

das gleiche gesagt werden. Das Haar des Säugetieres besitzt zwar sinnesorganartige Funktionen, wenigstens als Reizübermittler, ganz wie die Tastborste der Agamen, es entwickelt sich auch über einer nach seiner Abstoßung weiterbestehenden Papille, es wechselt zweimal jährlich wie das Agamentastorgan unter Neubildung auf derselben Papille. Aber seine Funktion als Reizübermittler wirkt nicht auf ein in der Papille angeordnetes Nervenendorgan, sondern auf Nervenendigungen, die in der Follikelwand selbst liegen. Alle diese Unterschiede sind keine zwingenden Gründe, um die von *Preiß* ausgesprochene Anschauung zurückzuweisen, aber sie genügen, um die Hypothese von *Preiß* noch nicht als bindend bewiesen anzusehen.

Soviel können wir aber sagen, daß wir gesehen haben, daß die Haut noch jetzt lebender Reptilien imstande ist, auf ihren Schuppen Gebilde zu schaffen, welche den Säugetierhaaren weitgehend morphologisch vergleichbar sind. Dies ist ein großer Schritt vorwärts in unserer Erkenntnis von der Entstehung des tierischen Haares.

Die Anwendung der Interferometrie auf biologische Probleme.

Von Paul Hirsch, Jena.

Physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden erfreuen sich auch in der Biologie in neuester Zeit einer immer größer werdenden Anwendung. Bei biologischen Untersuchungen, wo man vielfach wegen der geringen Flüssigkeitsmengen oder, allgemeiner ausgedrückt, Substanzmengen sowie wegen der Natur der in Frage kommenden Stoffe mit ganz anderen Methoden, als sie sonst dem Chemiker üblich sind, arbeiten muß, stellen sie äußerst brauchbare Untersuchungsmethoden dar, deren Anwendung sich immer mehr und mehr einbürgern wird. In den letzten Jahren hat sich die Refraktometrie unter diesen physikalisch-chemischen Verfahren ein größeres Anwendungsfeld erobert. Ich möchte an dieser Stelle einige Ausführungen über Untersuchungen machen, denen die Anwendung des Interferometers zugrunde liegt.

Die Messungen mit dem Flüssigkeitsinterferometer, das wir *F. Löwe* verdanken, und das von der Firma Carl Zeiss in Jena hergestellt wird, beruhen darauf, daß durch den Unterschied der Lichtbrechung bzw. Konzentration einer zu untersuchenden Lösung und einer Vergleichslösung Interferenzstreifen wandern. Die Haupteigenschaftlichkeit des Interferometers besteht darin, daß durch eine besondere Einrichtung eine unveränderliche, normale Interferenzerscheinung, die als Nullage dient, hervorgerufen wird. Die oben erwähnte Wanderung der Interferenzstreifen läßt sich gegenüber der Nullage leicht feststellen, sie kann durch eine Kompensatoreinrichtung ausgeglichen und in ihrer Größe bestimmt werden.

Wir führen also mit dem Interferometer Differenzmessungen aus. Besonders hervorzuheben ist bei den Messungen mit dem Interferometer die Tatsache, daß das Messen mit dem Kompensator dadurch ausgezeichnet ist, daß es eine sogenannte Nullmethode darstellt. Eine Nullmethode führt erfahrungsgemäß bei den verschiedensten Beobachtern durch Ausschaltung jeglichen subjektiven Beobachtungsfehlers zu genauen und gleichmäßigen Resultaten.

Wegen der Interferometereinrichtung, Genauigkeit der Messungen sowie näheren Angaben über das ganze Interferometrieproblem, soweit physikalische Einzelheiten in Frage kommen, sei auf die am Schlusse angeführte Literatur verwiesen.

Durch die bekannten Arbeiten von *Emil Abderhalden* wissen wir, daß der tierische Organismus auf eine parenterale Zufuhr körperl. bzw. blutfremder Substanzen mit der Mobilmachung von Abwehrfermenten antwortet. Durch die Beobachtungen von *Schmorl*, *Weichardt*, *Freund* und anderen Forschern wußte man bereits, daß bei der Schwangerschaft blutfremde aber art eigene Stoffe im Blut kreisen können, die man als in die Blutbahn verschleppte Zelltrümmer von Chorionzotten ansah, und die nach *Abderhaldens* Theorie die Bildung von spezifischen auf Plazentaeiweiß eingestellten Abwehrfermenten im Blute zur Folge haben mußten. Die Weiterverfolgung dieser Fragestellung ergab nun, daß nicht nur durch gelegentlich losgerissene und in die Blutbahn verschleppte Trümmer von Chorionzottenzellen die Bildung der Abwehrfermente bewirkt werden könne, sondern, daß auch Zerfallsprodukte oder Stoffwechselprodukte der Plazenta genügen, um Abwehrfermente hervorzurufen. Auf diese durch Versuche als richtig erwiesene Anschauung gründet sich die von *Abderhalden* angegebene Serodiagnostik der Schwangerschaft¹⁾. Die ihr zugrunde liegenden Überlegungen wurden auf andere Probleme übertragen, und heute ist die *Abderhalden-Reaktion* bereits eine diagnostisch viel benutzte klinische Untersuchungsmethode bei Störungen an endokrinen Drüsen sowie bei Carcinom usw. geworden.

Zum Nachweis der Abwehrfermente standen mehrere Methoden zur Verfügung, von denen das Dialysierverfahren sowie die optische Methode die ältesten sind. Eine genaue quantitative Methode zum Nachweis der Abwehrfermente konnte ich durch Benutzung des Interferometers ausarbeiten. Sie beruht auf folgender Überlegung:

Lasse ich ein Abwehrferment enthaltendes Serum auf ein besonders dargestelltes Organsubstrat, das von den spezifischen Abwehrfermenten abgebaut wird, einwirken, so bekomme ich durch die infolge des Abbaues gebildeten und in Lösung gehenden Abbauprodukte eine Konzentrationszunahme des Serums. Diese Konzentrations-

¹⁾ Siehe *F. Heimann*, diese Zeitschrift 1, 283 (1913).

zunahme kann ich durch Messung gegen eine Probe gleichen Serums, die ohne Substratzusatz aufbewahrt wurde, mittels des Interferometers feststellen. Da nach den Gesetzen der Fermentwirkung Beziehungen zwischen der Menge des Fermentes, Menge des Substrates, Dauer der Einwirkung und Fermentwirkung bestehen, kann auf die Quantität des Fermentes bei gleicher Menge des Substrates, gleicher Einwirkungsdauer und gleicher Konzentration des Systems aus der Fermentwirkung, hier aus der Menge der gebildeten Peptone, geschlossen werden. Die Einhaltung der gleichen Einwirkungsdauer und der gleichen Konzentration bietet keine Schwierigkeiten. Größere Schwierigkeiten verursacht schon die Anwendung gleicher Mengen des Substrates, vor allem in gleichmäßiger haltbarer Form. Unsere verwandten Organe sind Trockenorgane, die nach einem besonderen Verfahren hergestellt sind und deren Brauchbarkeit im Laufe der Jahre durch viele Versuche erwiesen ist. Da die ganze Menge des betreffenden Organsubstrates auf einmal hergestellt und in Mengen von je 5 mg steril in zugeschmolzenen Ampullen aufbewahrt wird, ist nicht nur eine vollkommene Haltbarkeit, sondern auch eine vollkommene Gleichheit der zu den einzelnen Versuchen benutzten Substrate erreicht. Hierdurch wird unsere Methode zu einer *quantitativen*. Allen Anforderungen entsprechende Organsubstrate werden durch das *Pharmazeutische Institut L. W. Gans* in Oberursel a. T., das die Herstellung dankenswerterweise übernommen hat, in Handel gebracht.

Wir benutzen zu unseren Versuchen eine gemeinsam mit *Löwe* angegebene kleine Kammer, die nur wenige Tropfen Serum faßt. Hierdurch sind wir in der Lage, mit nur 0,5 ccm Serum und 5 mg Substrat pro Versuch auszukommen. Es ist durch diese kleinen Mengen ein Mikroverfahren ermöglicht, dessen Vorteile bezüglich des kleinen Serumverbrauches und der geringen Substratmengen bei schwierig gewinnbaren Organsubstraten auf der Hand liegen. Dabei bleiben die Vorteile der interferometrischen Methode als Nullmethode und als quantitative Methode voll und ganz bestehen.

In ein steriles, kleines Zentrifugengläschen wird der Inhalt (5 mg) einer Ampulle Organsubstrat gegeben. Hierzu kommen 0,5 ccm Serum, das vollkommen hämoglobinfrei, nicht chylös und steril sein muß und mit Vuzin versetzt wurde. Das Zentrifugengläschen wird mit einem sterilen Gummistopfen luftdicht verschlossen. Zwei Serumkontrollen, die als Vergleichsflüssigkeiten dienen, von 0,5 ccm ohne Substratzusatz, werden in gleicher Weise angesetzt. Sollen mehrere Organe auf Abbaumöglichkeit geprüft werden, so sind entsprechend viel Zentrifugengläschen mit je 5 mg des betreffenden Organsubstrates und je 0,5 ccm Serum anzusetzen. Die Röhrchen kommen auf genau 24 Stunden in den Brutschrank. Nach Ablauf dieser Zeit werden die noch verschlossenen Gläser zur Wiederaufnahme des Kondenswassers umgeschüttelt, scharf zentrifugiert und die klaren Zentrifugate gleichzeitig mit einer der beiden ohne Substratzusatz aber

sonst unter gleichen Bedingungen aufbewahrten Serumprobe als Vergleichsflüssigkeit im Interferometer unter Benutzung der 1-mm-Kammer ausgemessen. Hierauf werden die beiden ohne Substratzusatz aufbewahrten Serumproben gegeneinander ausgemessen. Es darf bei dieser Messung keine Differenz festgestellt werden. Dieses Ausmessen dient zur Serumkontrolle, einmal zur Feststellung etwaiger Verdunstung und dadurch bedingter Konzentrationszunahme der Vergleichsprobe bei der Reinigung der einen Kammerhälfte, zum anderen zur Kontrolle für etwaige bakterielle Verunreinigungen.

Wir ersehen aus diesen Angaben, daß die Ausführung der interferometrischen Methode zum Nachweise der Abwehrfermente sich sehr einfach gestaltet. Einige allgemeinere Ausführungen über die interferometrische Methode bezüglich ihres Wertes als brauchbare Methode sowie über den Wert und die Bedeutung der *Abderhalden-Reaktion* an sich möchte ich anschließen.

Bekanntlich sind die Ansichten über den Wert und die Bedeutung der Abwehrfermentreaktion sehr geteilt. Ein Teil der Forscher tritt für ihre strenge Spezifität ein, während andere nach ihren Versuchen ihr jegliche Spezifität absprechen. Als Grundforderungen an jede brauchbare Methode muß man nach unserer Ansicht folgende stellen:

Sie muß bis in die kleinsten Einzelheiten ausgearbeitet sein, ihre Fehlerquellen müssen genau festgelegt werden. Alle Fehlermöglichkeiten, die der betreffenden Methode nicht zur Last geschrieben, die sie aber beeinflussen können, müssen genau studiert werden, um sie, wenn irgend möglich, auszuschalten. Durch eingehende Untersuchung mit meinen Mitarbeitern bin ich allen Fehlerquellen und -möglichkeiten der interferometrischen Methode nachgegangen. Es konnte festgestellt werden, daß die Fehlerquellen derartig klein sind, daß man sie vollständig vernachlässigen kann. Andererseits konnten wir aber auch zeigen, daß unspezifische Reaktionen bei sonst einwandfreier Methodik durch bakterielle Verunreinigungen der Serumproben möglich sind. Dieses ist meines Erachtens die Ursache aller Fehlschläge der Gegner der *Abderhalden-Reaktion*. Als Abwehrmaßnahme gegenüber derartigen Fehlerquellen wurde die Anwendung eines gut wirkenden Desinfektionsmittels eingeführt. Wir setzen zu den vollkommen hämoglobinfreien Serumproben Vuzin bihydrochloricum in einer solchen Menge zu, daß eine Vuzinkonzentration 1 : 10 000 erhalten wird. Durch diese Maßnahme ist man in die Lage versetzt, auch von auswärts zugehende Serumproben auf Abwehrfermente zu untersuchen. Trotz tagelangen Transportes kommen sie in tadelloser Beschaffenheit an.

Von verschiedenen Seiten wurde behauptet, daß eine Autolyse des Serums einen Abbau vortäuschen kann. Wir haben über die Möglichkeit einer Serumautolyse eingehende Untersuchungen angestellt. Man muß es auf Grund unserer Versuche als sicher annehmen, daß eine Serumauto-

lyse sich in einer Änderung des Refraktions- und Dispersionsvermögens bemerkbar gemacht hätte. Wir konnten bei steril aufbewahrten Serumproben keine Änderung der Refraktion und der Dispersion feststellen. Als andere allgemein bei Abwehrfermentuntersuchungen in Betracht zu ziehende Fehlerquelle wird das zuerst von *Plaut* beschriebene Adsorptionsphänomen angegeben. *Abderhalden* hat jüngst erst die Unhaltbarkeit des Plautschen Einwandes wiederum festgestellt. Er bediente sich dazu auch des Interferometers. Auch ich hatte schon früher darauf hingewiesen, daß die Möglichkeit von Adsorptionsercheinungen die Brauchbarkeit der interferometrischen Methode zum Studium der Abwehrfermente vollkommen illusorisch machen würde. Bringt man beispielsweise Serum einer nicht Schwangeren mit Plazenta-eiweiß zusammen und untersucht es in der oben angegebenen Weise, so wird nie die Spur eines Abbaues festgestellt werden. Eine Adsorption müßte sich unter allen Umständen in einer Verschiebung der Interferenzstreifen erkennen lassen. Bringt man Serum mit einer größeren Menge eines kräftigen Adsorbens wie Koalin zusammen, so bekommt man selbstverständlich durch die eingetretene Adsorption eine Abnahme der Serumkonzentration, die sich in einer Verschiebung der Interferenzstreifen zeigt. Ich möchte auch an dieser Stelle bemerken, daß sich eine bakterielle Verunreinigung des Serums immer an einer Konzentrationsverminderung, d. h. an einer Verschiebung der Interferenzstreifen nach der negativen Seite erkennen läßt.

Quantitative Untersuchungen auf Abwehrfermente sind für den Arzt von größter Bedeutung. Besonders wertvoll haben sie sich bei Erkrankungen an endokrinen Drüsen gezeigt, da bei solchen Erkrankungen Korrelationen zwischen den einzelnen endokrinen Drüsen bestehen. So ist man z. B. bei Fettsucht instandgesetzt, festzustellen, ob die Fettsucht hypophysären, thyreogenen oder genitalen Ursprungs ist. Auch die Untersuchung der Organabbauverhältnisse bei Hauterkrankungen verspricht zu interessanten Ergebnissen bei Anwendung der quantitativen interferometrischen Methode zu führen, da wir nach den Untersuchungen von *Marburg*, *Brock*, *Bloch* und anderen bereits über Beziehungen der Drüsen mit innerer Sekretion zu Hautkrankheiten wertvolle Einblicke besitzen. Die ganze Behandlung von Insuffizienz endokriner Drüsen mit Organpräparaten wird durch solche Abwehrfermentuntersuchungen eine wissenschaftlich exakte Grundlage für eine zielbewußte Therapie erhalten. Das Studium der Erkrankungen endokriner Drüsen ist noch im Anfangsstadium. Wir müssen unsere Untersuchungen auf Abwehrfermente nicht nur allein an Kranken ausführen, sondern wir müssen auch das Serum von Gesunden auf die Abbauverhältnisse studieren. Viele als normal zu bezeichnende Vorgänge, wie Menstruation z. B., spiegeln sich in einer Beeinflussung der

endokrinen Drüsen wieder und bewirken einen Abbau. Die Drüsen der inneren Sekretion werden manchmal dysfunktionieren, ohne daß eine Anomalität vorliegt. Es muß erst die Höhe des „normalen“ Abbaues festgelegt werden, damit wir Normalzahlen gewinnen. Hierzu eignet sich nur eine quantitative Methode. Der Wert der *Abderhalden*-Reaktion wird hierdurch in keiner Weise beeinträchtigt.

Bei pathologischen Fällen müssen wir bei Abwehrfermentuntersuchungen auch das Vorhanden- oder Nichtvorhandensein von Fieber in Rechnung ziehen, da bei Fieber sicher Protoplasma von Körperzellen zerstört wird und hierdurch Bedingungen gegeben sind, die zur Mobilmachung von Abwehrfermenten führen. Ebenso muß die medikamentöse Therapie berücksichtigt werden (s. hier weiter unten).

Untersuchungen auf Abwehrfermente bei Infektionskrankheiten, auf größerer Basis angestellt, versprechen zu interessanten Ergebnissen zu führen. Im allgemeinen ist hier bezüglich der Abwehrfermente mit zwei Möglichkeiten zu rechnen: Die Abwehrfermente können einmal gegen die betreffenden Krankheitserreger, zum anderen gegen das bzw. die erkrankten Organe gerichtet sein. Wegen der gegen die erkrankten Organe gerichteten Abwehrfermente sind folgende Punkte zu erörtern: Die Abwehrfermente können gegen das erkrankte, d. h. pathologisch veränderte Organ gerichtet sein. Sie können aber auch auf das entsprechende normale Organ eingestellt sein. Auch eine Kombination in der Art, daß sowohl das pathologische Organ, als auch das normale Organ abgebaut wird, ist denkbar. Z. B. kann ein tuberkulöser Herd in einem Organ die anderen an sich ungeschädigten Organzellen derartig beeinflussen, daß diese anormale Stoffwechselprodukte an die Blutbahnen abgeben. Diese Stoffwechselprodukte wie auch der pathologische Herd veranlassen nun die Bildung spezifischer Abwehrfermente, die ihrerseits normales als auch krankhaft verändertes Organ abbauen.

Wir haben zunächst erst Untersuchungen mit der Abwehrfermentreaktion bei Rindertuberkulose angestellt. Wir haben gerade die Rindertuberkulose gewählt, weil wir einerseits in der Lage waren, sämtliche Befunde durch die Schlachtung zu kontrollieren. Andererseits verfügten wir hier in S.-W.-Eisenach über Fälle, die nach dem *Ostertagschen* Verfahren untersucht waren. Wir hatten auch hierdurch die Möglichkeit, die Ergebnisse, die die Untersuchung mittels der interferometrischen Methode zum Studium der Abwehrfermente lieferte, dem diagnostisch verwandten *Ostertagschen* Verfahren gegenüberzustellen.

Die zur Kontrolle mit untersuchten normalen Tiere zeigten mit einer Ausnahme keinerlei Abbau irgendeines der vorgelegten Substrate. Von den kranken, aber nicht tuberkulösen Tieren

zeigte eins an Metritis chronica erkranktes keinen Abbau. Eine am Festliegen erkrankte Kuh ergab nur Abbau von Milz. Der Schlachtfund ergab, daß eine Milzschwellung vorhanden war. Eine Kuh, bei der der Schlachtfund verkäste Echinokokken ergeben hatte, zeigte im Abbauversuch nur Abbau von normaler Lunge. Tuberkulöse Lungenlymphdrüse und normale Lungenlymphdrüse waren nicht angegriffen worden.

Die untersuchten tuberkulösen Tiere zeigten alle einen spezifischen Abbau. Von einem Vergleich zwischen der Größe des Abbaues des betreffenden Organsubstrates und dem Alter und Umfang des tuberkulösen Prozesses zu ziehen, möchten wir vorläufig noch absehen, da unser Material noch zu gering ist, um zu derartigen Schlußfolgerungen berechtigt zu sein. Die Ergebnisse standen mit dem Schlachtfund in sehr gutem Einklang. Wir sehen sie als eine wertvolle Unterstützung für die Richtigkeit der behaupteten Spezifität der Abwehrfermente an. Eine weitere Verfolgung des angeschnittenen Problems an einem größeren Material wird sicher zu interessanten Resultaten führen, die für den Mediziner von Bedeutung sein werden.

Wir hatten oben erwähnt, daß die *Abderhalden-Reaktion* anfänglich zur frühzeitigen Feststellung der Schwangerschaft benutzt wurde. Wir haben auch mit der interferometrischen Methode diesbezügliche Untersuchungen angestellt und in einer größeren Versuchsreihe einen frühzeitigen Trächtigkeitsnachweis bei Pferden zu stellen versucht. Gerade hier ist die frühzeitige Feststellung der Trächtigkeit von größter volkswirtschaftlicher und züchterischer Bedeutung. In Deutschland ist der Pferdebestand durch den Krieg um etwa $\frac{1}{2}$ des Friedensbestandes zurückgegangen. Er hat aber außerdem auch noch eine sehr starke Qualitätsentwertung erfahren und unser wertvolleres durch den Krieg herüber gerettetes Zuchtmaterial haben wir noch an die Entente abliefern müssen. Da außerdem wegen des schlechten Standes unserer Valuta an eine nennenswerte Einfuhr von Pferden nicht zu denken ist, dürfte es wohl verständlich erscheinen, wenn von seiten unserer Pferdezüchter alle Anstrengungen gemacht werden, unsere Pferdezucht zu heben. Ein hier günstig wirkendes Moment wäre es, wenn die Möglichkeit vorhanden wäre, früher als mit den bisherigen klinischen Methoden oder durch äußere Trächtigkeitsanzeichen möglich ist, über den Erfolg oder Nichterfolg des Deckaktes unterrichtet zu sein. Durchschnittlich bleiben nach tierzüchterischer Darstellung etwa 40 % der Stuten unbefruchtet. Die mittels der interferometrischen Methode angestellten Untersuchungen ergaben, daß man nichtträchtige Stuten von den trächtigen unterscheiden kann. Es ist eine Graviditätsdiagnose bei Stuten in einem sehr frühen Trächtigkeitsstadium möglich. Es gelang, vom 14. Tage nach dem erfolgreichen Belegen ab, die ganze Gestationsperiode hindurch

spezifische, auf Plazentaeiweiß eingestellte Abwehrfermente im Serum der Stuten nachzuweisen.

Auch in theoretischer Beziehung sind diese Untersuchungen insofern wichtig, als die Pferde eine Plazenta foetalis diffusa besitzen, deren Blutkreislaufverhältnisse eine Verschleppung von Zottenepithel unmöglich machen. Hierdurch ist die eingangs erwähnte Möglichkeit der Bildung von Abwehrfermenten durch Zerfallsprodukte oder Stoffwechselprodukte der Plazenta sichergestellt.

Quantitative Untersuchungen auf Abwehrfermente werden auch für den Chemiker eine Bedeutung erlangen. Wir wissen, daß durch bestimmte Gruppen einer chemischen Verbindung in bezug auf ihre pharmakologischen Eigenschaften ein bestimmtes Gepräge gegeben werden kann. Gerade in den letzten Jahren konnte *Ehrlich* zeigen, daß durch systematische Untersuchungen Heilmittel ausfindig gemacht werden können, die sich als spezifisch gegen die Krankheitserreger gerichtet erweisen. Der Chemiker muß in der Art chemisch zielen lernen, daß das Arzneimittel nur die krankheitserregenden Schädlinge trifft, nicht aber Körperorgane schädigt. Untersuchungen zeigten nun, daß sich etwaige Organschädigungen durch Medikamente durch auf die betreffenden Organe eingestellte Abwehrfermente erkennen lassen. Es geben nun quantitative Methoden zum Studium der Abwehrfermente dem Chemiker ein weiteres Mittel, zu prüfen, ob der von ihm dargestellte chemische Körper auch wirklich eine Zauberkugel im Sinne *Ehrlichs* darstellt, die eine Organschädigung nicht verursacht oder wenigstens nicht allzu groß erscheinen läßt. Auch bei der Prüfung nicht speziell chemotherapeutischer Präparate, ich denke hier an Schlafmittel, wird eine genaue quantitative Untersuchung auf etwaige beim Gebrauch auftretende Abwehrfermente für den Chemiker von Wichtigkeit sein. Man wird durch vergleichende Untersuchungen im Tierexperiment vielleicht organschädigende Gruppen erkennen und derartige Gruppen bei den Synthesen vermeiden.

Die oben kurz erwähnten Einwände von *Plant* haben Veranlassung gegeben, die Frage zu untersuchen, ob es sich bei der *Abderhalden-Reaktion* um einen wirklichen fermentativen Prozeß handelt. Durch die verschiedenen von *Abderhalden* angegebenen Methoden zur Untersuchung eines Serums auf Abwehrfermente war eigentlich diese Frage bereits entschieden: Die optische Methode weist Drehungsänderungen von Peptonen durch fermentative Spaltung nach. Mittels des Dialysierverfahrens weist man die semipermeable Membranen passierenden, löslichen Abbauprodukte koagulierter Organsubstrate im Dialysat durch die Biuretprobe oder durch Ninhydrin nach. Der Mikro-Kjeldahl läßt den Abbau der Organsubstrate durch Stickstoffbestimmungen im Dialysat erkennen. Alle diese Ergebnisse sprachen

bereits für die bei der Abderhalden-Reaktion auftretenden Spaltungen durch die Abwehrfermente. Einen sicheren Beweis für die fermentative Natur der Vorgänge bei der Abderhalden-Reaktion konnte in jüngster Zeit *Abderhalden* dadurch bringen, daß er den Abbau dünner Schnitte durch Organe mittels des Mikroskopes direkt beobachten und photographisch festhalten konnte. Ich kann die Richtigkeit dieser Befunde bestätigen.

Schon bald nach dem Bekanntwerden der Abderhalden-Reaktion hat man versucht, Beziehungen zwischen ihr und den Immunitätsreaktionen festzustellen. Die ersten diesbezüglichen Untersuchungen zielten darauf hin, etwas Genaueres über die Natur der bei der Abderhalden-Reaktion wirkenden Kräfte zu erfahren. Mit Rücksicht auf die Immunitätsreaktionen schrieb man den „Abwehrfermenten“ eine Ambozeptorstruktur zu. Man glaubte inaktivierte Sera durch Komplementzusatz reaktivieren zu können. Es liegen über diese Frage eine Reihe widersprechender Beobachtungen vor. Wir vermögen an die Ambozeptornatur der Abwehrfermente nicht zu glauben und sehen in ihrer Einführung nur eine unnötige Komplizierung der Abwehrfermentreaktion. Eine Spontaninaktivierung eines Abwehrferments enthaltenden Serums durch Stehenlassen des Serums, also durch längere Aufbewahrung, konnten wir nie beobachten. Ein Komplementschwund tritt bekanntlich schon nach 24 Stunden ein, falls man nicht das Serum in gefrorenem Zustande aufhebt. Nun gelangen häufig Sera dieser Untersuchung auf Abwehrfermente, die von auswärts eingesandt werden, erst tagelang nach der Blutentnahme zur Untersuchung, und niemals ließ sich irgendein Zusammenhang zwischen Komplementschwund und Abwehrfermentwirkung feststellen. Ein Serum, das im Jahre 1914 durch Injektion von Uteruskarzinom (Plattenepithel) bei einem Kaninchen gewonnen wurde, baute nach zwölfmonatlicher Aufbewahrung das betreffende Substrat noch in gleichem Maße ab, wie es kurz nach der Entnahme abgebaut hatte. Zu gleichen Resultaten ist auch *Abderhalden* gekommen.

Eine nicht zu unterschätzende Bedeutung kommt der Frage nach der Anwendbarkeit „tierischer“ Organe bei Untersuchungen auf Abwehrfermente in der Humanmedizin zu. Bei der Schwierigkeit der Beschaffung menschlicher Organe in größeren Mengen (Epithelkörperchen, Epiphysen, Hypophysen z. B.) wäre es sehr erwünscht, wenn tierische Organe in gleicher Weise wie menschliche Organe zu unseren Versuchen benutzt werden könnten. Auf Grund einer größeren Reihe von diesbezüglichen Untersuchungen kann ich die „Organspezifität“ der Abwehrfermente bestätigen. Es ist qualitativ ganz gleichgültig, ob wir eine menschliche oder tierische Plazenta mit menschlichem Schwangersenserum auf Abbau prüfen: Nur Serum einer Schwangeren baut Plazenta ab, quantitativ bestehen allerdings in der Größe des Abbaues

Unterschiede. Meine Versuche sind noch nicht zahlreich genug, um festzustellen, ob etwa Beziehungen zwischen Größe des Abbaues und Nähe der Verwandtschaft der Arten bestehen. Eine gewisse Beziehung zwischen unserer Feststellung, daß auch tierische Organe zu Abbauprüfungen mit menschlichem Serum brauchbar sind, und Beobachtungen, daß nach Behandlung von Tollwut mit Rückenmark tollwütiger Kaninchen häufig Myelitiden auftreten (nach *Joannovics* werden durch Rückenmarkinjektionen Reaktionskörper erzeugt, deren spezifische Wirkung zum Auftreten der Myelitiden führt), besteht doch wohl unzweifelhaft.

Das von *Abderhalden* aufgestellte neue biologische Gesetz der Organspezifität, das nach unseren Versuchen bereits eine gewisse Bestätigung gefunden hat, läßt sich auch auf Grund theoretisch-eiweißchemischer Betrachtungen erklären: In der letzten Zeit sind Arbeiten von *Herzfeld* und *Klinger* über ähnliche Betrachtungen erschienen. Wenn ich auch meine vollkommene Übereinstimmung mit den Ansichten dieser Autoren nicht erklären kann, ich stehe im Gegenteil in vielen Punkten auf einem ganz anderen Standpunkt, so ist doch eine gewisse Ähnlichkeit in mancher Beziehung vielleicht festzustellen. Ich stehe auf dem Standpunkt der Nägelschen Theorie der kristallinen Mizelle, die in den letzten Jahren manche Anhänger gefunden, die aber noch mehr Gegner hat. Aus verschiedenen Gründen ist anzunehmen, daß sowohl von den Anhängern als auch von den Gegnern mancher die grundlegenden Arbeiten *Nägels* nicht genügend kennt. Diese Theorie ist durch Untersuchungen von *H. Ambrohn* und seinen Schülern in dem Institut für wissenschaftliche Mikroskopie in Jena wenigstens für Zellulose und ihre Nitroderivate nach der physikalisch-optischen Seite hin bestätigt worden. Auf der anderen Seite haben Untersuchungen von *Debye* und *Scherrer* die Kristallnatur von Kolloidteilchen, nicht bloß bei kolloiden Metallen, sondern auch bei Kieselsäuregelen und selbst bei organisierten Kolloiden (Stärkekörnern, Zellulosefasern usw.) ergeben. Neuere Untersuchungen von *Herzog* und *Jancke* haben diese Befunde bestätigt und auch für organisierte Materie erweitert. Auch die Untersuchungen *Stübels* über die erste eintretende Fibrinbildung aus Fibrinogen bei der Gerinnung haben die Kristallnatur der ersten fadenförmigen Ausscheidungen so gut wie sichergestellt und können somit auch als wichtige Stütze der Nägelschen Mizellartheorie angesehen werden.

Wir müssen uns wohl das Protoplasma aus Komplexen von Eiweiß-, Kohlenhydrat- und Lipoidmizellarverbänden aufgebaut vorstellen. Eine derartige Annahme steht mit unserer heutigen Ansicht, daß das Protoplasma ein kompliziertes, chemisch-heterogenes System nebeneinander bestehender Phasen (*Zwaardemaker*) darstellt, nicht im Widerspruch. Wir können auf

Grund der *Nägelischen* Anschauungen uns vorstellen, daß mehrere Eiweißmizelle untereinander von verschiedener chemischer Konstitution, zu Eiweißmizellarverbänden zusammengetreten sind. Es können auch verschiedene Eiweißmoleküle zu Eiweißmizellen zusammentreten, ebenso können auch die verschiedenen Mizelle eines Mizellarverbandes untereinander verschiedene Größe und verschiedenen Aufbau besitzen. Ferner können auch die verschiedenartigsten Mizelle oder auch Mizellarverbände — also z. B. Eiweiß, Kohlenhydrate, Fette, Lipide usw. — zu einem größeren Mizellarverband — Protoplasma — zusammentreten. Wir sehen also, daß die *Nägelische* Theorie mit unseren heutigen Anschauungen über die Heterogenität des Protoplasmas nicht im Widerspruch steht. Daß sie die Anschauungen über den Bau des Eiweißmoleküls usw. nicht berührt, ist klar, denn sie hat ja mit dem chemischen Aufbau nichts zu tun, da das Mizell ein Molekülverband, die Mizelle Molekülverbände sind. Dadurch wird die Mannigfaltigkeit der Eiweißkörper z. B. noch erhöht, da im Eiweißmizell viele Eiweißmoleküle in chemischem Sinne vorhanden sind.

Wenn wir uns nun vorstellen, daß der Baustein — hier Baustein nicht im Sinne *Abderhaldens* — der Eiweißmizellarverbände das art-eigene Eiweißmizell ist, so können wir es uns auf Grund dieser Annahme sehr gut denken, daß aus arteigenen und vielleicht auch außerdem aus nicht artspezifischen Mizellen die organeigenen Eiweißbausteine — Organeiweißmizellarverbände — aufgebaut sind. Die Organeiweiße können nun untereinander, d. h. die Organeiweiße verschiedener Arten, aber ein und desselben Organs, einen derartig gleichartigen Aufbau besitzen, daß sie von darauf eingestellten Fermenten (organspezifischen Fermenten) aufgespalten werden. Daß wir bezüglich des Aufbaues einzelner Organe verschiedener Arten eine gewisse Ähnlichkeit in chemischer Beziehung wohl annehmen dürfen, geht wohl aus ihrem ähnlichen histologischen Aufbau und aus ihren ähnlichen Funktionen hervor. Bei der Koagulation, der physikalischen Zustandsänderung (Überführung hydrophiler Kolloide in hydrophobe) ist es wohl denkbar, daß das Gefüge der Mizellarverbände (Mizelle in dem Mizellarverband) so gefestigt wird, daß die artspezifischen Antikörper vom Typus der Präzipitine das arteigene Eiweißmizell nicht mehr fassen können. Das Präzipitin ist bezüglich seiner Wirkung an einen ganz bestimmten physikalischen Zustand des Antigens gebunden. Die organspezifischen Abwehrfermente stellen andere Anforderungen an den physikalischen Zustand des Substrates.

Die interferometrische Methode zum Nachweis der Abwehrfermente beruht, wie oben angegeben, darauf, daß die Konzentrationszunahme, die das Serum durch die Auflösung der beim fermentativen Abbau der Trockenorgane gebil-

deten Peptone erleidet, mittels des Interferometers festgestellt wird. Ich konnte zeigen, daß man auch den Abbau eines Organpeptones, das durch partielle Hydrolyse des betreffenden Organes gewonnen wird, mittels des Interferometers nachweisen kann. Hier liegen die Verhältnisse so, daß durch die fermentative Spaltung eine Hydrolyse eintritt. Unter Aufnahme eines Moleküls Wasser wird die Bindung zwischen zwei Molekülen Aminosäuren aufgespalten. Es war schon vor längerer Zeit von *Obermayer* und *Pick* nachgewiesen worden, daß durch tryptische Verdauung der Brechungsindex des Verdauungsgemisches erhöht wird. Fermente wie Emulsin, Diastase und Pepsin lassen das Refraktationsvermögen für Natriumlicht unbeeinflusst, während Bakterien es vermindern. Die Befunde von *Obermayer* und *Pick* bezüglich des Trypsins und Pepsins konnte ich bestätigen. Ließ ich z. B. Pepsin auf Serumeiweiß einwirken, so fand ich ebenfalls, daß sich das Brechungsvermögen für Natriumlicht in keiner Weise änderte. Ich habe nun die Bestimmung auch für das rote und blaue Licht des Wasserstoffspektrums ausgeführt und gefunden, daß sich für Licht dieser Wellenlängen das Brechungsvermögen ändert. Ich glaube, diese Erscheinung so erklären zu dürfen, daß durch die Wirkung des Pepsins im Eiweißmolekül vorhandene Anhydridringe aufgespalten werden, eine Annahme, zu der auch *Plimmer* neigt. Diese Ausspaltung verursacht wohl eine konstitutive Änderung des Eiweißmoleküls, die auch eine völlige Änderung seiner Eigenschaften (Koagulationsvermögen) bewirkt. Aber diese Änderung ist so geringfügig in bezug auf die große Molekulargröße der Eiweißkörper, daß sie keine mit unseren Apparaten meßbare Änderung des Brechungsvermögens für Natriumlicht hervorruft. Dagegen ist die Änderung der Dispersion so groß, daß wir sie feststellen können. Auch mittels des Interferometers konnte keine Änderung der Refraktion durch Pepsinwirkung beobachtet werden. Bei einer tryptischen Verdauung konnten wir in Übereinstimmung mit *Obermayer* und *Pick* eine Änderung des Brechungsvermögens sowohl mittels des Refraktometers als auch mittels des Interferometers nachweisen. Es war wohl anzunehmen, daß die hydrolytische Spaltung des verdauten Eiweißkörpers die Ursache der Refraktionserhöhung ist. Ein exakter Beweis für diese Annahme war noch nicht erbracht. Die klassische Spektrochemie hat den Beweis erbracht, zu welchen Erfolgen eine systematische Untersuchung organischer Körper führen kann. Planmäßige Untersuchungen an Aminosäuren und Polypeptiden ließen uns einen zahlenmäßigen Wert für den Einfluß finden, den die Aufnahme eines Moleküls Wasser bei der hydrolytischen Spaltung eines Dipeptides auf das Brechungsvermögen ausübt. Weitere Untersuchungen an Polypeptiden machten uns mit dem Einfluß der Aufnahme von mehreren Molekülen

Wasser bei der Spaltung auf das Refraktionsvermögen bekannt und zeigten, daß dieser Einfluß additiv ist. Wir konnten ein direktes Maß für die Größe einer Spaltung durch Fermente erhalten. Die ersten Versuche haben wir hier mittels des *Pulfrich'schen* Refraktometers ausgeführt, und es wurde festgestellt, daß die beobachteten Werte mit den rechnerisch ermittelten gute Übereinstimmung zeigten. Wir haben dann unsere Untersuchungen auf das Interferometer ausgedehnt. Durch Schaffung des Begriffes des Molekularen-Interferometerwertes konnten wir auch für das Interferometer einen zahlenmäßigen Wert, ausgedrückt in Trommelteildifferenzen, für eine bestimmte Flüssigkeitsschichtdicke (Kammerlänge) für den Einfluß der Aufnahme eines Moleküls Wasser bei einer Spaltung durch Fermente erhalten. Durch diese Untersuchungen haben wir ein direktes Maß für die Größe einer fermentativen Spaltung, mit anderen Worten, für die Wirksamkeit eines Fermentes gewonnen. Diese Resultate werden wir auch auf Konstitutionsfragen auf eiweißchemischem Gebiete übertragen können und unter gewissen Umständen die Anzahl von Aminosäuren feststellen können, aus denen ein Eiweißkörper zusammengesetzt ist.

Die eben angeführten Untersuchungen haben uns zu weiteren Arbeiten über die Interferometrie veranlaßt. Genau so wie man bezüglich der Refraktion zahlenmäßige Werte für den Einfluß bestimmter Atome und Atomgruppierungen aufgefunden hat, konnten wir derartige Werte für den Einfluß auf die Interferometerwerte (molekularer Interferometerwert) feststellen.

Zu Untersuchungen über den Einfluß von modernen Desinfektionsmitteln auf die Pepsinwirkung haben wir eine Methode unter Benutzung des Interferometers ausgearbeitet. Hier sind einige wichtige Punkte zu berücksichtigen: Nach unseren heutigen Kenntnissen entfaltet jedes Ferment seine Optimalwirkung bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration. Es muß also die Versuchsanordnung so getroffen werden, daß diese Wasserstoffzahl während des ganzen Versuches erhalten bleibt; dies können wir durch Anwendung von sogenannten Reaktionsregulatoren (Puffer), z. B. Mischungen von Citratsalzsäure in bestimmtem Verhältnis, erreichen. Häufig führen wir Fermentversuche in der Art aus, daß aus der Menge der gebildeten Abbauprodukte auf die Fermentwirkung geschlossen wird. Beispielsweise nimmt man eine bestimmte Menge Casein als Caseinnatrium in Lösung und flockt nach einer bestimmten Zeit der Fermenteinwirkung das unverdaute Casein durch Säurezusatz aus. Zur vollkommenen Ausflockung des Caseins ist wiederum eine ganz bestimmte Wasserstoffionenkonzentration erforderlich. Wir sehen also, daß wir bei genauen diesbezüglichen Versuchen zwei Forderungen erfüllen müssen: Einmal muß die Wirkung des Fermentes bei einer für das betreffende Ferment bestimmten

und konstanten Wasserstoffionenkonzentration vor sich gehen, und dann muß die Ausflockung des unverdauten Eiweißes wiederum bei der Wasserstoffionenkonzentration vorgenommen werden, bei der der als Substrat benutzte Eiweißkörper sein Flockungsoptimum hat. Diese Punkte erfüllt unsere Methode zur Bestimmung der Pepsinwirkung.

Derartige Bestimmungsmethoden, die zu genau reproduzierbaren Werten führen, haben nicht nur ein wissenschaftliches Interesse, sondern sie haben auch eine gewisse praktische Bedeutung heute, wo die biologischen Arbeitsverfahren sich immer mehr in der Technik einbürgern.

Oben wurde erwähnt, daß wir bei unseren Untersuchungen auf Abwehrfermente das Vuzin als Desinfektionsmittel verwenden. Wir hatten uns selbstverständlich durch eingehende Untersuchungen von der Unschädlichkeit des Vuzins den Fermenten gegenüber überzeugt. Zu diesen Untersuchungen bedienten wir uns ebenfalls der eben skizzierten Methode.

Es wurde schon kurz angeführt, daß man versucht hat, Beziehungen zwischen der *Abderhalden*-Reaktion und den Immunitätsreaktionen festzustellen. Wir haben schon vor längerer Zeit begonnen, immunochemische Studien mittels physikalisch-chemischer Methoden anzustellen. Hierzu haben wir uns zunächst wiederum refraktometrischer Messungen bedient und besonders das Interferometer angewandt.

Eine messende Verfolgung des Phänomens der spezifischen Präzipitation hat schon sehr bald nach der Entdeckung eingesetzt, hoffte man doch dadurch unter anderem auch einen Einblick in das Wesen dieser Reaktion zu gewinnen. Wir haben eine größere Reihe von Untersuchungen über diese spezifische Niederschlagsbildung durch Antisera angestellt.

Auf Grund von Vorversuchen, in denen besonders die Änderungen der Refraktion und der Wasserstoffionenkonzentration, die mit dem Präzipitationsvorgang einhergehen, messend verfolgt wurden, haben wir uns folgende Arbeitshypothese aufgestellt:

Die Präzipitation an sich ist ein rein kolloid-chemischer Prozeß, welcher sich vollzieht als eine Folge einer Änderung der Wasserstoffionenkonzentration in einem kolloidalen System, wie es unser Gemisch von Immunserum und Antigen darstellt. Diese Änderung entsteht dadurch, daß im Immunserum Fermente (Abwehrfermente) vorhanden sind, die die Eiweißkörper (Albumine) des Antigens abbauen. Die Änderung (Vermehrung) der Wasserstoffionenkonzentration zeigt am ehesten eine Wirkung auf die dafür besonders empfindlichen Globuline, die Ausflockung zeigen. Der Kern des ganzen Vorganges ist also die chemische, fermentative Spaltung von artfremden Proteinen, während die spezifische Ausflockung geradezu als Folge, als „Nebenwirkung“ erscheint.

Da sich in dem Gemisch Antigen-Immunserum gleichzeitig oder nacheinander mehrere Prozesse vollziehen, von denen der eine (Spaltung der Eiweißmoleküle) eine Vermehrung, der andere dagegen (Ausfall des Präzipitates) eine Verminderung der Refraktion bewirkt, so braucht nicht der Brechungsindex des Serumgemisches nach der Präzipitation unter allen Umständen eine Abnahme zu zeigen. Es sind vielmehr drei Fälle denkbar und auch möglich, wie die Versuche ergaben:

1. Die Refraktionsvermehrung (Folge der fermentativen Spaltung) ist größer als die Verminderung (Folge des Ausfällens des Präzipitates), dann bekommen wir Zunahme der Refraktion;
2. die Refraktionsvermehrung ist gleich der Verminderung, dann bleibt die Refraktion unverändert;
3. die Vermehrung ist kleiner als die durch Ausflockung bedingte Verminderung, dann sinkt der Brechungsindex.

Es folgt also, daß eine etwaige Abnahme der Refraktion keinesfalls als Maß für die Größe des Präzipitates angesehen werden darf.

Bei ausgeführten Versuchen über die spezifische Präzipitation von Menschen bzw. Pferdeserum durch das korrespondierende Immunserum haben wir durch eine teilweise Zerlegung der miteinander reagierenden Bestandteile des Antigens und des Immunserums und durch Berechnung der auf die einzelnen Komponenten (Kochsalz, „unlösliches Globulin“, Gesamteiweiß, Gesamteiweiß ohne „unlösliches Globulin“, Nichteiweißbestandteile des Serums) entfallenden Anteile an der Refraktion sowie durch Bestimmung der „Größe des Präzipitates“ durch Auflösen des ausgewaschenen Präzipitates in verdünnter Natronlauge und Bestimmung seines Refraktionswertes versucht, einen tieferen Einblick in das Wesen der Präzipitinreaktion zu erlangen. Hierzu dienen besondere Methoden.

Die eben kurz angedeuteten Zerlegungen des Antiserums bzw. des Antigens in die einzelnen Komponenten haben wir noch weiter geführt, dadurch, daß wir auch noch den Gehalt an Gesamtglobulin bestimmt haben. Durch diese Bestimmungen, die ebenfalls mittels des Interferometers ausgeführt wurden, konnten wir auch noch den Gehalt an Albumin feststellen.

Aus unseren bisherigen Versuchen können noch keine bindenden Schlüsse gezogen werden. Das angeschnittene Problem zeigt bei tieferem Eindringen eine immer zunehmende Kompliziertheit.

Bei den zuerst ausgeführten Rizin-Antirizin-Versuchen ist die Vermehrung kleiner als die durch die Ausflockung bedingte Verminderung der Refraktion. Die Verminderung der Refraktion überwiegt, und es sinkt der Brechungsindex. In allen untersuchten Fällen ist die Refraktionsabnahme ausgedrückt in Trommelteilen des Interferometers fast genau gleich dem Anteil des Rizins am dem Refraktionswert des Antirizin-Rizin-Gemisches vor der Präzipitation. Man könnte

auf Grund dieser Versuchsreihen zu der Annahme kommen, daß das Antigen (hier Rizin) durch den im Immunserum vorhandenen Immunkörper (Präzipitin) quantitativ ausgefällt wird. Daß eine derartige Interpretation der Ergebnisse falsch wäre, erwiesen die weiteren Versuche.

Bei der Einwirkung von Typhusimmunserum auf Fickersches Typhusdiagnostikum entsteht ein Präzipitat. Wir können die Reaktion mit *Much* ebenfalls als eine Präzipitation auffassen. Bei der interferometrischen Untersuchung des Vorganges zeigte es sich, daß hier die Refraktionsvermehrung größer ist als die durch das Ausfallen des Präzipitates eintretende Verminderung der Refraktion. Als besonders auffällig zeigte sich hier die gleichmäßige Steigerung der Refraktionszunahme bei den verschiedenen Serumverdünnungen sowie die große Wirksamkeit der erheblichen Serumverdünnungen gegenüber der Serumverdünnung 1 : 10.

Aus ausgeführten Versuchen mit Menschen- (Pferde-) Serum + Menschen- (Pferde-) Antiserum ist aber mit voller Sicherheit zu folgern, daß die Refraktion des Antigen-Immunserum-Gemisches und ihre Änderung durch den Präzipitationsvorgang keinen Anhalt für die Menge des ausgeflockten Eiweißes gibt. Wenn wir gehofft hatten, die relativ groben volumetrischen Methoden der Präzipitationsmessung und damit auch die Wertbestimmung des Immunserums durch die viel feinere interferometrische Untersuchung ersetzen zu können, so muß diese Hoffnung aufgegeben werden. Die ausgearbeitete Methode der Wiederauflösung der Präzipitate kann eher in diesem Sinne verwandt werden.

Bezüglich der Herkunft des Präzipitates lassen unsere Versuche seine Eiweißnatur als sicher erkennen. Auf Grund der ausgeführten Messungen nehmen wir als höchstwahrscheinlich auch seine teilweise Identität mit derjenigen Globulinfraktion, die wir als die „unlösliche“ bezeichnen, an. Wie befinden uns in Übereinstimmung mit *Moll*, daß das Präzipitat ganz unmöglich allein aus dem Antigen stammen kann. Damit fällt die alte Auffassung von dem Immunserum als präzipitierender und vom Antigen als präzipitabler Substanz, die durch die oben angeführten Rizin-Antirizin-Versuche allein neue Berechtigung gefunden hätte. Das Immunserum behält allerdings einen durchaus aktiven Charakter. Nur die Art seiner Tätigkeit ändert sich. Auch der passive Charakter des Antigens bleibt erhalten, insofern, als es höchstwahrscheinlich seine Eiweißstoffe (Albumine) sind, die von dem im Immunserum enthaltenen Immunkörperpräzipitin abgebaut werden. Wir fassen somit das Präzipitin als ein Abwehrferment im Sinne von *E. Abderhalden* auf.

Wir haben dann Präzipitationsversuche von Hämozyanin enthaltendem Schneckenblut ausgeführt. Wir hofften, durch Benutzung eines nur einen Eiweißkörper enthaltenden Antigens ein-

fachere und durchsichtigere Versuchsbedingungen geschaffen zu haben, die eine Klärung des Präzipitationsvorganges herbeiführen könnten. Unsere Hoffnung hat sich jedoch nicht erfüllt. Wir konnten wohl eine Übereinstimmung mit von *Dun-ger*n nachweisen, daß das Präzipitat in allen Fällen Kupfer enthält, daß also das Präzipitat aus Antigen besteht. Teile von Eiweißkörpern aus dem Immunserum sind wohl auch hier wie bei den Präzipitaten mit Menschen- und Pferdeeisweiß mit darin enthalten. Wir denken auch hier an das unlösliche Globulin.

Auf der anderen Seite zeigten aber diese letzten Versuche, daß wir über den Mechanismus der Präzipitation noch im Unklaren sind. Auf rein optischem Wege ließen sich bisher keine Beweise führen und auch nicht gegen die Richtigkeit der oben angeführten Arbeitshypothese erbringen. Nur das eine ließen die Versuche mit Hämocyannin klar erkennen, daß sich in dem Gemisch Antigen-Immunserum Reaktionen abspielen, die auf rein kolloid-chemischem Wege keine Erklärung finden können. Über die Natur der Reaktionen sagen uns unsere Versuche noch nichts aus. Wir beobachten in unseren Versuchen fast durchweg eine Abnahme des Interferometerwertes nach der Präzipitation. Die Größe der Präzipitation — gemessen am Interferometerwert der Lösung derselben — ist meistens kleiner als die Abnahme des Interferometerwertes nach der Präzipitation. Es muß also mit dem Präzipitationsvorgang als solchem, der eine Abnahme des Interferometerwertes durch die Konzentrationsverminderung bewirkt, ein anderer Prozeß einhergehen, der eine noch weitgehendere Abnahme hervorruft. Wir müssen hier auf Grund neuerer Untersuchungen an eine Aggregation von Teilchen, an eine Zunahme der Molekülgröße bei Abnahme der Molekülzahl, an Kondensation, an Polymerisation und anderes denken. Es hat aber auch nach der Präzipitation, wie unsere Versuche ergaben, der Gesamteiweißgehalt abgenommen, der Gehalt der Nichteisweißbestandteile dagegen zugenommen. Diese Befunde deuten auf eine hydrolytische Spaltung von Eiweißkörpern hin, die unter der Wirkung des Präzipitins eingetreten ist. Hierdurch ist nun an sich eine Zunahme des Interferometerwertes bedingt, wie unsere oben bereits erwähnten Versuche ergeben haben. Setzen wir diese Zunahme des Interferometerwertes in Beziehung zu den oben angeführten bei unseren Versuchen festgestellten Abnahmen des Interferometerwertes des Gemisches Immunserum-Antigen nach erfolgter Präzipitation, so wird die Größe der Nebenreaktionen, die neben dem eigentlichen Präzipitationsvorgang einhergehen, vielleicht auch die Hauptsache desselben darstellen, noch bedeutender.

Wir glauben, daß die spezifischen Kräfte, die das Präzipitationsphänomen bewirken, in nahe Beziehung zu den Fermenten (Abwehrfermente) zu stellen sind. Wir befinden uns hier in Übereinstimmung mit *Michaelis*:

„Als Ursache für die spezifische Affinität von Toxin und Antitoxin werden wir rein chemische Kräfte ansprechen müssen und wir werden sie vorläufig durch das von *Emil Fischer* zunächst für die Fermente geschaffene Bild von „Schlüssel und Schloß“ verstehen und die Entstehung des „Schlüssels“ im lebenden Organismus nur durch die „*Ehrlichsche* Seitenkettentheorie“ begreifen.“

Bei den Präzipitationen wirkt als „Schloß“ das Antigen (Präzipitogen), als „Schlüssel“ das Präzipitin. Der „Schlüssel“ Präzipitin wirkt als Ferment zunächst abbauend, und zwar spezifisch auf das Antigen. Dieser Vorgang ist ein rein chemischer. Später, vielleicht oder wahrscheinlicher auch nebenher, tritt nun die eigentliche Präzipitation auf. Sie ist ein kolloidchemischer Vorgang: Teile des Antigens und des Immunserums werden aus dem Solzustand in den Gelzustand übergeführt.

Es muß weiterer Forschung vorbehalten bleiben, den Mechanismus des Präzipitationsvorganges restlos zu klären. Wir glauben, daß die oben skizzierten Beziehungen zwischen Immunkörpern und Abwehrfermenten durch Versuche bewiesen werden können. Die heute in der Immunitätsforschung so beliebte Komplizierung durch Schaffung neuer Bezeichnungen für in ihrer Natur unbekannte Reaktionskörper bzw. Komponenten derselben wird dadurch vielleicht vermieden werden können.

Die Interferometrie ist noch eine junge Arbeitsmethode. Die in diesem Aufsatz gemachten Ausführungen lassen erkennen, daß in biologischer Hinsicht die Anwendung des *Löw*eschen Interferometers bereits zu Ergebnissen führte, die hoffen lassen, daß eine Weiterverfolgung biologischer Probleme ein fruchtbares Anwendungsgebiet der Interferometrie erschließt. Allerdings werden noch viele Vorarbeiten sowohl in theoretischer als auch in methodologischer Richtung anzustellen sein.

Literatur:

- F. Löwe*, Zs. Instrumentenkunde 30 (1910).
P. Hirsch, Fermentstudien. Fischer, Jena 1917.
Ders., Fermentforschung 1, 2 u. 5 (1914 u. ff.).
P. Hirsch u. *F. Löwe*, Fermentforschung 3 (1920).
P. Hirsch u. *K. Langenstrass*, Fermentforschung 3 (1919).
P. Hirsch u. *R. Mayer-Pullmann*, Fermentforschung 4 (1920).
P. Hirsch u. *R. Kunze*, } Fermentforschung 6 (1922).
P. Hirsch u. *L. Köhler*, }
F. W. Voigt, Inaug. Dissertation, Jena (1920).
V. Germann, Inaug. Dissertation, Jena (1922).

Zuschriften und vorläufige Mitteilungen.

Über das Wasserstoffmolekülmodell.

Verschiedene Anzeichen deuten darauf hin, daß die wirkliche Wasserstoffmolekel im Normalzustande kompakter gebaut ist als das häufig diskutierte Bohr-Debyesche Modell; es sei nur daran erinnert, daß die zu letzterem berechnete Dissoziationswärme (62 000 cal