

Zur Kenntniss der Serumglobuline.

Von

Dr. Ernst Freund und Dr. Julius Joachim.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien, Vorstand Dr. E. Freund.)

(Der Redaction zugegangen am 17. August 1902.)

Seitdem das gleichzeitige Vorkommen zweier Eiweisskörper im Blutserum bekannt war, wurde von verschiedenen Autoren zu deren Charakterisirung im Wesentlichen angegeben: Das Globulin — von Panum¹⁾ Serumcasein, von Kühne²⁾ Paraglobulin genannt — sei in salzfreiem Wasser unlöslich, löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen, werde aus seinen Lösungen durch starke Verdünnung derselben, durch schwache Ansäuerung oder durch Einleiten von Kohlensäure, sowie durch Sättigung der neutralisirten Lösung mit Magnesiumsulfat gefällt, während das Albumin in Wasser löslich, durch Zusatz von Säure nicht fällbar sei.³⁾

Auf Grund vorgenannter Eigenschaften bauen sich die bisher üblichen Methoden auf, das Globulin vom Albumin zu trennen.

Einerseits gelang es, das Globulin durch Verdünnung, Essigsäurezusatz und Einleiten von Kohlensäure aus seinen Lösungen zu fällen, andererseits vermochte Hammarsten dasselbe durch Sättigung seiner Lösung mittelst Magnesiumsulfat, Pohl⁴⁾ und Kauder⁵⁾ durch Halbsättigung mittelst gesättigter Ammonsulfatlösung quantitativ vom Albumin zu trennen.

1) Virchow's Archiv, Bd. III, S. 251; Bd. IV, S. 17 u. 419.

2) Siehe Gmelin-Kraut, Handbuch der organ. Chemie, 1870. Bd. 7 C, 2215.

3) Hammarsten, Lehrbuch der physiolog. Chemie, 4. Aufl.

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

5) Kauder, Zur Kenntniss der Eiweisskörper im Blutserum. Ebendort S. 411.

Sämmtliche Autoren verfochten die Einheitlichkeit des Begriffes „Globulin“ als eines in salzfreiem Wasser unlöslichen, durch Dialyse also fällbaren Eiweisskörpers.

Erst A. E. Burckhardt¹⁾ fand, dass nach Fällung des Globulins mittels Dialyse im Filtrat durch Magnesiumsulfat noch ein reichlicher Niederschlag entstehe, welcher sich im Dialysator wieder löst und gelöst bleibt, und fasste diesen Körper als einen dem Albumin nahestehenden, von ihm nur durch seine Fällbarkeit mittelst Magnesiumsulfat sich unterscheidenden auf.

Hammarsten's²⁾ Einwände gegen diesen Befund er-muthigten nicht zu weiteren Versuchen und erst Marcus³⁾ gelang es, den Glauben an die Einheitlichkeit des Globulins umzustossen, indem er in unserem Laboratorium nachwies, dass bei der Dialyse von — sowohl durch Magnesium- als Ammon-Sulfat gewonnenem — Globulin stets ein Theil, und zwar der weitaus überwiegende in Lösung bleibe.

Hiermit war die Trennung des Globulins in ein in Wasser lösliches und ein in diesem unlösliches festgestellt und biologisch wichtige Thatsachen forderten zu Versuchen auf, diese beiden Körper von einander zu trennen.

Diendonné,⁴⁾ Belfanti und Carbone⁵⁾ konnten im Diphtherieheilserum durch Kohlensäure- und Essigsäurefällung kein Antitoxin erhalten, während Magnesium- und Ammon-Sulfatfällungen stets positiv ausfielen: W. Seng⁶⁾ fand, dass das

1) A. E. Burckhardt, Beiträge zur Chemie und Physiologie des Blutserums. Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 16, S. 322, 1883.

2) Hammarsten, Ueber die Anwendung des Magnesiumsulfats. Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 467, 1884.

3) E. Marcus, Ueber in Wasser lösliches Serumglobulin. Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 559, 1899.

4) Diendonné, Ergebnisse der Sammelforschung über das Diphtherieheilserum. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 13, S. 293 (1897).

5) Belfanti u. Carbone, Contributo alla conoscenza dell' anti-tossina ditter. Archivio per le scienze med. Vol. 22, Nr. 2.

6) W. Seng, Ueber die qualit. u. quantit. Verhältnisse der Eiweisskörper im Diphtherieheilserum. Zeitschrift f. Hygiene u. Infectionskrankheiten, Bd. 31, S. 513.

Diphtherieantitoxin am « löslichen Globulin » haften, und gerade Versuche über das Diphtherieantitoxin waren es, die E. P. Pick¹⁾ ein Verfahren finden liessen, das Globulin durch fractionirte Fällung mittelst gesättigter Ammonsulfatlösung in zwei Theile zu zerlegen, bei denen er eine verschiedene, aber für jede Thierart constante Vertheilung einiger Immunkörper nachwies.

Gleichzeitig fällten Spiro²⁾ und Bruno Haake den « bei der Dialyse leicht fällbaren » Globulinantheil durch Halbsättigung mit Kaliumacetat: ersterer benützte aber in seiner Arbeit « Ueber labende und labhemmende Wirkung des Blutes » das Verfahren von E. P. Pick und kam gleichfalls zu dem Schlusse, dass sich die beiden Theile biochemisch insofern von einander unterscheiden, als die eine Fraction des Pferdeserums, die « unlösliche », Milchgerinnung beförderte, die andere, « wasserlösliche », sie hemmte.

Pick fand, dass sich jener Globulinantheil des Pferdeserums, welcher keine antitoxische Wirkung entfaltet, durch Sättigung des Serums bis zu 25,6% Ammonsulfat (resp. bis zu 36 Volumprocenten an gesättigter Ammonsulfatlösung) abscheiden lasse, während der andere, wirksame, durch Eintragen von Ammonsulfat bis zu 38% (resp. 44 Volumprocent an gesättigter Ammonsulfatlösung) vom Serumalbumin zu trennen sei.

Hiermit waren die Globuline quantitativ in 3 Fractionen zu trennen:

In das Fibrinoglobulin, das nach Reye³⁾ schon bei einer Sättigung von 21,5% Ammonsulfat aus dem Serum ausfällt (Fraction I), und in die beiden vorgenannten Fractionen II und III. Nach der Darstellung von Spiro⁴⁾ sollte die Fraction II identisch sein mit seinem durch Halbsättigung mittelst Kaliumacetat gewonnenen, identisch also mit dem

1) E. P. Pick, Zur Kenntniss der Immunkörper. I. Mittheilung. Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. I. Heft 7.

2) Fuld u. Spiro, Ueber die labende und labhemmende Wirkung des Blutes. Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, Heft 1 u. 2, 1900.

3) W. Reye, Ueber den Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens. Diss. Strassburg 1898.

4) l. c.

durch Dialyse und Essigsäure — nach Wallerstein¹⁾ auch mit dem durch Kochsalz — fällbaren Eiweisskörper; sie erhielt von Hofmeister den Namen Euglobulin, während die bei einem Gehalt von 36—44 Volumprocenten an gesättigter Ammonsulfatlösung aussalzbare Fraction III, welche das durch Halbsättigung mit Kaliumacetat und durch Dialyse nicht fällbare wasserlösliche Serumglobulin» (nach Marcus) repräsentiren sollte, Pseudoglobulin genannt wurde.

Mit Rücksicht darauf, dass verschiedene Beobachtungen im hiesigen Laboratorium mit der obigen Auffassung nicht vollständig übereinstimmten, schien es uns wünschenswerth, das ganze Gebiet einer neuen Bearbeitung zu unterziehen.

Wir stellten uns die Aufgabe, aus verschiedenen Thierseren und serösen Flüssigkeiten die genannten Globulinfractionen möglichst rein zu isoliren, sie auf ihre Eigenschaften in Bezug auf Aussalzbarekeit durch Ammonsulfat, Magnesiumsulfat, Kochsalz, Kalium- und Natriumacetat, Fällbarkeit durch Essigsäure, Kohlensäure und Verdünnung, auf ihre Verdauungsfähigkeit etc. zu prüfen.

Die Isolirung wurde vorgenommen:

- I. mittelst fractionirter Fällung durch schwefelsaures Ammon (nach E. P. Pick);
 - II. mittelst Sättigung durch Kochsalz;
 - III. durch Ansäuern mit Essigsäure;
 - IV. durch Einleiten von Kohlensäure.
- Eine besondere Berücksichtigung der Fraction:

I. (Fibrinoglobulin) schien uns überflüssig, nicht nur wegen seines geringen procentuellen Antheils am Serumglobulin, sondern auch wegen der genügend scharf charakterisirten Eigenschaften dieses Körpers in Bezug auf Coagulationspunkt und Aussalzungsfähigkeit.

¹⁾ Saly Wallerstein, Quantitative Bestimmung der Globuline im Blutserum u. in anderen thierischen Flüssigkeiten. Dissert. Strassburg 1902.

Ammonsulfatkörper. 1)

Nachdem, wie bereits erwähnt, gelegentlich der Darstellungsversuche des Diphtherieantitoxins die Existenz zweier durch schwefelsaures Ammon trennbarer Globulinfractionen aufgefunden war, lag es nahe, diese auch in normalem Blutserum und pathologischen serösen Flüssigkeiten darzustellen und des Näheren zu studiren.²⁾

Wir sind hierbei folgendermaassen und zwar ganz nach der Vorschrift von Pick³⁾ vorgegangen:

3000 ccm der betreffenden Flüssigkeit wurden bei nativer Reaction mit 1500 ccm einer kaltgesättigten Ammonsulfatlösung vom specifischen Gewichte 1252—54 gefällt, der Niederschlag (Ng I) nach dem Absetzen filtrirt und das Filtrat durch Zufügen von einem Drittel-Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung auf halbe Sättigung gebracht (Ng II). Beide Niederschläge wurden gut abgepresst und in 3000 ccm destillirten Wassers gelöst. Zur weiteren Reinigung wurde die Lösung des Ng I in der Regel noch dreimal in oben geschilderter Weise umgefällt.

Die Lösung von Ng II wurde erst durch Versetzen mit dem halben Volumen an gesättigter Ammonsulfatlösung drittelsättigt, der etwa entstandene Niederschlag abfiltrirt,⁴⁾ dieses Filtrat auf Halbsättigung gebracht, der nunmehr entstandene Niederschlag aufs Filter gebracht, abgepresst, gelöst und dieser Vorgang noch zweimal wiederholt.

1) Wir bezeichnen im Folgenden als «Ammonsulfat-, Kochsalz-, Essigsäure- und Kohlensäure-Körper» der Kürze wegen jene Eiweisskörper des Blutserums und seröser Flüssigkeiten, die durch Ammonsulfat, Kochsalz, Essigsäure und Kohlensäure gefällt wurden.

2) Siehe auch: J. Joachim «Ueber das quantitative Verhalten der Eiweisskörper in menschlichen und thierischen Körperflüssigkeiten», Wiener klinische Wochenschrift 1902, Nr. 21, vorgetragen als vorläufige Mittheilung in der Sitzung vom 16. Mai 1902 der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien.

3) l. c., S. 10.

4) Er wurde — als noch zur II. Fraction gehörig — nicht weiter verarbeitet.

Die nach viermaliger Umfällung¹⁾ erzielten Lösungen von Ng I und Ng II wurden schliesslich einer 4—6 wöchigen Dialyse in strömendem Leitungswasser unterworfen, wobei in Folge der niederen Temperatur Fäulniss hintangehalten wurde. Wenn auch mit diesem Vorgang trotz möglichster Sorgfalt beim Abpressen ein Verlust an Substanz unvermeidlich war, sahen wir uns doch veranlasst, diesen Weg einzuschlagen, um möglichst reine Präparate zur Untersuchung zu erhalten.

Nach längerer Dialyse stellte sich regelmässig die überraschende Thatsache heraus, dass sowohl bei der Euglobulin- als auch bei der Pseudoglobulinfraction ein löslicher und ein unlöslicher Antheil zu finden war, während nach den früher erwähnten Angaben von Spiro zu erwarten gewesen wäre, dass die Euglobulinfraction bei der Dialyse ganz unlöslich werde, die Pseudoglobulinfraction ganz gelöst bleibe.

Die naheliegende Annahme, dass es sich hierbei nur um Beimengungen benachbarter Fractionantheile handle, hat uns, wie erwähnt, veranlasst, den Vorgang der Fractionirung viermal zu wiederholen. Da sich hierdurch eine Aenderung des Befundes nicht ergab, sind wir darangegangen, die erhaltenen Substanzen zu trennen, um sie isolirt einer eingehenden Untersuchung unterziehen zu können.

Nachdem wir uns überzeugt hatten, dass die Dialysate weder Ammoniak noch Schwefelsäure enthielten, wurde der lösliche Theil vom unlöslichen abfiltrirt, der letztere mit destillirtem Wasser so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine Biuretreaction mehr gab, hierauf so lange mit 0,6%iger Kochsalzlösung ausgezogen, als noch Eiweiss in Lösung ging, wobei sich wohl der grösste Theil löste, aber fast ausnahmslos noch ein mehr oder minder spärlicher, gelbbrauner Rest von klebriger Beschaffenheit zurückblieb, der nunmehr in 0,25%iger Natriumcarbonatlösung²⁾ aufgenommen wurde, in welche er vollkommen überging.

1) Bei zwei — in den Tabellen ersichtlich gemachten — Fällen, welche pathologische Flüssigkeiten betrafen, geschah die Fällung nur je einmal.

2) auf wasserfreies Salz berechnet.

Es resultirten demnach immer dreierlei Eiweisskörper:

- a) ein in Wasser löslicher,
- b) ein in 0,6%iger Kochsalzlösung löslicher,
- c) ein in Wasser und Kochsalzlösung unlöslicher, aber durch Natriumcarbonat gelöster Theil,

welche drei nun gesondert auf folgende Weise untersucht wurden: ¹⁾

1. wurde das Verhalten gegen schwefelsaures Ammon geprüft, indem wir 10 ccm der Lösung mit 5 ccm einer gesättigten Ammonsulfatlösung fällten, den Niederschlag abfiltrirten, das abgemessene Filtrat durch Zusatz eines Drittels seines Volumens an gesättigter Ammonsulfatlösung auf Halbsättigung brachten, den etwa entstandenen Niederschlag neuerdings abfiltrirten und dieses Filtrat nunmehr mit gepulvertem Ammonsulfat sättigten.

2. In derselben Weise gingen wir mit kaltgesättigten Lösungen von Natrium- und Kaliumacetat vor. Dabei sei erwähnt, dass bei der Ganzsättigung mit diesen beiden Substanzen solche Schwierigkeiten bezüglich der Aussalzung sowohl als der Beurtheilung des ausgefällten Eiweisses (insbesondere bei Kaliumacetat) entstanden, dass wir auf die bei Ganzsättigung mit Kalium- und Natriumacetat gemachten Beobachtungen keinen Werth legten, in der Folge sogar von ihr abstanden und das nach Halbsättigung gewonnene Filtrat einfach durch Kochen auf Coagulation prüften.

3. Sättigung mit Magnesiumsulfat unter allen Cautelen bei 30° C.; Untersuchung des Filtrats auf Coagulationsfähigkeit.

4. Sättigung mit Kochsalz bei 30° C.; Untersuchung des Filtrats auf Coagulationsfähigkeit.

5. Verhalten gegen Essigsäure: Es wurde eine 0,5% starke Essigsäure tropfenweise bis zu ganz schwach saurer Reaction (für Lakmus) zugesetzt und das eventuelle Auftreten einer Trübung oder eines Niederschlages beobachtet, hierauf von der Essigsäure bis zu stark saurer Reaction zugesetzt.

¹⁾ Es wurden nur die ersten — concentrirteren — Filtrate, nicht aber die verdünnten Auszüge hierzu verwendet.

6. Es wurde Kohlensäure durch längere Zeit eingeleitet, entstehende Niederschläge resp. Aufhellung beobachtet; hierbei sowie bei Zusatz von Essigsäure wurde auch von den Niederschlägen abfiltrirt, die Filtrate auf ihr Verhalten gegenüber Ammonsulfat untersucht, um festzustellen, ob Essigsäure oder Kohlensäure im Stande sei, irgend eine Fraction in toto zu fällen.

7. Eine Probe wurde zehnfach verdünnt, die eventuell entstandene Trübung daraufhin untersucht, ob sie bei Einwirkung von Kohlensäure wieder in Lösung gehe.

8. Verdauung durch Pepsin-Salzsäure: Die isolirten Körper wurden der Verdauung in der Weise unterzogen, dass zu ihren Lösungen so viel einer 2%igen Salzsäure zugetropft wurde, bis durch Dimethylamidoazobenzol das Vorhandensein freier Salzsäure angezeigt war, hierauf $\frac{1}{10}$ Volumen einer Pepsinlösung zugesetzt, die 1% Pepsinum germanicum oder americanum enthielt, dann noch der zehnte Theil des erreichten Gesamtvolumens an 2%iger Salzsäure hinzugefügt, so dass die Lösung einen Gehalt von 0,2% freier Salzsäure besass. Die Lösungen wurden bei 36—40° C. längere Zeit im Brutofen gelassen.

In einer Reihe von Fällen erzielten wir nach mehr oder minder lang dauernder Verdauung Abscheidung von unverdaulichen Flocken, die sich meistens als Pseudonuclein (Phosphor positiv, Xanthinkörper negativ), mehrmals als Nuclein erwiesen.

In einer relativ grossen Anzahl von Fällen stellte sich heraus, dass selbst bei wochenlangem Verweilen im Brutofen und trotz erhaltener peptischer Fähigkeit für Fibrin, noch durch Hitze (bei essigsaurer Reaction) coagulirbares Eiweiss nachweisbar war.

Die zur Vervollständigung der Spaltung nach geschehener Verdauung durchgeführte Erwärmung¹⁾ bei einem Gehalt von 10% Salzsäure durch eine Viertelstunde ergab nun in manchen Fällen mässig reichliche Abscheidung farbloser Flocken, welche, abfiltrirt und gewaschen, Biuretreaction gaben und zum Theile phosphorhaltig waren.

1) Auf dem Wasserbade; nicht bis zur Siedehitze!

Die Natur dieser Substanz war nicht leicht festzustellen; die Annahme, dass es sich um Acidalbumin handle, musste zurückgewiesen werden, weil die Flockenbildung nie in der Kälte entstand, sondern immer erst nach kurzem Erwärmen und andererseits selbst nach mehrstündig fortgesetztem Erwärmen die Flocken nicht gelöst wurden; auch deshalb, weil es uns sehr oft gelang, auch in Fällen, bei denen nach vollständiger Verdauung kein coagulables Eiweiss mehr nachweisbar war, durch Erwärmen mit Salzsäure diese Flockenbildung zu erzeugen.

Es musste auch an einen Körper nach dem Typus des Antialbumids gedacht werden, das beim Verdauen mit ungenügender Menge Pepsin entsteht. Mit Rücksicht darauf, dass wir Controllproben mit einem Ueberschuss von Pepsin verdauten und trotzdem diese Erscheinung erhielten, glaubten wir, von der Annahme eines Antialbumids abstehen zu müssen, auch fehlte die für Antialbumid charakteristische Gerinnung bei Verdauung mit Trypsin.

Es wäre auch möglich gewesen, dass es sich um Spaltung von Nucleokörpern gehandelt hätte, welche nicht schon bei Verdauung, sondern erst bei Behandlung mit HCl Nuclein abspalteten.

Und in der That konnten wir in allen Fällen in diesen Flocken Phosphor, in einem Falle Xanthinbasen nachweisen. Wir wollen es trotzdem offen lassen, ob es sich um Pseudonuclein oder Nucleinverbindungen gehandelt hat, da bei so geringen Mengen der sichere Xanthinnachweis leicht im Stiche lassen kann.

Wir haben ferner mit anderen Eiweisssubstanzen diesbezügliche Versuche angestellt und zwar mit Fibrin und Wittepepton, die wir erst verdauen liessen, dann mit 10%iger HCl erwärmten. Während Fibrin hierbei reichliche phosphorhaltige Flocken ergab, wurden sie bei Pepton vollständig vermisst. Wir unterzogen schliesslich auch unsere gewöhnlich verwendete Pepsinlösung der geschilderten Behandlung mit Salzsäure und erhielten hierbei gleichfalls relativ reichliche phosphorhaltige

Flocken, ein Umstand, der vermuthlich mit dem im Pepsin gefundenen Nucleoproteidgehalt^{1) 2)} zusammenhängen dürfte.

Die immerhin mögliche Annahme, dass die Flockenbildung bei unseren übrigen Untersuchungsobjecten etwa nur auf die Beimengung von Pepsin zu beziehen wäre, konnte aber nicht Stand halten, nicht nur wegen der oft beobachteten relativ viel reichlicheren Flockenbildung, als dem Pepsingehalt hätte entsprechen können, sondern auch deshalb, weil wir bei einer ganzen Reihe von Eiweisslösungen bei gleichmässiger Durchführung des genannten Verfahrens die Entstehung von Flocken überhaupt nicht beobachten konnten. Da diese Frage von unserem Thema zu weit abliegt, müssen wir uns für eine spätere Arbeit vorbehalten, die Natur dieses Körpers klarzustellen.

Sicher ist nur, dass es sich nicht um eine allgemeine Eigenschaft aller Eiweisskörper handeln kann, sondern um Abspaltungen, die nur gewissen Eiweisssubstanzen zukommen.

9. Ermittlung der Fällungsgrenzen einer kaltgesättigten Ammonsulfatlösung gegenüber. Dieses Verfahren, das von Hofmeister³⁾ gefunden und von seiner Schule⁴⁾ ausgebaut wurde, besteht bekanntlich darin, dass man die zu untersuchende Flüssigkeit mit Salzmengen von sehr fein abgestuften Concentrationen zusammenbringt, so dass in den einzelnen Proben Auftreten, Zu- oder Abnahme der Fällungen sehr scharf beobachtet und hierdurch die Grenze⁵⁾ der einzelnen Fractionen nach unten und oben genau festgestellt werden kann.

In Folgendem citiren wir die diesbezüglichen Angaben von E. P. Pick,⁶⁾ denen wir bei Bestimmung der Fällungsgrenzen unserer Körper genau gefolgt sind.

1) Schoumow-Simanowski. Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. 33.

2) Pökelharing, Diese Zeitschrift, Bd. XXII.

3) Kauder l. c.

4) Pohl l. c.

5) S. Lewith, Zur Lehre von der Wirkung der Salze. I. Mittheilung, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 24, S. 1.

6) E. P. Pick, Untersuchungen über die Proteinstoffe. II. Mittheilung, Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 249 und Andere.

Um die Salzconcentrationen genau zu bestimmen, bei denen die Abscheidung einzelner Fractionen erfolgt, steigert man durch Zufuhr von Ammonsulfat den Salzgehalt bis zum Beginn einer Trübung (untere Fällungsgrenze der I. Fraction), geht sodann mit dem Salzzusatz weiter, bis das Filtrat von dem entstandenen Niederschlag bei weiterem geringen Salzzusatz keine Fällung mehr gibt (obere Fällungsgrenze der I. Fraction). Bei weiterer Erhöhung des Salzgehaltes tritt zunächst keine weitere Veränderung ein (Intervall zwischen den Fällungsgrenzen), dann aber erfolgt von einem bestimmten Punkte ab Trübung (untere Fällungsgrenze der II. Fraction); nach vollständiger Ausfällung lässt sich neuerlich eine obere Fällungsgrenze (der II. Fraction) sicherstellen etc. . . .

Unsere Versuchsanordnung hielt sich streng an die Vorschriften des eben citirten Autors.

Mittels Pipette wurden je 2 ccm der zu untersuchenden Eiweisslösung in Eprovetten gefüllt, mit einer gleichmässig zunehmenden Menge der gesättigten Ammonsulfatlösung gefällt und mit destillirtem Wasser auf das Gesamtvolumen von 10 ccm ergänzt. Die dabei eingehaltene Reihenfolge war: Eiweisslösung, Wasser und Ammonsulfat. Die Concentration, bei der die erste bleibende Trübung eintrat, wurde als untere Fällungsgrenze verzeichnet. Die Proben wurden 12—24 Stunden stehen gelassen und dann durch ein doppeltes Papierfilter klar filtrirt. Das Filtrat wurde dann auf einen etwa noch nicht ausgefallten Rest der Fraction geprüft und zwar durch Zusatz von 0,2—0,3 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung. Dabei zeigte das zuerst vollständig klar gebliebene Filtrat die beendigte Ausfällung — die obere Fällungsgrenze der Fraction — an.

Die Fällungen wurden — mit Ausnahme eines speciell hervorgehobenen Falles — bei neutraler Reaction der zu prüfenden Eiweisslösungen unternommen, da es bekannt ist, dass — insbesondere die unteren — Fällungsgrenzen bei saurer Reaction sehr stark, bei alkalischer nur unwesentlich nach abwärts rücken. In 3 Fällen wurde zu Vergleichszwecken bei neutraler und saurer, in einem bei neutraler und bei alkalischer Reaction untersucht.

Der gleichfalls bekannte Umstand, dass sehr hohe Eiweiss-concentrationen die Fällungsgrenzen herabdrücken, fiel bei unseren Untersuchungen nicht ins Gewicht, da wir es mit so hohen Concentrationen nie zu thun hatten. Gleichwohl wurde auf Einhaltung eines möglichst gleichmässigen Eiweissgehaltes geachtet und derselbe einerseits durch entsprechende Verdünnung, andererseits durch neuerliche Fällung und Lösung des Niederschlages in einem geringeren als dem ursprünglichen Volumen des Lösungsmittels erzielt. Zur Vereinfachung der weiteren Darstellung führen wir in Folgendem zwei Tabellen an, die unser Vorgehen bei Ermittlung der Fällungsgrenzen darstellen. Des Weiteren werden wir nur die für die untere und obere Fällungsgrenze gefundenen Zahlen angeben.

Die Tabellen beziehen sich auf die Untersuchung

1. eines unlöslichen Theiles der II. Fraction (Euglob.),
2. eines löslichen Theiles der III. Fraction (Pseudoglob.)

bei neutraler Reaction.

Tabelle 1.

In 0,6^o igein Kochsalz löslicher Euglobulinantheil.

1 ^o ige Eiweiss- lösung ccm	Wasser ccm	Gesättigte Ammon- sulfat- lösung ccm	Fällung	Verhalten des Filtrats nach Zusatz von 0,2 ^o o. gesättigter Ammon- sulfatlösung	Bemerkungen
2	5,6	2,4	keine Trübung	—	—
2	5,4	2,6		—	—
2	5,2	2,8	lichte Opalescenz	—	} untere Fällungsgrenze
2	5	3	Trübung	massiger Niederschlag	
2	4,8	3,2	Fällung	spärlicher	—
2	4,6	3,4	stärkere Fällung	Trübung	—
2	4,4	3,6		Opalescenz	} obere Fällungsgrenze
2	4,2	3,8		klar	
2	4	4			—
2	3,8	4,2			—
2	3,6	4,4			—

Tabelle 2.

In Wasser löslicher Pseudoglobulinantheil.

1%ige Eiweiss- lösung ccm	Wasser ccm	Ge- sättigte Ammon- sulfat- lösung ccm	Fällung	Verhalten des Filtrats nach Zusatz von 0,2% gesättigter Ammon- sulfatlösung	Bemerkungen
2	5,6	2,4	klar	—	—
2	5,4	2,6	„	—	—
2	5,2	2,8	„	—	—
2	5	3	„	—	—
2	4,8	3,2	„	—	—
2	4,6	3,4	„	—	—
2	4,4	3,6	Opalescenz	—	untere Fällungsgrenze
2	4,2	3,8	schwach. Fällung	Fällung	
2	4	4	starke Fällung	schwäch. Fällung	—
2	3,8	4,2	„	starke Opalescenz	—
2	3,6	4,4	„	schwache Opalescenz	obere Fällungsgrenze
2	3,4	4,6	„	klar	
2	3,2	4,8	„	—	—

10. Wurden in besonders sorgfältig durch Dialyse gereinigten Fractionsantheilen die Coagulationstemperaturen bestimmt, und zwar bei gleichen Eiweissconcentrationen (0,5%), in 0,6% Kochsalz enthaltenden Lösungen von neutraler Reaction, nachdem wir uns an Controllproben überzeugt hatten, dass ein Eiweissgehalt von 1% nicht wesentlich andere Resultate ergab.

Im Nachstehenden geben wir zunächst eine tabellarische Zusammenstellung unserer Befunde, welche derart angeordnet ist, dass jede Tabelle die Ergebnisse der Untersuchung gleichartiger, d. h. durch gleiche Sättigung mittelst Ammonsulfat gewonnener Fractionen zusammenfasst.

Für unsere daran sich knüpfenden Folgerungen nahmen wir nur jene Resultate als ausschlaggebend an, die sich an

Flüssigkeiten ergaben, welche viermal umgefällt worden waren, und zwar vor Allem an Pferde- und Rinderserum, während wir die Ergebnisse der untersuchten pathologischen Flüssigkeiten nicht als typische betrachten, obwohl sie im Wesentlichen mit den übrigen Uebereinstimmung zeigten.

**Ammonsulfatfraction II (durch Drittelsättigung gewonnen)
Euglobulin.**

Tabelle I.

Wie aus Tabelle I ersichtlich, ergab die Euglobulinfraction jeder untersuchten Flüssigkeit — normaler wie pathologischer — auch nach viermaliger Umfällung nicht nur einen bei der Dialyse unlöslich werdenden, sondern immer auch einen in Wasser löslich bleibenden Antheil, welcher letzterer sogar an Menge und Eiweissgehalt den unlöslichen stets übertraf. Ja in einem Falle, er betrifft das Pferdeserum, fanden sich sogar von dem unlöslichen — also dem eigentlichen — Euglobulin nur Spuren, bei einem zweiten Pferdeserum nur geringe Mengen hiervon vor,¹⁾ während der lösliche Antheil in beiden Fällen ein sehr beträchtlicher war.

Von dem in Wasser unlöslichen Antheil war der grössere Theil in 0,6%iger Kochsalzlösung löslich, der kleinere, aber immerhin nicht zu vernachlässigende, ging erst bei Behandlung mit 0,25%iger Natriumcarbonatlösung in dieselbe über.

a) In Wasser löslicher Theil. Die Prüfung in Bezug auf sein Verhalten gegen gesättigte Ammonsulfatlösung zeigte, dass derselbe schon bei Drittelsättigung zum allergrössten Theile ausfiel, während im Filtrate durch Halbsättigung nur mehr Spuren gefällt wurden. Seine untere Fällungsgrenze wurde

¹⁾ wie überhaupt das Pferdeserum «unlösliches Globulin» in auffallend geringerer Menge aufweist als das Rinderserum.

ausnahmslos mit 2,8,¹⁾ die obere mit 3,4—3,6¹⁾ festgestellt.

Sättigung mit Magnesiumsulfat fällte den Körper ganz, Halbsättigung mit Kaliumacetat und Sättigung mit Kochsalz bis auf Spuren aus. Die Verdauung lieferte keinen Nucleokörper, nachheriges Erwärmen bei 10%igem Salzsäuregehalt ergab keine Flockenabscheidung.

Durch Essigsäure, Kohlensäure und zehnfache Verdünnung trat bei jenen Fractionen, die nach der Dialyse gegen Leitungswasser noch gegen destillirtes Wasser dialysirt worden waren, keine Fällung auf. Wurde aber vor letzterer Procedur untersucht, so zeigten sich allerdings geringe Trübungen durch vorgenannte Fällungsmittel, die offenbar auf geringe in Lösung erhaltene Beimengungen der unlöslichen Substanz, durch einen minimalen Salzgehalt in Lösung erhalten, zurückzuführen waren.

Selbst nach monatelanger Dialyse gegen destillirtes Wasser blieb der Körper gelöst.

b) Der in 0,6%iger Kochsalzlösung lösliche Theil. In Bezug auf die Aussalzungs- und Verdauungsfähigkeit verhielt sich dieser Antheil ganz gleich dem in Wasser löslichen: die Fällungsgrenzen waren gleichfalls 2,8—3,4 (— 3,6), also die der II. Fraction.

Nur bezüglich seines Verhaltens gegen Essigsäure, Kohlensäure und Verdünnung verhielt er sich insofern anders, als durch eben genannte Fällungsmittel deutliche Fällungen zu beobachten waren.

Coagulationstemperaturen. Dieselben wurden bei einem Eiweissgehalt von 0,5% ermittelt. Um vergleichbare Zahlen zwischen den in Wasser löslichen und den in 0,6%iger Kochsalzlösung gelösten Theilen zu erhalten, wurde den ersteren so viel an Kochsalz zugesetzt, dass der Gehalt der Flüssigkeit 0,6% daran betrug.

¹⁾ die zur Erreichung der unteren und 2) der oberen Fällungsgrenze nöthige Anzahl von Cubikcentimetern gesättigter Ammonsulfatlösung auf 10 ccm der Gesamtlösung.

Coagulationstemperaturen, II. Fraction (Euglobulin).

Rinderserum		Pferdeserum	
in Wasser löslicher Theil	in Wasser unlösl. in 0,6% iger Koch- salzlösung gelöster Theil	in Wasser löslicher Theil	in Wasser unlösl. in 0,6% iger Koch- salzlösung gelöster Theil
57° C. Trübung	60° C. Trübung	75° C. Trübung	60° C. Trübung
61° C. zunehmend	65° C. zunehmend	61° C. zunehmend	64° C. Zunahme
64° C. Coag. (filtrirt)	—	64° C. Coag. (filtrirt)	—
66° C. Trübung	—	66° C. Trübung	—
68—70 C. Coag. (filtrirt)	70° C. Coag. (filtrirt)	68—70 C. Coag. (filtrirt)	70—72° C. Coag. (filtrirt)
74° C. Trübung	74° C. Trübung	74° C. Trübung	75° C. Trübung
78° C. Coag.	77° C. Coag.	78° C. Coag.	77° C. Coag.

Es ergibt sich demnach auch aus den Coagulationstemperaturen ein gewisser Unterschied zwischen dem in Wasser und dem in Kochsalzlösung löslichen Antheil der II. Fraction, insofern wir bei dem ersteren drei, bei letzterem nur zwei Coagulationspunkte finden konnten: beiden gemeinschaftlich ist der Coagulationspunkt 70° C. und 77—78° C., während ersterer ausserdem noch einen Coagulationspunkt bei 64° C. aufweist.

c) Der in Wasser und 0,6% iger Kochsalzlösung unlösliche, in 0,25% iger Natriumcarbonatlösung gelöste Theil. Auch dieser Körper liess sich durch Drittelsättigung mit Ammonsulfat, sowie Halbsättigung mit Kaliumacetat, Sättigung mit Kochsalz und Magnesiumsulfat vollständig ausfällen. Bei Neutralisation, sei es mit Essigsäure oder Kohlensäure, wurde er unlöslich, ohne aber im Ueberschuss der genannten Fällungsmittel wieder in Lösung zu gehen.

Nach längerer Einwirkung von Pepsinsalzsäure bei Bruttemperatur schied sich in allen Fällen, die überhaupt eine für die weitere Untersuchung genügende Eiweissmenge ergaben, ein flockiger, unverdauter Körper ab, der, abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und in ganz verdünnter Natronlauge gelöst, spärlichen Phosphorgehalt aufwies.

Ein Theil der in Lauge gelösten Flocken wurde bei einem Gehalt von 10% Salzsäure eine Stunde lang gekocht, um

Xanthinbasen nachweisen zu können, hierauf ammoniakalisch gemacht, filtrirt und mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt. In zwei Fällen ergab sich eine flockige, farblose Trübung, in den übrigen war das Ergebniss negativ.

Die von den Flocken durch Filtration befreiten Verdauungsproben wurden bei einem Gehalt von 10% Salzsäure stundenlang erwärmt, ohne eine flockige Ausscheidung zu zeigen.

Uebersieht man die angeführten Befunde, so kann es keinem Zweifel unterliegen, dass alle drei genannten Antheile wirklich Theile der II. Fraction und nicht etwa Beimengungen sind, insbesondere aber, dass die II. Fraction, die bisher in toto als in salzfreiem Wasser unlöslich betrachtet worden ist, einen, und zwar überwiegend grossen, in Wasser löslichen Antheil hat.

Der Beweis dafür liegt nicht nur in der vollkommenen Uebereinstimmung seiner Fällungsgrenzen, mit denen des wasserunlöslichen Theiles i. e. denen der II. Ammonsulfatfraction überhaupt, sondern auch darin, dass er selbst nach monatelanger Dialyse (auch gegen destillirtes Wasser) löslich bleibt.

Ammonsulfatfraction III (durch Halbsättigung gewonnen)

Pseudoglobulin .

Tabelle II.

Auch hier fanden wir, selbst bei viermaliger Umfällung, nach der Dialyse regelmässig nicht nur einen in Wasser löslichen, sondern auch einen in diesem unlöslichen Antheil: bei dieser Fraction überwog gleichfalls der lösliche. Wieder ging aus dem unlöslichen Antheil nicht das gesammte Eiweiss in 6%iger Kochsalzlösung, eine relativ beträchtliche Quote erst in 0.25%iger Natriumcarbonatlösung über.

a) In Wasser löslicher Theil. Bei Driftelsättigung mit Ammonsulfat blieb derselbe klar, wurde durch Halbsättigung vollständig ausgefällt, ein Verhalten, mit dem die gefundenen Werthe für die Fällungsgrenzen 3.6—4.4 übereinstimmen; durch Sättigung mit Magnesiumsulfat wurde er vollkommen,

mit Kochsalz nur zum kleineren Theile, durch Halbsättigung mit Kaliumacetat gar nicht gefällt. Er wurde vollständig verdaut. Durch Essigsäure, Kohlensäure und zehnfache Verdünnung konnte, wenn genügend lange gegen destillirtes Wasser dialysirt war, eine Fällung nicht erzielt werden.

b) Der in 0,6%iger Kochsalzlösung lösliche Theil verhielt sich bezüglich seiner Salzfällungsverhältnisse und der Verdauung ganz gleich dem in Wasser löslichen Antheil. Seine Fällungsgrenzen waren bei neutraler Reaction 3,6—4,4.¹⁾

Durch Essigsäure und Kohlensäure entstanden ganz schwache (beim Pferdeserum minimale), durch Verdünnung etwas stärkere Fällungen.

Bei Dialyse des isolirten Körpers fiel dieser vollständig aus und blieb auch nach monatelanger Dialyse wasserunlöslich.

Die Coagulationstemperaturen wurden in der gleichen Weise ermittelt wie bei Fraction II.

Coagulationstemperaturen III Fraktion. (Pseudoglobulin).

Rinderserum		Pferdeserum	
in Wasser löslicher Theil	in 0,6%iger Kochsalzlösung löslicher Theil	in Wasser löslicher Theil	in 0,6%iger Kochsalzlösung löslicher Theil
56° C. erste Trübung	58° C. erste Trübung	58° C. erste Trübung	58° C. erste Trübung
64° C. zunehmende Trübung	65° C. zunehmende Trübung	65° C. zunehmende Trübung	67° C. zunehmende Trübung
74° C. starke Trübung	70° C. starke Trübung	72° C. starke Trübung	71° C. starke Trübung
76° C. Coagulation	74-76° C. Coagulation	76-78° C. Coagulation	74° C. Coagulation

1) Dieselben wurden auch bei stark saurer Reaction bestimmt und hierbei so stark herabgerückt gefunden, dass über die Zugehörigkeit des Körpers zur III. Fraction Zweifel hätten entstehen können. Aber abgesehen davon, dass, wie schon früher bemerkt, saure Reaction überhaupt

Wir sehen hier nur geringe Differenzen zwischen den löslichen und unlöslichen Antheilen, indem sich die Coagulation des löslichen erst bei 76° C. oder darüber hinaus, die des unlöslichen unterhalb 76° C. einstellt.

Viel markanter sind die Differenzen zwischen löslichem Theil des Euglobulins und löslichem Antheil des Pseudoglobulins. Ersterer coagulirt bereits bei 64° C. und hat zwei weitere Coagulationspunkte bei 70° und 78° C., letzterer beginnt erst zwischen 76° und 78° C. zu coaguliren.

c) der in Wasser und 0,6%iger Kochsalzlösung unlösliche, in 0,25%iger Natriumcarbonatlösung gelöste Theil. Es zeigte sich, dass sich dieser Körper in Bezug auf seine Fällbarkeit nicht der III., sondern der II. Fraction anschließt, indem er bereits bei Drittelsättigung mit Ammonsulfat, Halbsättigung mit Kaliumacetat und Sättigung durch Kochsalz bis auf Spuren aussalzbar war. Um seine Zugehörigkeit noch genauer zu ermitteln, wurden in einem Falle, in dem uns mehr Substanz zur Verfügung stand, als gewöhnlich die Fällungsgrenzen bestimmt, die thatsächlich mit denen der II. Fraction zusammenfielen i. e. 2,8—3,6 waren. Da es von vornherein nicht ausgeschlossen schien, dass dieselben durch die starke Alkalescenz bedingt waren, wurden mit dem entsprechenden löslichen Antheil bei gleicher Alkalescenz (0,25% Natriumcarbonat) und gleichem Eiweissgehalt die Fällungsgrenzen festgestellt, welche aber nur unwesentlich von den in der-

im Stande ist, die Fällungsgrenzen stark herabzudrücken, haben wir zur Controlle auch den in Wasser löslichen Theil des Pseudoglobulins stark angesäuert und nun die Fällungsgrenzen bestimmt, wobei sich ebenfalls ein erheblich niedrigerer Werth für die untere Fällungsgrenze als der bei neutraler Reaction gefundene zeigte. Doch schien es uns, dass die in den Filtraten auftretenden Trübungen durch ein klareres Filtrat (bei 3,6) unterbrochen wurden, dass jene von da an wieder zunahm und bei 4,4 abbrach. Es macht den Eindruck, als ob unter der Säurewirkung eine Zweitheilung des löslichen Antheiles stattfindet. Gerade diese Beobachtung hat uns darin noch mehr bestärkt, uns durch das Herabrücken der Fällungsgrenzen des wasserunlöslichen Theiles bei saurer Reaction nicht davon abbringen zu lassen, denselben dem Pseudoglobulin zuzurechnen.

selben Flüssigkeit bei neutraler Reaction gefundenen abwichen (3,1—4,2).¹⁾

Es konnten also bei unserem Körper die Fällungsgrenzen nicht etwa durch die Alkaleszenz so tief herabgedrückt worden sein, sondern derselbe scheint wirklich der II. Fraction anzugehören und verhält sich auch bezüglich seiner Fällungen durch Essigsäure, Kohlensäure und Verdünnung sowohl als auch in Bezug auf seine Verdauungsfähigkeit genau so wie der in Sodalösung übergehende Antheil der II. Fraction.

Es ergibt sich demnach, dass auch die Ammonsulfatfraction III (Pseudoglobulin) im Gegensatz zur bisherigen Annahme regelmässig nebst dem grösseren in Wasser löslichen auch einen meist beträchtlichen in Wasser unlöslichen Antheil in sich schliesst. Wieder müssen wir als Beweis hierfür nicht nur die Fällungsgrenzen ins Treffen führen, welche — bei neutraler Reaction — die des Pseudoglobulins sind, sondern auch die von uns gemachte Beobachtung, dass dieser wasserunlösliche, in 0,6% iger Kochsalzlösung gelöste Fractionstheil durch längere Dialyse wieder vollständig gefällt wird.

Kochsalzkörper.

In den meisten Lehrbüchern der physiologischen Chemie findet sich die Angabe, dass das Serumglobulin aus seinen Lösungen durch Kochsalz nur unvollkommen gefällt werden könne.²⁾

Mit Rücksicht auf unsere geänderten Anschauungen bezüglich der Lösungsverhältnisse der Globuline schien die Annahme nahelegend, dass diese Unvollkommenheit der Globulinaussatzung durch Kochsalz darauf beruhe, dass durch dieses

¹⁾ Auch F. P. Fick l. c. S. 257 findet, dass selbst starke Alkaleszenz — bis zu 5% — die Fällungsgrenzen nur wenig alterirt.

²⁾ Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie, 1899. — Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. und pathol. chem. Analyse, 1893. — Neumeister, Lehrbuch der physiol. Chemie, 1897 etc.

nur eine bestimmt charakterisirte Fraction der Globuline gefällt werde, während eine andere in Lösung bleibe.

Um Klarheit darüber zu erlangen, haben wir Pferde- und Rinderserum sowie seröse pathologische Flüssigkeiten vom Menschen in grösserer Quantität (2—3 l) bei nativer Reaction mit Kochsalz gesättigt, die erhaltenen Fällungen aufs Filter gebracht, mit gesättigter Kochsalzlösung so lange gewaschen,¹⁾ bis das Filtrat keine Biuretreaction mehr zeigte, in Wasser gelöst, die Aussalzung behufs Reinigung des Körpers 1—4 Mal wiederholt und die schliesslich erhaltene Fällung bei kühler Temperatur der Dialyse bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgesetzt (2—3 Wochen).

Dabei erhielten wir stets einen in Wasser löslichen und einen wasserunlöslichen Theil, deren Isolirung derart vorgenommen wurde, dass der Inhalt der Dialysirbeutel abfiltrirt, der Filterrückstand mit Wasser bis zum Verschwinden der Eiweissreactionen im Filtrat nachgewaschen, mit 0,6%iger Kochsalzlösung extrahirt und der meist geringe auch hierbei nicht in Lösung gehende Rest in 0,25%iger Natriumcarbonatlösung gelöst wurde.¹⁾

Es resultirten demnach dreierlei Antheile der Kochsalzkörper.

- a) ein in Wasser löslicher,
- b) ein in 0,6%igem Kochsalz löslicher,
- c) ein in 0,25%igem Natriumcarbonat löslicher.

Dieselben wurden in der bei den Ammonsulfatkörpern geschilderten Weise untersucht.

1. Hoppe-Seyler l. c. S. 253. Reines Serumglobulin ist unlöslich in gesättigter Kochsalzlösung; aber unvollkommen fällbar durch dieses Salz

1. In 4 Fällen, die sämmtlich pathologische Flüssigkeiten betrafen, blieb auch nach Extraction mit Sodalösung noch ein geringer in dieser unlöslicher Eiweisskörper zurück, der erst in $\frac{1}{10}$ Normallauge überging. Die Lösung war stark opalescent, durch Ansäuerung ausfällbar, gab schwache Biuretreaction, Millon'sche Reaction, in einem Falle Phosphor-, nie Schwefelreaction. Zu genauerer Untersuchung stand uns zu wenig Substanz zur Verfügung.

Tabelle III.

Es ergab sich zunächst die Thatsache, dass erst nach viermaliger Umfällung die erhaltenen Producte insofern als rein betrachtet werden konnten, als sie wieder vollständig durch Kochsalz aus ihren Lösungen zum Ausfallen gebracht wurden. Mit Rücksicht darauf betrachten wir auch nur die bei viermal gereinigtem Material erhaltenen Resultate als vollkommen einwandfrei.

1. Der in Wasser lösliche zeigt mit dem in 0,6%igem Kochsalz löslichen Theil Uebereinstimmung in Betreff der Annsalzbarkeit durch Ammonsulfat, Magnesiumsulfat und Kaliumacetat und zwar gehören beide sowohl der Euglobulin- als auch der Pseudoglobulinfraction an; sie werden durch Pepsinsalzsäure ohne Abspaltung eines unlöslichen Körpers verdaut. Nur in Bezug auf das Verhalten gegenüber Essigsäure, Kohlensäure und Verdünnung zeigen sie Verschiedenheiten, insofern sich in dem in Wasser löslichen Theile durch diese drei Globulinfällungsmittel Fällungen nicht, in dem in Kochsalzlösung gelösten relativ starke Trübungen erzielen liessen.

Die Coagulationstemperaturen wurden bei gleichmässigem (0,6%) Kochsalz und (0,5%) Eiweissgehalt und zwar nur im Rinderserum vorgenommen, da, wie bereits erwähnt, das Pferdeserum überhaupt arm an in wasserunlöslichem Globulin ist.

Rinderserum	
in Wasser löslicher Theil	in 0,6%iger Kochsalzlösung löslicher Theil
60° C. erste Trübung	60° C. Trübung
65° C. zunehmende Trübung	65° C. Zunahme
70—72° C. Coagulation (filtrirt)	70—72° C. Coagulation (filtrirt)
75° C. Trübung	74—76° C. Coagulation (filtrirt)
78—79° C. Coagulation	79° C. Coagulation

Wir sehen eine grössere Mannigfaltigkeit der Coagulationspunkte, wie dies bei der später zu erörternden Zusammensetzung des Kochsalzkörpers aus verschiedenen Fractionstheilen

begreiflich erscheint. Deutliche Unterschiede zwischen löslichem und unlöslichem Antheil ergaben sich nicht.

2. Der in 0,25%iger Natriumcarbonatlösung gelöste Körper gehört sowohl in Betreff der Ammonsulfat- als auch der Kaliumacetatfällung nur der Euglobulinfraction an: er unterscheidet sich von den beiden eben besprochenen ferner auch dadurch, dass er zwar bei der Verdauung keine Abspaltung unlöslicher Substanz zeigte, nachheriges Erwärmen bei 10%igem Salzsäuregehalt aber Flocken zur Abscheidung brachte, welche Phosphorreaction gaben, während der Xanthinnachweis unklar blieb. Durch Essigsäure und Kohlensäure entstanden Fällungen, die sich im Ueberschuss nicht lösten, durch zehnfache Verdünnung keine Trübung.

Die durch Sättigung mit Kochsalz erzielte Fällung deckt sich also mit keiner der bekannten Globulinfractionen vollkommen, vielmehr werden durch Kochsalz Antheile verschiedener Fractionen unlöslich gemacht: man ist demnach wohl im Stande, die II. Fraction in ihrem wasserlöslichen und unlöslichen Antheil vollkommen auszusalzen, aber nur unter Mitnahme eines Theiles der III. Fraction, gleichfalls in deren wasserlöslichen und unlöslichen Antheilen. Eine Bestätigung dieses Befundes brachte uns die Untersuchung zweier pathologischer Flüssigkeiten, aus denen der Kochsalzkörper mittelst Sättigung und Filtration entfernt und die hierauf längere Zeit dialysirt worden waren: in diesen Filtraten fand sich ebenfalls ein in Wasser löslicher und ein unlöslicher Antheil.

Tabelle IV.

Diese Tabelle zeigt deutlich, dass durch die Kochsalzfällung die II. Fraction vollständig entfernt resp. ausgefällt wurde, während die III. noch zum Theile ins Filtrat überging. In diesem konnte durch neuerliche Sättigung mit Kochsalz eine weitere Fällung nicht mehr erzielt werden.

In dem in Natriumcarbonatlösung übergehenden Antheil des dialysirten Filtrates wurde zwar ebenfalls durch Verdauung nichts unlöslich, wohl aber erzeugte Erwärmen mit 10%iger

Salzsäure Abscheidung von reichlichen Flocken, welche Phosphor- und Xanthinreaction ergaben. Ueberblicken wir die vorstehenden Befunde, so will es uns scheinen, dass das Kochsalz seinen Ruf als « regelloses » oder « unvollkommenes Globulinfällungsmittel insofern nicht ganz verdient, als es doch immer dieselben Globulinantheile zu fällen vermag und es — wenn auch erst nach wiederholter Umfällung — gelingt, den durch Kochsalz gewonnenen und dialysirten Körper durch Kochsalz wieder vollständig auszusalzen.

Essigsäurekörper.

Es wurde je ein Liter Rinder- und Pferdeserum mit der neunfachen Menge Wasser verdünnt, wobei eine flockige Trübung entstand,¹⁾ die sich nur sehr schwer abfiltriren liess: deshalb wurde — nach dem Vorgange früherer Autoren — gleich in die getrübe Flüssigkeit Essigsäure bis zu ganz schwach saurer Reaction eingetragen und Zunahme der Fällung beobachtet.¹⁾ Der Niederschlag wurde aufs Filter gebracht und mit schwach essigsauerm Wasser gewaschen: er bestand aus zwei Componenten: einem Theil, der schon durch Verdünnung des Serums ausgefallen war, und einem anderen durch Ansäuerung desselben erzeugten.

Die Trennung derselben, die — nach Vorversuchen — auf folgende Weise gelang, bestand darin, dass der Gesamtniederschlag so lange mit 0,6% iger Kochsalzlösung ausgezogen wurde, als noch Eiweiss in dieselbe überging: wir überzeugten uns, dass darin wohl durch Verdünnung, nicht aber durch Essigsäure fällbare Substanz gelöst war, und hatten somit die erstere im Filtrat, die letztere auf dem Filter. Dieser Niederschlag wurde nun behufs weiterer Reinigung in Wasser, dem möglichst wenig kohlensaures Natrium zugesetzt war, gelöst und zur Entfernung des essigsaueren Natriums dialysirt. Erst durch besonders ausgiebige Dialyse gegen destillirtes Wasser fiel — bis auf äusserste Spuren — die ganze Substanz aus.

1) Bei Rinderserum viel reichlicher als bei Pferdeserum.

Aufs Filter gebracht und gewaschen, wurde sie dann in ganz schwacher Sodalösung gelöst, neuerdings durch Essigsäure gefällt, der nunmehr entstandene Niederschlag abfiltrirt, neuerdings wie oben gelöst und den aus der Tabelle ersichtlichen Proben unterzogen.

Wir haben uns auch zu überzeugen gesucht, ob durch die Fällung mit Essigsäure das ganze unlösliche Globulin oder nur ein Theil gefällt werde, und haben zu diesem Ende das vom Essigsäurekörper befreite Serum¹⁾ einer längeren Dialyse unterzogen: hierbei stellte sich heraus, dass noch ein relativ reichlicher Theil des unlöslichen Globulins in Lösung geblieben war.

Tabelle V.

Die Tabelle zeigt, dass der durch Essigsäure fällbare Körper sich weder mit einer der bekannten Ammonsulfat-fractionen noch mit dem durch Kochsalz fällbaren Körper deckt, schon deshalb, weil Essigsäure nur im Wasser unlösliches Globulin fällt, das zum grössten Theile der Euglobulin-, zum geringsten der Pseudoglobulinfraction angehört.

Die Fällungsgrenzen des Essigsäurekörpers des Rinderserums lassen über die Zugehörigkeit zu beiden Fractionen keinen Zweifel, die des Pferdeserums haben allerdings nur die Werthe des Euglobulins gezeigt, was aber gewiss nur dem Umstande zuzuschreiben ist, dass dem Essigsäurekörper des Pferdeserums nur eine Spur Pseudoglobulin beigemischt ist, die in den Fällungsgrenzen nicht zum Ausdruck kommen kann. Die Bestätigung unserer Befunde ergab sich aus der Untersuchung der durch Ammonsulfat gewonnenen und dialysirten Fractionsantheile, auf ihre durch Essigsäure erzielbaren Fällungen. Hierbei stellte sich auch heraus, dass das unlösliche Euglobulin nur zum kleineren Theile, vom unlös-

¹⁾ Nachdem festgestellt worden war, dass durch neuerliche Ansäuerung eine weitere Fällung nicht mehr erzielt werden konnte.

lichen Pseudoglobulin überhaupt nur sehr spärliche Mengen durch Essigsäure gefällt werden.

Dementsprechend fällt auch Essigsäure vom unlöslichen Antheil des Kochsalzkörpers nur einen Bruchtheil. Bei der Verdauung des Essigsäurekörpers schieden sich ziemlich reichliche phosphorhaltige Flocken ab; es ist also sicher, dass es sich um einen Nucleokörper, wie es scheint, um Abspaltung eines Pseudonucleins handelt, da wir bei den — allerdings geringen Mengen — Xanthinbasenreaction nicht deutlich nachweisen konnten.

In ganz ähnlicher Weise wurde ein pleuritisches und ein peritonitisches Exsudat mit Essigsäure gefällt und, wie aus der Tabelle ersichtlich, ergab die Untersuchung der Fällungen ein den Blutseren analoges Resultat.

Kohlensäurekörper.

Die Darstellung geschah auf folgende Weise: Ein Liter Serum wurde mit neun Litern destillirten Wassers verdünnt, wobei eine flockige Trübung entstand; da Filtrationsversuche kein günstiges Ergebniss hatten, wurde in die getrübe Flüssigkeit¹⁾ Kohlensäure durch mehrere Stunden eingeleitet; der nunmehr reichlichere Niederschlag wurde abfiltrirt, mit kohlensäurehaltigem Wasser gewaschen und in 0,6% iger Kochsalzlösung zu lösen versucht, in welche thatsächlich ein Theil der Fällung überging. Zur Entscheidung der Frage, ob diese Lösung das durch Verdünnung unlöslich gewordene oder das durch Kohlensäure gefällte Globulin enthalte, wurde Kohlensäure eingeleitet, was nur eine minimale Zunahme der Opalescenz zur Folge hatte. Wurde die Lösung aber zehnfach verdünnt, so fiel ein reichlicher flockiger Niederschlag aus, der sich auf nunmehriges Einleiten von Kohlensäure wieder vollkommen löste. Es dürfte daraus geschlossen werden, dass der in der Kochsalzlösung gelöste Körper nicht identisch sei mit dem auf dem Filter verbliebenen, dass der erstere der

1) Nach dem Vorgange früherer Autoren.

durch Verdünnung unlöslich gewordene, der letztere der gesuchte Kohlensäurekörper sei.¹⁾

Dieser wurde nun vollständig durch eine möglichst schwache Natriumcarbonatlösung gelöst und in dieser Lösung erzeugte Kohlensäure nunmehr einen massigen Niederschlag.²⁾ Dieser wurde nun in möglichst wenig schwacher Sodalösung gelöst, um mit einer möglichst concentrirten Eiweisslösung — ohne wesentlichen Ueberschuss von Natriumcarbonat — arbeiten zu können.

Mit Rücksicht auf die geringe Ausbeute, welche die Fällung mit Kohlensäure überhaupt ergibt, mussten wir darauf verzichten, den ganzen Körper zu dialysiren: wir haben uns aber bei jedem der Sera an einer Probe überzeugt, dass der ganze Körper durch genügend lange Dialyse gegen destillirtes Wasser wieder gefällt wurde.

Mit den schwach alkalischen Eiweisslösungen wurden die in der folgenden Tabelle angeführten Proben angestellt.

Analog wie bei den Essigsäurekörpern wurden auch hier die vom Kohlensäurekörper befreiten Serumfiltrate³⁾ einer längeren Dialyse unterworfen und festgestellt, dass auch Kohlensäure nicht im Stande ist, das gesammte unlösliche Globulin zu fällen.

Tabelle VI.

Es zeigte sich, dass der durch Kohlensäure fällbare Körper in seinem Verhalten gegenüber Wasser, Ammonsulfat, Kochsalz und Magnesiumsulfat vom Essigsäurekörper sich wohl

1) Es sei nebenbei bemerkt, dass wir uns durch einen speciellen Versuch von der Richtigkeit dieser Annahme dadurch überzeugt haben, dass wir eine durch zehnfache Verdünnung getrübte kleine Serumportion auf einen Kochsalzgehalt von 0,6% brachten, worauf sofort vollkommene Aufhellung entstand; Einleitung von Kohlensäure ergab nunmehr nur eine ganz geringe Trübung.

2) Zehnfache Verdünnung keine, hingegen Verdünnung und nachheriges Einleiten von Kohlensäure sehr starke Trübung.

3) Nachdem festgestellt worden war, dass neuerliches Einleiten von Kohlensäure keine weitere Fällung erzeugte.

nicht unterscheidet, sich aber doch nicht vollkommen mit demselben deckt. Denn wenn man nach Entfernung des Kohlensäurekörpers das Serumfiltrat noch mit Essigsäure schwach ansäuert, erhält man noch eine ganz ansehnliche Fällung.

Es bleibt fraglich, ob diese Incongruenz der beiden Körper nur einen quantitativen oder auch einen qualitativen Unterschied in sich schliesst. Für die erstere Annahme spricht der Umstand, dass weder bei Pferde- noch bei Rinder-serum mehr als Spuren des unlöslichen Pseudoglobulins durch Kohlensäure gefällt werden, die daher auch keinen Ausschlag bei den Fällungsgrenzen des Körpers geben können. Für eine eventuelle Verschiedenheit der beiden Körper würde hingegen das ungleiche Verhalten gegenüber der Verdauung sprechen, da bei dem Kohlensäurekörper durch diese keine Abscheidung einer Nucleoverbindung erfolgt, sondern erst durch nachheriges Erwärmen bei 10% Salzsäuregehalt.

Zusammenfassung.

Nach früheren und unseren Untersuchungen gestaltet sich die Frage nach der Gliederung der Serumglobuline folgendermaassen:

1. Die Globuline werden — als Ganzes — durch Sättigung mittelst Magnesiumsulfat oder Halbsättigung mittelst Ammoniumsulfat aus dem Serum quantitativ ausgefällt.

2. Diese Einheit zerfiel nach den Eingangs citirten Untersuchungen in verschiedene Gruppen, je nachdem man die Globuline nach ihrem Wasserlöslichkeitsvermögen oder nach ihrer Aussalzbarkeit durch verschiedene Concentrationen an Ammonsulfat (Kaliumacetat) zu zerlegen versuchte. Es kam einerseits zur Scheidung in einen wasserlöslichen und in einen wasserunlöslichen Theil,¹⁾ andererseits in einen durch Drittel-

1) Marcus l. c.

sättigung mit Ammonsulfat¹⁾ (Halbsättigung mit Kaliumacetat)²⁾ und in einen anderen erst bei Halbsättigung mit Ammonsulfat aussalzbaren.

3. Nach unseren Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass die zwei Gruppen, in die die Globuline durch Dialyse zerfallen — entgegen der bisherigen Ansicht — keineswegs mit den beiden durch fractionirte Fällung mit Ammonsulfat zu erzielenden, Euglobulin und Pseudoglobulin, identisch sind: vielmehr konnten wir feststellen, dass sowohl dieses wie jenes einen in Wasser löslichen und einen in Wasser unlöslichen Antheil besitzt.

4. Fand sich noch eine weitere Gliederung dadurch, dass sich aus dem in Wasser Unlöslichen nur ein Theil durch Kochsalz in Lösung bringen liess, während ein anderer — an Substanz geringerer — erst in Natriumcarbonatlösung übergang; dieser letztere liess einen Nucleokörper abspalten, so dass er überhaupt nicht mehr als reines Globulin aufzufassen ist, weshalb wir ihn in der weiteren Darstellung als « Nucleoglobulin » bezeichnen wollen.

Wenn wir vorläufig von diesem Körper absehen, so verbleiben uns also vier neu zu benennende Gruppen:

- a) das wasserunlösliche Euglobulin,
- b) das wasserlösliche Euglobulin,
- c) das wasserunlösliche Pseudoglobulin,
- d) das wasserlösliche Pseudoglobulin.

5. Auch durch Kochsalz, Essigsäure und Kohlensäure lässt sich eine Theilung des Globulincomplexes durchführen und die hierdurch abgetrennten Substanzen decken sich weder mit den durch Wasser noch mit den durch Ammonsulfat erzielten Gruppen, sind vielmehr nur Theile derselben, allerdings — für die betreffenden Fällungsmittel — immer die gleichen:

Kochsalz fällt das lösliche und unlösliche Euglobulin ganz, vom löslichen und unlöslichen Pseudoglobulin nur einen Theil aus.

1) Pick l. c.

2) Spiro l. c.

Essigsäure und Kohlensäure fällen einen Theil des unlöslichen Eu- und ganz geringe Mengen des unlöslichen Pseudoglobulins.

Obwohl also gewisse Antheile der Globuline auch in starken Concentrationen ganz unempfindlich gegen die zuletzt erwähnten Fällungsmittel sind, während andere in relativ geringerer Concentration stets durch sie gefällt werden, halten wir uns mangels genauerer Untersuchungen nicht für berechtigt, die durch Kochsalz, Essigsäure und Kohlensäure abtrennbaren Globulinantheile als eigene Körper zu betrachten.

Im Gegensatz dazu müssen wir an der Individualität der Ammonsulfatkörper festhalten, obwohl es uns bisher nur gelang, sie durch Dialyse und ihr verschiedenes Verhalten bestimmten Lösungsmitteln gegenüber von einander zu trennen. Maassgebend hierfür ist uns, dass die nach der Dialyse gelösten Theile auch nach erfolgter Isolirung und fortgesetzter Dialyse immer wieder gelöst bleiben, die durch Dialyse in Wasser unlöslich gewordenen — ob sie nun später durch Kochsalz- oder Natriumcarbonat in Lösung gebracht worden sind — bei neuerlicher Dialyse wieder ausfallen, dass sie charakteristische Fällungsgrenzen und gewisse Verschiedenheiten bezüglich ihrer Coagulationstemperaturen aufweisen. Schwierigkeiten in dieser Auffassung bieten uns allerdings jene Antheile, die wir früher als Nucleoglobuline bezeichnet haben.

Es kann sich bei ihnen nicht vielleicht nur um denaturirte Theile der normalen Globuline handeln, wie dies nach einer Bemerkung Hammarsten's¹⁾ angenommen werden könnte, welcher angibt, dass Globuline, die längere Zeit mit Wasser in Berührung stehen, ihre Löslichkeit in Kochsalzlösung verlieren, da wir, wie bereits erwähnt, in ihnen regelmässig einen Nucleokörper abspalten konnten. Es handelt sich demnach nicht um denaturirtes Globulin, sondern um eine Nucleinverbindung, welche im Serum entweder durch dessen Gehalt

¹⁾ Hammarsten, Lehrbuch der physiolog. Chemie, 1899, S. 30.

an Alkali oder auch durch einen anderen Eiweisskörper in Lösung erhalten wird.

Gerade mit dieser letzteren Annahme wäre uns der auffallende Befund leichter erklärlich, dass der erst durch Natriumcarbonat in Lösung gehende Antheil der Pseudoglobulinfraction,¹⁾ wenn er durch Dialyse und Befreiung von dem kochsalzlöslichen Antheil isolirt ist, Fällungsverhältnisse und Fällungsgrenzen des Euglobulins zeigt.

Unter Zugrundelegung obiger Vorstellung könnten wir von einem einzigen Nucleokörper (Nucleoglobulin) des Serums sprechen, der wohl dem unlöslichen Euglobulin angehört, von dem aber ein Theil durch die Gegenwart gewisser Serumbestandtheile in das unlösliche Pseudoglobulin gelangen kann. Eine ähnliche Anschauung hätte auch in der Beurtheilung der beiden löslichen Antheile der II. und III. Fraction sowohl, wie auch deren in Kochsalzlösung löslichen Antheile Platz greifen können, wir hätten also annehmen können, dass es auch nur ein lösliches und ein unlösliches Globulin gebe resp. dass das von uns festgestellte lösliche Euglobulin eigentlich dem Pseudoglobulin, das unlösliche Pseudoglobulin dem Euglobulin angehöre und ihr Erscheinen in den anderen Fractionen ebenfalls nur von der Gegenwart hypothetischer Substanzen im nativen Serum bedingt sei.

Wir haben uns aber überzeugt, dass auch nach wiederholter Umfällung und Reinigung die betreffenden Fractionen antheile die Fällungsgrenzen jener Fraction behalten, mit der sie aus dem nativen Serum ausgefallen waren.

Dazu kommt noch, dass auch die Coagulationstemperaturen, wenn auch nicht an und für sich entscheidende, so doch gewisse, nicht zu vernachlässigende Unterschiede zeigen und dass sowohl die löslichen als die unlöslichen Antheile untereinander Differenzen bezüglich ihrer Aussalzbarkeit durch Kochsalz und Kaliumacetat aufweisen, insofern der lösliche Antheil des Eu-

¹⁾ Spiro fand nur «den albuminähnlichen Stoff (das Pseudoglobulin) stets etwas phosphorhaltig.»

globulins durch ebenerwähnte Fällungsmittel ganz, der des Pseudoglobulins durch Kaliumacetat (Halbsättigung) gar nicht, durch Kochsalz nur zum Theil, der unlösliche Antheil des Euglobulins ganz, der des Pseudoglobulins durch Kaliumacetat gar nicht, durch Kochsalz nur zum Theile gefällt wird.

Als weiterer Unterschied ergab sich, dass im unlöslichen Euglobulin durch Essigsäure und Kohlensäure eine ziemlich beträchtliche, im unlöslichen Pseudoglobulin nur minimale Fällung zu erzielen ist.

Unsere Annahme von der Vielheit der ursprünglich als einheitlich betrachteten Fractionen fand eine weitere Stütze an Beobachtungen, die Obermayer und Pick gelegentlich von Studien über die Immunkörper des Eiklars im hiesigen Institute gemacht und seither publicirt haben.¹⁾ Sie sagen: «das Globulin der Autoren liess sich in mindestens vier verschiedene Körper zerlegen, von denen zwei, das Ovimumucin und Dysglobulin, in Wasser unlöslich und zwei, das Euglobulin und Pseudoglobulin, in Wasser löslich sind».

Der aus den eben citirten und unseren Untersuchungen sich ergebenden Nothwendigkeit einer Neubenennung glauben wir am besten dadurch Rechnung zu tragen, dass wir die von Hofmeister vorgeschlagenen Bezeichnungen mit folgenden Modificationen beizubehalten empfehlen:

Fraction II (fällbar durch Drittelsättigung mittelst Ammonsulfat und Halbsättigung mittelst Kaliumacetat) werde als die Fraction «der Euglobuline»,

Fraction III (fällbar durch Halbsättigung mittelst Ammonsulfat) als die Fraction «der Pseudoglobuline» bezeichnet.

Den löslichen Antheilen der II. und III. Fraction bleiben die Bezeichnungen als «Euglobulin» und «Pseudoglobulin» schlechtweg vorbehalten²⁾, den unlöslichen werde die Silbe «Para» vorgesetzt. Es ergäbe sich daraus folgendes Schema:

1) F. Obermayer und E. P. Pick. Biologisch-chemische Studie über das Eiklar. Ein Beitrag zur Immunitätslehre. Wiener klinische Rundschau 1902, Nr. 15.

2) Wir folgen hierbei der Nomenclatur von Obermayer und Pick.

II. Fraction «die Euglobuline» (Drittelsättigung mit Ammonsulfat)	a) in Wasser unlöslicher Theil: «Para-Euglobulin» b) in Wasser löslicher Theil: «Euglobulin».
III. Fraction «die Pseudoglobuline» Halbsättigung mit Ammonsulfat	a) in Wasser unlöslicher Theil: «Para-Pseudoglobulin», b) in Wasser löslicher Theil: «Pseudoglobulin».

Ausserhalb dieses Schemas stünde unser «Nucleoglobulin».

Es könnten freilich Zweifel über den Werth der Abtrennung von Eiweissgruppen auftreten, deren Grenzen so labil sind, wie z. B. die jenes Nucleoglobulinantheiles, der eigentlich auch dem Euglobulin angehört und doch mit dem Pseudoglobulin aus dem Serum ausfällt. Sind diese Gruppen nach unseren bisherigen Kenntnissen auch weit entfernt von dem Charakter chemischer Individuen, so sprechen doch, insbesondere in den letzten Jahren gemachte, biologische Erfahrungen für den praktischen Werth solcher Trennungen. Wir verweisen in dieser Beziehung nur auf die Eingangs erwähnten Beobachtungen von Seng, dass das «unlösliche Globulin» kein Diphtherie-Antitoxin enthalte, andererseits auf die durch E. P. Pick gefundene Localisation desselben und des Tetanusantitoxins im Pseudoglobulin, auf Spiro's und Fuld's Befunde der labenden Fähigkeit der Euglobulin-, der labhemmenden der Pseudoglobulinfrac-tion, auf Przibram's Angaben, dass Euglobulin die Fällung des Myosins befördert, Pseudoglobulin sie hemmt, und die von Obermayer und Pick mitgetheilte Thatsache, dass das Präcipitin des Eiklars vorwiegend an dem Dysglobulin haftet. Hierdurch scheint uns der Nutzen solcher Abgrenzungen genügend erhärtet und die Labilität derselben in unseren Augen nur ein Moment, das zum genaueren Studium dieser Verhältnisse auffordert.

Wenn wir lediglich unsere Coagulationspunkte betrachten, so mag ihre Vielheit als Aufforderung gelten, die Zerlegung der Globuline noch weiter zu versuchen, und hierzu dürften

sich Substanzen des thierischen Stoffwechsels — insbesondere des pathologischen — besser eignen, als die bisher verwendeten des analytischen Reagentienschatzes. Ist es doch z. B. E. P. Pick nur dadurch gelungen, das Euglobulin vom Pseudoglobulin, deren Fällungsgrenzen ohne Intervall in einander übergehen, zu trennen, dass ihm in der Antitoxinwirkung ein feines Reagens sich bot. Gewiss dürfte die Erkenntniss der Vielheit der Eiweisskörper dazu beitragen, das Verständniss der Vielfältigkeit biologischer Aeusserungen des Organismus zu erleichtern, wie sie sich z. B. in den in jüngster Zeit gefundenen Serumphänomenen uns bieten.

Tabelle I. (1. Blatt.)

II. Fractionen (Drittelsättigung mit Ammonsulfat) Euglobulin.

	in Wasser löslich							in Wasser unlöslich													
	Asitesflüssigkeiten			Thierblutsera				in 0.6%iger Kochsalzlösung gelöst						in 0.25%iger Natriumcarbonatlösung gelöst							
	einmal gefällt		viermal gefällt					einmal gefällt		viermal gefällt				einmal gefällt		viermal gefällt					
	1. Fall von Cirrhosis hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	2. Fall von Cirrhosis hepatis	Pferdeserum I	Pferdeserum II	Rinderserum I	Rinderserum II	1. Fall von Cirrhosis hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	2. Fall von Cirrhosis hepatis	Pferdeserum I	Pferdeserum II	Rinderserum I	Rinderserum II	1. Fall von Cirrhosis hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	2. Fall von Cirrhosis hepatis	Pferdeserum I	Pferdeserum II	Rinderserum I	Rinderserum II
Drittelsättigung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	—	starke Fällung	—	starke Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	—	starke Fällung	—	starke Fällung	—	starke Fällung	—	starke Fällung	—	starke Fällung	—
Halbsättigung	geringe Fällung	geringe Fällung	Spur einer Fällung	Spur	—	Spur	—	ziemlich starke Fällung	geringe Fällung	Spuren	—	Spur	—	Spur	—	Spur	—	keine Fällung	—	keine Fällung	—
Ganzsättigung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	—
Drittelsättigung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	—	mässige Fällung	—	mässige Fällung	—	keine Fällung	—	—	—	—	—
Halbsättigung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	Spur	—	mässige Fällung	—	keine Fällung	keine Fällung	Spur	—	mässige Fällung	—	Spur	—	spärliche Fällung	—	—	—	—	—
im Filtrat der Halbsättigung coagulabel	mässige Coagulation	mässige Coagulation	mässige Coagulation	mässige Coagulation	—	starke Coagulation	—	starke Coagulation	starke Coagulation	mässige Coagulation	—	Opalescenz	—	schwache Coagulation	—	starke Coagulation	—	—	—	—	—
Drittelsättigung	keine Fällung	keine Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	keine Fällung	keine Fällung	mässige Fällung	—	mässige Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	—	keine Fällung	—	keine Fällung	—
Halbsättigung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	geringe Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	Spur	—	Spur	spärliche Fällung	spärliche Fällung	Spur	Spur	—	starke Fällung	—	reichliche Fällung	—
im Filtrat der Halbsättigung coagulabel	starke Coagulation	mässige Coagulation	schwache Coagulation	keine Coagulation	keine Coagulation	keine Coagulation	keine Coagulation	starke Coagulation	mässige Coagulation	keine Coagulation	—	keine Coagulation	keine Coagulation	keine Coagulation	keine Coagulation	keine Coagulation	—	keine Coagulation	—	keine Coagulation	—
Sättigung mit Magnesiumsulfat	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	—	fällt Alles aus	—	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	—	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	—	fällt Alles aus	—	fällt Alles aus	—	fällt Alles aus	—
Sättigung mit Kochsalz	starke Fällung im Filtrat	starke Fällung im Filtrat	starke Fällung im Filtrat	starke Fällung im Filtrat	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	—	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	mässige Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	—	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	—	starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	—

wurde wegen zu geringen Eiweissgehaltes nicht untersucht

wurde wegen geringen Eiweissgehaltes nicht untersucht

wurde wegen geringen Eiweissgehaltes nicht untersucht

wurde wegen geringen Eiweissgehaltes nicht untersucht

Tabelle III. (1. Blatt)

Kochsalzkörper.

	in Wasser löslich							in Wasser unlöslich													
	Asche-Eigenschaften				Thierblutsera			in 0.6%iger Kochsalzlösung gelöst							in 0.25%iger Natriumcarbonatlösung gelöst						
	einmal gefällt	zweimal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	viermal gefällt			einmal gefällt	dreimal gefällt	zweimal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	viermal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	zweimal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	viermal gefällt		
	1. Fall von Carcinoma hepatis	2. Fall von Carcinoma hepatis	3. Fall von Carcinoma hepatis	4. Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Peritonitis tuberc.	Pferdeserum	Rinderserum	1. Fall von Carcinoma hepatis	2. Fall von Carcinoma hepatis	3. Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Peritonitis tuberc.	Pferdeserum	Rinderserum	1. Fall von Carcinoma hepatis	2. Fall von Carcinoma hepatis	3. Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Peritonitis tuberc.	Pferdeserum	Rinderserum
Doppelbestimmung	mässige Fällung	ziemlich starke Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung	spärliche Fällung	mässige Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	sehr starke Fällung	sehr starke Fällung	sehr starke Fällung
Halbbestimmung	keine Fällung	schwache Fällung	stärkere Fällung	stärkere Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	schwache Fällung	starke Fällung	spärliche Fällung	mässige Fällung	spärliche Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung
Quantitative Bestimmung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung
Doppelbestimmung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung
Halbbestimmung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	ziemlich starke Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	ziemlich starke Fällung	keine Fällung	keine Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	starke Fällung	keine Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung
Quantitative Bestimmung des Filtrates nach dem Kochsalz	keine Coag.	starke Coag.	starke Coag.	starke Coag.	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation	starke Coagulation
Doppelbestimmung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	spärliche Fällung	ziemlich starke Fällung	starke Fällung	spärliche Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung
Halbbestimmung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	starke Fällung	spärliche Fällung	schwache Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	mässige Fällung	starke Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung
Quantitative Bestimmung des Filtrates nach dem Kochsalz	mässige Coag.	mässige Coag.	mässige Coag.	mässige Coag.	mässige Coagulation	ziemlich schwache Coagulation	ziemlich schwache Coagulation	starke Coagulation	schwache Coagulation	schwache Coagulation	starke Coagulation	ziemlich starke Coagulation	schwache Coagulation	ziemlich starke Coagulation	Spur einer Coagulation	Spur einer Coagulation	Spur einer Coagulation	Spur einer Coagulation	Spur einer Coagulation	Spur einer Coagulation	Spur einer Coagulation
Sättigung des Filtrates nach dem Kochsalz	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus	fällt Alles aus
Sättigung des Filtrates nach dem Kochsalz	ziemlich starke Fällung (im Filtrat keine Coag.)	starke Fällung (im Filtrat mässige Coag.)	starke Fällung (im Filtrat keine Coag.)	ziemlich starke Fällung (im Filtrat starke Coag.)	starke Fällung (im Filtrat starke Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	ziemlich starke Fällung (im Filtrat starke Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat ziemlich starke Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat Spur Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat Spur Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat Spur Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat Spur Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat Spur Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat keine Coagulation)

wegen geringen Eiweissgehaltes nicht untersucht

wegen geringen Eiweissgehaltes nicht untersucht

Tabelle III. (2. Blatt.)

Kochsalzkörper.

	in Wasser löslich						in Wasser unlöslich														
	Ausschüttelungen				Thierblutsera		in 0,6%iger Kochsalzlösung gelöst							in 0,25%iger Natriumcarbonatlösung gelöst							
	einmal gefällt	dreimal gefällt	zweimal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	viermal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	zweimal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	viermal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	zweimal gefällt	einmal gefällt	dreimal gefällt	viermal gefällt			
	1. Fall von Cirrhosis hepatis	2. Fall von Cirrhosis hepatis	3. Fall von Cirrhosis hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Peritonitis tuberc.	Pferdeserum	Rinderserum	1. Fall von Cirrhosis hepatis	2. Fall von Cirrhosis hepatis	3. Fall von Cirrhosis hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Peritonitis tuberc.	Pferdeserum	Rinderserum	1. Fall von Cirrhosis hepatis	2. Fall von Cirrhosis hepatis	3. Fall von Cirrhosis hepatis	Fall von Carcinoma hepatis	Fall von Peritonitis tuberc.	Pferdeserum	Rinderserum
schwache Anmerkung	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	starke Trübung	starke Trübung	—	—	—	—	—	flockige Fällung	flockige Fällung	
	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	löslich	löslich	—	—	—	—	—	löslich nicht	löslich nicht	
starke Anmerkung	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	starke Trübung	starke Trübung	—	—	—	—	—	starke Trübung	flockige Fällung	
	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	löslich nicht	löslich nicht	—	—	—	—	—	löslich nicht	löslich nicht	
Fällung	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	starke Trübung	starke Trübung	—	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	
fauceres Einleiten	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	löslich nicht	löslich nicht	—	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	
Fällung	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	starke Trübung	starke Trübung	—	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	
Einleiten von Kohlensäure	—	—	—	—	keine Fällung	keine Fällung	—	—	—	—	—	löslich	löslich	—	—	—	—	—	Trübung	Trübung	
durch die Verdünnung unlöslich geworden	nichts	nichts	nichts	—	nichts	nichts	nichts	nichts	nichts	nichts	—	nichts	nichts	nichts	nichts	—	—	—	nichts	nichts	nichts
nach der Verdünnung bei 10% HCl-Gehalt klar	nichts	nichts	nichts	—	nichts	nichts	nichts	nichts	nichts	nichts	—	nichts	nichts	nichts	nichts	—	—	—	reichliche Flocken, die Phosphor und Xanthinbasen enthalten	reichliche Flocken, die Phosphor deutlich, Xanthinbasen nicht enthalten	reichliche Flocken, die Phosphor deutlich, Xanthinbasen nicht enthalten

wegen geringen Eiweißgehaltes nicht untersucht

wegen geringen Eiweißgehaltes nicht untersucht

Tabelle IV.

Kochsalzkörperfiltrate (nach vierwöchentlicher Dialyse).

		in Wasser löslich		in Wasser unlöslich			
				in 0,6%iger Kochsalzlösung gelöst		in 0,25%iger Natriumcarbonatlösung gelöst	
		Cirrhosis hepatis	Peritonitis tuberc.	Cirrhosis hepatis	Peritonitis tuberc.	Cirrhosis hepatis	Peritonitis tuberc.
Ammoniumsulfat	Drittelsättigung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung
	Halbsättigung	starke Fällung	starke Fällung	mässige Fällung	mässige Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung
Kaliumacetat	Drittelsättigung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung
	Halbsättigung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung
	Sättigung mittelst Kochsalz	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung	keine Fällung
	Sättigung mittelst Magnesiumsulfat	starke Fällung	starke Fällung	ziemlich starke Fällung	ziemlich starke Fällung	spärliche Fällung	spärliche Fällung
Verdauung	durch die Verdauung unlöslich geworden	nichts	nichts	nichts	nichts	nichts	nichts
	nach der Verdauung mit 10% HCl-Gehalt erwärmt	nichts	nichts	nichts	nichts	reichliche Flocken, welche Phosphor- und Xanthinbasen-reaction geben	reichliche Flocken, welche Phosphor- und Xanthinbasen-reaction geben.

Tabelle V.

Essigsäurekörper und -Filtrate.

		peritonitisches Exsudat	pleuritisches Exsudat		Pferdeserum		Rinderserum	
		Essigsäurefällung	Fällung	Filtrat	Fällung	Filtrat	Fällung	Filtrat
Ammonsulfat	Drittelsättigung	sehr reichliche Fällung	sehr reichliche Fällung	mässig reichliche Fällung	starke Fällung	mässig reichliche Fällung	starke Fällung	mässig reichliche Fällung
	Halbsättigung	Spur einer Fällung	Spur einer Fällung	sehr starke Fällung	Spur einer Fällung	sehr starke Fällung	mässig reichliche Fällung	starke Fällung
	Ganzsättigung	keine Fällung	keine Fällung	sehr starke Fällung	keine Fällung	sehr starke Fällung	keine Fällung	sehr starke Fällung
	Sättigung mit Kochsalz	sehr starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat starke Coagulation)	sehr starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat sehr starke Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat schwache Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat mässige Coagulation)
	Sättigung mit Magnesiumsulfat	fällt Alles aus	fällt Alles aus	sehr starke Fällung (im Filtrat starke Coagulation)	fällt Alles aus	sehr starke Fällung (im Filtrat sehr starke Coagulation)	fällt Alles aus	sehr starke Fällung (im Filtrat starke Coagulation)
Verdauung	durch die Verdauung unlöslich geworden	reichliche Flocken, die Phosphor-, aber keine Xanthinreaction geben	reichliche Flocken, die Phosphor-, aber keine Xanthinreaction geben	—	reichliche Flocken, die Phosphor-, aber keine Xanthinreaction geben	—	reichliche Flocken, die Phosphor-, aber keine Xanthinreaction geben	—
	nach der Verdauung bei 10° HCl-Gehalt erwärmt	nichts	nichts	—	nichts	—	nichts	—
	Fällungsgrenzen	—	—	—	bei ganz schwach alkal. Reaction und 0,8% Eiweissgehalt untere Gr.: 2,6 obere Gr.: 3,4	—	bei ganz schwach alkal. Reaction und 0,6% Eiweissgehalt untere Gr.: 2,8 obere Gr.: 4,2	—
Verhalten bei Dialyse		—	fällt nach längerer Dialyse vollständig aus	nach längerer Dialyse mässig reichliche Fällung	fällt bei längerer Dialyse vollständig aus	nach längerer Dialyse mässig reichliche Fällung	fällt bei längerer Dialyse vollständig aus	nach längerer Dialyse spärliche Fällung

Tabelle VI.
 Kohlensäurekörper und -Filtrate.

		Pferdeserum		Rinderserum	
		Kohlensäurefällung	Serumfiltrat (vor der Dialyse)	Kohlensäurefällung	Serumfiltrat (vor der Dialyse)
Ammonsulfat	Drittelsättigung	starke Fällung	reichliche Fällung	starke Fällung	starke Fällung
	Halbsättigung	Spur einer Fällung	sehr starke Fällung	spärliche Fällung	sehr starke Fällung
	Ganzsättigung	keine Fällung	sehr starke Fällung	keine Fällung	sehr starke Fällung
Sättigung mit Kochsalz		starke Fällung (im Filtrat Spur einer Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat sehr starke Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat sehr spärliche Coagulation)	starke Fällung (im Filtrat sehr starke Coagulation)
Sättigung mit Magnesiumsulfat		fällt Alles aus	starke Fällung (im Filtrat sehr starke Coagulation)	fällt Alles aus	starke Fällung (im Filtrat sehr starke Coagulation)
Fällung durch Essigsäure	bei schwacher Ansäuerung	—	ziemlich starke Fällung	—	ziemlich reichliche Fällung
	bei starker Ansäuerung	—	löst sich	—	löst sich
Verdauung	durch die Verdauung unlöslich geworden	nichts	—	nichts	—
	nach der Verdauung bei 10% HCl-Gehalt erwärmt	reichl. feine Flocken, die Phosphor enthalten. Xan- thinbasenreact.: unklar	—	reichliche Flocken, die Phosphor- und Xanthin- basenreaction geben	—
Fällungsgrenzen		bei ganz schwach al- kalischer Reaction und 0,8% Eiweissgehalt unt. Gr.: 2,8, ob. Gr.: 3,6	—	bei ganz schwach al- kalischer Reaction und 0,7% Eiweissgehalt unt. Gr.: 2,8, ob. Gr.: 3,6	—
Verhalten bei Dialyse		fällt bei längerer Dialyse vollständig aus	nach längerer Dialyse ist ziemlich viel ausgefallen	fällt bei längerer Dialyse vollständig aus	nach längerer Dialyse ist ziemlich viel ausgefallen.

