Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 17 (1961)

Artikel: Plasmafraktionierung

Autor: Nitschmann, H. / Kistler, P.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307470

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 11.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

D. K.: 612.124:543

Institut für organische Chemie der Universität Bern und Zentrallaboratorium des Blutspendedienstes des Schweizerischen Roten Kreuzes in Bern

Plasmafraktionierung

Von Hs. Nitschmann und P. Kistler[1]

Fraktionierung bedeutet Zerlegung eines Stoffgemisches in Anteile, die sich hinsichtlich Zusammensetzung und Eigenschaften unterscheiden, Isolierung dagegen Reindarstellung einzelner Gemischkomponenten unter Eliminierung aller übrigen. Je nachdem, wozu die gewonnenen Präparate dienen sollen, wird es sinnvoll sein, sich mit einer wirksamen Fraktionierung zu begnügen oder aber die Isolierung einzelner Komponenten so weit zu treiben, bis sie wirklich rein und einheitlich sind.

Bei der Gewinnung humaner Plasmaproteine, die in der Klinik therapeutisch eingesetzt werden sollen, ist es im allgemeinen nicht erforderlich, das Protein, auf das es ankommt, vollständig von allen Begleitproteinen zu befreien. Eine hohe Anreicherung wird meist genügen, solange keines der Begleitproteine unerwünschte Nebenwirkungen auslöst.

Die Aufgabe der Herstellung absolut reiner Proteine stellt sich aber von der Seite der Forschung. Es ist klar, daß die Ermittlung physikalisch-chemischer und analytischer Daten bis hinauf zur vollständigen Strukturermittlung, wie sie heute im Prinzip möglich ist, absolut reine und einheitliche Präparate erfordert. Auch die Abklärung mancher biochemischer und biologischer Probleme erfordert reine Proteine. Als einziges Beispiel sei nur die Gewinnung der als analytische Reagentien so wichtigen spezifischen Antiseren erwähnt. Die zur Immunisierung der Tiere verwendeten Proteine sollten möglichst keine Begleiter enthalten, die ebenfalls eine Bildung von Antikörpern anderer Spezifität veranlassen könnten.

Hier ist vielleicht eine Bemerkung zum Begriff der Reinheit bei Proteinen am Platz. Im chemischen Sinne kann man von Reinheit nur sprechen, wenn sämtliche Moleküle des Präparates in ihrem Bau in allen Einzelheiten identisch sind. So einfach die Definition ist, so schwierig ist unter Umständen die analytische Prüfung auf Reinheit.

[1] Vorgetragen durch *Hs. Nitschmann.*

Seit dem zweiten Weltkrieg sind aber ganz erstaunliche methodische Fortschritte gemacht worden. Elektrophorese, Immunoelektrophorese und Chromatographie in den verschiedensten Ausführungsformen, quantitative Aminosäureanalyse, kombiniert mit einer Reihe anderer Teste, gestatten heute, ein Proteinpräparat mit großer Schärfe auf Einheitlichkeit zu prüfen. Diese Prüfungsmethoden haben uns gezeigt, daß es mindestens bei gewissen Proteinen möglich ist, Präparate zu gewinnen, die nach dem Standard des Chemikers «rein» sind. Dabei ist die Leistung der Chemiker weniger erstaunlich als die Tatsache, daß die lebenden Zellen über einen Syntheseapparat verfügen, dem es gelingt, von einem bestimmten Protein fehlerfrei ein Molekül wie das andere vollkommen identisch aufzubauen. Wie das kettenförmige Zusammenkondensieren von Hunderten von Aminosäuren in der richtigen Zahl und in vorgegebener Reihenfolge in vivo bewerkstelligt wird, ist heute eines der Zentralprobleme der Biochemie. Es gibt aber auch Proteine, die aus Molekülen bestehen, die bei sehr großer Ähnlichkeit untereinander doch kleine Unterschiede im Bau zeigen. Die Zahl bekannter Fälle mehrt sich in dem Maße, wie die Analysenmethoden verschärft werden. Die Verschiedenheit kann unter Umständen nur auf den Austausch einer einzigen Aminosäure unter Hunderten gegen eine andere zurückzuführen sein. Ein Beispiel dieser Art gibt das humane Hämoglobin, von dem heute schon über ein Dutzend verschiedene Arten nachgewiesen sind. Ein und derselbe Mensch kann gleichzeitig auch mehr als eine Molekülart führen. Solche Variationen in der Primärstruktur eines Proteins sind nicht zufällige Fehlleistungen des Organismus, sondern sie sind genetisch bedingt. Zu den Differenzen bei der Aminosäuresequenz können noch Unterschiede in der Beladung mit akzessorischen, aber chemisch gebundenen Stoffen, wie Zuckern, Aminozuckern, Neuraminsäure, Lipoiden usw. kommen. Die γ-Globuline sind das Musterbeispiel einer solchen Proteinfamilie, bei der die einzelnen Glieder trotz großer Verwandtschaft in manchen Eigenschaften deutlich divergieren. Lange bekannt ist ja, daß die γ-Globuline hinsichtlich elektrophoretischer Beweglichkeit eine beträchtliche Variationsbreite zeigen. Bei solchen Proteinen ist die Gewinnung von Präparaten, die im streng chemischen Sinn einheitlich wären, sehr schwierig, wenn nicht unmöglich.

Die wirksamsten Methoden zur Gewinnung von Proteinen höchster Reinheit sind, wie Elektrophorese und Chromatographie, mit kleinen bis kleinsten Substanzmengen sehr gut durchzuführen, aber sie lassen sich nicht in beliebig großen Maßstab transponieren. Sie spielen deshalb für die fabrikatorische Gewinnung von humanen Plasmafraktionen für die Klinik, bis heute jedenfalls, keine Rolle. Trotzdem bei diesen Metho-

den und ganz besonders bei der Säulenchromatographie in den letzten Jahren erstaunliche Fortschritte erzielt worden sind, müssen wir hier auf ihre Behandlung verzichten und wollen uns in der Folge nur noch mit Methoden befassen, die für die großpräparative Fraktionierung von Plasma in Frage kommen.

Alle Verfahren, die heute Anwendung finden, haben das gemeinsam, daß die Trennung der Proteine durch selektives Ausfällen oder selektives Extrahieren von Fällungen erreicht wird. Manchmal wird zusätzlich noch die Adsorption aus Lösung an dispersen Festkörpern verwendet. Bei der Wahl der Arbeitsbedingungen müssen folgende, die Löslichkeit der Proteine beherrschenden Gesetzmäßigkeiten berücksichtigt werden:

1. Proteine sind amphotere Makromoleküle. Je nach dem pH des Milieus sind sie Kationen oder Anionen oder aber sogenannte Zwitterionen. Ein Zwitterion hat gleichviel positive wie negative Ladungen. In diesem Zustand ist die Löslichkeit in Wasser am geringsten. Das pH, das nötig ist, um den zwitterionischen Zustand eines Proteines herbeizuführen, ist sein isoelektrischer Punkt. Bei ihm sind die Bedingungen für das Ausfällen des betreffenden Proteins optimal. Immerhin gibt es Proteine, die auch hier in bloßem Wasser noch gut löslich sind, wie z. B. das Serumalbumin. Proteine mit sehr unterschiedlichen isoelektrischen Punkten sind meist leicht zu trennen.

2. Ein weiterer die Löslichkeit beeinflussender Faktor ist der Salzgehalt des Milieus. Für jedes Protein gibt es eine bestimmte Salzkonzentration, bei der seine Löslichkeit maximal ist. Sowohl Verminderung als auch Erhöhung der Salzkonzentration (ausgedrückt durch die Ionenstärke) setzt die Löslichkeit herab. Die Unterschiede in der Löslichkeit können sehr groß sein (mehrere Zehnerpotenzen). Die löslichkeitserhöhende Wirkung kleiner Salzmengen nennt man Einsalzen, den gegenteiligen Effekt hoher Salzkonzentrationen Aussalzen. Die Art der Salzionen spielt nur beim zweiten Effekt eine Rolle: Es gibt schwach und stark aussalzend wirkende Elektrolyte. Die Löslichkeitskurven verschiedener Proteine (in Abhängigkeit von der Salzkonzentration) können trotz grundsätzlicher Ähnlichkeit sehr verschieden sein und somit Trennungen ermöglichen.

3. Durch organische Lösungsmittel, die sich in Wasser lösen, wie Alkohol, Aceton, Äther usw., kann man die Löslichkeit der meisten Proteine ganz allgemein herabsetzen. Das ist verständlich, wenn man bedenkt, daß Proteine Elektrolyte sind und daß durch diese Zusätze die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels herabgesetzt wird. Die Beeinflussung ist auch hier wieder von Protein zu Protein verschieden stark.

4. Schließlich gibt es Elektrolyte, die schon in geringen Konzentrationen Proteine mehr oder weniger spezifisch auszufällen vermögen. Die Wirkung beruht hier nicht auf dem Aussalzeffekt, sondern darauf, daß entweder das Kation oder das Anion mit den Proteinen bei geeigneten pH schwerlösliche Verbindungen geben. Praktische Anwendung finden vor allem mehrwertige Metallionen wie Zn, Al, Pb und mehrwertige Anionen wie Polyphosphat und gewisse Farbsalze wie Rivanol.

5. Als Adsorptionsmittel kommen Ionenaustauscher (synthetische Harze, modifizierte Cellulosen), ferner neutrale Festkörper, wie $BaSO_4$, Al_2O_3, Al-Hydroxyd, unlösliche Silikate, Phosphate, Polysaccharide usw., in Frage. Ihre Anwendung ist ein Kapitel für sich, auf das hier nicht eingetreten werden kann.

Es gibt also viele Register, die man ziehen kann, wenn es gilt, ein Gemisch von Proteinen in seine Komponenten zu zerlegen. Es scheint, daß es leicht sein sollte, optimale Bedingungen für die Fraktionierung eines bestimmten Proteinsystems anzugeben, wenn man die Löslichkeitskriterien der einzelnen Komponenten kennt. Bevor man diese bestimmen kann, muß man allerdings zuerst die Komponenten rein isoliert haben. Aber neben diesem Dilemma gibt es noch schwer voraussehbare Komplikationen durch sogenannte Protein-Protein-Interactions. Zwei Proteine können bei bestimmten pH eine schwerlösliche Verbindung eingehen, auch dann, wenn sie nicht gerade wie Antigen und Antikörper aufeinanderpassen. Manchmal wird die Isolierung eines Proteins durch seine große Labilität oder durch die Anwesenheit abbauender Fermente erschwert.

Überblickt man die Methoden, nach denen heute in den verschiedenen Ländern Plasmaproteinfraktionen für die klinische Verwendung gewonnen werden, so sind es vor allem Alkoholfällungs- und Aussalzverfahren. Beide Methoden haben ihre Vor- und Nachteile; der größte Teil der fraktionierenden Institute arbeitet wohl mit der zu Kriegsende von *E. J. Cohn* (Boston) eingeführten Alkoholfällung. Von der Möglichkeit der Fällung mit speziellen Ionen wird bis jetzt nur wenig Gebrauch gemacht.

In dieser kurzen Einführung [1] müssen wir uns darauf beschränken, die praktischen Lösungen, zu denen wir für die Plasmafraktionierung im Zentrallaboratorium des Blutspendedienstes des Schweizerischen Roten Kreuzes heute gekommen sind, ganz knapp zu behandeln.

Mit einem Alkoholausfällungsverfahren, das sich an dasjenige von *Cohn* anlehnt, aber in Bern entwickelt worden ist [2], werden seit einigen Jahren in stetig steigenden Mengen γ-Globulin, Albumin, Fibrinogen und antihämophiles Globulin gewonnen. Keine dieser Fraktionen ist

ganz rein, wie sich z. B. bei der Immunoelektrophorese zeigt. Wir sind der Auffassung, daß chemische Reinheit für diese klinischen Präparate gar nicht anzustreben, vielmehr ein unnötiger Luxus ist, für den man mit Verminderung der Ausbeute bezahlen müßte.

γ-Globulin ist, wie schon erwähnt, ohnehin kein einheitliches Protein, sondern umfaßt eine Familie von Proteinen, die wohl chemisch sehr ähnlich, als Antikörper aber sehr vielfältig differenziert sind. Dazu kommt noch, daß ein Teil der Antikörperaktivitäten in der β-Globulin-Fraktion (β_{2A}, β_{2M}) vorhanden ist. Es hat also schon deshalb keinen großen Sinn, sich für klinische γ-Globulin-Präparate elektrophoretische Reinheit als Ziel zu setzen.

Albumin wird in der Klinik wegen seiner osmotischen Wirkung und des nutritiven Effektes gegeben. Eine vollständige Eliminierung von Begleitproteinen ist auch hier nicht erforderlich; immerhin müssen diejenigen Globuline entfernt werden, die bei der heute obligaten Pasteurisierung der fertigen Albuminlösung unerwünschte Veränderungen erleiden würden.

Fibrinogen und antihämophiles Globulin (AHG, Faktor VIII) fallen im Berner Verfahren in ein und derselben Fraktion (I) an. Ob eine fertig konfektionierte Flasche als Fibrinogen oder als AHG etikettiert wird, hängt vom Ergebnis der AHG-Titer-Bestimmung ab. Es sind von verschiedenen Seiten große Anstrengungen gemacht worden, Fibrinogen und AHG zu trennen und gereinigte Präparate für die Klinik herzustellen. Der Aufwand ist aber vorerst derart, daß an der Nützlichkeit einer solchen Feinfraktionierung gezweifelt werden kann.

Ein besonderes Wort muß noch dem Virus der Serumhepatitis gewidmet werden. Solange wir nicht über einen zuverlässigen Screening-Test verfügen, um die Virusträger unter den Spendern mit Sicherheit ausschließen zu können, müssen wir damit rechnen, daß hin und wieder eine Flasche virushaltigen Plasmas in unsern Fraktionierpool eingeht. Ist Virus im Plasma vorhanden, so kann es auch in jede einzelne Fraktion gelangen. In Trockenpräparaten scheint das Virus unbegrenzt haltbar zu sein. Präparate in Lösung, die zehnstündiges Erhitzen auf 60° aushalten, wie Albumin, können so erwiesenermaßen vom Virus befreit werden. Andererseits scheint das Virus bei monatelangem Altern in Lösung auch bei Zimmertemperatur oder wenig darüber seine Aktivität zu verlieren. Wahrscheinlich liegt darin mit ein Grund, daß γ-Globulin-Präparate, die als Lösung konfektioniert und noch einige Zeit gelagert werden, nachgewiesenermaßen keine Hepatitis übertragen. Gefährlich sind alle Fraktionen, die kein Erhitzen vertragen und zudem nur als Trockenpräparate haltbar sind, wie beispielsweise Fraktion I und Prä-

parate anderer Gerinnungsfaktoren. Solange wir hier über kein brauchbares Mittel zur Inaktivierung des Virus verfügen, drängt es sich kategorisch auf, die Größe des zu fraktionierenden Plasmapools auf ein Minimum zu beschränken und damit auch das durchschnittliche Risiko pro Dosis der Fraktion I. In Bern gehen wir so weit, daß nur das Plasma von zwei Blutspenden für die Gewinnung von Fraktion I vereint wird [3].

Die genauen Arbeitsbedingungen für die einzelnen Schritte des Berner Verfahrens, das übrigens von einer ganzen Reihe ausländischer Plasmafraktionierungsinstitute übernommen worden ist, sind in den Tabellen 1–3 niedergelegt.

Tabelle 1

Plasmafraktionierung, wie sie im Zentrallaboratorium des Blutspendedienstes des Schweizerischen Roten Kreuzes durchgeführt wird [2]

Plasma
(frisches oder Trockenplasma, ungerinnbar durch Citrat- oder Komplexon-Zusatz)

↓

Zusatz von 95%igem Äthylalkohol bis zu 8%, pH 7,2; −2° bis −3° C

↓

Zentrifugation

→ Niederschlag: Fraktion I, enthält 30% gerinnbares Fibrinogen und das antihämophil aktive Globulin
Konfektionierung: Das Plasma von je zwei Blutspenden wird in geschlossenem, sterilem System gesondert zu Trokkenkonserven verarbeitet [3]

↓

Lösung, enthaltend übrige Globuline und Albumin

↓

Alkohol auf 19%; pH 5,85; −5° C

↓

Zentrifugation

→ Niederschlag A, enthaltend Anteile der α- und β-Globuline und alle *γ-Globuline*
(Weiterverarbeitung siehe Tab. 3)

↓

Zentrifugat a, enthaltend Albumin und Restglobuline

↓

Alkohol auf 40%; pH 4,8; −5° bis −7° C

↓

Zentrifugation

→ Niederschlag C, enthält ca. 70% 40%igen Alkohol + 24% *Albumin* + 6% Globuline
(Weiterverarbeitung siehe Tab. 2)

↓

Zentrifugat c, sehr proteinarm, enthält noch niedrigmolekulare Blutbestandteile, wie Zucker, Aminosäuren, Salze usw.; wird zur Zeit nicht technisch verwendet

Tabelle 2

Plasmafraktionierung (Fortsetzung). Verarbeitung von Niederschlag C (Rohalbuminniederschlag)

Niederschlag C

Lösen in so viel Wasser, daß die Alkoholkonzentration noch 10% beträgt; pH 4,5–4,7; −2° bis −3° C

Zentrifugation

→ Niederschlag D, Reste von α- und β-Globulinen; wird zur Zeit nicht technisch verwendet

Zentrifugat d; verdünnen mit Wasser bis Alkoholkonzentration 5%, Neutralisation mit NaOH auf pH 6,0; Gefriertrocknung

Trockenalbumin, 95% Albumin, 5% Globuline (Ausbeute ca. 90%)

Konfektionierung:

a) Auflösen zu 15%iger Albuminlösung, pH 7. Zusatz von Stabilisatoren, Sterilfiltration in Abgabebehälter. Pasteurisation 10 Stunden bei 60°;

b) Auflösen zu 4%iger Albuminlösung, pH 7. Zusatz von Stabilisatoren und physiologischen Mengen von Salzen, Sterilfiltration in Abgabebehälter, Pasteurisation 10 Stunden bei 60°.

Für jeden Schritt sind folgende Bedingungen genau einzuhalten:

Proteinkonzentration,
Salzkonzentration (Ionenstärke),
Alkoholkonzentration,
pH und Temperatur.

Die Alkoholfällungsverfahren fordern gebieterisch das Arbeiten in der Kälte (0° bis −8° C), damit die Denaturierung der Proteine vermieden wird. Die Entfernung des Alkohols aus den Niederschlägen geschieht sehr einfach durch Gefriertrocknung.

Das Berner Alkoholfällungsverfahren ist nicht nur wesentlich einfacher als das Original-Cohn-Verfahren, sondern es gibt auch bedeutend bessere Ausbeuten, was im Hinblick auf die sehr begrenzten Möglichkeiten bei der Plasmabeschaffung von erheblicher Bedeutung ist.

Wenn pasteurisierte Albuminkonzentrate berufen sein sollten, das Trockenplasma in der Klinik mit der Zeit abzulösen, dann wird es besonders wichtig, das Albumin und vielleicht noch weitere osmotisch wirksame, wärmestabile Proteine möglichst verlustlos in einer Fraktion

Tabelle 3

Plasmafraktionierung (Fortsetzung). Verarbeitung des Niederschlags A auf γ-Globulin

Niederschlag A

Suspension in Wasser bei pH 4,8, bei 0° C ca. 6 Stunden rühren, dann pH auf 5,1; Alkohol auf 14%; $\Gamma/2 = 0{,}01$; −6,5° C

Zentrifugation

→ Niederschlag B, enthaltend α- und β-Globuline; wird zur Zeit nicht technisch verwendet

Zentrifugat b (γ-Globulin-Extrakt)

pH auf 7,0; Alkohol auf 30%; −6,5° C

Zentrifugation

Zentrifugat proteinfrei, verworfen

Niederschlag: γ-Globulin. Auflösen in Wasser, Gefriertrocknung

Trocken-γ-Globulin (Immunoglobulin) Ausbeute: ca. 85%, Reinheit: ca. 93%

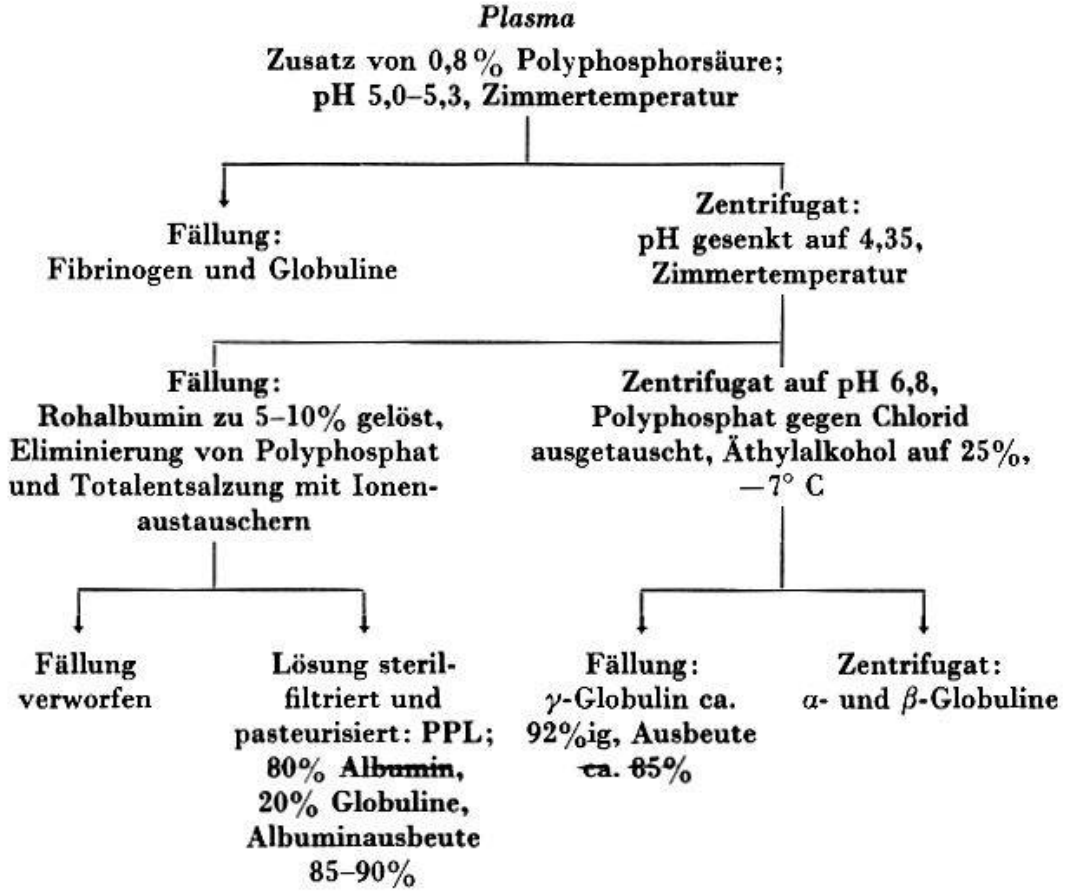
Konfektionierung: Auflösen in 0,25%iger Glycinlösung zu 16%iger Lösung. Dabei wird das γ-Globulin aus mindestens 3000 Blutspenden gepoolt. Zusatz eines Bacteriostaticums (Merthiolat). Sterilfiltration und Abfüllung in Ampullen.

zu erfassen. Wir glauben, daß uns das in naher Zukunft, unter gleichzeitiger Gewinnung des wertvollen γ-Globulins, gelingen wird, und zwar mit einem neuartigen, sehr rationellen Verfahren, das mit *E. Rickli* und *P. Kistler* ausgearbeitet wurde [4]. Die Methode beruht auf einer fraktionierten Fällung mit Polyphosphat bei geeigneten pH (Tab. 4).

Mit zwei Schnitten werden die Proteine des Plasmas in drei Fraktionen zerlegt. Die erste enthält das Fibrinogen und einen Teil α- und β-Globuline, die zweite das Albumin und die Hauptmenge der α- und β-Globuline, die dritte das ganze γ-Globulin und etwas β-Globulin. Die Fraktionen, die der klinischen Verwendung zugeführt werden sollen – es betrifft zunächst die zweite und die dritte – werden in Lösung durch einen geeigneten Ionenaustauscher vom Polyphosphat befreit. Die weitere Aufarbeitung der mittleren albuminhaltigen Fraktion geschieht nach einem einfachen Verfahren, das darin besteht, daß die Eiweißlösung mit Hilfe eines Kationen- und eines Anionenaustauschers total entsalzt wird. Die ganze Operation besteht im Durchlaufenlassen durch eine Säule, die mit einer Mischung von Perlen der beiden Harze gefüllt

Tabelle 4

Plasmafraktionierung mit Polyphosphat nach *Nitschmann, Rickli* und *Kistler* [4]



ist. Der Salzentzug führt dazu, daß ein Teil der Globuline – und zwar gerade die hitzelabilen – ausfällt. Die verbleibende Lösung kann nach Sterilfiltration 10 Stunden bei 60° C pasteurisiert werden und dürfte als Transfusionsmittel denselben Wert wie Reinalbuminlösungen haben. Sie wird sinngemäß pasteurisierte Plasmaproteinlösung (PPL) genannt. Die Lösung ist flüssig haltbar und kann wie Albuminlösung ohne Rücksicht auf die Blutgruppenzugehörigkeit des Empfängers transfundiert werden. Das γ-Globulin kann aus der dritten Fraktion (Überstehendes von der zweiten Polyphosphatfällung) durch Alkohol oder durch Aussalzung in über 90%iger Reinheit und in kaum überbietbarer Ausbeute zur Abscheidung gebracht werden.

Die Idee der pasteurisierbaren Plasmaproteinlösung, die ursprünglich von *E. J. Cohn* stammt, ist übrigens auch andernorts bearbeitet worden [5].

Es gibt Länder (vorab die USA), wo das Trockenplasma bereits der Vergangenheit angehört und neben Vollblut und etwas Plasmaersatzmitteln nur humane Fraktionen klinische Verwendung finden. Die Entwicklung geht auch in Europa in dieser Richtung. Wenn der geplante

Erweiterungsbau des Berner Zentrallaboratoriums steht, wird der Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes technisch in der Lage sein, wenn nötig sogar alles Plasma, das ihm zur Verfügung steht, in Fraktionen umzuwandeln. Es ist zu hoffen, daß es bis dahin auch gelingen wird, die Schwierigkeiten zu überwinden, die vorerst noch der Zuführung von sterilen Erythrocytensuspensionen in die Hand des Klinikers entgegenstehen. Erst dann wird das Ziel erreicht sein, das darin besteht, aus dem Spenderblut, das nicht als Vollblut verabreicht wird, ein Maximum an therapeutischem Nutzeffekt herauszuholen.

Schließlich mag noch die Frage aufgeworfen werden, ob in naher Zukunft neue Plasmaproteinfraktionen für die Klinik herauskommen werden. Sie kann bejaht werden, doch was Bestand haben wird, hängt weniger von den Proteinchemikern als vielmehr von den klinischen Erfahrungen mit solchen neuen Fraktionen ab.

Auf die Mühe, die man sich vielerorts gibt, einzelne Gerinnungsfaktoren in hoher Anreicherung herauszubringen, ist schon hingewiesen worden. Neben Fibrinogen und AHG werden in einigen Ländern auch Präparate von Thrombin und von Faktor V und VII in den Handel gebracht.

Bereits sind amerikanische Fibrinolysinpräparate auf dem Markte, deren Wirksamkeit und Wert bei thrombotischen Erkrankungen allerdings noch umstritten ist. Der Anreiz für uns Chemiker, die schwierige Isolierung dieses labilen Fermentes zu bearbeiten, ist jedenfalls da.

Das Coeruloplasmin, eine kupferhaltige Oxydase, sowie das eisenübertragende Transferrin könnten ohne allzu große Schwierigkeit auch in größerem Maßstabe gewonnen werden, wenn eine entsprechende Nachfrage von der Klinik her vorhanden wäre.

Was den Infektabwehrfaktor Properdin anbelangt, so sind die Hoffnungen, die man sich eine Zeitlang hinsichtlich der Möglichkeiten eines klinischen Einsatzes gemacht hatte, nicht mehr sehr groß.

Während es eine Reihe von Plasmaproteinen gibt, deren Isolierung zwar beschrieben ist, für die man aber keine Verwendung sieht, da man zum Teil nicht einmal ihre physiologischen Funktionen kennt (tryptophanreiches Präalbumin, α_1-Seromucoid, verschiedene Glyko- und Lipoproteide, Haptoglobin, α_2-Makroglobulin usw.), gibt es andererseits solche, die für die Therapie sicher von großem Wert wären, deren praktische Gewinnung in der nötigen Anreicherung bisher aber ein ungelöstes Problem geblieben ist. Hier wären vielleicht die gonadotropen Proteinhormone zu erwähnen, die im Plasma von Frauen in der Menopause besonders reichlich vorhanden sind, sowie isolierte Antikörper mit Spezifität gegen ganz bestimmte Krankheitserreger.

Die großpräparative Plasmafraktionierung hat also immer noch genügend Aufgaben zu lösen. Daß humane Blutproteine auf lange Zeit ihren Platz in Therapie und Prophylaxe behaupten werden, steht wohl außer Frage, da die technische Synthese von Proteinen nicht in Betracht fällt und tierische Proteine aus immunologischen Gründen für die meisten Zwecke ausscheiden.

Zusammenfassung

Welche von den zahlreichen methodischen Möglichkeiten zu wählen ist, wenn es gilt, ein Proteingemisch zu fraktionieren, hängt stark davon ab, ob man nur kleine bis kleinste Mengen der Fraktionen benötigt oder ob Fraktionen im Großen, z. B. für therapeutische Zwecke, gewonnen werden sollen. Im ersten Falle kommen Methoden in Frage, die ursprünglich als Analysenmethoden entwickelt worden sind, wie Elektrophorese, Chromatographie und andere, im zweiten Falle eignen sich vor allem Methoden, bei denen Löslichkeitsunterschiede der Proteine ausgenützt werden, wie fraktionierte Fällung und Extraktion und eventuell noch Adsorption. Es wird eine kurze Übersicht über die die Löslichkeit der Proteine beeinflussenden Faktoren gegeben und gezeigt, was sich daraus für praktische Möglichkeiten ergeben. Die Methoden, die im Berner Zentrallaboratorium des Schweizerischen Rotkreuz-Blutspendedienstes verwendet werden, um Präparate von Fibrinogen, antihämophilem Globulin, γ-Globulin und Albumin für die Klinik herzustellen, werden etwas ausführlicher behandelt. In einem Ausblick wird auf das neue Berner Fraktionierverfahren mit Polyphosphat hingewiesen, das eine besonders rationelle Gewinnung von γ-Globulin und einer pasteurisierbaren Plasmaproteinlösung gestattet. Die letztere stellt eine Albuminanreicherung dar, die berufen sein könnte, mit der Zeit das Trockenplasma weitgehend zu ersetzen. Am Schluß wird die Frage behandelt, was für neue Plasmafraktionen für die Klinik in der Zukunft zu erwarten sind.

Résumé

Lorsqu'il s'agit de fractionner un mélange de protéines, le choix entre les nombreuses méthodes à disposition sera déterminé par le besoin que l'on a, soit d'obtenir des fractions petites ou infinitésimales, soit qu'il s'agisse d'obtenir des fractions d'une certaine importance, par exemple, utilisables en thérapeutique. Dans le premier cas, ce sont les méthodes qui ont été développées comme méthodes analytiques qui entrent en ligne de compte, comme l'électrophorèse, la chromatographie, etc., dans le second cas, l'on envisagera plutôt les méthodes tirant parti des différences de solubilité des protéines, telles la précipitation fractionnée, ou

l'extraction, ou encore l'adsorption. Puis, l'auteur décrit plus en détail les méthodes appliquées dans le Laboratoire Central du Service de Transfusion Sanguine de la Croix-Rouge Suisse à Berne, pour la préparation de fibrinogène, de globuline antihémophylique, de γ-globuline et d'albumine pour l'application clinique. Dans un chapitre spécial, il décrit la méthode de fractionnement développée à Berne avec des polyphosphates, qui permet un fractionnement particulièrement rationnel de γ-globuline et la préparation d'une solution de protéine plasmatique que l'on peut pasteuriser. Cette solution de protéine plasmatique est enrichie en albumine et permettra peut-être à la longue de remplacer le plasma sec. Enfin, l'auteur discute de nouvelles fractions plasmatiques, qui pourraient, à l'avenir, jouer un rôle en clinique.

Riassunto

La scelta tra le numerose possibilità metodiche, quando si tratti di frazionare un miscuglio proteico, dipende in larga misura da quanto si vuole ottenere: se cioè si desiderino solo piccole e piccolissime quantità delle frazioni, oppure si debbano ottenere frazioni di quantità maggiore, per esempio per scopi terapeutici. Nel primo caso entrano in linea di conto metodi quali elettroforesi, cromatografia, etc., che originariamente vennero sviluppati quali metodi analitici; nel secondo caso sono adatti soprattutto metodi che sfruttano le differenze di solubilità delle proteine, quali precipitazione frazionata ed estrazione, ed eventualmente anche adsorbimento. Si fa una breve rassegna dei fattori che influenzano la solubilità delle proteine e si indicano le possibilità pratiche che ne derivano. Più in esteso vengono discussi i metodi che sono usati nel Laboratorio Centrale del Servizio di Trasfusione della Croce Rossa Svizzera in Berna per ottenere preparati di fibrinogeno, globulina antiemofilica, γ-globulina ed albumina per l'uso terapeutico. In particolare l'autore accenna al nuovo procedimento di frazionamento in uso a Berna con l'impiego di polifosfati e che permette di ottenere in modo razionale la γ-globulina ed una soluzione di plasmaproteine pastorizzabile. Quest'ultima, ricca di albumina, potrebbe essere col tempo destinata a sostituire il plasma secco. Infine l'autore si occupa del problema delle nuove frazioni plasmatiche che nel futuro avranno importanza clinica.

Summary

Which of the numerous methods to choose for the fractionation of a protein mixture depends whether small or minute amounts of the frac-

tions are required or whether bigger fractions, such as are needed for therapeutic purposes, are to be gained. In the first case, the appropriate methods are those which were originally developed as analytical methods, such as electrophoresis, chromatography, etc., while in the second case all those methods are suitable in which the differences in solubility of proteins are used, such as fractionated precipitation and extraction, and perhaps also adsorption. A short survey of the factors influencing the solubility of proteins is given, and it is shown what practical possibilities result. The methods used at the Central Laboratory of the Swiss Red Cross Blood Transfusion Service in Berne, to produce clinical preparations of fibrinogen, antihaemophilic globulin, γ-globulin and albumin, are more fully treated. In particular, the new Bernese fractionation process with polyphosphate is mentioned, which allows a specially rational gain of γ-globulin and a pasteurisable solution of plasma protein. The latter represents a source of albumin which may in time replace to a large extent the dry plasma. In conclusion, the question is discussed what new plasma fractions for the clinic may be expected in the future.

1. *Pennell R. B.:* Fractionation and Isolation of Purified Components by Precipitation Methods. The Plasma Proteins I. Academic Press, New York/London 1960, p. 9–50.
Schultze H. E. und *Heide K.:* Der neueste Stand der Plasmaproteinforschung. Med. Grundlagenforsch. **3**, 353 (1960).
Kistler P.: Fraktionierung der humanen Blutplasmaproteine. Blut **6**, 414 (1960).
Nitschmann Hs.: Neuere Fraktionierungsmethoden. 66. Tagung der Dtsch. Ges. inn. Med., Wiesbaden 1960. Kongreßbericht S. 577. Verlag J. F. Bergmann, München.
2. *Nitschmann Hs., Kistler P.* und *Lergier W.:* Vereinfachtes Verfahren zur Gewinnung von humanem Albumin und γ-Globulin aus Blutplasma mittels Alkoholfällung. Helv. chim. Acta **37**, 866 (1954).
3. *Nitschmann Hs.* und *Kistler P.:* Dried Fraction I for Clinical Use from Smalls Pools, Sterile without Filtration. Vox Sang. (Basel) **2**, 100 (1957).
4. *Nitschmann Hs., Rickli E.* und *Kistler P.:* Über den Einfluß der Polyphosphate auf die Löslichkeit einiger Plasmaproteine und die Möglichkeit der Plasmafraktionierung mit Polyphosphat. Helv. chim. Acta **42**, 2198 (1959).
Nitschmann Hs., Rickli E. and *Kistler P.:* Fractionation of Human Plasma with Polyphosphate. Vox Sang. (Basel) **5**, 232 (1960).
5. *Hink J. H., Hidalgo J., Seeberg U. P.* and *Johnson F. F.:* Preparation and Properties of a Heat-Treated Human Plasma Protein Solution. Vox Sang. (Basel) **2**, 174 (1957).
Krijnen H. W. and *Mastenbroek G. G. A.:* Preparation and Properties of a Stable Human Plasma Protein Solution. Vox Sang. (Basel) **2**, 405 (1957).
Surgenor D. M., Pennell R. B., Alameri E., Batchelor W. H., Brown R. K., Hunter M. J. and *Mannick V. L.:* Preparation and Properties of Serum and Plasmaproteins. XXXV: A System of Protein Fractionation Using Zinc Complexes. Vox Sang. (Basel) **5**, 272 (1960).

Prof. Dr. Hs. Nitschmann, Institut für allgemeine und spezielle organische Chemie der Universität, Freiestraße 3, Bern.
Dr. P. Kistler, Zentrallaboratorium des Blutspendedienstes des Schweizerischen Roten Kreuzes, Wankdorfstraße 10, Bern.