

Acta Medica Okayama

Volume 2, Issue 2

1930

Article 13

DEZEMBER 1930

Über die Beziehung zwischen der Flockungszone in der Kolloidreaktion und der Bindungszone bei Immunreaktion

Nobuyoshi Sugimoto*

*Okayama University,

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

Über die Beziehung zwischen der Flockungszone in der Kolloidreaktion und der Bindungszone bei Immunreaktion*

Nobuyoshi Sugimoto

Abstract

Wenn ich die Resultate meines Versuches überblicke, so komme ich zu dem Schlusse, dass bei der Kolloidreaktion sich eine Flockungszone findet, die der Bindungszone bei der immunserologischen Reaktion sehr ähnlich ist,. Zum Schlusse mochte ich nicht verfehlen. Herrn Prof. Dr. M. Ogata für seine freundliche Leitung und Anregung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

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

Über die Beziehung zwischen der Flockungszone in der Kolloidreaktion und der Bindungszone bei Immunreaktion.

Von

Nobuyoshi Sugimoto.

Eingegangen am 27. November, 1930.

Einleitung.

Es ist durch genaue Untersuchungen bereits festgestellt worden, dass bei gegenseitiger Fällung von entgegengesetzt geladenen Kolloidstoffen sich das Fällungsoptimum zeigt.

Im Jahre 1927 hat Prof. *M. Ogata*, mein verehrter Lehrer, eine Methode für die Prüfung der Präzipitation mittels der Immunkörperverdünnung gefunden und mit dieser nachgewiesen, dass sich der Antikörper mit dem Antigen in einer gewissen Verdünnung am stärksten verbindet. Er nannte den Grad der Verdünnung des Antigens die Bindungszone. Seither beschäftigte ich mich unter seiner Leitung in Berücksichtigung der Bindungszone mit den Anaphylaxiefragen. Nachdem es mir geglückt war, einige von diesen klarzustellen, hatte ich über sie schon berichtet. Im Jahre 1928 konnte ich ferner die Richtigkeit der Bindungszone auf optischem Wege nachweisen, indem ich unter Anwendung des *Zeiss*schen Flüssigkeitsinterferometers über die Präzipitation Untersuchungen anstellte.

Weiter habe ich auf Grund dieser serologischen Erscheinungen im Zusammenhange mit der Bindungszone die Ausflockungsreaktion der Kolloidstoffe nachgeprüft und damit die innige Beziehung zwischen beiden Erscheinungen einem genauen Studium unterzogen.

Experimente.

Zu meinem Ausflockungsversuche verwendete ich Mastixlösung und Aluminiumsulfatlösung.

Die Herstellung der Mastixlösung: Die Mastixlösung wird nach

Jacobsthal u. *Kafka* in der Weise hergestellt, dass man 10 g Mastix zu 100 cc absolutem Alkohol hinzufügt und dann das Ganze schüttelt, worauf man es 48 Stunden im Eisschrank stehen lässt und schliesslich filtriert. Von dem Filtrat nimmt man 1 cc, mischt ihn mit 9 cc absolutem Alkohol und lässt das Ganze in 40 cc destilliertem Wasser unter leichtem Schütteln tropfenweise einschliessen, sodass die Mischungszeit ungefähr 50 Sekunden dauert. Es entsteht eine milchartige Flüssigkeit, die zunächst filtriert wird, um die gröberen Flocken auszuschleiden. Die Mastixeteilchen in einer solchen wässrigen Emulsion sind elektronegativ geladen, was daran erkennbar ist, dass sie zur Anode wandern und sich an ihr niederschlagen. Eine solche Emulsion wird, wie längst bekannt, durch Zusatz kleiner Mengen von Salzen oder Säuren ausgeflockt.

Die Herstellung der Aluminiumsulfatlösung: Nachdem die Normallösung der $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ durch Zusatz von destilliertem Wasser bereitet worden war, brachte ich sie zur Anwendung.

Versuchsergebnisse.

Nach der *Ogataschen* Immunkörperverdünnungsmethode setzte ich die in absteigender Weise verdünnte negativgeladene Mastixemulsion der in gleicher Weise absteigend verdünnten $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ -Normallösung in gleicher Menge zu. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.
Ausflockungserscheinung.

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ norm. Lösung	Mastix								
	Orig.-E.	1/2-E.	1/4-E.	1/8-E.	1/16-E.	1/32-E.	1/64-E.	1/128-E.	1/256-E.
1: 10	###	###	###	###	###	##	+	—	—
1: 25	###	###	###	###	###	##	+	—	—
1: 50	###	###	###	###	###	##	++	—	—
1: 100	###	###	###	###	###	##	++	—	—
1: 250	###	###	###	###	###	++	+	+	+
1: 500	###	###	###	###	###	++	+	—	—
1: 1,000	###	###	###	###	###	++	+	—	—
1: 2,500	###	###	###	###	###	++	+	—	—
1: 5,000	###	###	###	###	###	++	+	—	—
1: 10,000	—(P.z.)	++	###	—	—	—	—	—	—
1: 25,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 50,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 100,000	—	—	—	—	+	—	—	—	—

(B.z.) bedeutet: Flockungszone. (P.z.) bedeutet: Prozone.

bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 1/4 Stunde.

bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 1/2 Stunde.

++ bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 1 Stunde.

++ bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 2 Stunden.

Wie man aus Tabelle 1 ersieht, flockt eine elektronegativ geladene Mastixlösung in 1:100 Verdünnung der $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ -Normallösung am stärksten aus. Je mehr sich der Grad der Konzentration von dem am stärksten ausflockenden Grad entfernt, um so geringer ist der Grad der Flockung. Dieses Phänomen ähnelt recht sehr der Erscheinung der Präzipitation und der Komplementbindungsreaktion sowie der Phagozytose nach der *Ogataschen* Immunkörperverdünnungsmethode. (Siehe Tabelle 2, 3 und 4).

Tabelle 2.
Präzipitinreaktion nach *Ogatascher* Immunkörperverdünnungsmethode.

Verdün- nungsgrad des Antigens	Verdünnungsgrad des Antikörpers										
	1: 1:	1: 2,5	1: 5	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 2,500
1: 10	###	###	###	###	###	##	+	—	—	—	—
1: 25	###	###	###	###	###	###	++	—	—	—	—
1: 50	###	###	###	###	###	###	##	—	—	—	—
1: 100	###	###	###	###	###	###	##	—	—	—	—
1: 250	###	###	###	###	###	###	###	++	—	—	—
1: 500	###	###	###	###	###	###	###	##	—	—	—
1: 1,000	###	###	###	###	###	###	###	##	—	—	—
1: 2,500	###	###	###	###	###	###	###	##	±	—	—
1: 5,000	##	###	###	###	###	###	###	##	+(p.z.)	—	—
1: 10,000	++	##	###	###	###	###	##	##	—	—	—
1: 25,000	±	++	++	++	##	++	±	—	—	—	—
1: 50,000	—(p.z.)—		+	+	+	—	—	—	—	—	—
1: 100,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 250,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(b.z.) bedeutet: Bindungszone. (p.z.) bedeutet: Prozone.

bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 1/4 Stunde.

bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 1/2 Stunde.

++ bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 1 Stunde.

+ bedeutet: Positive Reaktion innerhalb 2 Stunden.

Antigen: Rinderserum.

Antikörper: Antirinderserum-Kaninchenimmunserum.

Tabelle 3.
Komplementbindungsreaktion nach Ogatascher
Immunkörperverdünnungsmethode.

Verdünnungsgrad des Antigens	Verdünnungsgrad des Antikörpers									
	2.5	5	10	25	50	100	250	500	1,000	2,500
	1: 2.5	1: 5	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 2,500
1: 100	##	##	##	##	##	++	—	—	—	—
1: 250	##	##	##	##	##	##	—	—	—	—
1: 500	##	##	##	##	##	##	—	—	—	—
1: 1,000	##	##	##	##	##	##	—	—	—	—
1: 2,500	##	##	##	##	##	##	++	—	—	—
1: 5,000	##	##	##	##	##	##	##	—	—	—
1: 10,000	##	##	##	##	##	##	##	—	—	—
1: 25,000	##	##	##	##	##	##	##	##(B.Z.)	—	—
1: 50,000	++	+	++	##	##	##	##	++	—	—
1: 100,000	—(P.Z.)	—	++	+	++	++	++	+	—	—
1: 250,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1: 500,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

bedeutet: Komplette Hemmung.

bedeutet: Fast komplette Hemmung.

++ bedeutet: Grosse Kuppe.

+ bedeutet: Kleine Kuppe.

— bedeutet: Komplette Hämolyse.

Antigen: Rinderserum.

Antikörper: Antirinderserum-Kaninchenimmunsrum.

Tabelle 4.
Phagozytose.
(Meerschweinchen-Leukozyten + Normal-Meerschweinchenserum
+ Bac. Coli)

Serumverdünnung Coliemulsion	Orig.	1: 5	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100
16 mg Öse in 10 cc NaCl	##	##	##	##	++	+
8 mg Öse in 10 cc NaCl	##	##	##	##	++	+
4 mg Öse in 10 cc NaCl	##	##	##	##	##(B.Z.)	+
2 mg Öse in 10 cc NaCl	##	##	##	++	+	+
1 mg Öse in 10 cc NaCl	++	++	++	+	+	+
1/2 mg Öse in 10 cc NaCl	+(P.Z.)	++	+	+	+	+

+ bedeutet: Fresszellen 25%
Aufgenommene Bakterien 0.5%.

++ bedeutet: Fresszellen 50%
Aufgenommene Bakterien 1%.

bedeutet: Fresszellen 75%
Aufgenommene Bakterien 2%.

Es zeigt sich also, dass sich bei der Kolloidreaktion auch die der Bindungszone bei der Immunreaktion entsprechende Flockungszone findet.

Die Tatsache, dass die originale Mastixemulsion mit $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ -Normallösung in Verdünnung von 1 : 5,000 reagierte, während bei der 1/4-Emulsion bis zu einer Verdünnung von 1 : 10,000 eine Reaktion auftrat, ist höchst interessant. Meiner Meinung nach ist diese Erscheinung der Prozone, die beim Versuche der Präzipitation, der Komplementbindungsreaktion und Phagozytose bei uns festgestellt worden ist, sehr ähnlich.

Als ich bei meiner optischen Untersuchung der Bindungszone ein Antigen in verschiedener Verdünnung auf ein bestimmtes Antiserum wirken liess, trat die stärkste optische Konzentrationszunahme bei einer bestimmten Antigenverdünnung auf, und dieser Grad der Antigenkonzentration stimmte mit der Bindungszone nach der *Ogataschen* Immunkörperversünnungsmethode recht gut überein. Von dieser Tatsache ausgehend stellte ich, um bei der Ausflockung dieselbe Erscheinung nachzuprüfen, die folgenden Versuche an.

Als ich in einer Reihe von Präzipitationsgläschen, in denen 1/8-Mastixemulsion angesetzt war, verschiedene Lösungen von $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ -Normallösung überschichtete, bekam ich folgende Resultate.

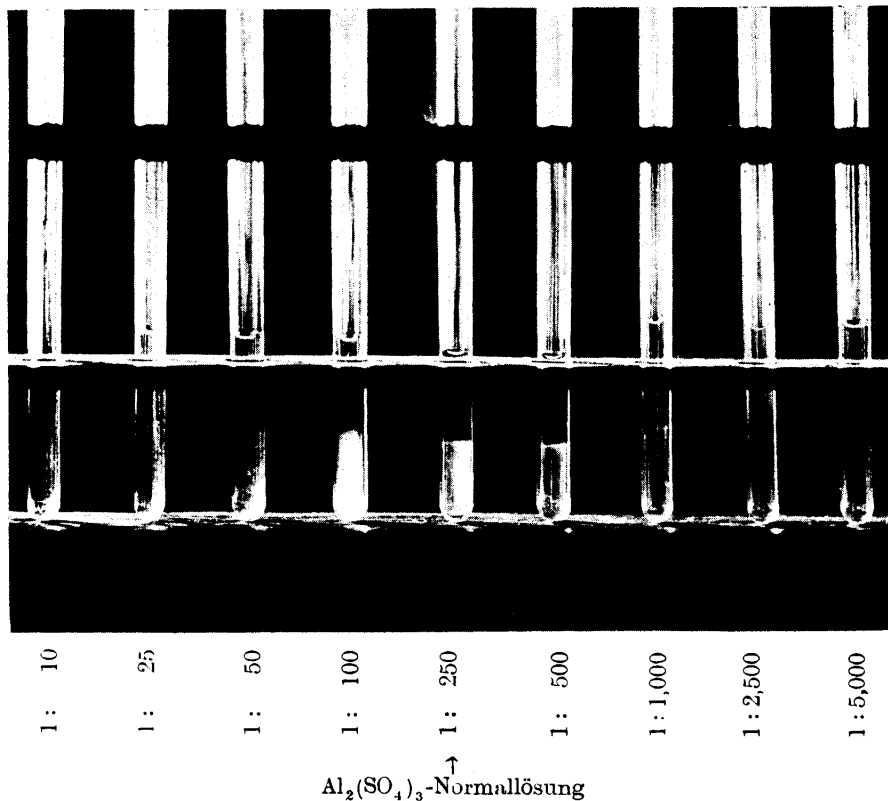
Tabelle 5.
Ausflockungserscheinung.

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ norm. Lösung	Ausflockungsgrad nach 1/2 Stunde	Ausflockungs- u. Sedimentgrad nach 2 Stunden	Sedimentgrad nach 24 Stunden
1 : 10	—		—
1 : 25	+	Feinflockung, wenig Sediment	++
1 : 50	++	wie oben	++
1 : 100	###	Grobflockung, Sedimentation am stärksten	###
1 : 250	##	Grobflockung, viel Sediment	##
1 : 500	++	ringförmig, etwas getrübt	++
1 : 1,000	+	ringförmig	+
1 : 2,500	+	wie oben	±
1 : 5,000	—		—
1 : 10,000	—		—

Wie aus obiger Tabelle ersichtlich ist, reagierten die beiden Lösungen in der 1 : 100 Verdünnung der Aluminiumlösung am promp-

testen und stärksten und bildeten den dicken weiss-getrübten Ring. In den anderen Gläschen trat die Reaktion langsamer und schwächer ein, jenachdem sie von dem Gläschen mit der stärksten Reaktion nach oben oder unten entfernt waren. Der Verdünnungsgrad dieser am stärksten reagierenden $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ -Lösung betrug dabei 1:100 und stimmte mit der Flockungszone, die ich bei meinem vorangegangenen Versuche festgestellt hatte, völlig überein.

Ausflockungserscheinung (Ringprobe).



Die oben wiedergegebene Abbildung zeigt die Befunde 2 Stunden nach der Überschichtung beider Lösungen. Die stark reagierenden Teile flockten aus, wie man das bei der Agglutinationsprobe zu sehen pflegt, und die dabei gebildeten Ausflockungen sanken nach unten ab. Die *Paltaufsche* Annahme, dass die Agglutination bei der Immunreaktion sekundärer Natur ist und auf die wesentlich primär entstehende Präzipitation folgt, wurde durch meinen Versuch auf dem Gebiete der Kolloidchemie bestätigt.

290 N. Sugimoto: Über die Beziehung zwischen der Flockungszone usw.

Zusammenfassung.

Wenn ich die Resultate meines Versuches überblicke, so komme ich zu dem Schlusse, dass bei der Kolloidreaktion sich eine Flockungszone findet, die der Bindungszone bei der immunserologischen Reaktion sehr ähnlich ist.

Zum Schlusse möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. M. Ogata für seine freundliche Leitung und Anregung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

Günter, Arch. f. Hygiene, Bd. 92, S. 211, 1924. — Bechhold, Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 48, S. 385, 1904. — Buxton and Teague, ebenda, Bd. 57, S. 47, 1907. — Buxton and Rahe, Journ. of Medical Research, Vol. 20, p. 113, 1909. — Fleischmann u. Michaelis, Biochem. Zeitschr., Bd. 3, S. 425, 1907. — Kaneko, Kolloid Kagaku Yoron, 1929 (japanisch). — Krut, Einführung in die physikalische Chemie und Kolloidchemie, 1926. — Kurwana, berichtet in der 334. monatlichen Versammlung der Okayama Igakkai, 1930. — Michaelis, Praktikum der physikalischen Chemie, insbesondere der Kolloidchemie, 1926. — Neisser u. Friedemann, Münch. Med. Wochenschr., S. 465, 1904. — Ogata, berichtet in der hygienischen, mikrobiologischen und parasitologischen Generalversammlung in Japan, 1927. — Scheller, Zentralbl. f. Bakt., 1. Abt. Orig. Bd. 54, S. 150, 1910. — Sioji, Kōshitsu, 1918 (japanisch). — Sugimoto, Okayama-Igakkai-Zasshi, Jg. 41, Nr. 11, 1929 u. Jg. 42, Nr. 9, Nr. 10 u. Nr. 11, 1930. — Toma, berichtet in der 41. Generalversammlung der Okayama Igakkai, 1930. — Zsigmondy, Kolloidchemie, 5. Auflage.
