Chemie und Immunbiologie der Haptene (Halb-Antigene).

Von Hermann Rudy, Heidelberg.

(Vortrag vor der Physikalisch-Medizinischen Sozietät und dem Bezirksverein Deutscher Chemiker in Erlangen am 18. Juni 1936.)

Es besteht kaum ein Zweifel darüber, daß die Immunchemie zu den wichtigsten Zweigen der Biochemie gehört, aber es ist ebenso sicher, daß ihre theoretische Erschließung noch sehr in den Anfängen steckt. Während die chemische Natur anderer physiologisch aktiver Naturstoffe, z. B. die der Hormone und Vitamine, weitgehend aufgeklärt und vielfach schon durch die Synthese bewiesen ist, bieten die in ihrer Wirkung zum Teil schon länger bekannten Immunstoffe (z. B. die Toxine und Antitoxine) unvergleichlich größere experimentelle Schwierigkeiten. Es kann nicht meine Aufgabe sein, Ihnen einen Überblick über die gesamte Immunchemie zu geben, ich will auch nicht ganz spezielle Fragen, die ich selbst experimentell bearbeitet habe, behandeln, ich möchte Ihnen vielmehr an Hand eines größeren Ausschnittes zeigen, inwiefern man heute immunologische Feinstrukturen ganz bestimmten chemischen Individuen zuordnen darf. Daß sich die Haptene am besten dazu eignen, liegt daran, daß sie chemisch die verhältnismäßig einfachsten Vertreter der Immunstoffe sind.

Begriffsbestimmung.

Unsere Betrachtungen führen uns in das Gebiet der Abwehrkräfte der Zellen, jener sinnvollen Einrichtung, die für alle Lebewesen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Sie alle kennen die praktische Anwendung in der Heilkunde in Gestalt der Schutzimpfungen (z. B. gegen die Pocken) und der Schutz- und Heilsera (gegen Wundstarrkrampf, Diphtherie,

Scharlach u. a. m.), die sich an den Namen E. v. Behring knüpfen. Diese biologische Bekämpfung von Krankheitserregern steht der chemischen würdig zur Seite, aber der Vorgang ist ein ganz anderer; denn die Chemotherapie nimmt körperfremde Bakterien-Gifte zu Hilfe, die Serumtherapie hingegen bedient sich der durch lebende Zellen erzeugten Abwehrstoffe.

Wie gewinnt man nun ein derartiges Schutz- oder Heilserum, was stellt es dar und wieso schwächt oder tötet es den Krankheitserreger? Ganz kurz und schematisch ausgedrückt gilt folgendes: wenn man einem Tier Bakterien in geeigneter Weise parenteral einverleibt, dann zeigt das Blutserum nach einiger Zeit die Fähigkeit diesen (und im allgemeinen nur diesen) Erreger in vitro und in vivo abzutöten, oder wenigstens so abzuschwächen, daß keine Infektion mehr möglich ist. Das so erhaltene „Antiserum“ enthält, wie man heute mit Sicherheit sagen kann, Stoffe, die spezifisch auf den zur Injektion verwendeten Krankheitserreger eingestellt sind. Während man anfangs annahm, daß die genannte Spezifität auf das Bakterium als Ganzes, also mehr auf die morphologische Struktur, bezogen werden müßte, wissen wir heute auf Grund zahlreicher von P. Ehrlich durchgeführten und angeregten Untersuchungen, daß die in den Zellen entstehenden Antikörper sich gegen bestimmte Inhaltsstoffe der Erreger richten, von denen besonders die Bakterien-Toxine Bedeutung haben. Man erhält also „Antitoxine“ nicht nur durch Injektion der Bakterien, sondern in gleicher Weise auch durch Einverleibung der zellfreien Toxine. Die Antitoxine und Toxine haben die Ausgestaltung der Lehre von den Antikörpern und den sie verursachenden „Antigenen“ sehr erleichtert, weil sie durch ihre Wirkung und Gegenwirkung leicht zu erkennen sind. Z. B. ist das Tetanustoxin bei Mäusen in sehr sinnfälliger Weise an der krampferregenden, zum Tode führenden Wirkung nachzuweisen. Das Antitoxin neutralisiert das Gift derart, daß mehrfach tödliche Dosen leicht vertragen werden.

Nun sind aber die Toxine nur besondere Antigene. Nicht alle Antigene sind Toxine und nicht alle toxischen Substanzen sind Antigene. Die Alkaloide oder die anorgani-

schen Gifte sind z. B. keine Antigene und die Proteine, die ausgesprochene antigene Fähigkeiten haben, gehören nicht zu den Toxinen. Man bezeichnet vielmehr als Antigene ganz allgemein solche (organische) Stoffe, die bei parenteraler Verabreichung Veranlassung zur Bildung spezifischer Abwehrstoffe oder Antikörper geben[1]).

Ein Beispiel dafür! Wenn man Kaninchen in bestimmten Zeitabständen Schweineserum intravenös injiziert, dann bilden sich Antikörper gegen Schweineserum, nicht aber gegen Pferde-, Rinder- oder ein anderes Serum. Ebenso spezifisch ist ein Pferdeeiweiß-Antiserum gegenüber Schweine- oder Rindereiweiß[2]). Die Wirkung ist in diesem Falle also auf die betreffende Tierart beschränkt und man spricht von artspezifischen Antigenen bzw. Antikörpern. Es gibt, wie wir noch sehen werden, eine ganze Reihe von „Spezifitäten".

Die Antigene haben noch eine zweite wichtige Eigenschaft, die bereits bei den Toxinen erwähnt wurde: sie reagieren mit den Antikörpern auch in vitro spezifisch. Diese Tatsache ist zum Nachweis außerordentlich wichtig. Zwar kann man auch diejenigen Antigene, die nicht zu den Toxinen gehören, im Tierversuch nachweisen (anaphylaktischer Schock), aber die Nachweismethoden im Reagenzglas[3]) sind weitaus bequemer. Für zellgebundene Antigene bzw. darauf abgestimmte Antikörper gibt es zwei wichtige Reaktionen: 1. die Agglutination (d. i. die Zusammenballung und Verklumpung) der Zellen bei Zugabe des Antiserums, und 2. die Auflösung oder Lyse (z. B. die Auflösung der roten Blutkörperchen = Hämolyse). Beide Vorgänge sind makroskopisch und mikroskopisch zu erkennen. Die zellfreien (gelösten) Antigene werden nachgewiesen

---

1) Ausführliche Definitionen geben G. H. Wells, „Die chemischen Anschauungen über Immunitätsvorgänge" (Jena 1932); Pick und Silberstein, Hdb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 2/1, S. 317 (1929); H. Sachs, Hdb. d. norm. u. pathol. Physiol. XIII, 405 (1929).

2) Uhlenhuth und Seiffert, Hdb. d. pathog. Mikroorg. **3**, 368 (1928).

3) Vgl. die Lehrbücher der Serologie. — A. Klopstock und Kowarski, Untersuchungsmethoden, Berlin u. Wien 1935.

durch Präzipitation oder Flockung (Uhlenhuth; Sachs), eine Reaktion, die der Agglutination entspricht und ganz grob mit der Flockung von Kolloiden verglichen werden kann, 2. durch die Komplementbindungs-Reaktion (Bordet-Wassermann) und 3. durch die sogenannte spezifische Hemmungsreaktion (Landsteiner und Halban). Auf die beiden letzteren kann ich hier nicht eingehen. Hingegen möchte ich noch die neuerdings von E. Abderhalden[4]) ausgearbeitete Methode erwähnen, die auf der Bildung spezifischer Abwehrfermente beruht und auf sehr feine chemische Unterschiede der Antigene reagiert. (Spezifische Abwehrfermente bilden sich bei der parenteralen Injektion von fremdem Eiweiß, also bei Umgehung des Magen-Darm-Kanals, dem bekanntlich die Aufgabe zufällt, die zellfremden Proteine so weitgehend zu zerlegen, daß ein Aufbau zu körpereigenen möglich ist.)

Haben wir bei den Antigenen als wesentliche Merkmale einerseits die Fähigkeit zur Bildung von spezifischen Antikörpern, andererseits die spezifische Reaktionsweise im Reagenzglas hervorgehoben, so gilt für die Haptene oder unvollständigen bzw. Halb-Antigene folgendes: es fehlt ihnen die Eigenschaft zur Bildung von Antikörpern im Körper so gut wie vollständig, aber sie reagieren mit den einmal gebildeten Antikörpern in spezifischer sinnfälliger Weise. Sie sind also mit Hilfe der Reagenzglas-Reaktionen leicht nachzuweisen. Wie erhält man aber die spezifischen Antikörper? Ich möchte Ihnen dies an dem klassischen Beispiel, an dem Landsteiner und Simms[5]) im Jahre 1923 den Begriff des Haptens entwickelt haben, kurz klar machen. Injiziert man Kaninchen eine wässerige Suspension von Meerschweinchen- oder Pferdeniere, so bilden sich — wie Forssman[6]) nachgewiesen hat — hämolysierende Antikörper („Hämolysine"), die imstande sind, Hammel-Erythrocyten aufzulösen. (Auf die komplizierte immunbiologische Seite des Vorgangs will ich nicht eingehen.) Die spezifische Wirkung dieses Antiserums kann (neben der Hämolyse) auch mit Hilfe der an-

---

4) E. Abderhalden u. F. Buadze, Ferm. f. **12**, 129 (1930); E. Wertheimer, Hdb. d. Bioch., Erg.-Bd. II, 98 (1933).

5) Journ. exp. Med. **38**, 127 (1923).

6) Vgl. Hdb. d. pathog. Mikroorg. **3**, 475 (1928).

deren Methoden gezeigt werden, d. h. das Antiserum reagiert mit dem „homologen Antigen“ stets in spezifischer Weise. Es gibt indessen auch mit einem alkoholischen Extrakt aus Meerschweinchen- oder Pferdeniere die spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Bestandteile des alkoholischen Extraktes eignen sich aber als solche nicht zur Erzeugung des Antiserums. Es liegt somit ein alkohollösliches Hapten vor, und das im wässerigen Extrakt enthaltene „Vollantigen“ wird demnach durch Alkohol gespalten. Die Annahme, daß das Vollantigen eine lockere Verbindung des alkohollöslichen Haptens mit Eiweiß darstellt, konnte von Landsteiner und Simms sehr schön durch Resynthese bewiesen werden. Vermischt man nämlich nach dem Abdampfen des Alkohols das Hapten der Pferdeniere (das „Forssmansche heterogenetische Hapten“) mit einer Eiweißlösung und injiziert dieses Gemisch intravenös, so erhält man die gleichen Hämolysine wie mit dem wässerigen Nierenextrakt. Zur „Vervollständigung“ der Haptene eignen sich praktisch alle Proteine, sie müssen nur für das zu immunisierende Tier artfremd sein (Sachs; Doerr). Neben den Hämolysinen bilden sich in dem vorliegenden Fall noch Antikörper gegen das Eiweiß aus. Diese können aber für unsere Betrachtungen vernachlässigt werden.

Ein anderes Beispiel! Ein wässeriges Cholesterinsol erzeugt — einem Kaninchen intravenös injiziert — keinerlei Antikörper. Mischt man aber das Sol vor der Injektion jeweils mit Schweineserum, dann entstehen neben den Eiweiß-Antikörpern auch Cholesterin-Antikörper. Dieses von Sachs und Klopstock[7]) aufgefundene Beispiel zeigt eindeutig, daß die Verbindung Eiweiß und Hapten nicht durch Hauptvalenzkräfte gebildet werden muß, sondern daß schwache Nebenvalenzbindungen (z. B. Adsorptionskräfte) genügen können.

Ähnlicher Bau von Antigenen und Fermenten.

Diese genannten Tatsachen zwingen unwillkürlich zu einem Vergleich mit den Fermenten. Die Auffassung von

---

7) H. Sachs, A. Klopstock u. A. Weil, Dtsch. med. Wochschr. 1925, 589, 1017; H. Sachs u. A. Klopstock, Bioch. Z. **159**, 491 (1925); R. Doerr u. C. Hallauer, Z. Immunforsch. **47**, 291 (1926).

Willstätter, daß ein Ferment aus einer niedrigmolekularen Wirkungsgruppe und einem hochmolekularen Träger (aus Eiweiß) besteht, mit anderen Worten einen „Symplex“ [8]) darstellt, scheint auf den ersten Blick auch für die Vollantigene zutreffend: das niedrig-molekulare Hapten wird durch Symplexbildung mit dem Eiweiß zum Vollantigen. Das Hapten wäre demnach gleichzusetzen der Wirkungsgruppe (im Sinne von Willstätter) oder dem Co-Ferment (von Euler) oder dem Agon (Kraut), während das Protein also dem Träger oder dem Apoferment oder dem Pheron und das Vollantigen dem Ferment schlechthin oder dem Holoferment entspräche [9]). So wie in den letzten Jahren eifrig darüber diskutiert wurde, ob „reine“ Proteine als solche überhaupt eine spezifische Fermentwirkung besitzen oder ob sie nur als Träger wirken (Northrop; Waldschmidt-Leitz [9]), ebenso erhebt sich auch hier die Frage, ob die große Zahl der immunologischen Differenzierungen im Tierreich auf „reine“ Eiweißkörper oder auf Symplexe zurückzuführen ist. Und so wie durch die Aufklärung des gelben Atmungsfermentes (O. Warburg und W. Christian; H. Theorell) und seine Synthese (R. Kuhn und H. Rudy) [10]) die Willstättersche Auffassung vom Bau der Fermente stark gestützt wurde, ebenso können wir auch heute schon sagen, daß die Vormachtstellung der reinen Proteine als Ursache der immunologischen Spezifität nicht mehr besteht; denn viele derartige Feinstrukturen werden, wie wir später noch sehen, durch chemische Individuen von Nicht-Protein-Natur verursacht, wenngleich die Bildung von Antikörpern auf natürlichem Weg nur durch proteinhaltige Vollantigene möglich ist. Die endgültige Entscheidung hängt von den Fortschritten der Eiweißchemie in präparativer und analytischer Hinsicht ab; denn es besteht die Möglichkeit, daß die heute als rein bezeichneten

---

8) R. Willstätter, J. Graser u. R. Kuhn, Z. physiol. Ch. **123**, 1 (1922); R. Willstätter u. M. Rhodewald, Z. physiol. Chemie **225**, 103 (1934).

9) Vgl. die Zusammenfassung von H. Albers, Z. Angew. Chemie **49**, 448 (1936).

10) Lit. bei R. Kuhn u. H. Rudy, Ber. d. Chem. Ges. **69**, 1974 (1936).

kristallisierten Proteine eine Wirkungsgruppe enthalten, die analytisch noch nicht erfaßt werden kann.

Bezüglich des Trägers herrscht bei den Fermentwirkungsgruppen oder Co-Fermenten eine verhältnismäßig strenge Auswahl. Ein gewisser Spielraum ist allerdings vorhanden, aber solche Fermente mit gleicher Wirkungsgruppe, aber verschiedenem Träger, zeigen bei unversehrter Wirkungsspezifität doch eine veränderte Substratspezifität (R. Willstätter, R. Kuhn u. H. Sobotka[11]); R. Willstätter und A. Pollinger[12]); Kraut und v. Pantschenko-Jurewicz)[13]). Die Haptene wählen bezüglich des Proteins weniger streng aus. Man kann z. B. das genannte Hapten der Pferdeniere mit den verschiedensten Tiersera „komplettieren" und erhält — neben jeweils verschiedenen Eiweiß-Antikörpern — stets die gleichen Hämolysine. Umgekehrt gelingt der Aufbau zum Antigen bei allen Haptenen mit ein und demselben Eiweiß, z. B. mit Schweineserum. Die Auswahl der Haptene äußert sich also nur darin, daß das Serum artfremd sein muß. Trotzdem scheinen mir diese Unterschiede nicht grundsätzlicher Art zu sein.

Hingegen scheint folgendes gegen die Analogie der Antigene mit den Fermenten zu sprechen. Gonzalez und Armangué[14]) fanden, daß man statt Eiweiß auch anorganische Stoffe (Adsorbentien) zum Aufbau von Haptenen verwenden kann. Sie beobachteten, daß das heterogenetische Hapten der Pferdeniere durch Adsorption an Kaolin die Fähigkeit erlangt, beim Kaninchen Hammelblut-Hämolysine zu erzeugen, genau so wie der wässerige Nierenextrakt[14a]). Auch andere Haptene konnten auf diese Weise zu Antigenen aufgebaut werden (K. Landsteiner und Jacobs; J. Zozaya; F. Plaut und H. Rudy[15]); W. Mutsaars[16]). Hier fehlt bis jetzt

---

11) Z. physiol. Ch. **129**, 33 (1923).

12) Ebenda **130**, 281 (1923).

13) Bio. Z. **275**, 114 (1934/35).

14) C. rend. Soc. Biol. **106**, 1007; **110**, 216 (1931/32).

14a) Die ganz ähnliche Aktivierung von Toxinen durch Adsorption war schon bekannt (G. Ramon; S. Schmidt).

15) Vgl. H. Rudy, Kolloid-Z. **65**, 356 (1933).

16) C. rend. Soc. Biol. **120**, 263 (1935).

ein Analogon in der Fermentchemie; denn die an ein anorganisches Adsorbens gebundene Wirkungsgruppe ist kein Enzym, wenngleich bei Enzymmodellen (Langenbeck)[17]) gewisse Analogiemöglichkeiten mit den Haptenadsorbaten bestehen mögen.

Durch diese jüngsten Ergebnisse, nach denen also der natürliche Träger oder „Schlepper" der Haptene (Sachs), nämlich das Eiweiß, durch anorganische Adsorbentien ersetzt werden kann, ist das Bild vom Wesen der Antigene und von den zur Antikörperbildung notwendigen Voraussetzungen nicht klarer geworden. Es ist aber nicht möglich, auf diese sehr ins einzelne gehenden Fragen hier näher einzugehen. Was ich mit dem Vergleich der Haptene mit den Wirkungsgruppen der Fermente wollte, ist lediglich das, Ihnen ein möglichst einfaches (wenn vielleicht auch etwas schematisches) Bild von dem Wesen der Haptene zu vermitteln. Bei der nun folgenden Einzelbesprechung wird manches noch schärfer hervortreten.

A. Natürliche Haptene.

Bakterien-Kohlehydrate.

Wenn man ein Tier mit abgetöteten oder abgeschwächten Bakterien immunisiert, erhält man — je nach den Bedingungen — nicht nur die obengenannten Antitoxine, sondern noch andere Antikörper. Mit Bakterien-Autolysaten entstehen meist Eiweiß-Antikörper, die von Bakterium zu Bakterium verschieden sind, die also z. B. eine Unterscheidung zwischen Tetanus- und Diphtheriebazillen ermöglichen und zu denen auch die Antitoxine gehören. Beim Immunisieren mit den unversehrten Bakterien bilden sich meist Antikörper von feinerer Differenzierung, die eine weitere Unterteilung gestatten. Diese Antikörper sind nicht gegen ein Eiweiß, sondern gegen andere Zellbestandteile gerichtet und können leicht dadurch nachgewiesen werden, daß man enteiweißte Bakterienautolysate mit dem Antiserum prüft. Während also die gröbere immunologische Unterteilung in Arten (species) durch Proteine (oder zum mindesten sehr beständige Proteinverbindungen) bewirkt wird, ist die

17) Die organ. Katalysatoren, J. Springer, Berlin (1935).

feinere Struktur mehr auf Stoffe von Nichtproteinnatur zurückzuführen (Unterteilung in Gruppen und Typen). Das gilt nicht nur für Mikroorganismen, sondern auch für Säugetiere.

Beobachtungen an Pneumokokken sind in dieser Richtung wegweisend geworden. Man unterscheidet bakteriologisch und serologisch eine ganze Anzahl von Pneumokokken-Typen (vgl. die folgende Tabelle). Den amerikanischen Forschern Avery, Dochez, Goebel, Heidelberger, Tillet[18]) gelang es nun als ersten nachzuweisen, daß diese Unterscheidung in Typen auf hochmolekulare Kohlehydrate zurückgeht. Sie konnten eine Reihe solcher Polysaccharide isolieren und teilweise aufklären und haben damit die Immunchemie der Bakterien sehr wesentlich gefördert.

Tabelle 1.

Typen-spezifische Kohlehydrate von Pneumokokken.[19])

	$[\alpha]_D$ in °	Äquiv. gew. (NaOH)	C	H	N	NH_2N	P	Acetyl	„Glukose“	Art der Spaltprodukte (Mineralsäuren)
					%					
Typ 1	+297	535	43.3	5.8	5.1	2.5	0	0	27.6	Galakturonsäure
	+277	576	42.6	6.7	4.9	2.2	0	6.0	32.0	N-haltiges Kohlehydrat, Essigsäure
Typ 2	+ 74	1250	45.8	6.4	0	0	0	0	70	Glukose, Glukuron-, Aldobionsäure
Typ 3	— 33	340	42.6	5.6	0	0	0	0	75	Glukose, Glukuron-, Aldobionsäure
Typ 4	+ 30	1550	—	—	5.5	0.1	0	5.8	71	N-haltiges Kohlehydrat
Typ 8	+ 125	750	—	—	—	—	—	—	76	Glukose, Glukuron-, Aldobionsäure
Typ A	— 100	430	43.5	6.0	0	0	0	0	65	Glukose, Glukuron-, Aldobionsäure
Typ B	+100	680	44.6	6.1	0	0	0	0	70	Glukose, Uronsäure
Typ C	+100	680	—	—	—	—	—	—	76	Glukose, Uronsäure

Die Darstellung der Polysaccharide gelingt sowohl aus den von der Kulturflüssigkeit abgetrennten Bakterien, als auch aus

18) Zusammenfassung bei K. Landsteiner, „Die Spezifität der serologischen Reaktionen“, J. Springer, Berlin 1934; M. Heidelberger, Ann. Rev. Biochem. **II**, 503 (1933), u. **IV**, 569 (1935).

19) M. Heidelberger u. W. Goebel, Journ. Biol. Chem. **74**, 613, 619 (1927); O. T. Avery u. W. Goebel, Jl. exp. Med. **58**, 731 (1933); W. Goebel, Jl. biol. Chem. **110**, 391 (1935), dort weitere Literatur.

der autolysierten Kultur selbst. Im letzteren Fall ist die Ausbeute wesentlich besser (2,1 g gegen 0,5 g aus je 50 l Nährlösung. Die Einzelheiten der Darstellung will ich nicht weiter erörtern. Es handelt sich im wesentlichen um Umfällungen aus wässerigem Medium durch Alkohol und Aceton. Tabelle 1 zeigt eine Zusammenstellung der chemischen Eigenschaften.

Man erkennt zunächst, daß die chemischen Unterschiede zwischen den typenspezifischen Substanzen recht beträchtlich sind. Dadurch wird das serologische Verhalten, nämlich die Tatsache, daß die typenspezifischen Antisera jeweils nur mit dem homologen Kohlehydrat reagieren, leicht verständlich. Wir wissen aus der Pharmakologie und Physiologie, daß die Zelle auf weit geringere chemische Unterschiede zu reagieren vermag, so daß uns die Differenzierung der Bakterientypen auf Grund dieser Kohlehydrate fast selbstverständlich erscheint. Es sei hinzugefügt, daß neben den typenspezifischen Kohlehydraten vereinzelt auch artspezifische (phosphorhaltige) Polysaccharide auftreten.

Alle typenspezifischen Kohlehydrate sind in Wasser leicht, in organischen Mitteln dagegen unlöslich. Sie sind organische Säuren, die sich mit Natronlauge titrieren lassen (vgl. die Äquiv.-Gew.). Die Bruttozusammensetzung ist in allen Fällen sehr ähnlich, hingegen fällt auf, daß Stickstoff, Aminostickstoff und Essigsäure nur vereinzelt gefunden wurden. Bemerkenswert ist weiterhin der niedrige Reduktionswert (der in allen Fällen als Glukose berechnet wurde) bei den Pneumokokken vom Typus 1.

Bei den letzteren wurde eine sehr wichtige Beobachtung von allgemeiner Bedeutung gemacht. Nachdem Heidelberger und Avery das Kohlehydrat als erste isoliert und beschrieben hatten, stellten sich bei der Nachbearbeitung gewisse Unstimmigkeiten bezüglich des immunologischen Verhaltens ein. Das erste Präparat, bei dessen Darstellung Alkali verwendet worden war, zeigte bei der Maus keinerlei Schutzwirkung gegenüber Pneumokokken-Infektion, konnte also keinerlei Antikörper verursachen und war als Hapten zu bezeichnen. Nachdem andere Forscher indessen stets mehr oder minder starken Schutz an Mäusen beobachtet hatten[20]), konnte von Avery

20) Vgl. M. Heidelberger, Ann. Rev. Biochem. IV, 569 (1935).

und Goebel nachgewiesen werden, daß der Verlust der Schutzwirkung durch die Behandlung mit Alkali verursacht war und mit der Abspaltung von Essigsäure zusammenhing. (Aus der leichten Abspaltbarkeit ist zu schließen, daß es sich nicht um N-Acetyl handelt.) Während bei der üblichen Auswertung im Reagenzglas die beiden Antigene sich gleich verhielten, zeigte also der Tierversuch deutliche immunbiologische Unterschiede. Das genuine Acetylpolysaccharid, das einen gewissen Schutz bietet, bildet also eine Art Übergang von den echten Haptenen zu den Antigenen.

Bei der Hydrolyse durch Mineralsäuren werden eine Reihe von Spaltprodukten erhalten, die, je nach dem Molekulargewicht, mit dem Antiserum noch mehr oder minder stark reagieren. Die Spaltprodukte reagieren bis zu einem Molekulargewicht von 500 bis 600 noch erkennbar mit dem Antiserum, woraus zu schließen ist, daß sich die Spezifität bereits in bestimmten Gruppierungen (Oligosaccharide) äußert, die sich im Molekül wahrscheinlich regelmäßig wiederholen. Am Zustandekommen der Spezifität sind die Uronsäuren ausschlaggebend beteiligt, wie später gezeigt werden wird.

Tabelle 2.

Vergleich der Spaltprodukte.

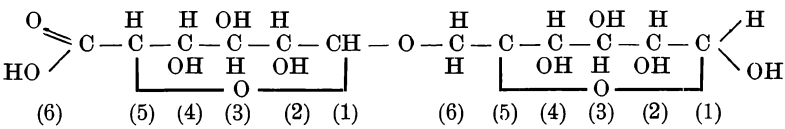
	Spaltprodukte	Aldobionsäure		Heptacetyl-Aldobionsäure-Methyläther		
		$[\alpha]_D$	Äquiv. Gw.	$[\alpha]_D$	Schmelzpunkt	
Typ III	2 Glukose : 1 (Gluk)uronsäure	$+7.3^0$	354	$+41.7^0$	250^0	Mischschmelzp. $249—250^0$
Typ VIII	1 Glukose : 1 (Gluk)uronsäure	$+7.3^0$	354	$+40^0$	$249—250^0$	
Typ A	7 Glukose : 2 (Gluk)uronsäure	-54^0	354			

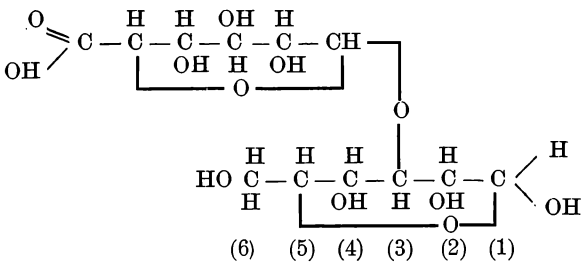
Die energische Spaltung mit Mineralsäuren liefert Monosen, Uronsäuren und Aldobionsäuren, wie Tabelle 1 zeigt. Charakteristisch ist für die einzelnen Polysaccharide das gegen-

seitige Verhältnis, in dem diese Spaltprodukte auftreten. Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, bestehen hier große Unterschiede. Im allgemeinen scheinen die Monosen gegenüber den Uronsäuren mengenmäßig zu überwiegen. Neben dem zahlenmäßigen Verhältnis der beiden Hauptspaltprodukte ist zur Aufklärung der Konstitution der Polysaccharide die Struktur der Aldobionsäuren von Wichtigkeit, welche in Form ihrer Calcium- oder Cinchonidinsalze kristallisiert erhalten werden. Zu ihrer Charakterisierung eignen sich noch besonders die Heptacetyl-aldobionsäure-methylester, bei denen die spezifische Drehung und der Schmelzpunkt kennzeichnend sind. Die Aldobionsäure des Typs 1 ist wahrscheinlich eine Galakturonoglukose. Besser untersucht sind diejenigen der Pneumokokken-Typen A, 3 und 8. In allen drei Fällen liegt eine Glukuronoglukose vor. Diejenige des Typus 3 und 8 sind identisch [21]). Zwei der wahrscheinlichsten Formeln sind:

Aldobionsäure (Typus III und VIII).

Glukurono — 6 — bzw. — 3 — glukose.





Das bei der Hydrolyse einiger Polysaccharide auftretende stickstoffhaltige Kohlehydrat ist noch nicht aufgeklärt. Die endgültige Festlegung der Konstitution der Pneumokokken-Polysaccharide dürfte auf die gleichen Schwierigkeiten stoßen wie bei der Zellulose und Stärke.

---

21) W. Goebel, Jl. Biol. Chem. **110**, 391 (1935).

Die Isolierung der Pneumokokken-Kohlehydrate hat erhebliche praktische Bedeutung. Es wurde schon erwähnt, daß mit dem genuinen Polysaccharid des Typus 1 bei Mäusen ein gewisser Schutz gegen Pneumokokken 1 erreicht werden kann. Auch beim Menschen findet eine gewisse Bildung von Antikörpern statt[22]).

Avery und Dubos[23]) haben das Problem der Bekämpfung der Pneumonie von einer anderen Seite angepackt. Es gelang ihnen, aus Torf ein Bakterium zu züchten, das spezifische Fermente erzeugt, besonders wenn man der Nährflüssigkeit eines der typenspezifischen Kohlehydrate zufügt. Sie erhielten auf diese Weise z. B. je ein Enzym, das die Polysaccharide von Typ 3 und Typ 8 spezifisch spaltet, so wie es für Stärke und Zellulose spezifische Fermente gibt. Nun bilden die Pneumokokken-Kohlehydrate einen integrierenden Bestandteil der Pneumokokkenkapseln. Wenn man daher die Fermente auf die lebenden Bakterien einwirken läßt, dann werden die Kapselkohlehydrate hydrolysiert. Glücklicherweise entfaltet das Ferment seine Wirkung nicht nur im Reagenzglas, sondern auch im Tierkörper. Man konnte so Mäuse und Kaninchen durch Injektion des Fermentes gegen Infektion schützen bzw. eingetretene Erkrankung zum Ausheilen bringen: die ihrer Kapseln beraubten Pneumokokken sind den Phagocyten des infizierten Tieres vollkommen ausgeliefert! Es besteht kein Zweifel darüber, daß dieser Versuch einer Krankheitsbekämpfung einen ganz neuartigen Weg der Heilkunde darstellt[24]).

Die schönen Untersuchungen an den Pneumokokken haben zu einer großen Anzahl weiterer Versuche Anlaß gegeben. Es wurden auf diese Weise von anderen Autoren eine Reihe von spezifischen Bakterien-Kohlehydraten isoliert und chemisch gekennzeichnet. Bezüglich der Konstitution dieser ebenfalls typen-

---

22) T. Francis, Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. **31**, 493 (1934).

23) Jl. exp. Med. **54**, 450, 471 (1931); Jl. Biol. Chem. **62**, 259, 271 (1935).

24) Vgl. die Zusammenfassung von O. T. Avery, Naturw. **21**, 777 (1933).

spezifischen Substanzen ist indessen noch weniger bekannt als bei den oben genannten. Zum Vergleich seien diejenigen der Staphylokokken [25]) und der Meningokokken [26]) erwähnt (Tab. 3).

Tabelle 3.

	$[\alpha]_D$	C	H	N	P	Äquiv. Gewicht (NaOH)	„Glukose“	Vergärbarer Zucker
			%				%	%
				Staphylokokken				
Typ A	+ 7°	34.7	6.4	4.1	6.3	776	25	1.6
Typ B	+ 67°	36.1	6.6	3.8	6.4	806	37	34.0
				Meningokokken				
Typ 1	+ 56.8°	—	—	4.36	8.9	—	45.2	—

Man erkennt daran, wie groß die Variationsmöglichkeit im Aufbau ist, indem auch noch anorganische Säuregruppen (Phosphorsäure) eingefügt werden.

Blutgruppensubstanzen.

Es ist eigentümlich, daß wir bei den Säugetieren und beim Menschen ganz ähnliche Verhältnisse antreffen wie bei den Bakterien: neben artspezifischen Proteinen gibt es weitere Immunstoffe, die eine Unterteilung in Gruppen ermöglichen und polymere Kohlehydrate sind. Ich möchte zunächst mit wenigen Worten auf die menschlichen Blutgruppen im allgemeinen zu sprechen kommen und dann auf die Chemie dieser Immunstoffe im besonderen.

Nach Landsteiner, v. Dungern [27]) und anderen kann man im wesentlichen zwei gruppenspezifische Substanzen annehmen, nämlich A und B. Die vier Hauptblutgruppen — von den Untergruppen, deren es etwa 40 gibt, sei hier abgesehen — des Menschen lassen sich nun so ableiten, daß die eine Gruppe (A) durch die Gruppensubstanz A, eine weitere Gruppe (B) durch die Substanz B, die dritte (AB) durch das Vorhandensein von beiden Gruppensubstanzen A und B und die vierte (O) durch das Fehlen von A und B ausgezeichnet ist.

25) C. W. Wieghard u. L. A. Julianelle, Journ. exp. Med. **62**, 23 (1935).

26) H. W. Schorp u. G. Rake, Jl. exp. Med. **61**, 753 (1935).

27) Vgl. die Monographie von K. Landsteiner.

Die Gruppensubstanzen finden sich vornehmlich in den Blutzellen und sind Antigene. Neben diesen Antigenen treten normalerweise auch Antikörper von gruppenspezifischem Gepräge auf, und zwar enthält das Serum der Gruppe A Antikörper gegen die Substanz B, das der Gruppe B solche gegen A, während die Gruppe AB keinerlei Antikörper und die Gruppe O Antikörper gegen A und B aufweist. Der Gehalt eines Serums an Antikörpern äußert sich meist in der Agglutination (Verklumpung) der Erythrocyten, weniger in der Hämolyse. Das Serum eines Menschen der Gruppe A kann also Blutkörperchen der Gruppe B agglutinieren und umgekehrt, während durch Serum AB keinerlei Agglutination hervorgerufen werden kann (vgl. Tab. 4). Der Wert dieser Erkenntnis für die Bluttransfusion liegt klar zutage.

Blutgruppen.

	Erythrocyten enthalten Substanz (Antigen)	Serum enthält Agglutinine (Antikörper)
A	A	β (gegen B)
B	B	α (gegen A)
AB	A, B	keine
O	—	α, β (gegen A u. B)

Die diesen menschlichen Blutgruppen zugrunde liegenden Immunstoffe finden sich großenteils auch im Tierreich, so daß auf diese Weise ziemlich verwickelte immunologische Verhältnisse zustandekommen.

Die Blutkörperchen enthalten die Vollantigene; denn man kann durch Immunisieren blutgruppenspezifische Tierantisera erhalten. Wie die Antikörper beim Menschen unter physiologischen Bedingungen entstehen, darüber ist man sich indessen nicht klar. Durch Extraktion der Blutkörperchen mit Alkohol erhält man gruppenspezifische Substanzen von Haptencharakter (Brahn und Schiff)[28]). Über ihre chemische Natur weiß man so gut wie nichts.

Im Harn werden nach Yosida und Brahn und F. Schiff[28]) ebenfalls Gruppensubstanzen von Haptencharakter

28) Vgl. F. Schiff, Über die gruppenspezifischen Substanzen des menschlichen Körpers. Jena 1931.

gefunden. Daneben wird aber auch eine proteinhaltige Gruppensubstanz ausgeschieden (E. Jorpes). Es ist möglich, daß das proteinfreie Blutgruppenhapten aus Harn nur einen Teil des Gesamtgruppenmerkmales ausmacht (K. Freudenberg und H. Eichel)[29]).

An dem Gruppenhapten A des Harnes zeigte zuerst Schiff, daß es sich weder um ein Protein noch um ein Lipoid handelt, und daß es bei der Hydrolyse mit Mineralsäuren reduzierende Substanzen gibt. Freudenberg, Eichel und Dirscherl[30]) haben dann grundlegende Untersuchungen angestellt. Sie isolierten die in Wasser, Glyzerin und Ameisensäure leicht, in Alkohol, Aceton, Pyridin und Eisessig schwer lösliche Verbindung in Mengen von 6—12 g pro 1000 l Harn. Die Elementaranalyse ergab:

C	H	S, P	% N	N-Acetyl	NH_2/N	„Glukose“ [30])
43.0	6.0—6.5	Spuren	5.0—5.5	9—10	0.3—0.7	40—45 %

Das optische Drehungsvermögen der Substanz ist nicht groß (— 5 bis + 5). Die Probe auf Arginin, Histidin und Tyrosin ergab nur Spuren.

Gelinde alkalische Hydrolyse (60 °) zerstört die serologische Wirksamkeit innerhalb einiger Stunden. Dabei steigt der Aminostickstoff auf 2,2—2,6 %. Da hierbei Acetylgruppen abgespalten werden, scheint also auch hier die Veresterung mit Essigsäure für das immunologische Verhalten ausschlaggebend zu sein. Gegen Oxydationsmittel (Jod, Wasserstoffperoxyd) ist die A-Substanz sehr beständig, ebenso gegen Diastase und Amylase. Sie läßt sich jedoch durch Schneckenferment spalten. Bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure verschwindet die serologische Wirksamkeit dann, wenn ungefähr die Hälfte des möglichen „Glukose“wertes entstanden ist. Der größte Teil des auftretenden Zuckers wurde als Galaktose identifiziert (Methylphenylhydrazon).

---

29) Naturw. **20**, 657 (1932); Ann. **510**, 240 (1934); **518**, 97 (1935), dort auch weitere Literatur.

30) Anm. b. d. Korr. Siehe die neuerdings auch von K. Landsteiner u. M. W. Chase (J. exp. Med. **63**, 185, 813) veröffentlichten Werte, die mit denen von K. Freudenberg, O. Westphal und F. Groene (Naturw. **24**, 522) ermittelten nicht übereinstimmen.

Aus dem Harn der Blutgruppen B und O konnten von Freudenberg und Eichel Polysaccharide von ganz ähnlicher chemischer Zusammensetzung, aber anderer spezifischer Drehung isoliert werden, die nur eine ganz verschwindende A-Wirksamkeit zeigten.

Lipoidhaptene.

Die bis jetzt ausführlicher behandelten Antigene (im weitesten Sinne des Wortes) waren Träger einer Gruppen- oder Typenspezifität innerhalb der gleichen Art. Die Lipoidhaptene, so genannt, weil sie in den Lipoidlösungsmitteln löslich sind, sind für Spezifitäten verantwortlich, die über die Grenzen der Arten (Species) hinausgehen.

a) Das heterogenetische oder Forssmansche Hapten der Pferde- und Meerschweinchenniere[31]).

Sein immunologisches Verhalten ist so verwickelt, daß ich verzichten muß, näher darauf einzugehen, und mich auf das früher Gesagte beschränke. Es handelt sich um eine gruppenspezifische Wirkung, die sich über verschiedene Tierarten erstreckt. Chemische Untersuchungen wurden von P. Levene und K. Landsteiner[32]) angestellt. Die beiden Autoren konnten zeigen, daß das Hapten frei von Schwefel und Phosphor ist. Es enthält (bei dem vorliegenden Reinheitsgrad) noch Stickstoff und reduzierende Zucker und dreht schwach rechts. Durch Säuren wird es in der Wärme zerstört. Es scheint in einer alkohollöslichen und in einer wasserlöslichen Form zu existieren.

b) Die Hirn- oder Neurohaptene.

Die Hirnsubstanz praktisch aller Tierarten (vom Menschen bis zum Amphibium) enthält immunologisch aktive Stoffe von ausgesprochener Organspezifität. Wenn man Kaninchen mit einer wässerigen Suspension von Rinderhirn immuni-

---

31) Forssman, Hdb. d. pathog. Mikroorg. **3**, 475 (1928).

32) Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. **23**, 343; **24**, 693 (1926/27); J. immunol. **23**, 75 (1932).

siert, dann erhält man Antisera, die über die Grenzen der Spezies hinaus mit Hirnextrakten vom Menschen, vom Schwein, Schaf, von Fischen und von Amphibien spezifisch reagieren. Wässerige Extrakte aus Niere oder Leber sind indessen unwirksam. Wie Gehirn reagieren auch die Nervenstränge (Brandt, Guth und Müller; Sachs, Witebsky, Heimann; Georgi und Fischer; Plaut und Kassowitz; Plaut)[33]).

Es scheint mehrere Hirn- bzw. Neurohaptene zu geben. Außer dem im folgenden näher beschriebenen in kaltem Alkohol löslichen, thermostabilen wurde von Plaut und Kassowitz ein alkohollösliches thermolabiles und von Schwab ein nur in heißem Alkohol lösliches, in der Protagonfraktion angereichertes thermostabiles Hapten beschrieben[34]).

Antikörper gegen die spezifischen Substanzen des Gehirnes hat man bis jetzt weder in physiologischen noch in pathologischen Körperflüssigkeiten finden können. Man hat ihnen besonders bei der progressiven Paralyse eine Rolle zugeschrieben, aber sicher bewiesen ist noch nichts[33]). Ich will daher nicht weiter darauf eingehen, sondern nur kurz die chemischen Tatsachen anführen.

Das in kaltem Alkohol lösliche thermostabile Hapten des Gehirns ist in fast allen organischen Lösungsmitteln gut löslich. Es konnte gezeigt werden, daß es weder der Sterinfraktion, noch den Phophatiden, den Cerebrosiden, den Fetten oder der Kreatin(in)fraktion angehört; denn die aufeinanderfolgende Entfernung dieser Stoffe brachte keine Verluste an Hapten. Das Hapten enthält weder Phosphor noch Schwefel. Die reinsten Präparate enthielten bis jetzt noch immer Stickstoff, Fettsäuren und reduzierende Zucker in gebundener Form. Es ist aber noch nicht sicher, ob alle diese Kennzeichen dem Hapten selbst zukommen. Gegen Säuren ist die Substanz nur in der Kälte beständig, hingegen verträgt sie Alkalien auch in der Wärme recht gut: mit Baryt auf dem Wasserbad behandeltes Hirnhapten reagiert mit Antiserum un-

33) vgl. F. Plaut, Z. ges. Neur. u. Psych. **123**, 365 (1930); Z. Immun. f. **81**, 46 (1933).

34) Z. Immun. f. **87**, 426 (1936).

geschwächt und kann mit Schweineserum zum Vollantigen aufgebaut werden; die immunisierende Wirkung scheint dadurch eher noch verstärkt zu werden[35]).

Mit zunehmendem Reinheitsgrad konnte eine größere Wasserlöslichkeit beobachtet werden[35]), eine Erscheinung, die auch beim heterogenetischen Hapten beschrieben wurde. Möglicherweise liegt in der alkohollöslichen Form eine Verbindung mit einem Lipoid vor, die nun nach und nach gespalten wird (vgl. auch die alkohol- und die wasserlösliche Form des Blutgruppenhaptens A).

c) Das Syphilishapten.

Die Wassermannsche Reaktion und die zahlreichen Flokkungs- oder Trübungsreaktionen[36]), die mit dem Serum des Syphilitikers positiv ausfallen, faßt man allgemein als Antigen- (bzw. Hapten-)Antikörperreaktion auf. Das syphilitische Blut enthält bestimmte Antikörper, die man spezifisch nachweisen kann. Der Nachweis geschieht merkwürdigerweise mit alkoholischen Organextrakten gesunder Tiere oder Menschen, am besten mit alkoholischem Rinderherzextrakt.

Wie kommt es nun zu Antikörpern gegenüber solchen physiologischen Stoffen? Ganz schematisch dargestellt, nimmt man an (Sachs, loc. cit.), daß die Spirochäten, die ja ein körperfremdes Eiweis enthalten, bestimmte körpereigne Stoffe von Haptencharakter zu Vollantigenen ergänzen, so daß sich also im menschlichen mit Lues infizierten Körper Antikörper gegen körpereigene menschliche Stoffe, die sich allerdings auch beim Tier finden, ausbilden. Es ergibt sich daraus die sehr merkwürdige Tatsache, daß die für Lues doch sehr spezifischen Nachweismethoden mit einem unspezifischen („ubiquitär verbreiteten") Substrat durchgeführt werden[37]).

---

35) H. Rudy, Bioch. Z. **248**, 426; **253**, 204; **267**, 77 (1932/33); Klin. Wochschr. **12**, 1521 (1933); **13**, 4 (1934).

36) Siehe bei Antigen-Antikörper-Reaktionen.

37) Vgl. H. Sachs, loc. cit. und H. Sachs und A. Klopstock, Methoden der Hämolyseforschung, Abderhalden: Hdb. d. biol. Arbeitsmeth. XIII, Teil 2.

Über die chemische Natur dieses Wassermannhaptens ist wenig bekannt. Es wird infolge seiner Löslichkeitseigenschaften als Lipoid bezeichnet. Vielfach nahm man an, daß es ein Phosphatid sei. Aber unabhängige Versuche von Fischer, Weil, Wadsworth und Mitarbeitern und auch von mir haben ergeben, daß davon nicht die Rede sein kann[38]). Auch Cholesterin, Cerebroside, Kreatin(in) und ähnliche Stoffe scheiden aus. Der Beweis dafür wurde auch hier wie beim Hirnhapten so erbracht, daß die genannten Substanzen entfernt werden konnten, ohne daß die Reaktionsfähigkeit verschwand. Die reinsten von mir dargestellten Präparate enthielten noch Stickstoff, Fettsäuren und wenig Phosphor. Reduzierende Zucker konnten nach der Hydrolyse mit Säuren — im Gegensatz zum Hirnhapten — nur in Spuren nachgewiesen werden. Von dem Hirnhapten unterscheidet es sich weiterhin in seiner Empfindlichkeit gegen Alkali und im Verhalten gegen Adsorbentien. Diese erlauben eine quantitative Trennung der beiden Haptene. Säuren zerstören das Syphilishapten ziemlich leicht (vgl. 15)[38]).

Die Lipoidhaptene zeigen somit eine gewisse chemische Ähnlichkeit und es ist denkbar, daß sie als eigene chemische Stoffgruppe den hochmolekularen Kohlehydraten gegenüberzustellen sind; sie scheinen jedenfalls niedrig molekular zu sein, denn sie diffundieren (in alkoholischer Lösung) durch Gummi, Pergamentpapier und ähnliche Membrane[39]).

B. Die künstlichen Haptene und die Komplex-Antigene.[40])

Die Frage nach den chemischen Ursachen der immunologischen Spezifität der Eiweißkörper ist sehr alt, aber auch heute noch nicht geklärt. Man hat frühzeitig nach einem Zusammenhang zwischen der chemischen Zusammensetzung (in qualita-

38) Ö. Fischer, Z. Immunf. **79**, 391 (1933); Klin. Wchschr. **13**, 337, (1934); A. J. Weil, c. s. Z. Immun. f. **78**, 316 (1933) und früher; A. Wadsworth, c. s. Jl. of Immunol. **26**, 25 (1934); H. Rudy, loc. cit. u. Klin. Wchschr. **12**, 1100 (1933); E. Balbi, Z. Immun. f. **78**, 524 (1933).

39) Ö. Fischer u. J. Steinert, Klin. Wchschr. **13**, 337 (1934); H. Rudy, loc. cit.

40) K. Landsteiner, Die Spezifität der serologischen Reaktionen.

tiver und quantitativer Hinsicht) und der Spezifität gesucht (Osborne; Wells) und geglaubt, daß zwischen dem Gehalt an bestimmten Aminosäuren und den antigenen Eigenheiten einfache Beziehungen bestünden. Aber die Verhältnisse sind viel verwickelter und diese „analytische" Methode konnte bei den Schwierigkeiten der Eiweißchemie nur zu bestimmten grundsätzlichen Ergebnissen kommen, sie konnte indessen niemals eine einfache Zuordnung von chemischen Gruppierungen im Eiweißmolekül und den immunologischen Besonderheiten feststellen. So weiß man zwar, daß die serologisch verschiedenen Albumine und Globuline sich auch chemisch und physikalisch unterscheiden und daß die (Art-)Spezifität der Hämoglobine von Rind, Pferd, Schwein, Mensch u. a. auf chemische Unterschiede des Globinanteils zurückgeht[41]), aber damit ist die Frage danach, welche strukturellen oder konfigurativen Eigenheiten den Ausschlag geben, nicht entschieden. Es lag nach der Entdeckung der Haptene nahe, die strenge Spezifität auf „prosthetische" Gruppen zurückzuführen und den Proteinen mehr die allgemeinen antigenen Eigenschaften zuzuschreiben. Wie schon erwähnt, ist diese Frage infolge methodischer Schwierigkeiten in der Eiweißchemie bis heute noch ungeklärt.

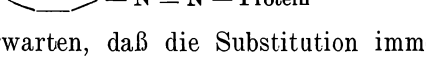
Einfacher ist die Beantwortung der Frage, welcher Art der Einfluß eingeführter Substituenten auf die immunologische Spezifität ist, eine Frage, die in der Pharmakologie und in der Vitamin- und Hormonlehre seit langem bearbeitet wird. Damit ist allerdings keine endgültige Lösung erreicht.

Obermaier und Pick beobachteten als erste, daß die spezifischen antigenen Eigenschaften der Proteine nichts Unveränderliches darstellen; denn sie konnten aus ein und demselben Serumprotein durch Nitrierung und Jodierung Antigene ganz verschiedener Spezifität gewinnen. Und zwar liegen die Verhältnisse hier folgendermaßen: Wenn man Rinderserum jodiert und mit diesem jodierten Eiweiß beim Kaninchen Antikörper erzeugt, dann reagiert dieses Antiserum nicht mehr mit

41) K. Landsteiner, Die Spezifität der serologischen Reaktionen. Vgl. neuerdings auch C. A. Johnson u. W. B. Bradley, Jl. inf. dis. **57**, 70 (1935).

dem genuinen Rindereiweiß. Hingegen reagiert es — außer mit dem zur Immunisierung verwendeten jodierten Rindereiweiß — auch mit einem jodierten Pferdeserum, auf das Rindereiweiß-Antiserum normalerweise nicht anspricht (Artspezifität der Proteine!). Durch den Eintritt des Jodes oder der Nitrogruppe ist also eine neue sogen. „Chemospezifität" entstanden, die die Artspezifität vollständig unterdrücken kann. Jodiertes und nitriertes Eiweiß sind indessen chemisch nicht scharf definiert. Man nimmt zwar im allgemeinen an, daß die Substitution im Benzolkern der aromatischen Aminosäuren stattfindet, und daß diese daher für die Antigenität und Spezifität unentbehrlich seien, aber beides ist nicht überzeugend bewiesen (vgl. Landsteiner; Wormall). Wenn es gelang, das Eiweiß unter milden Bedingungen und möglichst an dem gleichen Ort zu substituieren, dann waren durchsichtigere Verhältnisse zu erwarten.

Dieser Weg wurde von K. Landsteiner mit E. Prasek und H. Lampl u. a. eingeschlagen. Als allgemein anwendbare Substitutionsmethode wurde die von Pauli aufgefundene Kuppelung von Diazoniumsalzen mit Eiweiß erkannt, wobei Azo-Proteine entstehen, z. B. aus Anilin:



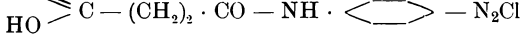
Hierbei war zu erwarten, daß die Substitution immer an den gleichen Stellen erfolgt[42]), so daß bei verschiedenartigen Substituenten tatsächlich immer nur dessen chemischer Charakter wechselt.

Ehe ich im einzelnen darauf eingehe, möchte ich aber noch etwas anderes besprechen. Es gilt, kurz die Frage zu klären, was hier das Hapten darstellt. Die Salpetersäure oder die organischen Säuren, die man mit Hilfe der Acylchloride einführen kann, sind keine Haptene, ebensowenig Anilin und seine Homologen oder Substitutionsprodukte, die man über das Diazoniumsalz einführen kann; denn diese einfachen chemischen Stoffe können mit dem Antiserum keine sichtbare serologische

---

42) Und zwar kommen dafür — wie H. Eagle u. P. Vickers zeigten, vor allem die Imidazol-, Phenyl- und Indol-haltigen Aminosäuren, ferner NH_2- und NH-Gruppen (Prolin) in Frage (Jl. biol. Chem. **114**, 193 (1936).

Reaktion, wie etwa Flockung oder Komplementbindung, eingehen. Sie können zwar — mit Ausnahme der allereinfachsten — serologisch nachgewiesen werden, aber nur mit Hilfe der besonderen Hemmungsreaktion. Sinnfällige serologische Reaktionen treten erst dann auf, wenn das Molekül eine bestimmte Größe und einen bestimmten (niedrigen) Dispersitätsgrad erreicht hat. Landsteiner konnte dies unmittelbar nachweisen, indem er die niedrig-molekularen „Halbhaptene" (Sachs) zu „Vollhaptenen" aufbaute. p-Amino-Succinanilsäure z. B. ist ein solches Halbhapten. Das Diazoniumsalz



gibt mit Eiweiß ein Azoprotein ganz spezifischer Art. Die p-Aminosuccinanilsäure ist indessen nicht durch einfache Flokkung mit dem Antiserum nachzuweisen. Kuppelt man das genannte Diazoniumsalz indessen mit Resorzin, so hat man in der neuen Verbindung das „Vollhapten" bereits in Händen. Dieses Beispiel zeigt sehr klar, welcher Art der Einfluß der Molekülgröße und der damit verbundenen physikalischen Eigenschaften auf das serologische Verhalten ist[43]).

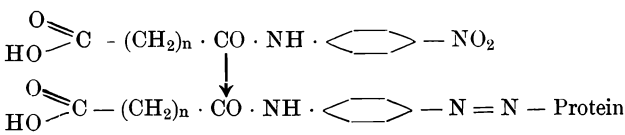
Es würde zu weit führen, alle untersuchten Azoproteine oder „Komplexantigene" einzeln zu besprechen. Aus diesem Grunde sollen nur einige Tatsachen hervorgehoben werden, aus denen die Zusammenhänge zwischen chemischer Struktur und serologischem Verhalten klar zutage treten.

Zunächst seien die vom Anilin sich ableitenden Komplexantigene erwähnt. Wenn man aus Anilin und seinen Homologen, ferner aus seinen Substitutionsprodukten (wie Halogen- oder Nitroanilin, Aminophenol, Aminobenzoesäure, Sulfanil- und Arsanilsäure u. a. m.) über die Diazoniumsalze Azoproteine darstellt und die entsprechenden Antisera mit all diesen Antigenen serologisch durchprüft, so kommt man zu folgendem Ergebnis: Die Säuregruppen (CO_2H, SO_3H usw.) sind für die Spezifität von größtem Einfluß und reagieren streng

43) Vgl. E. Berger und H. Erlenmeyer, Bio. Z. **264**, 113 (1933); H. Sachs und F. Hahn, Z. Immun. f. **82**, 287 (1934).

spezifisch. Geringere Bedeutung haben Methyl-, Halogen-, Methoxyl- und Nitrogruppen. Substitution in der Aminogruppe oder in der Carboxylgruppe steigern die Spezifität sehr, so daß z. B. die p-Amino-Benzoesäure und ihr Methylester leicht serologisch zu unterscheiden sind. Von den Stellungsisomeren sind die o- und p-Derivate am leichtesten zu unterscheiden. Dabei kann der Einfluß der Stellung im Benzolkern stärker sein als der durch die chemische Natur des Substituenten bedingte.

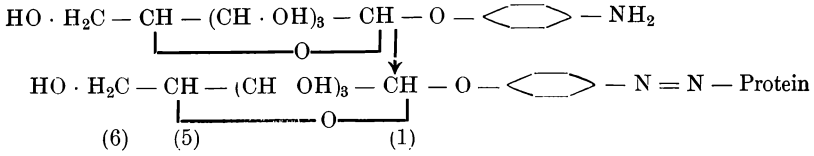
Zur Prüfung des Einflusses aliphatischer Ketten auf die Spezifität der Antikörper wurden Dicarbonsäuren herangezogen. Das Azoprotein wurde durch Reduktion und Diazotierung des Nitranilids gewonnen:



Wenn man in dieser Art die Oxalsäure mit Bernstein-, Adipin- und Korksäure u. a. vergleicht, so erkennt man, daß die niederen Glieder einen streng spezifischen Einfluß auf das Eiweiß ausüben. Von der Adipinsäure an findet aber ein Übergreifen der Reaktion auf die anderen (höheren) Glieder der Reihe statt. Die Spezifität nimmt also einen allgemeineren Charakter an, der mehr für den Gesamthabitus des Moleküls gilt. Hier bietet sich demnach das gleiche Bild wie beim Vergleich der chemischen und physikalischen Eigenschaften (Löslichkeit, Schmelzpunkt, Dissoziationskonstante) der genannten Dicarbonsäuren: mit zunehmender Kettenlänge werden die Unterschiede geringer. Ohne Zweifel bestehen zwischen dieser chemischen und serologischen Angleichung bestimmte Beziehungen.

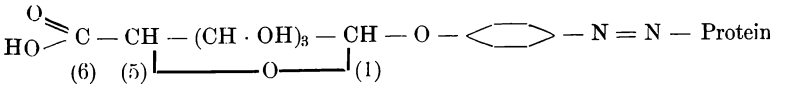
Daß Stereoisomere voneinander verschiedene Komplexantigene bilden, überrascht nach dem, was wir aus der Pharmakologie und der Lehre von den Enzymen wissen, nicht sehr. Landsteiner und van der Scheer haben z. B. d-, l- und m-Weinsäure über die Nitranilide zu Azoproteinen aufgebaut und strenge Spezifität innerhalb der sterischen Reihen festgestellt. Es wurde daher vorgeschlagen, die sterische Zugehörigkeit unbekannter Verbindungen mit Hilfe

von Immunsera bekannter sterischer Spezifität zu bestimmen. Innerhalb derselben Reihe kann bei Homologen indessen wieder ein gewisses Übergreifen stattfinden. — Avery, Goebel und Babers haben im Anschluß an die Pneumokokken-Kohlehydrate den Einfluß von α- und β-Glukosiden auf die Spezifität der Antisera geprüft. Aus den freien Zuckern werden die p-Amino-phenyl-Glukoside hergestellt und nun in der bekannten Weise diazotiert und an Eiweiß gekuppelt.



Auf diese Weise konnten α- und β-Glukoside bzw. Galaktoside unterschieden werden. Es traten indessen doch noch gewisse unspezifische „übergreifende" Reaktionen ein. Diese konnten aber behoben werden, als man z. B. statt der Glukose selbst die 6-Acetylglukose verwendete. In diesem Falle waren alle serologischen Reaktionen streng spezifisch. So wie bei den Pneumokokken-Polysacchariden ist also auch hier eine Acetylgruppe von ausschlaggebender Bedeutung. — Kuppelt man in der gleichen Weise Disaccharide an Proteine (untersucht wurden p-Amino-Phenyl-β-Cellobiosid, -β-Maltosid, -β-Gentiobiosid und -β-Lactosid), so erkennt man, daß die Spezifität in erster Linie durch das Gesamtmolekül, dann durch die endständige Hexose und schließlich durch die Art der glukosidischen Bindung zwischen den beiden Hexosen bestimmt wird.

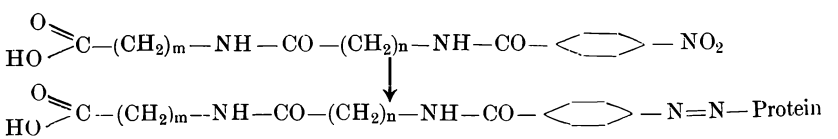
Sehr schöne Modellversuche mit Glukuronsäure-Azoproteinen wurden von F. W. Goebel und K. Goodner[44]) angestellt. Die Glukuronsäure wurde in das p-Amino-β-Phenylglukosid verwandelt und dann in der gleichen Weise wie die Zucker an Eiweiß gekuppelt. Das so gewonnene Azoprotein



44) Jl. Biol. Chem. **114**, Proceed. XXX, 40 (1936).

reagiert mit den Pneumokokken-polysaccharid-Antigenen vom Typ 2, 3 und 8, bei welchen wie erwähnt Glukoronsäure als Hydrolysenprodukt gefunden wurde, bis zu hohen Verdünnungen. Damit ist bewiesen, daß der Glukuronsäure in den Pneumokokken-Kohlehydraten eine ausschlaggebende Rolle zukommt; denn Glukose-Azoproteine zeigen mit den Polysacchariden keinerlei Verwandtschaft. Das Glukuronsäure-Azoprotein ist allerdings mit den Pneumokokken-Kohlehydrat-Azoproteinen serologisch nicht vollkommen identisch: so ist die Reaktionsfähigkeit etwa 5- bis 8mal geringer; des weiteren kann kein Schutz gegen Pneumokokkeninfektion erzeugt werden. Das ist nicht überraschend, da der restliche Anteil des Polysaccharidmoleküls nicht ohne Einfluß auf die Spezifität sein wird, wie gerade die Versuche an den Disaccharid-Azoproteinen zeigen.

Die Untersuchung von Peptiden (als Proteinbausteine) lag sehr nahe. Der Weg zu den Peptid-Azoproteinen geht über die p-Nitro-benzoyl-Peptide, die reduziert, diazotiert und dann gekuppelt werden.



Beim Vergleich verschiedener Dipeptide hat sich ergeben, daß die endständige, die Carboxylgruppe tragende Aminogruppe für die Spezifität ausschlaggebend ist. Dann erst macht sich die Natur der zweiten Aminosäure bemerkbar. So ist es zu erklären, daß Leucylglycin und Glycylleucin keinerlei serologische Verwandtschaft zeigen, während Leucyl glycin und Glycyl glycin deutliche übergreifende Reaktion aufweisen. — Auch hier gibt es in der Fermentchemie Parallelen, nämlich die Carboxypeptidasen und die Aminopeptidasen (Graßmann, Waldschmitz-Leitz). Die endständige funktionelle Gruppe (NH_2 oder CO_2H) entscheidet bekanntlich über die Angreifbarkeit durch die Fermente. Hier wäre der Vergleich mit solchen Peptid-Azoproteinen, welche eine freie Aminogruppe tragen, von großem Interesse.

Zur Vervollständigung des Bildes muß ich noch kurz auf einige Haptene eingehen, die nicht eigentlich zu den Komplexantigenen gehören, bei welchen man aber gewisse Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und serologischer Spezifität erkennen kann. Es handelt sich um die Sterine. Neben dem schon erwähnten Cholesterin (Sachs und A. Klopstock) können auch mit anderen Sterinen (durch Mischung mit Schweineserum) beim Kaninchen Antisera erzeugt werden, so z. B. mit Ergosterin (Weil und Besser; Berger und Scholer)[45]). Die erhaltenen Antisera sind zwar insofern spezifisch, als sie nur mit Sterinen reagieren, aber innerhalb der Steringruppe ist die Spezifität nicht absolut. Cholesterin-Antiserum reagiert z. B. mit Dihydro-Cholesterin, Ergosterinantiserum mit Sitosterin. Vitamin D_2 und unbestrahltes Ergosterin lassen sich indessen eindeutig unterscheiden. Hier sind die chemischen Unterschiede allerdings recht beträchtlich. — Wir erkennen auch an diesem Beispiel, daß bei größeren „prosthetischen Molekeln" Einzelheiten der Konstitution serologisch nicht mehr zum Ausdruck kommen, sondern daß hier schon der sehr ähnliche Gesamthabitus überwiegt, der physikalisch durch das Gesamtkraftfeld des Moleküls dargestellt wird. Daß man die Feldwirkung des Moleküls bzw. bestimmter Atomgruppen für die Spezifität der immunologischen Reaktionen in Betracht ziehen darf, haben Versuche von Erlenmeyer und Berger[46]) ergeben, welche z. B. zeigten, daß Phenyl-Arsin- und Phenyl-Phosphinsäure-Azoproteine eine weitgehende serologische Übereinstimmung aufweisen, während die Phenyl-Stibinsäure ganz aus der Reihe fällt. Das stimmt aber mit einer ganzen Reihe physikalischer und chemischer Eigenschaften überein, die eine Folge der verschiedenen elektrischen Kraftfelder des Metallatoms sind.

---

45) Z. Immun. f. **76**, 17; ebenda **76**, 76 (1932).

46) Bioch. Z. **255**, 429; **262**, 196; **264**, 113 (1932/33).

Zusammenfassung. Die vorliegende kurze Schilderung des Wesens und der Wirkungsweise der Haptene kann keinen Anspruch auf Vollständigkeit machen. Sie wurde vielmehr von dem Bestreben getragen, die Chemie der Immunstoffe im wesentlichen zu erfassen. Es ergibt sich, daß die Vorherrschaft der Proteine als differenzierende Immunstoffe nicht mehr unbestritten gilt, daß vielmehr eine Reihe immunologischer Spezifitäten auf Nichtproteine (von Haptencharakter) zurückgeht. Hingegen sind die Eiweißkörper bei den physiologischen Immunitätsphänomenen unentbehrlich, weil die Haptene im allgemeinen erst in Verbindung mit Proteinen zur Anregung von Antikörpern fähig sind.

In kolloidchemischer Hinsicht ist die Frage nach dem Aufbau von Haptenen zu Vollantigenen höchst interessant. Eng verbunden damit ist das Problem der Entstehung der Antikörper überhaupt. Rein chemisch ist besonders die Frage nach der Konstitution der Haptene brennend, ebenso wie die Zusammenhänge zwischen Struktur und Spezifität der Eiweißkörper.

Die Isolierung serologisch gekennzeichneter Naturstoffe und ihre chemische Charakterisierung hat aber noch von einem anderen Standpunkt aus Bedeutung. Bis jetzt haben wir diese Stoffe rein vom Standpunkt der Immunbiologie betrachtet, weil sie anders gar nicht zu erkennen sind. Diese Betrachtungsweise ist aber sicher sehr einseitig und man muß sich weiterhin nach der zellphysiologischen Bedeutung, die ihnen zweifelsohne zukommt, fragen. Die Beantwortung dieser Fragen wird allerdings eng an die chemische Isolierung gebunden sein, wie uns das Beispiel der Vitamine und Hormone mit besonderer Eindringlichkeit lehrt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sitzungsberichte der Physikalisch-Medizinischen Sozietät zu Erlangen

Jahr/Year: 1935-1936

Band/Volume: 67-68

Autor(en)/Author(s): Rudy Hermann

Artikel/Article: Chemie und Immunbiologie der Haptene (Halb-Antigene). 395-422