

Über die Existenz dreier verschiedener Rinder-Gammaglobuline

VON G. ZIMMERMANN

Mit 3 Abbildungen

Inhaltsübersicht

Durch SCHEIDEGGER-Immunelektrophoreseaufnahmen wird die Existenz von drei verschiedenen Rinder-Gammaglobulinen aufgezeigt.

Die vielgestaltigste und interessanteste Gruppe aller Plasmaproteine ist zweifellos die „Familie“¹⁾ der Gammaglobuline, zu der man die β_{2A} -, β_{2M} - und T-Globuline, aber auch Proteine aus pathologischen Seren (Myelomglobuline, WALDENSTRÖM-Makroglobulin) zählen muß²⁾. Die Gammaglobuline im engeren Sinne offenbaren nun ihrerseits bei der heute gebräuchlichen Analytik makromolekularer Stoffe Eigenschaften, die auf ihre „Mikroheterogenität“ hinweisen. Diese gründet sich hauptsächlich auf die folgenden physikalisch-chemischen Fakten:

- a) Breite Banden trotz minimaler Beweglichkeit bei der Papierlektrophorese.
- b) Langgestreckte und häufig „bucklige“ Gradienten mit den üblichen p_H 8,6-Puffern bei der Tiseluselektrophorese.
- c) Differenzierungsmöglichkeiten mit sauren, sehr ionenschwachen Spezialpuffern bei der Tiseluselektrophorese.
- d) Nicht-GAUSSsche Gradientenkurven der Ultrazentrifugenaufnahmen.

Diese Beobachtungen stimmen mit den immunbiologisch-serologischen überein, denen zufolge die Gammaglobuline eine Vielzahl individueller Antikörperproteine enthalten. Doch hat man bisher keine zwingenden Beweisstücke besessen, auf Grund der physikalisch-chemischen Ergebnisse über γ_2 -Globuline (Mensch, Rind) hinaus aufzuschlüsseln.

¹⁾ P. GRABAR, *Advances Prot. Chem.* **13**, 1 (1958).

²⁾ H. E. SCHULZE, 10. Colloquium Ges. f. Physiol. Chem. (Mosbach 1959) in „Dynamik des Eiweißes“; Springer 1960, S. 146–200.

Bei der Fraktionierung von Rinderseren ergaben sich bei uns eindeutige Belege für die Existenz von drei Rinder-Gammaglobulinen an hochgereinigten Produkten, hergestellt aus größeren Volumina von Rindermischseren. Die nachstehend beschriebenen SCHEIDEGGER-Immun-Elektrophoreseaufnahmen^{3) 4)}

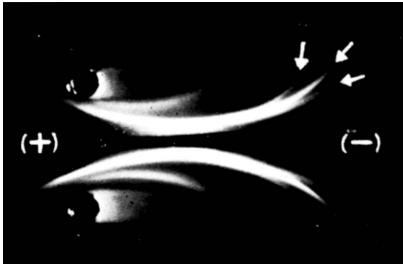


Abb. 1. Immunelectrophoreseaufnahme vom Rinder-Immungammaglobulin Frakt. 878 N III

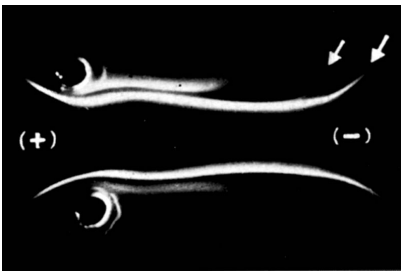


Abb. 2. Immunelectrophoreseaufnahme des subfraktionierten Rinder-Immungammaglobulins Frakt. 845 N III

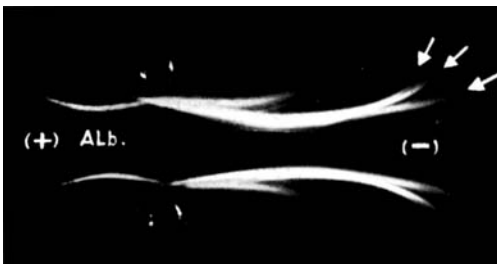


Abb. 3. Immunelectrophoreseaufnahme der Rinder-Immunglobulin-Fraktion 845 N III Ü

-- hergestellt mit einem Rindermischserum-Antiserum von Kaninchen, das auf Anti-Gammaglobulin fraktioniert war -- sollen das belegen.

Abb. 1 zeigt die Immunelectrophoreseaufnahme des Rinder-Immungammaglobulins der Fraktion 878 N III, die durch Pfeile bezeichnet eine klare Auflösung in drei Teilkomponenten am Gammaglobulin erkennen läßt. Hier, wie bei Abb. 3, läßt sich am guten Foto darüber hinaus ein deutlich differenzierter Verlauf über einen längeren Bereich der γ -Präzipitationsbande verfolgen. Die um die Startlöcher kathodenwärts „ausgewischten“ hellen Höfe sind Spuren von β_1 -Lipoprotein, das auch hochgereinigten Gammaglobulinpräparaten meistens anhaftet. Die starke Bande zwischen Startlöchern und den γ -Banden ist ein weiteres β -Globulin.

Die Abb. 2 und 3 zeigen Immunelectrophoreseaufnahmen von Subfraktionen des Rinder-Immungammaglobulins einer anderen Charge.

Das etwa 95proz. elektrophoretisch reine Präparat (Fraktion 819 N II) wurde 2proz. mit Glycin-Acetatmischpuffer bei p_H 7,05 und $+4^\circ C$ auf etwa 23 Vol.-% Äthanolendkonzentration gefällt; die Fäl-

³⁾ J. J. SCHEIDEGGER, *Int. Arch. Allergy* **7**, 103 (1955).

⁴⁾ G. ZIMMERMANN u. K. KRÜGER, *Pharmazie* **14**, 222 (1959).

lung bei +4 °C mit 12000 g zentrifugiert, gegen dest. Wasser ausdialysiert und lyophilisiert (Frakt. 845 NIII; Abb. 2). Der Überstand der Fällung wurde direkt ausdialysiert und lyophilisiert (Frakt. 845 NIIIÜ, Abb. 3).

Durch die Subfraktionierung des Ausgangs-Gammaglobulinpräparates, das als Nebenkomponenten noch wenig Albumin, β_1 -Lipoprotein und ein weiteres β -Globulin enthielt, ist in der Fällungsfraction (Abb. 2) nur das Restalbumin vollständig, das zweite β -Globulin teilweise eliminiert worden, nicht aber das Lipoprotein. Diese Fraction enthält fast nur γ_1 -Globulin (γ_2 - und γ_3 -Globulin nur in Spuren; vgl. obere Bande mit Pfeilen im Bild). Dagegen ist in der Überstandsfraction (Abb. 3) die Aufspaltung in γ_1 , γ_2 und γ_3 wieder gut zu erkennen. Außerdem enthält diese Fraction das gesamte Restalbumin und das zweite β -Globulin angereichert, dagegen erwartungsgemäß keine Spur von Lipoprotein.

Die Existenz dreier Rinder-Gammaglobuline erklärt ferner das Ergebnis der Endgruppenbestimmungen. Von den auch von uns gefundenen 5 aminoendständigen Säuren (Asp, Glu, Ser, Ala, Val) des Rindergammaglobulins sind bis auf Valin alle übrigen nur in submolaren Mengen vorhanden. Vermutlich sind diese 5, von den Nachuntersuchern immer wieder bestätigten⁵⁾ aminoendständigen Aminosäuren, zu je zwei den drei Rindergammaglobulinen zuzuordnen, wobei Valin in zwei Gammaglobulinen aminoendständig vorkommen sollte. Damit reihen sich die Rindergammaglobuline den Befunden der Gammaglobuline anderer Spezies ein, die alle zwei aminoendständige Säuren enthalten, wovon eine stets eine saure Aminosäure ist.

⁵⁾ G. ZIMMERMANN u. G. BRÄSE, J. prakt. Chem. (vorige Mitt.).

Dessau, Forschungs-Institut für Impfstoffe, Biochemische Abteilung.

Bei der Redaktion eingegangen am 13. Mai 1961.