

Ueber in Wasser lösliches Serumglobulin.

Von

stud. med. **Emil Marcus.**

Aus dem chemisch-pathologischen Laboratorium der k. k. Kranken-Anstalt
Rudolf-Stiftung. (Vorstand: Dr. Ernst Freund.)

(Der Redaction zugegangen am 28. September 1899.)

Die Thatsache, dass im Blutserum zweierlei Eiweisskörper vorkommen, von denen der eine in Wasser löslich, der andere in Wasser unlöslich ist, war schon Scherer, Lehmann und Zimmermann¹⁾ bekannt.

Pannin²⁾ hat die in Wasser unlösliche Substanz als Serumcasein der in Wasser löslichen, dem Serumalbumin, gegenübergestellt.

Th. Weyl³⁾ hat schliesslich dem in Wasser unlöslichen Eiweisskörper des Serums den Namen Serumglobulin gegeben, und seitdem theilt man allgemein die Eiweisskörper des Blutserums in Serumalbumin und Serumglobulin ein.

Im Hoppe-Seyler'schen Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse (5. Auflage 1893) findet sich bei der Eintheilung der Eiweisskörper folgende Unterscheidung zwischen Albumin und Globulin: Albumin ist in Wasser, Salzen und verdünnten Säuren löslich und auch nicht durch Sättigung mit Magnesiumsulfat ausfällbar.

1) Müller's Archiv, 1154, 377.

2) Virchow's Archiv III, 251; IV 17 u. 419.

3) Th. Weyl, Beiträge zur Kenntniss thierischer und pflanzlicher Eiweisskörper. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, 1877—78.

Globuline sind unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Salzlösungen und aus diesen Lösungen durch Verdünnen mit viel Wasser fällbar. Desgleichen lässt sich die Ausfällung des genannten Körpers durch Sättigung der neutralisirten Lösung mit Magnesiumsulfat bei $+ 30^{\circ}$ bewirken.

Hammarsten gibt in seinem Lehrbuche¹⁾ folgende Charakteristik an: Albumine sind in Wasser löslich und werden durch Zusatz von ein wenig Säure oder Alkali nicht gefällt. Weiter führt er an, dass sie von NaCl und Magnesiumsulfat nur bei gleichzeitigem Essigsäurezusatz gefällt werden.

Von den Globulinen heisst es:

Diese Eiweisskörper sind unlöslich in Wasser, lösen sich in verdünnten Neutralsalzlösungen. Diese Lösungen scheiden bei genügender Verdünnung mit Wasser das Globulin wieder unverändert aus. Die Globuline lösen sich in Wasser bei Zusatz von sehr wenig Alkali u. s. w.

Die Menge des Serumglobulins wurde ursprünglich auf den vierten bis fünften Theil des Serumalbumins geschätzt. Als Beleg hierfür führe ich Analysen von Hammarsten und Burkhardt an, die mit der Methode, das Globulin durch Dialyse zu bestimmen, gewonnen sind.

I. Resultate von Hammarsten.²⁾

1	Serumart.	Paraglobulin mit Dialyse gefällt.
Pferdeblutserum	}	0,830 % 0,955 % 0,715 %
Hundeblutserum	}	1,115 % 1,066 %

¹⁾ Hammarsten: Lehrbuch der physiol. Chemie. Dritte Aufl. 1895.

²⁾ Hammarsten. Ueber das Paraglobulin. Pflüger's Arch. Bd. 17 und 18.

II. Resultate von Burkhardt im Hundeblutserum.¹⁾

Stickstoffgehalt des Gesamteiweisses.	Stickstoffgehalt des durch Dialyse gewonnenen Globulins.	
	1. Parallelversuch.	2. Parallelversuch.
7,04 ‰	2,22 ‰	2,23 ‰
7,26 ‰	1,94 ‰	2,04 ‰
5,97 ‰	0,97 ‰	0,92 ‰
5,15 ‰	1,18 ‰	1,19 ‰
5,70 ‰	0,87 ‰	0,89 ‰
5,94 ‰	0,928 ‰	0,93 ‰

Hammarsten trat jedoch gegen die Bestimmungsmethode des Globulins mittelst Dialyse auf, indem er nachwies, dass eine Bestimmung des Serumglobulins nach den älteren Methoden zu geringe Werthe gebe, und dass eine zuverlässige Bestimmung des Serumglobulins nur mittelst Ausfällung mit schwefelsaurer Magnesia möglich sei, und erhielt mit seiner neuen Methode die folgenden Ergebnisse:

Serumart.	Gesamteiweiss.	Serumglobulin.	Serumalbumin.	Serumglobulin.
				Serumalbumin.
Pferdeblutserum	72,57 ‰	45,65 ‰	26,92 ‰	$\frac{1}{0,591}$
Rinderblutserum	74,94 ‰	41,69 ‰	33,30 ‰	$\frac{1}{0,842}$
Hundeblutserum	58,20 ‰	20,50 ‰	37,70 ‰	$\frac{1}{1,8}$

Es sind zwar gegen diese Angaben Hammarsten's Einwände erhoben worden, und zwar von Burkhardt²⁾ und

1. A. E. Burkhardt, Beiträge zur Chemie und Physiologie des Blutserums. Archiv für experim. Pathologie und Pharmakologie, 1882.

2. l. c.

Heynsius¹⁾ in dem Sinne, dass das sich bei dem Hammarsten'schen Verfahren ergebende Mehr an Globulin durch Mitfällung von Albumin bedingt sei, wie wir weiter unten näher ausführen wollen. Es sind aber die Hammarsten'schen Angaben umsonst als feststehend angesehen worden, als Pohl²⁾ mit einer neuen Methode der Globulinfällung in der Form der halben Sättigung mit schwefelsaurem Ammon gleiche Werthe wie Hammarsten erhielt.

Die Fällung mittelst Sättigung durch schwefelsaure Magnesia, ebenso wie die Fällung durch Halbsättigung mit schwefelsaurem Ammon gelten auch heutzutage als die überall übliche Methode der Globulinbestimmung im Serum.

Man sollte also entsprechend der vorhin citirten Charakteristik der Globuline mittelst dieser Salzfüllungen einen Eiweisskörper erhalten, der, durch Dialyse von Salzen befreit, im Wasser unlöslich sein müsste.

Gelegentlich von Versuchen zur Reindarstellung von Albumin und Globulin aus Serum hat sich im hiesigen Laboratorium gezeigt, dass die Anschauungen, dass man mittelst dieser Methoden jenen Körper zur Abscheidung bringe, welchem ursprünglich der Name Globulin gegeben wurde, unzutreffend sind.

Die ersten diesbezüglichen Wahrnehmungen ergaben sich bei der Dialyse einer grösseren Menge durch halbe Sättigung mit schwefelsaurem Ammon unlöslich gemachten und von Albumin abfiltrirten Serumglobulins. Auch nachdem durch wochenlange Dialyse sowohl Sulfat- als Ammonreaction verschwunden war, fand sich nur eine relativ geringe Menge eines Eiweisskörpers unlöslich geworden, die über dem zu Boden gesunkenen Globulin stehende Flüssigkeit hingegen war sehr eiweissreich.

Auf Anregung Dr. Freund's habe ich unternommen.

1) A. Heynsius, Ueber das Verhalten der Eiweissstoffe zu den Alkalien und alkalischen Erden. Pflüger's Archiv, Bd. 34.

2) Pohl, Ein neues Verfahren zur Bestimmung des Globulins im Harn und in serösen Flüssigkeiten. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 20, S. 426.

diesen Widerspruch mit den bisherigen Angaben klarzustellen.

Die naheliegende Vermuthung, dass es sich um beigemengtes Albumin handle, musste fallen gelassen werden, weil diese Eiweisslösung durch Aussalzen mit Magnesiumsulfat bei gewöhnlicher Temperatur wie durch Versetzen mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammon vollkommen gefällt wird, also nach den Ansichten Hammarsten's und Pohl's lediglich aus Globulin bestand.

Begreiflicher Weise habe ich zunächst nachgesehen, ob nicht irgend ein fehlerhaftes Vorgehen vorliege.

Es musste also zunächst untersucht werden, ob die Lösung salzfrei wäre und nicht vielleicht andere Lösungsmittel des Globulins, insbesondere verdünnte Säuren und Alkalien, vorhanden wären. Abgesehen davon, dass die Reactionen auf Chloride, Sulfate, Kalk und Magnesia negativ ausfielen, hat sich in einer Portion, die unter besonderen Cautelen versucht wurde, ein ganz minimaler Aschengehalt gefunden (0,1% Asche berechnet auf Trockensubstanz). Die Löslichkeit dieses Körpers konnte also durch Anwesenheit von Salzen nicht bedingt gewesen sein.

Der Einfluss etwa vorhandener Säure oder Alkalis wurde dadurch eliminirt, dass Proben des löslichen Globulins mit Spuren von Säuren oder Alkali versetzt wurden.

Weder beim Durchleiten von Kohlensäure noch bei vorsichtigem Zusatz weniger Tropfen von $\frac{1}{100}$ -Normalsäure oder -Lauge traten Trübungen auf.

Auch die Einengung des Körpers in vacuo bei 40° brachte keine Trübung hervor. Ja der zur Trockne eingedampfte Körper liess sich in Wasser leicht lösen.

Wiewohl hierdurch allein schon die Möglichkeit ausgeschlossen war, dass unser Eiweisskörper durch irgend welche Fäulnissvorgänge löslich geworden wäre, haben wir eigens den Versuch angestellt, eine derartige Globulinlösung einer geringen Fäulniss auszusetzen.

Gerade aber bei dieser Probe zeigte es sich, dass eine Spur Alkalialbuminat entstanden war, welche durch Säure ausfiel.

Ich stand also bei dieser Beobachtung vor der Thatsache, dass der Körper, welcher durch schwefelsaures Ammon in halber Sättigung gefällt worden war und demnach nur Globulin repräsentiren sollte, ein Körper war, dem zum allergrössten Theil das wichtigste Kriterium des Globulins — die Unlöslichkeit in Wasser — fehlte.

Zur Aufklärung des in dieser Beobachtung gelegenen Widerspruches scheint es zweckmässig zu sein, die Gründe anzuführen, welche Hammarsten gelegentlich seiner Arbeiten über die Bestimmung des Globulins mittelst Aussalzens mit Magnesiumsulfat als Beleg für die Richtigkeit seiner Methode angab.

So hat Hammarsten schon in der ersten der citirten Arbeiten angeführt, dass der durch Magnesiumsulfat erhaltene Niederschlag durch Lösen in Wasser und Zusatz von Salz bis zu $\frac{1}{5}$ bzw. vollen Concentration sich in zwei Fractionen vom identischen Coagulationspunkt zerlegen lässt. Auch Kauder¹⁾ konnte später durch fractionirte Fällung mit Ammoniumsulfat zu keinerlei Verschiedenheiten im Coagulationspunkt kommen.

Im Uebrigen findet sich in der ersten Arbeit Hammarstens nur der Hinweis darauf, dass dem Magnesiumsulfatniederschlag kein Albumin beigemischt ist. Hammarsten war sich zwar bewusst, dass bei diesem Verfahren mehr gefällt werde als durch Dialyse, zumal er ja einen Versuch angestellt hatte, wobei er erst nach Entfernung des Globulins durch mehrtägige Dialyse in der Lösung, welche auch durch Einleitung von Kohlensäure und Zusatz verdünnter Essigsäure nicht mehr getrübt wurde, mit Magnesiumsulfat eine starke Fällung erhielt. Hammarsten hat sich nun dieses Vorkommniss damit erklärt, dass im Serum noch unbekannt Körper vorhanden seien, welche die Lösung eines Theiles des Globulins vermittelten. Allerdings hat Hammarsten einen Versuch, den gewonnenen Niederschlag darauf zu prüfen, ob derselbe nach seiner Ab-

¹⁾ G. Kauder, Zur Kenntniss der Eiweisskörper des Blutserums. Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 20, S. 411.

scheidung die wichtigste Eigenschaft des Globulins zeige, nämlich in Wasser unlöslich zu werden, damals nicht unternommen.

Erst als Burkhardt¹⁾ gegen die Hammarsten'sche Bestimmung den Einwand erhob, dass die nach Entfernung des durch Dialyse erhaltenen Niederschlages mit Magnesiumsulfat entstehende Fällung bei neuerlicher Dialyse in Lösung bleibe, da trat Hammarsten einen näheren Beweis für seine Behauptung an, dass der durch Magnesiumsulfat unlöslich werdende Körper seiner Gesamtheit nach Globulin sei.

Dieser Beweis stützt sich auf Versuche nach zwei Richtungen. Einerseits erbrachte Hammarsten den Nachweis, dass Globulin überhaupt nicht ganz unlöslich in Wasser sei, indem reines Globulin, gewonnen durch Dialyse eines Serums, wenn man es in Kochsalz auflöst und neuerlich dialysirt, nicht ganz zur Ausscheidung kommt, so dass Mengen von etwa 0,1% der Substanz in Lösung bleiben. Andererseits führt er Versuche an, welche zeigen sollten, dass, wenn man den fraglichen Globulinniederschlag einem Reinigungsverfahren unterzieht — solche waren die Wiederfällung mit Magnesiumsulfat und Kochsalz —, doch ein Theil dieses Körpers unlöslich wird.

Während nun die Versuche der Wiederfällung mit Magnesiumsulfat nur hier und da ein Unlöslichwerden des Niederschlages zur Folge hatten, gelang es Hammarsten, durch nachfolgendes Verfahren einen Theil des in Wasser löslichen Körpers unlöslich zu machen. Hammarsten dialysirte Serum, filtrirte den Niederschlag ab und schied im Filtrat den Rest des Globulins mit Magnesiumsulfat aus, löste den erhaltenen Niederschlag in Wasser und fällte neuerdings mit Magnesiumsulfat, löste wieder und erzeugte nach Entfernung des Magnesiumsulfates durch Dialyse nun mit Kochsalz eine Fällung, die gelöst und der Dialyse unterzogen wurde.

Trotzdem jetzt nur geringe Mengen von Eiweiss unlöslich wurden, hielt Hammarsten den Beweis für erbracht, dass alles

löslich gebliebene Globulin auf solche Art unlöslich gemacht werden könnte.

Das Gelöstbleiben eines Theiles der Globuline bei der ersten Dialyse bezog er, wie erwähnt, auf Verunreinigung mit noch unbekanntem Substanzen des Serums.

Als dritten Grund für die Globulinnatur des fraglichen Körpers führte Hammarsten die gleiche spezifische Drehung der beiden Globulinsubstanzen an.

Ich habe nun entsprechend diesen Hammarsten'schen Angaben versucht, auch jenen Theil des Globulins, der bei meinen Versuchen bei der Dialyse in Lösung geblieben war, unlöslich zu machen. Dabei bin ich genau nach den Angaben Hammarsten's vorgegangen und habe gefunden, dass dieser Körper, wenn er auch durch Kochsalz und Magnesiumsulfat unlöslich gemacht war, beim Reinigungsverfahren sich wieder vollkommen in Wasser löste und bei der Dialyse in Lösung blieb oder doch höchstens Spuren von Globulin ausfielen, welche eine leichte Opalescenz bedingten, die in ihrer Menge absolut unbestimmbar war. Es widerspricht dies übrigens nicht den Hammarsten'schen Angaben, da es auch ihm nie gelungen ist, von dem Körper, der durch Magnesiumsulfat, aber nicht durch Dialyse gefällt wird, zu zeigen, dass seine gesammte Menge unlöslich wird, sondern seine diesbezüglichen Beobachtungen stets nur einen kleinen Theil desselben betreffen.

Nach Vornahme der Hammarsten'schen Reinigungsversuche blieb also der bei der Dialyse löslich gebliebene Theil des Globulins fast vollkommen in Wasser löslich.

Bei dem Leser der Arbeiten Hammarsten's und Burkhardt's macht sich aber die Ansicht geltend, dass es sich nur um kleine Mengen von Serumglobulin handle, welche der Charakteristik des Serumglobulins, in Wasser unlöslich zu sein, widersprechen, und es könnte daher scheinen, dass es ein müßiges Beginnen sei, auf die grössere oder geringere Löslichkeit einer so geringfügigen Eiweissmenge die Existenz eines neuen chemischen Individuums aufbauen zu wollen.

Gerade aber die grossen Mengen des bei der Dialyse in

Lösung bleibenden Theiles des Globulins waren das Auffallende in den Eingangs geschilderten Versuchen.

Mit Rücksicht darauf habe ich, nachdem die Richtigkeit der Beobachtungen an verschiedenen Serumproben festgestellt war, mein Hauptaugenmerk auf die quantitative Bestimmung des in Wasser löslichen und unlöslichen Theiles des Serumglobulins gewendet.

Die Versuche wurden zunächst an Pferdeserum, das durch Defibriniren und Trennen der Blutkörperchen durch Centrifugiren gewonnen war, angestellt.

200 ccm. dieses Serums, dessen Stickstoffgehalt 1,244^o o betrug, das also 7,778 g¹⁾ Eiweissprocent enthielt, wurden gegen fließendes Wasser dialysirt, solange noch ein Niederschlag ausfiel. Es nahm dies gewöhnlich ca. 8 Tage in Anspruch. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, mit stickstofffreier Natronlauge in Lösung gebracht und kjeldahlisirt. Es ergaben sich 0,046^o o Stickstoff. Das Filtrat A von diesem Niederschlage musste noch den zwar nicht durch Dialyse, wohl aber durch Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat fällbaren Antheil enthalten.

Es wurde nun ein Theil des Filtrates A mit gepulvertem Magnesiumsulfat bis zur Concentration und noch mit einer gleichen Menge einer gesättigten Lösung von Magnesiumsulfat²⁾ versetzt, der Niederschlag abfiltrirt und mit concentrirter Magnesiumsulfatlösung gewaschen.

1) Hier, wie auch später wurde, soweit dies nicht besonders hervorgehoben ist, der Eiweissgehalt aus dem Stickstoffgehalt durch Multiplication mit dem Factor 6,25 berechnet.

2) Dieser Vorgang wurde beobachtet, weil es sich zeigte, dass, trotzdem oft eine Globulinlösung mit Magnesiumsulfat soweit gesättigt war, dass dieses beim Stehen wieder auskrystallisirte, von Neuem hinzugefügte Magnesiumsulfatlösung eine neue Fällung hervorrief. Vgl. auch Hoppe-Seyler's Hdb. der phys. u. path.-chem. Analyse, der S. 401 angibt: Zur Bestimmung der Globuline getrennt von Albumin fügt man zu 20—50 ccm. der serösen Flüssigkeit die gleiche bis doppelte Quantität gesättigter wässriger Lösung von Magnesiumsulfat, erwärmt auf \pm 30° und trägt gepulvertes Magnesiumsulfat in die Mischung ein, bis bei dieser Temperatur nichts mehr davon gelöst wird . . . u. s. w.

Da im Magnesiumsulfat sich Spuren von Ammoniak nachweisen liessen (mit Nessler's Reagens), wurde coagulirt, das Coagulat ammoniakfrei gewaschen und kjeldahlisirt.

Für 100 cem. Serum fanden sich dann in dem nur durch Magnesiumsulfat, nicht durch Dialyse fällbaren Antheil 0,507 Stickstoff.

Ein zweiter Theil des Filtrates A wurde mit Ammoniumsulfat bis auf 30^o gesättigt, wobei nach Pohl das Albumin noch nicht fällt, es wurde sodann mit halbgesättigter Lösung gewaschen, hierauf wieder coagulirt, das Coagulat von jeglichem Ammoniak durch andauerndes Waschen mit heissem Wasser befreit. Dieser Antheil ergab 0,533^o Stickstoff, bezw. 0,481^o ¹⁾ also im Mittel 0,507^o des Gesamtstickstoffes des Serums.

Die Globulinfällung mit schwefelsaurer Magnesia gibt somit ungefähr den gleichen Werth wie die mit schwefelsaurem Ammon. Betrachtet man in diesem Falle das Verhältniss des in Wasser löslichen zu dem in Wasser unlöslichen Globulin, so findet man dasselbe: 0,507 : 0,045: also sind nur 9% des Globulins unlöslich geworden.

In einem andern Pferdeserum, das auf andere Weise (durch Gerinnung) gewonnen war und einem anderen Thier entstammte, fanden sich 0,089^o Stickstoff als unlöslich gewordenes, 0,423^o als in Lösung gebliebenes Globulin. Also beträgt hier der unlösliche Antheil 21^o des löslichen.

Es scheint also nach den eben angeführten Versuchen, als ob die Menge des löslichen und unlöslichen Globulins im Serum schwanke. Ob dies bloss individuelle Abweichungen sind, oder ob vielleicht die Gewinnungsweise einen gewissen Einfluss hat, bleibt dabei unentschieden. Nur dies sei noch angeführt, dass ich bei einem dritten Versuche das Verhältniss

1) Die zweite erhaltene Zahl sieht nämlich von dem kleinen Antheil des mit Ammoniumsulfat erhaltenen Globulinniederschlags ab, der sich nicht ganz in Lösung bringen lässt und dessen weitere Eigenschaften wir noch zu untersuchen gedenken. Jedenfalls ist er gegen Säuren und Laugen äusserst resistent.

1,29 : 0,87 fand, wonach der unlösliche Antheil des Globulins etwa 20,3% des löslichen beträgt, eine Zahl, die mit der im zweiten Versuch gefundenen annähernd übereinstimmt, was, da hier dieselbe Gewinnungsweise des Serums wie im vorhergehenden Versuche stattfand, für den oben erwähnten Einfluss der Bereitungsweise sprechen würde.

Auch im Plasma wurden quantitative Untersuchungen angestellt und haben zu ähnlichem Ergebniss geführt. Dabei wurden hier die Versuche in 2 Kontrollproben durchgeführt.

Je 90 cem. Pferdeblut wurde in je 10 cem. einer Lösung von 1% oxalsaurem Natron aufgefangen und sodann centrifugirt. Der nach Kjeldahl bestimmte Stickstoffgehalt dieses abgeheberten Oxalatplasmas betrug 1,020 g auf 100 cem.

Der bei der Dialyse dieses Plasmas ausfallende Niederschlag enthielt 0,114% Stickstoff, in dem andern Falle 0,123%.

Im Filtrate wurden durch Versetzen mit gleicher Menge Ammoniumsulfatlösung Niederschläge gefällt, die gewaschen, gelöst, coagulirt und NH_3 -frei gewaschen wurden, bis mit Nessler's Reagens keine Reaction nachweisbar war. Im ersten Falle wurde ein Niederschlag von 0,560%, im zweiten Falle von 0,535% Stickstoff gefunden. Rechnet man noch das im Wasser lösliche zu dem in Wasser unlöslichen, so erhält man 0,674 g Stickstoff im ersten, 0,658 g Stickstoff im zweiten Falle (berechnet für 100 cem. des Oxalatplasmas). Das unlösliche Globulin beträgt in dem einen Falle 20,4%, in dem andern 23,1% des in Wasser löslichen.

In der nun folgenden Tabelle stellen wir die bei den quantitativen Bestimmungen erhaltenen Zahlen nochmals übersichtlich zusammen. Die Angaben beziehen sich, wo dies nicht ausdrücklich hervorgehoben ist, auf die mit der Kjeldahl'schen Methode gefundenen Stickstoffwerthe, die mit Ausnahme der Reihe VIII in Procenten des angewandten Materials berechnet sind.

Tabelle der quantitativen Bestimmungen.

I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
Art des Materials	Gewonnen durch	Stickstoffgehalt des Serums	Globulin durch Dialyse unlöslich	Globulin durch Dialyse nicht, aber durch Magn.-Sulf. fällbar	Dialyse aber durch Am.-Sulf. fällbar	Gesamtglobulin	In Wasser unlösliches Globulin in % des löslichen
Pferdeserum	Centrifugiren	1,244% entspr. 7,778 g Eiweiss	0,046%	0,507%	0,533% resp. 0,481% Mittel 0,507%	0,553%	9%
Pferdeserum	Gerinnung		0,089%	—	0,423%	0,512%	21%
Pferdeserum	Gerinnung		0,087%	—	0,429%	0,516%	20,3%
Oxalatplasma	10 ccm. 1/10 oxals. Na-Lösung 90 ccm. Plasma (Centrifugiren)	1,020% ¹⁾	0,114%	—	0,560%	0,674%	20,4%
Oxalatplasma	10 ccm. 1/10 oxals. Na-Lösung 90 ccm. Plasma (Centrifugiren)	1,020% ¹⁾	0,123%	—	0,535%	0,658%	23%

Es ergibt sich also aus diesen Untersuchungen ein bedeutendes Ueberwiegen des in Wasser löslichen Antheils des Globulins über den in Wasser unlöslichen, indem man durch Magnesiumsulfat oder halbe Sättigung mit Ammoniumsulfat im Serum einen Niederschlag bekommt, von dem nur etwa 9—23% der allgemeinen Charakteristik der Globuline entsprechen.

Wir finden eine Bestätigung dieser auffallenden Thatsache in den zu Anfang citirten Globulinbestimmungen Hammarsten's. Doch hat Hammarsten diese Differenzen nicht in einer charakteristischen Eigenschaft begründet gesehen, sondern sie auf die Mangelhaftigkeit der alten Methode bezogen. Ich habe nun die Eigenschaften dieses Globulinantheiles, der in Wasser löslich

1) Des Oxalatplasmas entsprechen $1,0206 \times \frac{10}{9} = 1,134\%$ des ursprünglichen Plasmas.

ist, näher untersucht und dabei festgestellt, dass er sehr deutliche Xanthoprotein-, Biuret- und Schwefelreaction (Bleiacetat und Kali) ergibt, dass ferner die Adamkiewicz'sche Reaction positiv und ebenso die Molisch'sche Reaction im Coagulat positiv ausfällt. Der Körper gibt also alle Farbenreactionen der Eiweisskörper deutlich.

Zur Bestimmung des Coagulationspunktes suchte ich mir ein Produkt von besonderer Reinheit nach folgendem Verfahren darzustellen. Blutserum wurde mit Ammoniumsulfat gefällt in einer Concentration, wobei nur Globulin ausfällt (30 g Salz auf 100 ccm. Serum), der hierbei entstehende Niederschlag abfiltrirt, möglichst vom Filtrate getrennt und nun auf dem Filter gelöst. Hierauf wurde die Fällung wiederholt, jedoch mit so wenig Salz, dass das Filtrat noch sehr eiweissreich war, sodass eine Mitausfällung des Albumins ganz ausgeschlossen war. Endlich wurde noch ein drittes Mal in derselben Weise vorgegangen. Der letzte Niederschlag wurde abfiltrirt, gelöst und nun gegen destillirtes Wasser, das etwas mit Chloroform zur Verhütung der Fäulniss geschüttelt war, vier Monate lang dialysirt, bis sowohl Aussenwasser als Inhalt der während der Dialyse fest verschlossenen Schläuche keine Schwefelsäure- und Ammoniakreaction mehr gaben.

Bei diesem Versuche war das destillirte Wasser täglich gewechselt worden, im Ganzen also etwa 120 mal.

Ueber dem bei der Dialyse unlöslich gewordenen Niederschlag stand nach dieser Zeit wieder eine grosse Menge einer sehr eiweissreichen Flüssigkeit, die nun zunächst, weil schwach alkalisch, neutralisirt wurde. Hierbei entstand, was wir an dieser Stelle nochmals besonders hervorheben, kaum eine leichte Trübung, sodass Alkaliwirkung das Globulin nicht in Lösung gehalten haben konnte, was übrigens angesichts der grossen Eiweissmengen, die in Lösung waren, schon an und für sich unwahrscheinlich war.

Von dieser so dargestellten Lösung des Eiweisskörpers, die eine gelbe, klare Flüssigkeit vom specifischen Gewicht 1,0096 darstellte, wurde ein Theil ohne Salzzusatz coagulirt, der andere aber in 0,6% NaCl, weil mir letztere Methode zugleich ein

Mittel gab, ihn mit dem in Wasser unlöslichen Globulin zu vergleichen. Im Nachfolgenden stelle ich nun das Ergebnis der Versuche zusammen.

Coagulationspunkte.

A.

Das in Wasser lösliche Globulin ohne Salzzusatz.

Temperatur	Art der Trübung
46°	leichte Trübung
bis 51°	stetige Zunahme, filtrirt.
65°	flockige Fällung, filtrirt.
70—72°	II. flockige Fällung, filtrirt.
80°	III. flockige Fällung, filtrirt.
über 80°	nur leichte Opalescenz.

B.

Die Eiweisskörper des Serums in 0,6% iger Kochsalzlösung.

Name des Körpers	Temperatur	Art der Fällung
Albumin	49.2°	leichte Trübung.
	62.2—65°	flockige Fällung
In Wasser unlösliches Globulin	64—65°	erste Opalescenz.
	70—73°	Flocken.
In Wasser lösliches Globulin	56°	leichte Trübung.
	60°	Opalescenz.
	69—72°	Flocken.

Demnach beginnt unser Körper etwas früher zu coaguliren, verhält sich aber sonst fast wie das in Wasser unlösliche Globulin.

Die Bestimmung der specifischen Drehung wurde an einer Lösung vorgenommen, die nach übereinstimmenden Ergebnissen der Trockenbestimmung und Stickstoffbestimmung einen Gehalt von 1,256^o Eiweiss aufwies. Zur Circumpolarisation bediente ich mich hierbei des Apparates von Schmidt und Hänsch, bei welchem der Nonius Hundertstelgrade ablesen lässt. Es wurde Natriumlicht verwendet. Der Mittelwerth einer Reihe von Ablesungen im 1 dm-Rohr betrug 0,608, entsprechend $(\alpha)_D^{20} = -48^{\circ}$; der Mittelwerth im 2 dm-Rohr 1,224, entsprechend $(\alpha)_D^{20} = -48,9^{\circ}$; der Mittelwerth einer mit gleicher Menge 10^o iger Kochsalzlösung verdünnten Substanzmenge 0,31, entsprechend $(\alpha)_D^{20} = -49^{\circ}$.

Endlich hatte ich bei einer Lösung eines andern in Wasser löslichen Globulins $(\alpha)_D^{20} = -48,0^{\circ}$ gefunden. Fredericq gibt als Mittel für die Drehungconstante des unlöslichen Globulins $(\alpha)_D^{20} = -47,8^{\circ}$ an, ein Werth, der dem von mir gefundenen sehr nahe steht.

Die Elementaranalyse ergab:

1.	0,1841 g Substanz	ergaben	0,3568 g CO ₂	und	0,1139 g H ₂ O.
2.	0,38875 g	»	0,7528 g CO ₂	und	0,0107 g H ₂ O.
sonit in	°		I	II	Mittelwerthe
	C		52,85°	52,815°	52,83°
	H		6,86°	6,9°	6,88°
	N nach Kjeldahl	=	15,90°		
	S und Cl	=	24,39°		
	O				

Diese gefundenen Werthe stimmen mit den von Hammarsten für das unlösliche Globulin gefundenen Werthen überein.

Nach den chemischen Reactionen, der Coagulationstemperatur, der elementaren Zusammensetzung und der specifischen Drehung ist ein Unterschied des löslichen von dem in Wasser unlöslichen Globulin nicht zu erkennen. Das unterscheidende Merkmal ist nämlich einzig und allein die Löslichkeit dieses Körpers in Wasser, die demselben ganz charakteristisch anhaftet, ob er kurz oder lang dialysirt wird, ob man ihn mit Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat gefällt hat, ob man mit Kohlensäure oder Essigsäure ansäuert, ebenso charakteristisch

als die Unlöslichkeit in Wasser für jene kleine Menge von Eiweiss, welche man durch Dialyse aus dem Serum unlöslich machen kann und die immer wieder unlöslich wird, ob man sie in Kochsalz gelöst hat oder in schwefelsaurer Magnesia, sobald man ihr diese Salze durch Dialyse entzieht.

Die Annahme Hammarsten's, dass diese Löslichkeit auf der Beimengung unbekannter Substanzen beruhe, die einen Theil des in Wasser unlöslichen Globulins in Lösung erhalten, kann wohl nur für Spuren geltend gemacht werden, auf die sich seine Versuche beziehen, ist aber nicht ausreichend zu erklären, dass mindestens $\frac{3}{5}$ — $\frac{4}{5}$, ja sogar $\frac{9}{10}$ einer Substanz gelöst sind, während nur der kleine Rest ungelöst bleibt.

Die thatsächlichen Verhältnisse stehen also so, dass wir eine Charakteristik für Globulin besitzen, die besagt: Globuline sind in Wasser unlöslich. Dieser Charakteristik entsprechen nur Zehnteltheile jenes Körpers, den man als Globulin betrachtet. Andererseits haben wir Methoden der Globulin-darstellung, die uns eine Substanz liefern, welche zu $\frac{8}{10}$ — $\frac{9}{10}$ nicht diesem Charakter entspricht. Wir stehen also vor der Alternative, entweder den Globulinen die Wasserunlöslichkeit als charakteristische Eigenschaft abzuerkennen oder den grösseren Theil der bis jetzt zu den Globulinen gerechneten Körper als eine neue Gruppe der Eiweisskörper anzusprechen.

Nach dem Princip *de potiori fit denominatio* möchte ich vorschlagen, die Fällbarkeit mit schwefelsaurer Magnesia und durch halbe Sättigung mit schwefelsaurem Ammon als charakteristisch für Globulin zu betrachten, daher den durch diese Reagentien fällbaren Körpern den Namen Globulin zu belassen, aber die Wasserunlöslichkeit nicht mehr als Charakteristikon der Globuline anzusehen, sondern einen in Wasser löslichen Theil des Serumglobulins anzuerkennen.

Dass sich bisher eine Scheidung dieser Körper durch fractionirte Fällung mit Salzen (Hammarsten, Kauder) nicht hat durchführen lassen, kann wohl nicht als Grund gegen eine auf die Wasserlöslichkeit hin vorzunehmende, also auf ein physikalisches Verhalten gegründete Trennung angesehen werden.

Es könnte scheinen, als ob die Aufstellung dieser Unterabtheilung ein mehr systematisches als thatsächliches Interesse habe.

Es freut mich darum schon, jetzt auf eine Thatsache verweisen zu können, welche den Beweis liefert, dass diese Trennung des löslichen von dem unlöslichen Globulin auch eine Scheidung von biologisch verschieden wirksamen Substanzen bedeutet.

Wie gleichzeitig mit dieser Arbeit im hiesigen Laboratorium vorgenommene Untersuchungen ergeben haben,¹⁾ lassen sich sowohl die Albumine als die in Wasser unlöslichen Globuline dem Heilserum entziehen, ohne dass an ihnen ein Heilwerth haften bliebe, während die in Wasser lösliche Globulinsubstanz als die Trägerin der Heilwirkung erscheint.

Ist diese Thatsache auch der Pathologie entnommen, so wird es wohl auch keinem ernstern Widerspruch begegnen, wenn wir daraus die Berechtigung nehmen, auch im physiologischen Serum diese Substanzen nominell von einander zu trennen.

1) Dr. W. Seng, Koch und Flügge, *Zeitschr. f. Hygiene und Infectionskrankheiten*, Bd. XXXI. Ueber die qualit. u. quant. Verh. der Eiweisskörper im Diphtherieheilserum.