

Acta Medica Okayama

Volume 3, Issue 2

1932

Article 1

AUGUST 1932

Serologische Studie über die Beziehung
zwischen Plasma, Fibrinogen und Serum (III.
Mitteilung). Über die Isolierung des
Prazipitins.

Sumikazu Saeki*

*Okayama University,

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

Serologische Studie über die Beziehung zwischen Plasma, Fibrinogen und Serum (III. Mitteilung). Über die Isolierung des Prazipitins.*

Sumikazu Saeki

Abstract

Für vorliegende Mitteilung stellte ich Untersuchungen an über Isolierung der Antifibrinogenprazipitine sowie über die Spezifität des Fibrinogens mittels des isolierten Prazipitins. In den zur Ausführung gelangten und hier behandelten Versuchen ist mir die Isolierung des Antiplasma- und Antifibrinogenprazipitins gelungen. Das isolierte Antiplasmaprazipitin enthält immer zwei Prazipitinarten, Antiserum- und Antifibrinogenprazipitin, und während sich zwischen beiden Prazipitinen im Plasmaantiserum ein grosser Unterschied an Menge erkennen lässt, so besteht kein Unterschied zwischen diesen beiden isolierten Prazipitinen, weil das Fibrinogen für das Antigen bei der Prazipitinisolierung geeignet ist und mehr Antifibrinogenprazipitin als Antiserumprazipitin freigelegt wird. Die beiden Quotienten, Bindungs- und Isolierungsquotient, des Antifibrinogenprazipitins sind immer grösser als die des Antiserumprazipitins. In anderen Worten ausgedrückt bildet das Antifibrinogenprazipitin bei der Mischung mit Antigenen eine festere Bindung als das Antiserumprazipitin, und auch bei der Isolierung wird eine grössere Prazipitinmenge freigelegt. Vergleicht man miteinander die Titer des isolierten Antifibrinogenprazipitins mit den Fibrinogenen verschiedener Tierarten, so findet man Folgendes: a) Antirinderfibrinogenprazipitin gegen Fibrinogen von Rind 100%, Ziege 25%, Hund 1.5%, b) Antiziegenfibrinogenprazipitin gegen Fibrinogen von Ziege 100%, Rind 25%, Hund 1.5%. Aus obigen Ergebnissen können wir erkennen, dass die Artspezifität der Rinder-, Ziegen- und Hundefibrinogene bei der Untersuchung mittels isolierter Antifibrinogenprazipitine deutlicher zu unterscheiden ist als die beim genuine Immunserum (Rinderfibrinogenantiserum: mit Rinderfibrinogen 100%, mit Ziegenfibrinogen 50% und mit Hundefibrinogen 7%; Ziegenfibrinogenantiserum: mit Ziegenfibrinogen 100%, mit Rinderfibrinogen 37% und mit Hundefibrinogen 6%). Die Prazipitine, die nach Bindung mit einem anderen Fibrinogen (z. B. Ziegenfibrinogen) aus Sera der mit einem Fibrinogen (z. B. Rinderfibrinogen) vorbehandelten Kaninchen isoliert worden sind, reagieren in gleicher Weise sowohl mit homologem (Rinderfibrinogen) als auch mit heterologem Fibrinogen (Ziegenfibrinogen). D. h., aus der Reaktion des isolierten unspezifischen Prazipitins können wir ersehen, dass sich dabei die Spezifität gegenüber dem heterologen Antigen deutlich erhöht. Deswegen können wir auch beweisen, dass die Reaktion auf Rinderfibrinogen deutlich spezifisch und die auf Ziegenfibrinogen nicht

*Copyright © OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

spezifisch ist; daher stellt sich auch durch die Untersuchung mittels des isolierten Antifibrinogen-
prazipitins die Artspezifität als höher heraus wie mittels genuinen Serums.

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

**Serologische Studie über die Beziehung zwischen
Plasma, Fibrinogen und Serum
(III. Mitteilung).
Über die Isolierung des Präzipitins.**

Von

Sumikazu Saeki.

Eingegangen am 15. August 1931.

In der 1. und 2. Mitteilung (diese Arbeiten Bd. 2, S. 610 und Bd. 3, S. 1) berichtete ich ausführlich über die Spezifität des Fibrinogens mittels der Präzipitin-, Komplementbindungs- und Anaphylaxieversuche. Nunmehr will ich in dieser Mitteilung über die Isolierung der Antifibrinogenpräzipitine mich auslassen.

Schon früher sind über die Reindarstellung der verschiedenen Antikörper von vielen Autoren die Untersuchungsergebnisse veröffentlicht worden. Im Jahre 1897 fanden *Widal* und *Sicard*¹⁾ die konzentrierte Bakterienagglutinine im Serumglobulin, das durch die Behandlung des Immunserums mit Ammonsulfat ausgefällt wurde. Später wurde auch von *Winterberg*²⁾ die gleiche Untersuchung ausgeführt. Weiter entdeckten *Pick*³⁾ und *Gibson*⁴⁾ durch diese Methode, dass sich Typhusagglutinine hauptsächlich im Pseudoglobulinteile befinden. Obgleich durch Behandlung mit diesem Eiweissfällungsmittel die Isolierung des konzentrierten Antikörpers sich ermöglichen lässt, ist man trotzdem in der Reindarstellung des Antikörpers vor allem in bezug auf Eiweissgehalt hinter den Erwartungen zurückgeblieben. Deswegen unternahm man die Isolierung des Antikörpers mit Hilfe anderer Methoden, wonach die Antikörper mit den Antigenen sich binden und dann wieder trennen lassen. *Landsteiner*⁵⁾ sowie *Landsteiner* und *Jagic*⁶⁾ wandten diese Methode bei der Isolierung des Hämagoagglutinins an; hierauf gelang *Hahn* und *Trommsdorf*⁷⁾ sowie *Israel Weinstein*⁸⁾ die Reindarstellung der Typhusagglutinine. *Michaelis*⁹⁾ hatte die Isolierung der Präzipitine von dem Präzipitat versucht, aber nur die antigene Substanz in der isolierten Flüssigkeit gefunden, die Präzipitine vermochte er indes nicht nachzuweisen. Im Jahre 1918 hat *Kosakai*¹⁰⁾ mit Isolierung der Hämolyse aus roten Blutkörperchen unter Anwendung des Rohrzuckermediums Erfolg gehabt, und seitdem sind weitere grosse Fortschritte auf diesem

Gebiete zu verzeichnen. Von *Furuhata*¹¹⁾ wurde die Isolierung der Hämagoagglutinine und von *M. Ogata*¹²⁾ die der Bakterienagglutinine erfolgreich durchgeführt. Vor kurzem ist *Kageyama*¹³⁾ in unserem Institute die Isolierung des *Forssmanschen* Antikörpers aus entsprechenden Antigenen gelungen.

Die Literatur über die Isolierung von Präzipitinen ist nur unbedeutend. Wie schon von vielen Autoren vermutet, liesse sich diese auch mit der Präzipitinreaktion nachweisen, falls es gelingen würde, eine bestimmte konzentrierte Menge des Präzipitins in isolierten Medien zu erhalten. Deswegen ist die Isolierung bis heute noch nicht gelungen, und die Schwierigkeit besteht darin, dass einerseits für die Reaktion eine gewisse Menge von Präzipitinen nötig ist und andererseits bei geringer Präzipitinmenge durch Antigen eine hemmende Wirkung hervorgerufen wird. Im vergangenen Jahre ist aber unter Leitung von Prof. *M. Ogata* in unserem Institute *Sunouchi*^{14, 17)} die Isolierung des Serumpräzipitins gelungen, während *Haku*¹⁵⁾ mit der Isolierung des Bakterienpräzipitins gleichfalls erfolgreich war.

Ich habe nun auf Anregung und unter Leitung von Prof. *M. Ogata* Untersuchungen über Isolierung der Antifibrinogenpräzipitine sowie über die Spezifität des Fibrinogens mittels der isolierten Präzipitine angestellt und dabei folgende Resultate erzielt.

Vorbereitung und Untersuchungsmethode.

a) Immunsera.

Das Kaninchen wurde jeden fünften Tag mit Rinderblutplasma, Rinder- und Ziegenfibrinogen, bei 4 tägigen Pausen mehrmals, (über 5 mal) intravenös injiziert und 7 Tage nach der letzten Injektion das Blut entnommen. Aus dem oben angeführten Grunde habe ich für diese Untersuchungen die hoch immunisierten Immunsera benützt, für die der Präzipitintiter mittels der Ringprobe nach der *Ogataschen* Verdünnungsmethode mindestens über 1 : 200 nachweisbar ist.

b) Isolierungsmethode.

Bindung. Die für die Bindung und Isolierung des Präzipitins geeignete Antigenmenge wird nach der Bestimmung von Verdünnungstiter und Bindungszone des Immunerums mit Hilfe der nachfolgenden Formel (nach *Kuwana*¹⁶⁾ berechnet.

$$\text{Antigenmenge in cc} = \frac{\text{Verdünnungstiter}}{\text{Bindungszone}}$$

Zuerst habe ich der doppelten, nach obiger Formel berechneten Antigenmenge physiologische Kochsalzlösung bis zu 2 cc Immunsera beigemischt, darauf wurde das Gemisch stark geschüttelt. Nach zwei-

stündiger Digerierung bei 37°C habe ich dieses Gemisch bis zum nächsten Morgen im Eisschranke aufbewahrt. Durch starke Zentrifugierung wurde der Niederschlag abgesetzt. Hierauf wurde der Abguss behutsam in ein anderes Röhrchen abpipettiert und der Titer des zurückbleibenden Präzipitins bestimmt (Abguss 1).

Waschung. Der Bodensatz, d. h. die gebundenen Präzipitine, wurde dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und das Waschwasser jedesmal mit der Wasserluftpumpe gut abpipettiert, um den Serumrest möglichst zu entfernen.

Isolierung. Dieses serumfreie Präzipitat wurde mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur ursprünglichen Menge (2 cc Serummenge entsprechend) aufgefüllt. Nach starkem Schütteln wurde der Inhalt im Wasserbade bei 56°C 30 Minuten lang digeriert, und während der Digerierung wurde dieses Gemisch einigemal geschüttelt. Dieses Gemisch wurde durch Zentrifugierung wieder in Bodensatz und Abguss gesondert. Dieser Abguss ist die isolierte Antikörperlösung (Abguss 2).

Bindungsquotient (B. q.) und Isolierungsquotient (I. q.). Wir nennen die Differenz zwischen dem ursprünglichen Präzipitintiter des Immunsersums und dem des an der Bindung beteiligten Präzipitins Bindungsquotient, und dieser wird durch die nachfolgende Formel ausgedrückt:

$$\text{B. q.} = \frac{\text{Titer des Immunsersums} - 2 (\text{Titer des Abgusses 1})}{\text{Titer des Immunsersums}}$$

Ferner geben wir dem Verhältnis zwischen den gebundenen und isolierten Präzipitinen den Namen Isolierungsquotient (Quotient des frei gewordenen Präzipitins), den wir mittels der nachfolgenden Formel berechnen:

$$\text{I. q.} = \frac{\text{Titer des Abgusses 2}}{\text{Titer des gebundenen Präzipitins}}$$

Experiment.

Versuch 1. Die Experimente mit Antiplasmapräzipitinen.

In der ersten Mitteilung habe ich zweierlei Antikörper durch Immunisierung des Tieres mit Plasma nach der Präzipitinreaktion nachgewiesen, die beide auf Serum und Fibrinogen reagierten. Bei dieser Präzipitinreaktion zeigte das Plasmaantigen denselben Titer wie das Serumantigen. Darauf habe ich das Antiplasma Serum mit 3 Antigenen sensibilisiert und nach obiger Methode den Antikörper befreit. Dabei habe ich die isolierten Präzipitine auf ihre Reaktion mit drei Antigenen nochmals untersucht, um durch das Isolierungsverfahren die Beziehung der zwei Antikörper noch weiter aufzuhellen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen derjenigen isolierten Präzipitine, die sich nach der Bindung mit Antikörper und Antigen (Rinderplasma, -serum und -fibrinogen) von diesen wieder trennen liessen, sind in Tabelle 1 enthalten.

Tabelle 1. Die Versuche am Rinderplasmaantiserum.

Präzipitintiter des Originalserums			Antigenart f. Bindung	Präzipitintiter des Abgusses 1			Bindungsquotient	Titer des isolierten Präzipitins			Isolierungsquotient
Antigen	B.z.	V.t.		Antigen	B.z.	V.t.		Antigen	B.z.	V.t.	
Plasma	1 : 250	1 : 800	Plasma	Plasma	1 : 250	1 : 250	3/8	Plasma	1 : 250	1 : 32	1/10
				Fibrinogen	1 : 32	1 : 10	9/10	Fibrinogen	1 : 32	1 : 32	1/6
				Serum	1 : 250	1 : 250	3/8	Serum	1 : 250	1 : 32	1/10
Fibrinogen	1 : 32	1 : 200	Eifibrinogen	Fibrinogen	1 : 32	1 : 25	3/4	Fibrinogen	1 : 32	1 : 32	1/5
				Serum	1 : 250	1 : 250	3/8	Serum	—	—	—
Serum	1 : 250	1 : 800	Serum	Serum	1 : 250	1 : 160	3/5	Serum	1 : 100	1 : 40	1/12
				Fibrinogen	1 : 32	1 : 80	1/5	Fibrinogen	1 : 16	± 2	1/40

B.z. = Bindungszone. V.t. = Verdünnungstiter.

Bei diesen Versuchen konnte ich eine interessante Tatsache feststellen. Das Originalimmunserum reagierte mit homologem Plasma (1 : 800), Serum (1 : 800) und Fibrinogen (1 : 200). Nach Bindung mit diesen drei Antigenen wurden die Antikörper mehr oder weniger vermindert, und es blieben die noch nicht gebundenen Präzipitine in der Abgussflüssigkeit zurück, die nach Zentrifugierung vom Bodensatz scharf getrennt ward.

Das Bindungsverhältnis ist beim Fibrinogen oder Plasma dabei etwas höher als bei Serumantigenen. Es scheint bemerkenswert, dass bei der Reaktion zwischen Antiplasmainmunserum und Plasma die Reaktion des Fibrinogens durch Serumreaktion verdeckt wurde, während bei der Bindung viel mehr Fibrinogen als Serum im Bindungsquotienten gebunden wurde. Bei der Isolierung steht es ähnlich wie bei der Bindung, weil dabei auch mehr Fibrinogenpräzipitin als Serumpräzipitin frei gemacht wird. Das Immunserum bindet sich mit entsprechendem Plasmaantigen folgendermassen: für Plasma 3/8, Serum 3/3 und Fibrinogen 9/10. Aus diesem Präzipitat kann man das Präzipitin wieder befreien. Dieses isolierte Präzipitin reagiert etwas anders als das Originalserum, weil der Präzipitintiter für die drei Antigene dabei ganz gleich ist (1 : 32). Diese Erscheinung zeigt sich auch bei Bindungen mit jedem Antigenteil, d. h., wenn das Serum oder das Fibrinogen als Antigen für Plasmainmunkörper benützt wird. Dabei reagiert das

isolierte Präzipitin stark mit Antigenen, die für die Bindung benützt wurden, mit anderen Antigenarten aber nur ganz schwach. Aus diesen Tatsachen kann man mit Sicherheit schliessen, dass das Antiplasmaserum zweierlei Antikörper für Serum und Fibrinogen enthält und dass bei Reaktion mit Plasmaantigen der Präzipitintiter nur durch das Serumantigen angezeigt wird, weil für Serumantigen stets eine grössere Präzipitinmenge als für Fibrinogen gebildet wird. Doch beobachtet man auch, dass Fibrinogen und Plasmaantikörper dabei stark gebunden werden und dass diese Antikörper bei Isolierung ebenfalls nachweisbar sind. Diese Tatsache wird auch durch die Reaktion der partiellen Antigene (Fibrinogen oder Serum) mit Plasmaantikörper noch klarer nachgewiesen. Der Bindungsquotient bei Fibrinogenantigen (3/4) ist höher als bei Serumantigen (3/5), und auch der Isolierungsquotient des ersteren (1/5) ist grösser als der des letzteren (1/12), was besagt, dass die Antifibrinogenpräzipitine aus dem Immunsorum leichter als die Antisorumpräzipitine befreit werden.

Versuch 2. Über die Spezifität des isolierten Antifibrinogenpräzipitins.

In Versuch 1 habe ich die Beziehung zwischen Plasma, Fibrinogen und Serum mit isolierten Präzipitinen genau untersucht. Hier will ich auf die Spezifität des isolierten Präzipitins für heterologe Antigene weiter eingehen. Zuerst isolierte ich das Präzipitin aus Antirinder- oder Antiziegenfibrinogenserum und prüfte die Reaktion für homologe und heterologe Fibrinogene (Rinder- oder Ziegenfibrinogenantiserum und Rinder-, Ziegen- und Hundefibrinogen miteinander). Dabei wurde als Antigen für Bindung homologes Fibrinogen benützt. Die auf diese Weise erzielten Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle 2. Die Versuche am Rinderfibrinogenantiserum.

Imm. serum	Präzipitintiter des Originalserums				Antigenarten f. Bindung	Präzipitintiter des Abgusses 1			Bindungsquotient	Titer des isolierten Präzipitins				Isolierungsquotient
	Antigen	B.z.	V.t.	%		Antigen	B.z.	V.t.		Antigen	B.z.	V.t.	%	
A	R.f.	1:32	1:500	100	R.f.	R.f.	1:32	1:16	23/25	R.f.	1:32	1:128	100	1/4
	Z.f.	1:16	1:250	50						Z.f.	1:16	1:32	25	—
	H.f.	1:8	1:25	5						H.f.	1:8	1:2	1.5	—
B	R.f.	1:64	1:700	100	R.f.	R.f.	1:32	1:160	1/2	R.f.	1:32	1:64	100	1/6
	Z.f.	1:32	1:256	36						Z.f.	1:32	1:16	25	—
	H.f.	1:16	1:50	7						H.f.	—	1:1	1.5	—

R.f. = Rinderfibrinogen. Z.f. = Ziegenfibrinogen. H.f. = Hundefibrinogen.

Tabelle 3. Die Versuche am Ziegenfibrinogenantiserum.

Präzipitintiter des Originalserums				Antigenarten f. Bindung	Präzipitintiter des Abgusses 1			Bindungsquotient	Titer des isolierten Präzipitins				Isolierungsquotient		
Imm. serum	Antigen	B.z.	V.t.		%	Antigen	B.z.		V.t.	Antigen	B.z.	V.t.		%	
A'	Z.f.	1:64	1:250	100	Z.f.	Z.f.	1:64	1:32	7/10	Z.f.	1:64	1:32	100	1/6	
	R.f.	1:64	1:100	40						R.f.	1:32	1:8	25		—
	H.f.	1:16	1:10	4						H.f.	—	—	0		—
B'	Z.f.	1:64	1:250	100	Z.f.	Z.f.	1:64	1:16	9/10	Z.f.	1:64	1:64	100	1/4	
	R.f.	1:32	1:100	40						R.f.	1:32	1:16	25		—
	H.f.	1:16	1:25	10						H.f.	—	1:1	1.5		—

Aus diesen Versuchen ergab sich, dass genug Antifibrinogenpräzipitine auch aus dem Fibrinogenantiserum frei gemacht werden. Wie man aus Versuch 2 in Tabelle 2 ersieht, ist der Titer des aus dem Rinderfibrinogenantiserum isolierten Präzipitins gegen Rinderfibrinogen 1:128 (Serum A) und 1:64 (Serum B), gegen Ziegenfibrinogen 1:32 (Serum A) und 1:16 (Serum B) und gegen Hundefibrinogen 1:2 (Serum A) und 1:1 (Serum B). Im Prozentsatze kann man den Verwandtschaftsgrad zwischen ihnen mit 100:25:2 ausdrücken.

Auch bei der Untersuchung mit dem aus dem Antiziegenfibrinogenantiserum isolierten Präzipitin erzielte ich fast die gleichen Resultate wie bei der Untersuchung mit Antirinderfibrinogenpräzipitin, d. h., der Titer des isolierten Präzipitins ist gegen Ziegenfibrinogen 1:32 (Serum A') und 1:64 (Serum B'), gegen Rinderfibrinogen 1:8 (Serum A') und 1:16 (Serum B') und gegen Hundefibrinogen 0 (Serum A') und 1:1 (Serum B'), und der Verwandtschaftsgrad zwischen ihnen wird im Prozentsatze mit 100:25:(1-1.5) ausgedrückt (siehe Tabelle 3).

Auf Grund dieser Tatsache kann man bei der Untersuchung mittels isolierter Präzipitine die Artspezifität der Rinder-, Ziegen- und Hundefibrinogene noch deutlicher nachweisen als mittels genuinen Serums.

Versuch 3. Die Versuche an den Präzipitinen, die von dem gebundenen Zustand mit heterologen Antigenen isoliert worden sind.

Bei dieser Untersuchung habe ich für die Bindung zwischen Antikörper und Antigenen heterologe Fibrinogene benutzt, wie Tabelle 4 und 5 dies zeigen. Mit den gleichen Methoden habe ich diese gebundenen Antikörper wieder befreit.

Aus obigen Versuchen ersehen wir, dass der Titer des aus der Bindung von Antirinderfibrinogenantiserum und Ziegenfibrinogen isolierten Präzipitins gegen Ziegenfibrinogen 1:32, gegen Rinderfibrinogen ebenso

Tabelle 4. Die Versuche am Rinderfibrinogenantiserum.

Präzipitintiter des Originalserums				Antigenarten f. Bindung	Präzipitintiter des Abgusses 1			Bindungsquotient	Titer des isolierten Präzipitins				Isolierungsquotient
Antigen	B.z.	V.t.	%		Antigen	B.z.	V.t.		Antigen	B.z.	V.t.	%	
Z.f.	1:32	1:200	40						Z.f.	1:32	1:32	100	1/5
R.f.	1:32	1:500	100	Z.f.	Z.f.	1:32	1:16	21/25	R.f.	1:32	1:32	100	—
H.f.	1:8	1:50	10						H.f.	1:8	1:4	13	—

Tabelle 5. Die Versuche am Ziegenfibrinogenantiserum.

Präzipitintiter des Originalserums				Antigenarten f. Bindung	Präzipitintiter des Abgusses 1			Bindungsquotient	Titer des isolierten Präzipitins				Isolierungsquotient
Antigen	B.z.	V.t.	%		Antigen	B.z.	V.t.		Antigen	B.z.	V.t.	%	
R.f.	1:64	1:100	40						R.f.	1:32	1:32	100	1/5
Z.f.	1:64	1:250	100	R.f.	R.f.	1:64	1:8	8/10	Z.f.	1:32	1:32	100	—
H.f.	1:16	1:10	4						H.f.	1:16	1:4	12	—

1:32 und gegen Hundefibrinogen 1:4 ist und im Prozentsatze der Verwandtschaftsgrad zwischen ihnen mit 100:100:13 ausgedrückt werden kann. Dies will besagen, dass wir keinen Unterschied zwischen Ziegen- und Rinderfibrinogen erkennen können. Aus diesen Ergebnissen lässt sich durch die Vergleichung mit der Reaktion des Immunsersums (im Prozentsatze 40:100:10) schliessen, dass man bei der Reaktion des nach der Bindung mit heterologem Antigen isolierten Präzipitins, d. h. des unspezifischen Präzipitins, die Spezifität gegenüber dem heterologen Antigen ausserordentlich zu erhöhen vermag.

Auch bei dem Versuche mit dem aus Ziegenfibrinogenantiserum isolierten Präzipitin gewinnen wir fast gleiche Resultate wie vorher (siehe Tabelle 5). Wir vermögen also keinen Unterschied zwischen den beiden Antigenen, Rinder- und Ziegenfibrinogen, zu erkennen, weil die Präzipitintiter einander gleich sind (gegen Ziegenfibrinogen 1:32 und gegen Rinderfibrinogen ebenso 1:32).

Zusammenfassung.

Für vorliegende Mitteilung stellte ich Untersuchungen an über Isolierung der Antifibrinogenpräzipitine sowie über die Spezifität des Fibrinogens mittels des isolierten Präzipitins.

In den zur Ausführung gelangten und hier behandelten Versuchen ist mir die Isolierung des Antiplasma- und Antifibrinogenpräzipitins

gelungen. Das isolierte Antiplasmapräzipitin enthält immer zwei Präzipitinarten, Antiserum- und Antifibrinogenpräzipitin, und während sich zwischen beiden Präzipitinen im Plasmaantiserum ein grosser Unterschied an Menge erkennen lässt, so besteht kein Unterschied zwischen diesen beiden isolierten Präzipitinen, weil das Fibrinogen für das Antigen bei der Präzipitinisolierung geeignet ist und mehr Antifibrinogenpräzipitin als Antiserumpräzipitin frei gemacht wird.

Die beiden Quotienten, Bindungs- und Isolierungsquotient, des Antifibrinogenpräzipitins sind immer grösser als die des Antiserumpräzipitins. In anderen Worten ausgedrückt bildet das Antifibrinogenpräzipitin bei der Mischung mit Antigenen eine festere Bindung als das Antiserumpräzipitin, und auch bei der Isolierung wird eine grössere Präzipitinmenge frei gemacht.

Vergleicht man miteinander die Titer des isolierten Antifibrinogenpräzipitins mit den Fibrinogenen verschiedener Tierarten, so findet man Folgendes:

- a) Antirinderfibrinogenpräzipitin gegen Fibrinogen von
- | | |
|-------|-------|
| Rind | 100%, |
| Ziege | 25%, |
| Hund | 1.5%, |
- b) Antiziegenfibrinogenpräzipitin gegen Fibrinogen von
- | | |
|-------|-------|
| Ziege | 100%, |
| Rind | 25%, |
| Hund | 1.5%. |

Aus obigen Ergebnissen können wir erkennen, dass die Artspezifität der Rinder-, Ziegen- und Hundefibrinogene bei der Untersuchung mittels isolierter Antifibrinogenpräzipitine deutlicher zu unterscheiden ist als die beim genuinen Immuserum (Rinderfibrinogenantiserum: mit Rinderfibrinogen 100%, mit Ziegenfibrinogen 50% und mit Hundefibrinogen 7%; Ziegenfibrinogenantiserum: mit Ziegenfibrinogen 100%, mit Rinderfibrinogen 37% und mit Hundefibrinogen 6%).

Die Präzipitine, die nach Bindung mit einem anderen Fibrinogen (z. B. Ziegenfibrinogen) aus Sera der mit einem Fibrinogen (z. B. Rinderfibrinogen) vorbehandelten Kaninchen isoliert worden sind, reagieren in gleicher Weise sowohl mit homologem (Rinderfibrinogen) als auch mit heterologem Fibrinogen (Ziegenfibrinogen). D. h., aus der Reaktion des isolierten unspezifischen Präzipitins können wir ersehen, dass sich dabei die Spezifität gegenüber dem heterologen Antigen deutlich erhöht. Deswegen können wir auch beweisen, dass die Reaktion auf Rinderfibrinogen deutlich spezifisch und die auf Ziegenfibrinogen nicht spezifisch ist; daher stellt sich auch durch die Untersuchung mittels des isolierten Antifibrinogenpräzipitins die Artspezifität als höher heraus wie mittels genuinen Serums.

Schluss.

Die oben gefundenen Ergebnisse lassen sich folgendermassen kurz zusammenfassen:

1. Antiplasmapräzipitin und Antifibrinogenpräzipitin kann man reversibel isolieren aus dem Präzipitat, das aus diesen Immunsere mit Plasma oder Fibrinogen gebildet wird.

2. Das isolierte Antiplasmapräzipitin enthält immer zwei Präzipitintypen, Antiserum- und Antifibrinogenpräzipitin, und zwar im gleichen Mengenverhältnis.

3. Die beiden Quotienten, Bindungs- und Isolierungsquotient, des Antifibrinogenpräzipitins sind immer höher als die des Antiserumpräzipitins. Daher darf man annehmen, dass das Fibrinogen für das Antigen bei der Präzipitinisolierung geeignet ist.

4. Die Artspezifität des Fibrinogens kann man bei der Untersuchung mittels isolierter Antifibrinogenpräzipitine deutlicher differenzieren als bei der mittels roher Fibrinogenantisera.

5. Das aus einem Fibrinogenantiserum nach Bindung mit einem heterologen Fibrinogen isolierte unspezifische Präzipitin reagiert unterschiedslos sowohl mit homologem Fibrinogen als auch mit heterologem. Daher kann man durch Isolierung je nach der Art des Antigens die Spezifität des Originalserums der Artspezifität oder der Organspezifität sich an nähern lassen.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. Dr. *M. Ogata* für seine freundliche Leitung und Anregung im Verlaufe dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Literatur.

- ¹ *Widal* u. *Sicard*, Ann. de L'Inst. Pasteur T. 100, P. 33, 1897. — ² *Winterberg*, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32, S. 375, 1899. — ³ *Pick*, Beiträge z. Chem. Physiol. u. Pathol. Vol. 1, S. 351, 1901. — ⁴ *Gibson*, Journal of biol. chem. Bd. 1, P. 161, 1906. — ⁵ *Landsteiner*, Wien. klin. Wochenschr. Nr. 40, 1902. — ⁶ *Landsteiner* u. *Jagic*, ebenda S. 63, 1904. — ⁷ *Hahn* u. *Trommsdorf*, Münch. med. Wochenschr. S. 413, 1900. — ⁸ *Israel Weinstein*, Journal of Immunology Vol. 3, P. 17, 1918. — ⁹ *Michaelis*, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 56, S. 509, 1905. — ¹⁰ *Kosakai*, Journal of Immunology Vol. 3, P. 109, 1918. — ¹¹ *Furuhata*, Japan med. World No. 6, P. 1, 1921. — ¹² *Ogata*, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 39, S. 270, 1924. — ¹³ *Kageyama*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 38, S. 684, 1926. — ¹⁴ *Sunouchi*, Arbeiten aus der med. Universität Okayama Bd. 1, S. 1, 1929. — ¹⁵ *Haku*, ebenda Ed. 1, S. 246, 1929. — ¹⁶ *Kuwana*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 43, S. 1801, 1931. — ¹⁷ *Sunouchi*, ebenda Jg. 41, S. 1740, 1929.