Quantitative Methode zur Bestimmung von Membranantigenen

Autor(en): **Bertschmann, M. / Lüscher, E.F. / Zahler, P.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **21 (1965)**

PDF erstellt am: **31.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-307609

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

DK.: 612.014:576.8.097:621.039.85

Theodor Kocher Institut Bern und Biochemische Abteilung des Zentrallaboratoriums des Blutspendedienstes SRK

Quantitative Methode zur Bestimmung von Membranantigenen

Diskussionsbeitrag von M. Bertschmann, E. F. Lüscher und P. Zahler

Membranstrukturen mit Antigeneigenschaften haben in letzter Zeit im Hinblick auf Gruppensubstanzen bei Erythrocyten und Leukocyten oder auf Histokompatibilitäts- oder Transplantationsantigene, aber auch im Zusammenhang mit Tumorantigenen vermehrtes Interesse erlangt, und es schien uns deshalb wichtig, eine Methode auszuarbeiten, welche den Nachweis und die quantitative Bestimmung solcher Zellmembranantigene erlaubt.

Wir benützen zu diesem Zweck den Tumor-Mastzell-Stamm P815 der DBA/2-Maus. Diese Zellen lassen sich gut in einer Zellkultur züchten und auf diese Weise in größeren Mengen in Reinkultur erhalten. Mittels verschiedener Fraktionierungstechniken erhielten wir eine Reihe von Tumor-Mastzell-Fraktionen, welche auf ihren Gehalt an Oberflächenantigenen geprüft wurden.

Tabelle 1
Prinzip der Antikörperfixations-Inhibition

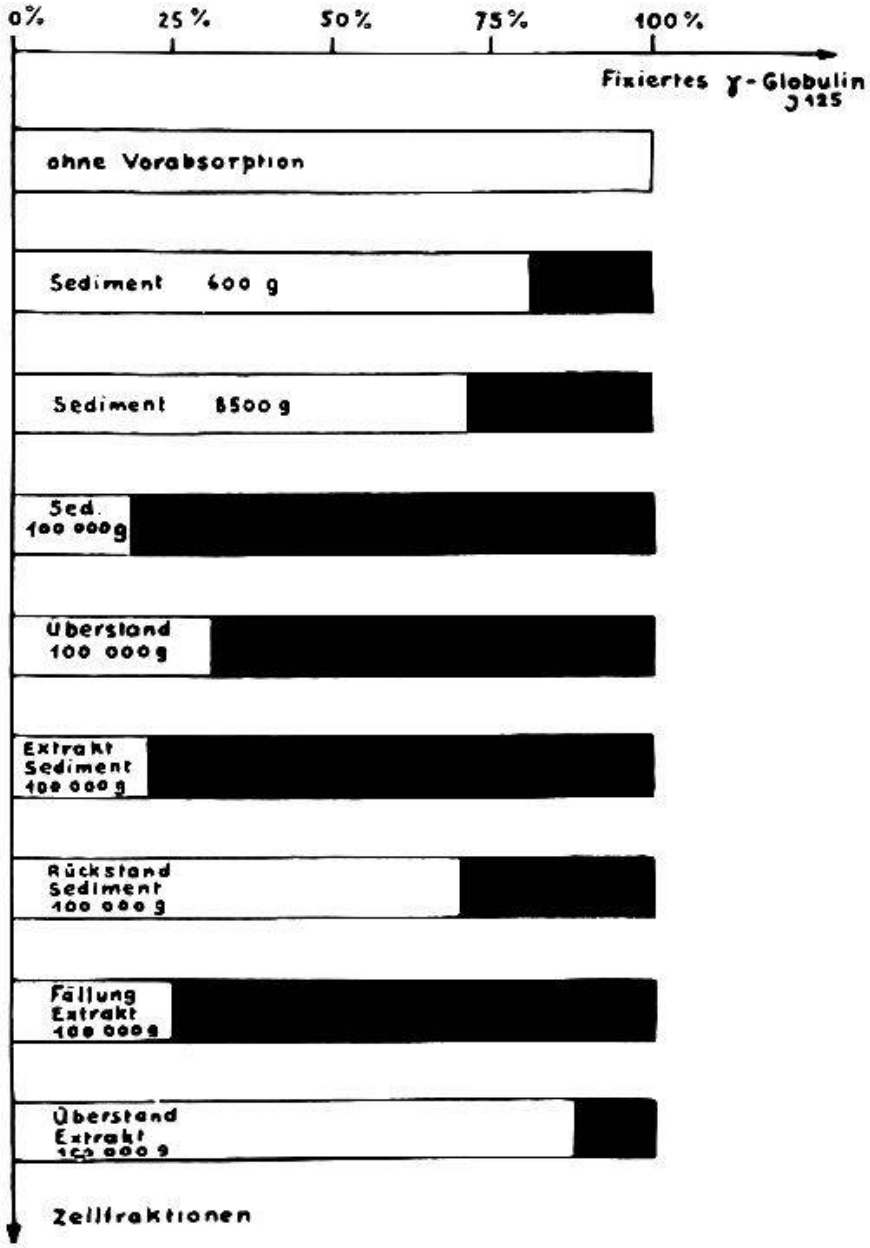
I Indikatorsystem	Mastzellen	+	Anti-Mastzell-γ-Globulin I^{125}	→	*Fixation*
II Inhibitionstest					
a) Vorabsorption	*Antigen:* Mastzell-fraktionen	+	Anti-Mastzell-γ-Globulin I^{125}	→	Vorabsorbiertes γ-Globulin I^{125}
b) Indikatortest	Mastzellen	+	vorabsorbiertes γ-Globulin I^{125}	→	*reduzierte Fixation*

In Tabelle 1 ist das Prinzip der Methode schematisch dargestellt: Ein Kaninchen wird vorerst mit mehreren Dosen Tumor-Mastzellen immunisiert. Das Antiserum dieses Tieres wird sodann fraktioniert und das erhaltene γ-Globulin mit Pepsin partiell abgebaut. Auf diese Weise gelingt es, die unspezifische Anlagerung des γ-Globulins an Zelloberflächen auf ein Minimum herabzusetzen. Dieses fragmentierte γ-Globulin wird sodann mit I^{125} markiert und stellt das im Versuch verwendete Anti-Tumor-Mastzell-γ-Globulin dar. Bei Inkubation dieses γ-Globulins mit Tumor-Mastzellen wird Antikörper an die Zelloberfläche spezifisch gebunden, wogegen Antikörper gegen zellinnere Strukturen nicht zur Reaktion gelangen. Die so beladenen Mastzellen werden sodann abzentrifugiert und gewaschen, und die Menge des fixierten Antikörpers wird durch Messen der Radioaktivität bestimmt (Indikatorsystem).

Wird nun dasselbe γ-Globulin vor seiner Inkubation mit den Tumor-Mastzellen mit Fraktionen von Tumor-Mastzellen absorbiert, so wird je nach Gehalt der Fraktion an

Tabelle 2

Fixation von Anti-Mastzellen-γ-Globulin I^{125} nach Vorabsorption mit verschiedenen Mastzellfraktionen



Membranantigenen mehr oder weniger Anti-Membran-Antikörper gebunden. Ein derart vorabsorbiertes γ-Globulin wird somit bei nachträglicher Inkubation mit Tumor-Mastzellen nur noch teilweise an die Zelloberfläche gebunden, und zwar um so weniger, je mehr Oberflächenantigene in der Fraktion enthalten waren. Aus dem zahlenmäßigen Vergleich des fixierten γ-Globulins vor und nach der Vorabsorption lassen sich quantitative Rückschlüsse auf den Gehalt der verschiedenen Zellfraktionen an Membranantigenen ziehen.

In Tabelle 2 sind die Resultate einer Antigenuntersuchung von verschiedenen Tumor-Mastzell-Fraktionen aufgeführt. Das oberste weiße Feld entspricht der maximalen Beladung der Tumor-Mastzellen mit nicht vorabsorbiertem γ-Globulin. Die weißen Anteile der übrigen Felder stellen die Beladung der Tumor-Mastzellen mit γ-Globulin dar, nachdem dieses mit den in der Tabelle angegebenen Tumor-Mastzell-Fraktionen vorabsorbiert wurde. Die Differenz zum Maximalwert ist in der Tabelle schwarz dargestellt und ergibt indirekt die Menge γ-Globulin, welche durch die fragliche Zellfraktion während der Vorabsorption gebunden wurde. Die Größe dieser Fläche gibt somit einen quantitativen Anhaltspunkt über die Menge an Membranantigenen in der betreffenden Zellfraktion.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, erlaubt die Methode, Zellfraktionierungen im Hinblick auf die Isolierung von Oberflächenantigenen zu verfolgen und jeden Schritt der Isolierung zu überprüfen. Die Methode ist ungefähr gleich empfindlich wie eine Agglutinations-Inhibitions-Technik, jedoch erlaubt die Messung der Radioaktivität ein wesentlich besseres Erfassen der quantitativen Verhältnisse.

Das hier erwähnte Beispiel der Anreicherung von Membranantigenen von Tumor-Mastzellen ist nur eine der Anwendungsmöglichkeiten der Methode. Sie kann aber, wie eingangs erwähnt, ebensogut zum Nachweis oder zur Isolierung von Oberflächenantigenen anderer Zellarten wie Erythrocyten und Leukocyten, aber auch z. B. von Bakterien, angewendet werden.