Präzipitatbildung hervorrufen kann, den Präzipitintiter.

b. *Antikörperverdünnungsmethode.* Über diese Methode wurde zuerst von Prof. Dr. *M. Ogata*²⁾ (1927) berichtet. Wenn die in absteigender Weise verdünnten

Präzipitinogene auf das mit 10%igem Meerschweinchenserum oder 1%iger Gummiarabicum-Lösung in gleicher Weise verdünnte Immunserum überschichtet werden, so ist die Reaktion am stärksten bei einem gewissen Grade der Antigenverdünnung. Dieser am stärksten reagierende Grad der Antigenverdünnung heisst die Bindungszone des Immunserums, und den höchsten Verdünnungsgrad des Immunserums, bei dem in der Bindungszone noch eine weisse ringförmige Trübung auftritt, wir nach der Antikörperverdünnungsmethode den Präzipitintiter.

Komplementbindungsreaktion: Als Hämolysin benützten wir ein inaktiviertes Antiziegenkaninchenserum (in 2 mal gelöster Dosis), als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum (in 2 fachem Komplementtiter) verwendet. Das Blut war gewaschenes 2.5% defibriniertes Ziegenblut. Bei dieser Probe liessen wir das Gemisch von Präzipitinogen, Immunserum und Komplement zuerst 1 Stunde lang im Brutofen bei 37°C digerieren, um die Verbindung der Antigene mit den Antikörpern zu fördern, alsdann, nach Zusatz der Blutkörperchenaufschwemmungen und der Hämolysinlösung, hielten wir es 2 Stunden lang im Brutofen, endlich über Nacht im Eisschranke. Bei jedem Versuche setzten wir ausserdem stets Kontrollen an, um zu erfahren, ob die Antigene oder das Immunserum selbst auf die Komplemente hemmend wirkten, ob das hämolytische System genügend benützt wurde, oder ob die Komplemente allein hämolytisch keine Wirkung hätten.

Die Präzipitinisolierungsmethode im Kochsalzmedium: Nach Mischung einer bestimmten Menge von Präzipitinogen und Immunserum hielten wir es nach Schüttelung 2 Stunden lang auf 37°C und dann über Nacht im Eisschranke. Durch Zentrifugierung teilten wir Abguss und Bodensatz. Das Präzipitin, das im Abgusse noch unverbunden geblieben war, wurde in jedem Falle bestimmt. Nach dreimaliger Auswaschung des Bodensatzes mit physiologischer Kochsalzlösung stellten wir eine Bodensatzemulsion her in einer Menge von physiologischer Kochsalzlösung, die der Menge des angewandten Immunserums gleich war. Nach halbstündigem Wasserbade (65°C) zentrifugierten wir diese Emulsion und isolierten das Präzipitin.

Auto- und Isoantikörperbildung durch Linsenantigene.

*Krusius*³⁾, *Uhlenhuth* u. *Händel*⁴⁾, *Kapsenberg*⁵⁾ konnten schon auf Grund des anaphylaktischen Versuches bei Meerschweinchen Autoantikörper des Linsenantigens nachweisen. *Römer* u. *Gebb*⁶⁾ leugneten aber diese Anaphylaxieerscheinung. *Römer*⁷⁾ konnte trotz seiner eingehenden serologischen Untersuchungen bei senilen Katarakten kein Präzipitin für Linse nachweisen. *Guyer*⁸⁾ (1925) konnte bei Kaninchen 7-10 Tage nach Diszision der Linse in ca. 50% der Fälle das Präzipitin für Linsenantigen im Blute nachweisen. Und *Kakita*⁹⁾ (1926) konnte auch bei Kaninchen 7-16 Tage nach Diszision der Linse das Präzipitin im Blute nachweisen. Was die Isoantikörperbildung der Linse anbelangt, so misslangen *Yamasaki*¹⁰⁾, *Shimizu*¹¹⁾, *Shibata*¹²⁾ u. anderen die Versuche trotz ihrer Bemühungen. Wir

beschäftigten uns gleichfalls mit der Auto- und Isoantikörperbildung durch Linsenantigene und erzielten die folgenden Versuchsergebnisse:

a. *Autoantikörper (Präzipitin) bildung durch Linsenantigene.*

Die enukleierte Linse wird getrocknet und pulverisiert. Eine frische Kaninchenlinse ist gewöhnlich ca. 0.5 g, eine getrocknete 0.1–0.15 g schwer. Nachdem sich die Kaninchen von der Eukleation des Bulbus erholt hatten, spritzten wir ihnen jeden vierten oder fünften Tag 4–5 mal Autolinsenemulsion intravenös, subkutan und in die Hoden ein. Nach der letzten Injektion entnahmen wir jeden zweiten Tag das Blut und untersuchten die Präzipitinreaktion. Trotz unserer Bemühungen konnten wir nur negative Resultate beobachten.

Wie schon erwähnt, wurden die positiven Antikörperbildungen bei vorhergehenden Untersuchungen nur durch Verletzung der Linse an Ort und Stelle (Diszision) erzielt. Wir wandten diese Methode gleichfalls an. Diszision: Man hält den Bulbus am Sehnenende des M. rectus mit einer Pinzette und steckt dann am Rande der Hornhaut die *Bowmann'sche* Nadel in die Vorderkammer hinein. Dabei hat man darauf zu achten, dass Augenbogen und Hornhaut nicht verletzt werden. Mit der in die Vorderkammer hineingesteckten Nadel zerstört man vorsichtig die Linse. Nach der Diszision entnahmen wir dem Versuchstiere jeden zweiten Tag das Blut und prüften die Präzipitinreaktion auf Linsenantigene. In der ersten Versuchsgruppe erlangten wir bei einem von 6 Kaninchen, in der zweiten ebenfalls bei einem von 5 Kaninchen ein positives Resultat. Wir wollen diese positiven Resultate nun etwas näher beschreiben.

Kaninchen ♂ 2,800 g. 5/Febr. 1930, rechtsseitige Diszision. 9/Febr.; wir konnten zum ersten Male das Präzipitin für Linsenantigen nachweisen. Bindungszone 1 : 200, Verdünnungstiter 1 : 1. 11/Febr., Bindungszone 1 : 200, Verdünnungstiter 1 : 2. 13/Febr., Präzipitintiter nahm ab und betrug 1 : 1, Bindungszone 1 : 200. 15/Febr.; wir konnten das Präzipitin nicht mehr nachweisen (Tabelle 1).

Das Präzipitin reagiert sowohl mit Kaninchenlinse als auch mit Rinder- und Hundelinse. Das am 11/Febr. entnommene Serum wurde benützt, weil dabei der Präzipitinwert am höchsten war (Tabelle 2).

Wir versuchten, nach der Komplementbindungsreaktion die Antikörper nachzuweisen, konnten aber wegen der Eigenhemmung des Serums das Ziel nicht erreichen.

Kaninchen ♀ 3,100 g. 8/März 1931, rechtsseitige Diszision. 13/März, positive Präzipitinreaktion, Bindungszone 1 : 100, Verdünnungstiter 1 : 1. 14/März, Präzipitintiter war grösser und betrug 1 : 4, Bindungszone 1 : 100. 15/März, ebenso. 16/März, Präzipitintiter war geringer und betrug 1 : 1, Bindungszone 1 : 100. 17/März; wir konnten kein Präzipitin mehr nachweisen. Wir führten ferner die linksseitige Diszision aus, 18/März, und konnten wieder die Präzipitinreaktion nachweisen. Bindungszone 1 : 100, Verdünnungstiter 1 : 1. 19/März, Verdünnungstiter stieg bis

Tabelle 1. Verlauf und Reaktion des Autolinsenpräzipitins.
(Kaninchen, ♂ 2,800 g).

Datum	Antigenverd.		25	50	100	200	400	800	1,000
	Antik. verd.								
5/Feb.	Rechtsseitige Diszision.								
7/ ..	1:1		—	—	—	—	—	—	—
9/ ..	1:1		—	—	±	+	±	—	—
	1:2		—	—	—	—	—	—	—
11/ ..	1:1		—	—	+	++	++	±	—
	1:2		—	—	—	+	±	—	—
	1:4		—	—	—	±	—	—	—
	1:8		—	—	—	—	—	—	—
13/ ..	1:1		—	—	±	+	+	±	—
	1:2		—	—	—	±	—	—	—
	1:4		—	—	—	—	—	—	—
15/ ..	1:1		—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 2. Reaktion des Autolinsenpräzipitins (Kaninchen,
♂ 2,800 g) auf verschiedene Linsenarten.

Antigen- verdünnung	Linsenarten								
	Kaninchenlinse			Rinderlinse			Hundelinse		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4
1: 25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 100	+	—	—	+	—	—	+	—	—
1: 200	++	+	—	++	+	—	++	+	—
1: 400	++	±	—	++	—	—	++	—	—
1: 800	±	—	—	±	—	—	—	—	—
1: 1,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—

auf 1:4, Bindungszone 1:100. 20/März, Verdünnungstiter sank allmählich und betrug 1:2, Bindungszone 1:100. 21/März, weitere Verminderung d. i. 1:1, Bindungszone 1:100. 22/März; wir konnten keine Präzipitinreaktion mehr nachweisen (Tabelle 3).

Das Präzipitin reagiert auch mit Rinderlinse. Dabei wurde das Serum am 15/März als Immuneserum angewendet (Tabelle 4).

Trotz unserer Bemühungen konnten wir die Komplementbindungsreaktion wegen der Eigenhemmung des Serums nicht erzielen.

Tabelle 3. Verlauf und Reaktion des Autolinsenpräzipitins
(Kaninchen, ♀ 3,100 g).

Datum	Antigenverd.	10	25	50	100	250	500	1,000
	Antik. verd.							
8/März	rechtsseitige Diszision							
10/ „	1:1	—	—	—	—	—	—	—
12/ „	1:1	—	—	—	—	—	—	—
13/ „	1:1	—	±	++	++	±	—	—
	1:2	—	—	—	—	—	—	—
14/ „	1:1	##	###	###	###	##	++	—
	1:2	##	##	##	##	++	++	—
	1:4	++	++	++	++	±	—	—
	1:8	—	—	—	—	—	—	—
15/ „	1:1	###	###	###	###	##	+	—
	1:2	##	##	##	##	±	—	—
	1:4	##	##	##	##	+	—	—
	1:8	—	—	—	—	—	—	—
16/ „	1:1	—	—	±	++	—	—	—
	1:2	—	—	—	—	—	—	—
17/ „	1:1	—	—	—	—	—	—	—
	linksseitige Diszision							
18/ „	1:1	++	##	##	##	##	±	—
	1:2	—	—	—	—	—	—	—
19/ „	1:1	##	##	##	##	++	++	—
	1:2	++	++	++	++	+	—	—
	1:4	—	±	+	++	±	—	—
	1:8	—	—	—	—	—	—	—
20/ „	1:1	—	+	##	++	—	—	—
	1:2	—	+	+	+	—	—	—
	1:4	—	—	—	—	—	—	—
21/ „	1:1	—	±	+	+	—	—	—
	1:2	—	—	±	±	—	—	—
	1:4	—	—	—	—	—	—	—
22/ „	1:1	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 4. Reaktion des Autolinsenpräzipitins
(Kaninchen, ♀ 3,100 g) auf Rinderlinse.

Antigenverdünnung	Linsenarten		Kaninchenlinse				Rinderlinse			
	Antikörperverd.		1	2	4	8	1	2	4	8
1: 10			###	##	##	—	##	##	##	—
1: 25			###	##	##	—	###	##	##	—
1: 50			###	##	##	—	###	##	##	—
1: 100			###	##	##	—	###	##	##	—
1: 250			##	±	±	—	##	±	±	—
1: 500			+	—	—	—	±	—	—	—
1: 1,000			—	—	—	—	—	—	—	—

b. Isoantikörper (Präzipitin) bildung durch Linsenantigene.

Wie oben erwähnt, konnten wir die Autopräzipitinbildung durch Kaninchenlinsenantigen erzielen. Was die Isoantikörperbildung durch Linsenantigene anbelangt, so erlangten *Yamasaki*, *Shimizu*, *Shibata* u. a. trotz ihrer Bemühungen negative Resultate. Es hat mit kurzen Worten den Anschein, als ob die Isopräzipitinbildung durch Linsenantigene sehr schwierig wäre.

Bei 10 Kaninchen führten wir durch auf die oben dargelegte Immunisierungsweise Immunisierung wiederholt aus (intravenös und subkutan je 5). Nur bei einem männlichen Tiere vom Körpergewichte von 2,500 g, das 31-malige subkutane Injektionen der Linsenemulsion durchgemacht hatte, konnten wir das Präzipitin im Blute nachweisen, und zwar blieb es 4-7 Tage nach der letzten Injektion positiv reagierfähig (Tabelle 5).

Hier wird die Reaktion am 6. Tage nach der letzten Injektion veranschaulicht. Die Bindungszone ist 1:800, und der Verdünnungstiter zeigt 1:8 (für Kaninchenlinse). Dieses Präzipitinserum reagiert auch in gleichem Grade mit Rinder-, Pferde- und Hundelinsenantigen, etwas schwächer mit Hühnerlinsenantigen. Mittels der Komplementbindungsreaktion erzielten wir das positive Resultat, wie es in der Tabelle gezeigt wird. Bei der Verdünnung (1:800) des Kaninchenlinsenantigens bindet das Immunserum (1:2) ein wenig. Es erweckt den Anschein, als ob das Isolinsenimmunserum in bezug auf Spezifität streng organspezifisch wäre.

Die Immunisierung mit der mit Schweineserum versetzten Isolinsenemulsion.

Auf Grund der Mitwirkung des Schweineserums an der Immunisierung stellten wir folgende Untersuchung an: Mit der durch oben genannte Herstellungsmethode gewonnenen Linsenemulsion ver-

Tabelle 5. Reaktion des Isolinsenantikörpers von Kaninchen auf verschiedene Linsenarten.

Arten der Antigene	Antigenverd. Antik. verd.	10	25	50	80	100	200	400	800	1,000	2,000
		Präzipitinreaktion									
Kaninchenlinse	1: 1	/	-	+	++	++	###	###	++	+	-
	1: 2	/	-	-	+	++	###	###	++	+	-
	1: 4	/	-	-	+	+	++	++	++	+	-
	1: 8	/	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	1: 16	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rinderlinse	1: 1	/	-	±	++	++	###	###	++	+	-
	1: 2	/	-	-	+	++	###	###	++	+	-
	1: 4	/	-	-	+	+	++	++	+	+	-
	1: 8	/	-	-	-	-	-	±	+	-	-
	1: 16	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pferdelinse	1: 1	/	-	±	++	++	###	###	++	+	-
	1: 2	/	-	-	+	++	###	###	++	+	-
	1: 4	/	-	-	+	+	++	++	+	+	-
	1: 8	/	-	-	-	-	-	±	+	-	-
	1: 16	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hundelinse	1: 1	/	-	±	++	++	###	###	++	+	-
	1: 2	/	-	-	+	++	###	###	++	+	-
	1: 4	/	-	-	+	+	++	++	+	+	-
	1: 8	/	-	-	-	-	-	±	+	-	-
	1: 16	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hühnerlinse	1: 1	/	-	-	+	++	###	###	++	+	-
	1: 2	/	-	-	-	+	++	++	+	+	-
	1: 4	/	-	-	-	-	±	+	+	±	-
	1: 8	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Komplementbindungsreaktion											
Kaninchenlinse	1: 2					-	-	±	++	+	-
	1: 4					-	-	-	-	-	-

setzten wir Schweineserum (Linsenemulsion 4 : Schweineserum 1). 2.5-3.5 cc dieser Mischung wurden bei 5 Kaninchen jeden fünften Tag einigemale intravenös injiziert. Bei einem davon konnten wir nach 5 maliger Immunisierung ein positives Resultat erreichen. Das

untersuchte Immuns Serum wurde 6 Tage nach der letzten Injektion gewonnen (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Arten der Antigene	Antik. verd.		1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048
	Antigenverd.													
Kaninchenlinse	1: 50		++	##	##	+	-	-						
	1: 100		##	###	##	+	-	-						
	1: 200		###	###	##	++	+	-						
	1: 400		##	###	##	++	+	-						
	1: 800		++	+	-	-	-	-						
	1: 1,000		-	-	-	-	-	-						
Rinderlinse	1: 50		++	##	++	-	-	-						
	1: 100		##	###	##	-	-	-						
	1: 200		##	###	##	++	±	-						
	1: 400		++	##	##	++	+	-						
	1: 800		+	-	-	-	-	-						
	1: 1,000		-	-	-	-	-	-						
Schweineserum	1: 50		###						###	###	##	++	-	-
	1: 100		###						###	###	##	++	-	-
	1: 250		###						###	###	##	+	±	-
	1: 500		###						###	##	+	-	-	-
	1: 1,000		###						###	##	+	-	-	-
	1: 2,500		###						###	##	-	-	-	-
	1: 5,000		###						##	++	-	-	-	-
	1: 10,000		##											
	1: 25,000		+											
	1: 50,000		-											

Wegen der stärkeren Eigenhemmung des Immuns Serums war das Resultat der Komplementbindungsreaktion mittels Linsenantigen unklar.

Um die Frage zu lösen, ob zwischen Kaninchenlinse und Schweineserum eine gemeinsame Antigenität vorhanden sei, machten wir folgenden Absorptionsversuch: Nach Versetzung von 1.0 cc Immuns Serum mit 50 fach verdünntem Schweineserum (1.0 cc) hielten wir es 2 Stunden lang auf 37°C und dann über Nacht im Eisschranke. Nach starker Zentrifugierung wurde der Abguss gewonnen und des ferneren die Reagierbarkeit des Abgusserums auf Linsenantigen dann geprüft (Tabelle 7).

Tabelle 7.

Absorb. Antigen	Reag. Antig.	Antik. verd. Anti- genverd.	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1.024	2.048
			Schw.-serum	1: 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1: 250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schw.-serum	Ka. linse	1: 100	###	##	++	—	—						
		1: 200	###	##	##	+	—						
		1: 400	###	##	##	+	—						
		1: 800	+	—	—	—	—						
Kalinse	Ka. linse	1: 200	—	—	—	—	—						
		1: 400	—	—	—	—	—						
	Schw.-serum	1: 50						###	##	##	+	—	—
		1: 100						###	###	##	++	—	—
		1: 250						###	###	##	++	—	—
		1: 500						###	##	+	—	—	—
	1: 1,000						###	##	—	—	—	—	

Aus diesem Versuche erhellt, dass zwischen Kaninchenlinse und Schweineserum keine gemeinsame Antigenität besteht. Obwohl wir nicht voreilig behaupten wollen, dass das Schweineserum sich an der Isoantikörperbildung nicht beteiligt, so bedünkt es uns nach unserer Untersuchung wenigstens, dass das Schweineserum die Isoantikörperbildung als Schlepper etwas befördert. Über diese Frage warten wir weitere Untersuchungen ab.

Antikörperbildung durch das gekochte Linsenantigen.

Die Tatsache, dass man die Antigenität und Reaktivität von Eiweisskörpern ändern kann, wenn man Eiweisskörper durch physikalische oder chemische Behandlungen heterogenisiert, wurde schon durch *Obermayer* u. *Pick*¹³⁾, *Okamoto*¹⁴⁾, *Berger*¹⁵⁾, *Sakai*¹⁶⁾, *Makino*¹⁷⁾ u. a. festgestellt, und diese Zustandsänderung des Antigens ist im allgemeinen bekannt. Hier untersuchten wir die Antikörperbildung durch das gekochte Isolinseantigen und die Reaktion zwischen dem auf diese Weise gebildeten Antikörper und dem rohen Linsenantigen bei Kaninchen.

Herstellungsmethode des gekochten Linsenantigens: 0.2 g der getrockneten Linsensubstanz wurde mit 10 cc dest. Wassers versetzt

und 30 Minuten lang bei 100°C gekocht. Nach Abkühlung in kaltem Wasser fügten wir krystallisiertes Kochsalz hinzu, sodass die Emulsion eine physiologische Kochsalzlösung enthielt.

Experimente: Bei 4 Kaninchen spritzten wir 10–15 cc gekochtes Linsenantigen (Kaninchen) 8–10 mal intravenös ein. Bei nur einem von ihnen (2,200 g schwer, männlich, 10 malige Injektionen) konnten wir eine Präzipitinbildung nachweisen. Das Immenserum reagiert nicht nur mit gekochtem Kaninchenlinsenantigen, sondern auch in gleichem Grade mit gekochtem Rinder-, Schweine- und Hundelinsenantigen, aber es zeigt keine Reaktion mit rohen Linsenantigenen von Kaninchen, Rindern, Schweinen und Hunden (Tabelle 8).

Tabelle 8. Reaktion des durch die gekochte Kaninchenlinse gebildeten Präzipitins von Kaninchen auf verschiedene gekochte und natürliche Linsenarten.

Arten der Antigene	Antigen-verd.		50	100	200	400	800	1,000	1,600	3,200	6,400
	Antik.verd.										
gekochte Ka. linse	1:1		—	—	+	##	##	##	##	±	—
	1:2		—	—	—	+	##	##	##	±	—
	1:4		—	—	—	—	—	+	±	—	—
	1:8		—	—	—	—	—	—	—	—	—
gekochte Rinderlinse	1:1		—	—	+	##	##	##	##	—	—
	1:2		—	—	—	+	##	##	+	—	—
	1:4		—	—	—	—	—	+	—	—	—
	1:8		—	—	—	—	—	—	—	—	—
gekochte Schweinelinse	1:1		—	—	+	##	##	##	+	—	—
	1:2		—	—	—	+	##	##	+	—	—
	1:4		—	—	—	—	—	+	—	—	—
	1:8		—	—	—	—	—	—	—	—	—
gekochte Hundelinse	1:1		—	—	+	##	##	##	+	±	—
	1:2		—	—	—	—	##	##	+	—	—
	1:4		—	—	—	—	—	+	—	—	—
	1:8		—	—	—	—	—	—	—	—	—
natürliche Ka. linse	1:1		—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:2		—	—	—	—	—	—	—	—	—
natürl. Rinderlinse	1:1		—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:2		—	—	—	—	—	—	—	—	—
natürl. Schweinelinse	1:1		—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:2		—	—	—	—	—	—	—	—	—
natürl. Hundelinse	1:1		—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:2		—	—	—	—	—	—	—	—	—

Auf Grund obiger Versuche scheint das Linsenantigen durch Hitzewirkung streng organspezifisch geworden und seine relative Organspezifität ganz erlöschen zu sein. Deshalb war die Isoantikör-

perbildung bei Immunisierung des Kaninchens mit gekochtem Linsenantigen viel leichter zu erzielen als bei rohem Material. Doch muss man über die Spezifitätsfrage zurückhaltend sein, weil die Organspezifität im engeren Sinne von einer Zustandsänderung des Antigens nicht betroffen wird, indem bei starker Zustandsänderung des Antigens die Artspezifität der verschiedenen Antigene nicht mehr nachweisbar ist. Bei Linsenantigen kam die Veränderung durch Hitze viel schneller als bei Serumantigen.

Über die verminderte Reaktion des Antilinsenserums mit Linsenantigenen, die aus einem Immuntiere stammen.

Bei Untersuchung der Organspezifität der Linse beobachtete der eine Verfasser, *Gotoh*, folgende Tatsache: Das Antirinderlinsenserum von Kaninchen reagiert sowohl mit dem Linsenantigen von Rindern und anderen Säugetieren als auch mit der Kaninchenlinse. Doch wies diese Reaktion bei der *Uhlenhuths*chen Methode keinen Unterschied des Reaktionsgrades auf. Untersucht man sie aber nach Antikörperverdünnungsmethode, so beobachtet man einen Unterschied im Reaktionsgrade je nach den Antigenen. Das Hauptantigen, d. h. die Rinderlinse, reagiert am stärksten und die Kaninchenlinse (Immuntier) am schwächsten. Es scheint, dass in der Reaktion zwischen Antiserum und Linsenantigen des Immuntieres irgendeine reaktionshemmende Ursache vorliegt. Wir untersuchten deshalb, ob diese Tatsache nicht nur bei Kaninchen, sondern auch bei anderen Tieren nachweisbar sei und machten folgende Versuche, wobei wir Kaninchen, Meerschweinchen und Hühner benützten:

1. Versuche mit Antirinderlinsenserum von Kaninchen (Tabelle 9).

Tabelle 9. Präzipitinreaktion.

Uhlenhuthsche Methode								Arten d. Antigene	Verdünnungsmethode						
100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000		Antik.- verd.	10	20	40	50	80	100
									B. z.						
###	###	###	###	###	##	+	—	Rind.- linse	1: 1,000	###	##	##	##	++	—
###	###	###	###	##	++	+	—	Pferde- linse	1: 1,000	###	##	##	++	—	—
###	###	###	###	##	++	+	—	Schw.- linse	1: 1,000	###	##	##	##	—	—
###	###	###	###	##	++	+	—	Ms.- linse	1: 1,000	###	##	##	++	—	—
###	###	###	###	++	++	+	—	Ka.- linse	1: 800	###	++	+	—	—	—

Nach der *Uhlenhuths*chen Methode zeigt dieses Immuneserum eine fast gleiche Reaktion mit Linsenantigenen von Rindern, Pferden, Schweinen sowie Kaninchen und beträgt 1 : 10,000. Es offenbart sich hier somit eine absolute Organspezifität. Wendet man aber die Antikörperverdünnungsmethode an, so ist die Reaktion je nach den Linsenantigenen verschieden, d. h. das Immuneserum für Rinderlinse zeigt 1 : 80, für Pferde-, Schweine- und Meerschweinchenlinse 1 : 50 und für Kaninchenlinse 1 : 40. Kaninchenlinse hat unter den oben genannten Säugetieren den niedrigsten Reaktionsgrad. Diese Tatsache wurde schon von *Maķino*¹⁸⁾ bei seiner Untersuchung über die Spezifität von Linseneiweiss erwähnt. Mittels der Komplementbindungsreaktion lässt sich ein gleiches Verhalten feststellen (Tabelle 10).

Tabelle 10. Komplementbindungsreaktion.

Uhlenhuthsche Methode							Arten d. Antigene	Verdünnungsmethode							
100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000		25,000	Antik.- verd.	10	20	40	50	80	100
								B. z.							
+	+	+	+	+	+	+	-	Rind- linse	1 : 2,000	+	+	+	+	-	-
+	+	+	+	+	+	±	-	Pferde- linse	1 : 2,000	+	+	±	-	-	-
+	+	+	+	+	+	+	-	Schw.- linse	1 : 2,000	+	+	+	-	-	-
+	+	+	+	+	+	±	-	Ka.- linse	1 : 2,000	+	+	-	-	-	-

2. Versuche mit Antirinderlinsenserum von Meerschweinchen
(Tabelle 11).

Tabelle 11. Präzipitinreaktion.

Uhlenhuthsche Methode							Arten der Antigene	Verdünnungsmethode						
20	40	80	100	200	400	800		Antik.- verd.	2	4	8	16	32	64
								B. z.						
###	###	###	###	##	++	-	Rinderl.	1 : 100	###	###	##	++	+	-
###	###	###	##	++	++	-	Schweinel.	1 : 100	###	##	##	+	-	-
###	###	###	##	++	+	-	Ka. linse	1 : 100	###	##	++	+	-	-
###	###	###	##	++	++	-	Ms. linse	1 : 80	++	++	+	-	-	-

Dieses Immuneserum zeigt nach der *Uhlenhuths*chen Methode 1 : 400 für Rinder-, Schweine-, Kaninchen- und Meerschweinchenlinsenantigene, und nach der Antikörperverdünnungsmethode für Rinderlinse 1 : 32, für Schweine- und Kaninchenlinse 1 : 16 und für Meerschweinchenlinse 1 : 8. Somit ist die Reaktion mit der Linse

von Meerschweinchen, d. h. von Immuntieren, am schwächsten.

3. Versuche mit Antirinderlinsenserum von Hühnern (Tabelle 12).

Tabelle 12. Komplementbindungsreaktion.

Uhlenhuthsche Methode										Arten d. Antigene	Verdünnungsmethode							
250	500	800	1,000	2,500	5,000	10,000	20,000	40,000	Antik.- verd.		10	20	40	50	80	100	160	200
											B. z.							
###	###	###	###	###	###	##	+	—	R. l.	1 : 2,000	###	###	###	##	++	++	+	—
###	###	###	###	###	###	##	+	—	P. l.	1 : 2,000	###	###	###	##	++	++	±	—
###	###	###	###	###	###	##	+	—	E. l.	1 : 1,000	###	###	###	++	+	—	—	—
###	###	###	###	###	###	##	+	—	T. l.	1 : 1,000	###	###	###	++	+	—	—	—
###	###	###	###	###	###	##	+	—	H. l.	1 : 1,000	###	##	++	+	—	—	—	—

R. l. = Rinderlinse, P. l. = Pferdlinse, E. l. = Entenlinse,
T. l. = Truthühnerlinse, H. l. = Hühnerlinse.

Die Reaktion dieses Immuserums für Rinder-, Pferde-, Enten-, Truthühner- und Hühnerlinse zeigt nach der *Uhlenhuthschen* Methode keinen Unterschied. Verwendet man die Antikörperverdünnungsmethode, so reagiert Rinderlinse 1 : 160, Pferdlinse 1 : 100, Enten- und Truthühnerlinse 1 : 80 und Hühnerlinse 1 : 50. Es ist also der Reaktionsgrad der Hühnerlinse am niedrigsten.

Aus diesen Versuchen ersieht man, dass die Linse von Immuntieren auf das Antilinsenimmuserum derselben Tiere am schwächsten reagiert. Um diese interessante Wirkung des Immuserums als Folge der Antigenität eingehend zu prüfen, haben wir das Immuserum mit verschiedenen Linsenarten zuerst stark digeriert und den Antikörper aus dieser Antigen-Antikörperbindung wieder befreit. Mit diesem isolierten Antikörper haben wir folgende Untersuchungen angestellt:

Vergleich mit isoliertem Antilinsenimmuserum.

Das für diesen Versuch verwendete Immuserum wurde durch mehrmalige Immunisierungen mit Rinderlinsenemulsion von Kaninchen gewonnen (Tabelle 13).

Wir isolierten im Kochsalzlösungsmedium bei 65°C das mit verschiedenen Linsenarten gebundene Linsenpräzipitin aus Antirinderlinsenserum und untersuchten die Reaktion auf Rinderlinse und andere Linsen, wie z. B. Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen-, Hühner- und Froschlinse, durch die Verdünnungsmethode. Das Resultat wird durch Tabelle 14 veranschaulicht.

Tabelle 13. Präzipitinreaktion des Antirinderlinsenserums auf verschiedene Linsenarten.

Reaktion Antigen	U'sche Methode	Antikörperverdünnungsmethode							
		Antik.- verd. Bin- dungszone	10	25	50	100	160	200	400
Rinderl.	10,000	1,000	###	###	###	###	##	++	—
Pferdel.	10,000	1,000	###	###	###	##	++	+	—
Ms. linse	10,000	1,000	###	###	###	##	++	++	—
Ka. linse	10,000	1,000	###	###	###	##	++	—	—
Hühnerl.	10,000	500	###	###	###	++	—	—	—
Froschl.	5,000	250	###	##	++	±	—	—	—

Aus dieser Tabelle erhellt, dass die Reaktion des isolierten Präzipitins auf die Kaninchenlinse im Vergleich zu den Linsen anderer Säugetiere, wie z. B. von Rindern, Pferden und Meerschweinchen, schwach ist, wenn man ausserdem Kaninchenlinse oder zoologisch weit entfernte Linsenantigene (Vogel oder Fisch) zur Bindung benützt. Diese Ergebnisse wurden auch mit der Komplementbindungsreaktion nachgewiesen. Der isolierte Antikörper zeigt sich nach Komplementbindungsreaktion parallel mit der Präzipitinreaktion (Tabelle 15).

In obiger Tabelle erhellt somit auch aus der Komplementbindungsreaktion, dass die isolierten Antikörper mit verschiedenen Linsenarten positiv reagieren und dass bei Digerierung mit Rinderlinse die Reaktion für die Linsenarten fast die gleiche ist.

Aus obigen Versuchen haben wir nachgewiesen, dass das Linsenantigen durch Zustandsänderung infolge von Hitzewirkung sehr labil ist, und wir haben infolgedessen Versuche mit Kaninchenlinse oder anderen Linsen angestellt.

Zur Prüfung des Einflusses der Temperatur auf die Linsenantigene benützten wir das Antirinderlinsenimmenserum von Kaninchen, das nach der Antikörperverdünnungsmethode für Rinderlinse die Bindungszone 1:1,000, den Verdünnungstiter 1:160, für Kaninchenlinse die Bindungszone 1:800, den Verdünnungstiter 1:80 und nach der *Uhlenhuths*chen Methode 1:10,000 für beide Antigene aufweist.

Auf die Rinder- und Kaninchenlinsenantigene liessen wir verschiedene Temperaturen, d. h. -10°C , 0°C , 56°C , 70°C , 80°C und 100°C , eine gewisse Anzahl von Stunden lang einwirken, was es uns ermöglichte, den Einfluss dieser Temperaturen auf die Reaktion zwischen dem Immenserum und den Linsenantigenen zu untersuchen (Tabelle 16).

Tabelle 14. Präzipitinreaktion.

Antigene		Präzipitintiter				B. Q.	I. Q.
für Bindung.	für Reakt.	B. z.	Orig.-serum	Abguss	Isolierte Lösung		
Rinderl.	Rinderl.	1,000	200	50	16	3/4	1/10
	Pferdel.	1,000	200	50	16		
	Ms. linse	1,000	200	50	16		
	Ka. linse	1,000	160	40	8		
	Hühnerl.	500	100	20	4		
	Froschl.	250	50	10	2		
Pferdel.	Rinderl.	1,000	200	80	8	3/5	1/15
	Pferdel.	1,000	200	80	8		
	Ms. linse	1,000	200	80	8		
	Ka. linse	1,000	160	60	6		
	Hühnerl.	500	100	40	4		
	Froschl.	250	50	20	2		
Ms. linse	Rinderl.	1,000	200	100	8	1/2	1/12.5
	Pferdel.	1,000	200	100	8		
	Ms. linse	1,000	200	100	8		
	Ka. linse	1,000	160	80	6		
	Hühnerl.	500	100	/	4		
	Froschl.	250	50	/	2		
Ka. linse	Rinderl.	1,000	200	100	8	1/2	1/12.5
	Pferdel.	1,000	200	100	8		
	Ms. linse	1,000	200	100	8		
	Ka. linse	1,000	160	80	8		
	Hühnerl.	500	100	/	4		
	Froschl.	50	50	/	2		
Hühnerl.	Rinderl.	1,000	200	160	4	1/5	1/10
	Pferdel.	1,000	200	/	4		
	Ms. linse	1,000	200	/	4		
	Ka. linse	1,000	160	100	4		
	Hühnerl.	500	100	80	4		
	Froschl.	250	50	/	2		
Froschl.	Rinderl.	1,000	200	160	2	1/5	1/20
	Pferdel.	1,000	200	160	2		
	Ms. linse	1,000	200	160	2		
	Ka. linse	1,000	160	100	2		
	Hühnerl.	500	100	80	2		
	Froschl.	250	50	/	2		

B. z. = Bindungszone, B. Q. = Bindungsquotient, I. Q. = Isolierungsquotient.

Tabelle 15. Komplementbindungsreaktion.

Antigene		Titer d. Komplementbindung				B. Q.	I. Q.
für Bindung.	für Reakt.	B. z.	Orig.-serum	Abguss	Isolierte Lösung		
Rinderl.	Rinderl.	2,500	100	25	8	3/4	1/10
	Pferdel.	2,500	100	25	8		
	Ms. linse	2,500	100	25	8		
	Ka. linse	2,500	80	20	4		
Pferdel.	Rinderl.	2,500	100	40	4	3/5	1/15
	Pferdel.	2,500	100	40	4		
	Ms. linse	2,500	100	40	4		
	Ka. linse	2,500	80	40	4(±)		
Ms. linse	Rinderl.	2,500	100	40	4	1/2	1/12.5
	Pferdel.	2,500	100	40	4		
	Ms. linse	2,500	100	40	4		
	Ka. linse	2,500	80	25	4(±)		
Ka. linse	Rinderl.	2,500	100	50	4	1/2	1/12.5
	Pferdel.	2,500	100	50	4		
	Ms. linse	2,500	100	50	4		
	Ka. linse	2,500	80	50	4		

Tabelle 16. Präzipitinreaktion.

Temperatur	Arten der Antigene	Antik. verd. Bindungszone	Antik. verd.						
			10	20	40	80	100	160	200
-10°C 2 Std.	Rinderlinse	1: 1,000	###	###	###	##	++	-	-
	Ka. linse	1: 800	###	###	##	++	-	-	-
0°C 2 Std.	Rinderlinse	1: 1,000	###	###	###	##	##	##	-
	Ka. linse	1: 800	###	###	##	##	±	-	-
Zimmer- temperatur	Rinderlinse	1: 1,000	###	###	###	##	++	++	-
	Ka. linse	1: 800	###	###	##	++	-	-	-
56°C 1/2 Std.	Rinderlinse	1: 1,000	###	###	###	##	++	+	-
	Ka. linse	1: 800	###	###	##	++	-	-	-
70°C 1/2 Std.	Rinderlinse	1: 500	###	###	##	++	-	-	-
	Ka. linse	1: 500	###	###	##	+	-	-	-
80°C 1/2 Std.	Rinderlinse	1: 250	###	##	±	-	-	-	-
	Ka. linse	1: 250	###	##	±	-	-	-	-
100°C 1/2 Std.	Rinderlinse	/	-	-	-	-	-	-	-
	Ka. linse	/	-	-	-	-	-	-	-

Bei Verwendung eines 2 Stunden lang -10°C abgekühlten Rinderlinsenantigens vermindert sich der Verdünnungstiter von 1:160 bis auf 1:100, und bei Verwendung des Linsenantigens von Kaninchen bleibt der Verdünnungstiter unverändert (1:80). Wenn man dann die Linsenantigene benützt, die 2 Stunden lang auf 0°C gehalten wurden, so wird die Reaktivität im Vergleiche zu der bei der Zimmertemperatur beschleunigt. Für Rinderlinse zeigt der Verdünnungstiter 1:160 und für Kaninchenlinse 1:80. Wenn man die Linsenantigene, die 30 Minuten lang auf 56°C erwärmt wurden, benützt, kann man an der Reaktivität im Vergleiche zu der bei der Zimmertemperatur fast keinen Unterschied feststellen. In den obigen drei Fällen ändert sich die Bindungszone des Immunserums nicht. Wenn man aber die Linsenantigene, die 30 Minuten lang auf 70°C erhitzt wurden, benützt, so wird die Reaktion mit Rinderlinsenantigenen schwächer und die Bindungszone 1:500 zeigt den Verdünnungstiter 1:80. Der Verdünnungstiter für Kaninchenlinsenantigen ist wie früher 1:80, die Bindungszone steigt aber auf 1:500 herab. Erhitzt man ferner Linsenantigene 30 Minuten lang auf 80°C , so wird die Reaktivität sehr schwach und die Bindungszone 1:250 zeigt bei

Tabelle 17. Komplementbindungsreaktion.

Temperatur	Arten der Antigene	Antik. verd.							
		Bindungszone	10	20	40	80	100	160	200
-10°C 2 Std.	Rinderlinse	1:2,000	+	+	+	±	-	-	-
	Ka. linse	1:2,000	+	+	+	-	-	-	-
0°C 2 Std.	Rinderlinse	1:2,000	+	+	+	+	-	-	-
	Ka. linse	1:2,000	+	+	+	-	-	-	-
Zimmer- temperatur	Rinderlinse	1:2,000	+	+	+	+	-	-	-
	Ka. linse	1:2,000	+	+	+	-	-	-	-
56°C 1/2 Std.	Rinderlinse	1:2,000	+	+	+	+	-	-	-
	Ka. linse	1:2,000	+	+	+	-	-	-	-
70°C 1/2 Std.	Rinderlinse	1:1,000	+	+	+	-	-	-	-
	Ka. linse	1:1,000	+	+	+	-	-	-	-
80°C 1/2 Std.	Rinderlinse	1:500	+	-	-	-	-	-	-
	Ka. linse	1:500	+	-	-	-	-	-	-
100°C 1/2 Std.	Rinderlinse	/	-	-	-	-	-	-	-
	Ka. linse	/	-	-	-	-	-	-	-

Rinder- und Kaninchenlinsenantigenen den Verdünnungstiter 1:20. Man kann hier also die Haupt- und Nebenantigene nicht unterscheiden, und es zeigt sich die absolute Organspezifität. Kurzum, die Einwirkung der niedrigeren Temperaturen (-10°C – 0°C) beeinflusst die Beschaffenheit der Linsenantigene nur leicht, aber die Einwirkung der höheren Temperaturen verändert die Beschaffenheit von Linseneiweiß und erzeugt eine Zustandsspezifität. Die Bindungszone des Immuserums neigt zur Verschiebung nach dem geringeren Verdünnungsgrade hin. Wenn man dann Linsenantigen 30 Minuten lang auf 100°C kocht, so bleibt es mit dem Immuserum von natürlichen Linsenantigenen reaktionslos. Beim Versuche mit der Komplementbindungsreaktion vermögen wir fast die gleichen Resultate zu erzielen (Tabelle 17).

Zusammenfassung.

Obwohl die Antikörperbildung durch Auto- und Isolinsenantigene von mehreren Forschern behandelt wurde, so sind die Resultate nicht übereinstimmend. Es erweckt den Anschein, als ob die Antikörperbildung durch Autolinsenantigen leichter erzielbar sei als die durch Isolinsenantigen. Wir beschäftigten uns auch mit diesem Thema und konnten folgende Resultate erzielen:

1. Die Antikörper (Präzipitin)-bildung durch Autolinsenantigen. Wir vermochten durch Einverleibungsmethoden ohne Diszision, mittels deren wir bei ca. 20% aller Versuchstiere eine positive Präzipitinbildung nachweisen konnten, das Ziel nicht zu erreichen. Wir konnten Autopräzipitin 4–5 Tage nach der Diszision nachweisen, und die positive Dauer betrug gleichfalls 4–5 Tage. Nachdem das durch einseitige Diszision gebildete Autopräzipitin verschwunden war, konnten wir am Tage nach der anderseitigen Diszision Präzipitin wiederum nachweisen, und die positive Reaktion hielt 4 Tage an. Das Präzipitin reagierte nicht nur mit Kaninchenlinse, sondern auch mit Rinder- und Hundelinsenantigen.

2. Die Antikörper (Präzipitin)-bildung durch Isolinsenantigen. Bei einem von 10 Kaninchen konnten wir Isolinsenpräzipitin 4–7 Tage nach der letzten Injektion dauernd nachweisen. Das Präzipitin reagierte auch sowohl mit Kaninchen- als auch mit Rinder-, Pferde-, Hunde- und Hühnerlinse. Wenn man Isolinsenemulsion mit Schweineserum als Schlepper injiziert, ist die Antikörperbildung anscheinend etwas leichter erzielbar.

Wir konnten bei Kaninchen also Auto- und Isoantikörper (Präzipitin)-bildung durch Linsenantigene konstatieren. Wie bei früheren

Untersuchungen ist die Autopräzipitinbildung leichter als die Isopräzipitinbildung zu erzielen. Diese Tatsache stimmt mit dem Resultate von *Ohki* überein, der sich mit der Auto- und Isoantikörperbildung durch Hoden- und Spermaantigene beschäftigt hat.

3. Das durch Immunisierung mit 30 Minuten lang gekochten isogenetischen Linsenantigenen erzeugte Immunserum zeigt keine Reaktion mehr für rohe Linsenantigene. Es wird die Zustandsspezifität erzeugt.

4. Wir konnten zwischen der Linse des Immuntieres und dem Antilinsenimmunserum desselben Tieres nach der Antikörperverdünnungsmethode eine interessante Erscheinung beobachten, die sich bei der gewöhnlichen, d. h. *Uhlenhuths*chen, Methode nicht zeigt. Es reagiert nämlich die Linse von Immuntieren mit dem Antilinsenimmunserum desselben Tieres am schwächsten. Doch wurde die Ursache dieser verminderten Reaktion durch unseren Versuch noch nicht klargestellt.

Zum Schlusse erfüllen wir die angenehme Pflicht, unserem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *M. Ogata*, für seine freundliche Anregung und Leitung bei Ausführung dieser Arbeit unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Ohki*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 43, Nr. 5, S. 1259 u. 2441, 1931. — ² *Ogata*, Vortrag in der 1. hygienischen, mikrobiologischen und parasitologischen Generalversammlung in Japan 1927. — ³ *Krusius*, Arch. f. Augenheilk. Bd. 67, S. 6, 1910. — ⁴ *Uhlenhuth* u. *Händel*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 4, S. 761, 1910. — ⁵ *Kapsenberg*, ebenda Bd. 15, S. 518, 1912. — ⁶ *Römer* u. *Gebb*, Arch. f. Ophth. Bd. 81, S. 367, 1912. — ⁷ *Römer*, ebenda Bd. 60, S. 176, 1905. — ⁸ *Guyer*, J. of infect. diseases. vol. 37, p. 93, 1925. — ⁹ *Kakita*, Nippon Ganka Gakkai Zasshi Bd. 3, S. 594, 1927 (Japanisch). — ¹⁰ *Yamasaki*, Shakai Igaku Zasshi S. 867, 1928 (Japanisch). — ¹¹ *Shimizu*, Juzenkai Zasshi Bd. 23, S. 8, 1918 (Japanisch). — ¹² *Shibata*, Nippon no Ikai Nr. 29, S. 5, 1929 (Japanisch). — ¹³ *Obermayer* u. *Pick*, Wien. kl. W. S. 646, 1906. — ¹⁴ *Okamoto*, Hokkaido Igaku Zasshi Jg. 6, S. 84, 1928 (Japanisch). — ¹⁵ *Berger*, Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 91, S. 519, 1924. — ¹⁶ *Sakai*, Shakai Igaku Zasshi S. 130, 1926 (Japanisch). — ¹⁷ *Maçino*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 42, S. 1819, 1930. — ¹⁸ *Derselbe*, ebenda Jg. 42, S. 858, 1930.