Neue analytische Aspekte der Immunpräzipitation im elektrischen Feld und ihre Applikation auf die Immunglobulinuntersuchung

W. Krotz (Groc), A. Harms und W. Lahn

Heinrich-Pette-Institut für experimentelle Virologie und Immunologie an der Universität Hamburg

Zusammenfassung:

Die mit der Variantgelkammer möglichen Modifikationen der klassischen Kreuzimmunelektrophorese werden zu einem Analysensystem zusammengefaßt, methodisch ergänzt und seine Applikation auf die Immunglobulinuntersuchung im klinischen Laboratorium dargestellt. Die Möglichkeit von IgG-Feinauf-trennungen, von Immunglobulindifferenzierungen und einer komplexen simultanen Immunglobulinuntersuchung wird hervorgehoben.

Schlüsselwörter:

Spezialgelkammer – Kreuzimmunelektrophorese – Variantgeltechnik – Gießvorrichtung – Immunglobulinuntersuchung.

Summary:

The modifications of the classical crossed immunoelectrophoresis which are possible with the variant gel chamber are combined to an analytical system, methodologically supplemented, and the application to immunoglobulin examinations in the clinical laboratory is demonstrated. Special emphasis is placed on the feasibility of IgG fine separations, immunoglobulin differentiations and a complex simultaneous immunoglobulin examination.

Key words:

Variant gel chamber – Crossed immunoelectrophoresis – Analysis of immunoglobulin – IgG separations.

Einleitung

Die klassische Kreuzimmunelektrophorese (KIE) (1, 2) geht in ihren beiden Phasen (der elektrophoretischen Trennung von Proteingemischen in Fraktionen = erste Phase und deren Immunpräzipitation im elektrischen Feld = zweite Phase) von der Verwendung des glei-

chen Trägermediums sowie von der Erstellung eines einzigen Präzipitationsergebnisses aus. Die Darstellung der in anodischer Richtung wandernden Proteinmoleküle erfolgt durch Immunpräzipitation im antikörperhaltigen Agarosegel (= Immungel). Es besteht eine unmittelbare zeitliche Aufeinanderfolge beider Analysenphasen.

Diese analysetechnischen Faktoren schränken die Anwendung der KIE ein. Das von uns entwickelte Analysensystem der Variantgeltechnik (VGT) versucht diese Nachteile zu beheben. Es ist auch für die Applikation der KIE auf die Immunglobulinuntersuchung von Vorteil.

Ausgehend von der Problemstellung der freien Kombination verschiedener elektrophoretischer Trägermedien für die Zwecke der KIE war unsere weitere analytische Zielsetzung die Beseitigung der oben erwähnten Nachteile der KIE.

Die Variantgeltechnik

Es wurde eine Spezialgelkammer (3) entwickelt und modifiziert (4–6) und das Analysensystem der VGT ausgearbeitet. Es ermöglicht, je nach der analytischen Zielsetzung eine bestimmte Trägermedienkombination zu wählen (4). Es gestattet auch, die im elektrischen Feld kathodisch wandernden Molekülpulks von IgG-Populationen durch Immunpräzipitation im antikörperhaltigen Agarosegelmedium darzustellen. Verwendet man Zelluloseacetatfolie (CAF) in der Trennphase, so kann dieser Elektrophoreseträger mit den auf ihm aufge-

trennten Proteinfractionen bei -20°C zur späteren Durchführung der Elektroimmunpräzipitation aufbewahrt werden (5). An eine elektrophoretische Trennung, d. h. an eine erste Phase kann eine doppelte (6) oder mehrfache Immunpräzipitationsphase angeschlossen werden. Das bedeutet Ersparnis an Untersuchungsmaterial, an Reagenzien (teueren Antisera), Arbeitsaufwand und Zeit. Das Ergebnis ist die simultane Erstellung von mindestens zwei Immunpräzipitationsbildern von einer einzigen elektrophoretischen Trennung.

Durchführung

Das Prinzip der VGT mit doppelter bzw. mehrfacher Immunpräzipitationsphase beruht auf der simultanen Verwendung von zwei oder mehreren Immungelplatten. Diese werden so in den entsprechenden Trog der Variantgelkammer eingelegt, daß entweder ihre antikörperhaltigen Agarosegelschichten einander zugewandt, jedoch durch eine undurchlässige Plastikfolie bzw. eine sehr dünne Plexiglasscheibe voneinander getrennt sind oder bei vierfacher zweiter Phase z. B. zwei solcher Immungelplattenpaare übereinander gelegt werden.

Abb. 1:

Zwei Messingplatten und ein Zwischenstück aus dem gleichen Material werden zusammengeschraubt. In den dadurch entstehenden Zwischenraum wird eine passende Glasplatte ($1 \times 59 \times 59 \text{ mm}$) bei der auf zwei gegenüberliegenden Rändern je eine Plexiglasleiste ($1 \times 2 \times 59 \text{ mm}$) aufgeklebt ist und auf denen eine Deckplatte aus Plexiglas ($0,8 \times 59 \times 59 \text{ mm}$) liegt so eingeführt, daß die beiden freien Enden des zwischen Glas- und Plexiglasplatte liegenden Hohlraumes nach oben bzw. nach unten zeigen. In die

obere Öffnung wird die flüssige, 50°C warme, mit Antiserum vermischte Agarose eingefüllt. Nach 5 Minuten wird die

Gießvorrichtung auseinander-geschraubt, die fertige Immungelplatte entnommen und die an den beiden freien

Rändern eventuell überstehende Gelschicht mit einer Rasierklinge entfernt. Die Immungelplatte ist nun analysenfertig.

Merckotest® EMIT®

Homogener Enzym-Immuno-Assay

Fotometrischer Test

Spezifisch und gut reproduzierbar

- Antiepileptica
- Digoxin und seine Derivate
- Drogen- und
Arzneimittelnachweis
- Thyroxin (T_4)

Wir informieren Sie gerne
E. Merck, Postfach 4119, 6100 Darmstadt

Wenn Sie meinen, "Aquadest"
sei ein Qualitätsbegriff, sollten Sie weiterlesen,
denn hier erfahren Sie mehr über

hochreines Wasser

SERADEST-Wasser-
vollentsalzer er-
reichen eine sehr
hohe Gesamt-Kapazi-
tät und davon größt-
mögliche Anteile mit
niedrigem Leitwert,
und zwar etwa

100 %	unter $20,0 \mu S$
90 %	unter $2,0 \mu S$
70 %	unter $1,0 \mu S$
60 %	unter $0,1 \mu S$

Die Wasservollentsalzer SERADEST S 650 / S 1100 im formschönen Kunststoff-Gehäuse haben sich tausendfach bewährt. Steigende Anforderungen, besonders aus dem Bereich der Analytik, führten zur Entwicklung dieser Service-Geräte. Sie bieten hochreines Wasser mit geringstmöglicher Leitfähigkeit bis $0,05 \mu S$.

Maßgebliches Qualitäts-Merkmal für reinstes Wasser ist seine Leitfähigkeit. Als Grenzwerte kann man für folgende Ein-satzzwecke annehmen:

- $0,1 \mu S$: Hochwertige Analysen im ng-Bereich, Atomabsorption, Flammenfotometrie, Emissions-Spektroskopie, Enzymologie, Referenzpuffer-Lösungen, Standard-Lösungen für Maßanalytik, Spülung von Halbleitern und Herstellung von Reagenzien in der Halbleiter-Herstellung,
- $2 \mu S$: Analysen im mg-Bereich, Hämatologie, Serologie, Mikrobiologie, Edelmetall-Galvanik, Elektronik, Fotometrie,
- $5 \mu S$: Routine-Analysen, Spülvorgänge, allgemeine Zwecke der Medizin, Chemie und Pharmazie,
- $10 \mu S$: Einfache Analysen in der Produktions-Kontrolle, Batterie-wasser nach VDE,
- $20 \mu S$: Spülprozesse zur Herstellung gedruckter Leiterplatten und in der Oberflächen-Technik, Aufzucht von Zierfischen und Zierpflanzen, Spülung im präparativen Labor.

Bei allen SERADEST-Ionenaustauschern wird das Rohwasser von oben nach unten durch das Mischbett-Harz geführt. Das ist wichtig. Sonst besteht die Gefahr, besonders bei dem in der Praxis vorherrschenden diskontinuierlichen Betrieb, daß sich die leichteren Anionen- von den schwereren Kationen-Austauschern trennen. Dieses Entmischen führt zum Ionenschlupf, also zur Qualitäts-Minderung.

Ein SERADEST hält jedem Preis-Leistungsvergleich stand. Die Anschaffungs-, Betriebs- und Servicekosten sind gering. Ein Liter SERADEST-Wasser kostet Sie nur 10 Pfennig bei einem harten und ca. 3 Pfennig bei weichem Rohwasser. Die Stundenleistung beim S 650 beträgt 50 und beim S 1100 sogar 100 Liter, die Gesamtkapazität 6500 bzw. 11000 Härte-liter.

Verlangen Sie ausführliches Informations-Material oder eine unverbindliche Beratung.
Eine ausgewogene Produktpalette steht zu Ihrer Verfügung.

Sera

Erich Alhäuser GmbH
Industriegebiet Eulerstraße
5412 Ransbach-Baumbach
☎ 02623-7061 Tx d 863 142

Besuchen Sie uns auf der ANALYTICA '78
in Halle 7, Stand 7009

Zum Gießen der Immungelplatten für die „Mehrfachtechnik“ benützen wir eine neu entwickelte Gießvorrichtung (Abb. 1).

Die mit ihrer Hilfe gegossenen Immungelplatten von definierter Schichtdicke sind an zwei gegenüberliegenden Seiten von je einer einen Millimeter hohen und zwei Millimeter breiten Plexiglasleiste begrenzt und an den beiden anderen frei für den Stromdurchgang.

Das Schaltprinzip der Mehrfachtechnik ist die Parallelschaltung.

Bei der Verwendung gleicher Immungelplatten, d.h. wenn zu deren Herstellung dasselbe Antiserum in gleicher Konzentration verwendet wurde, sollten die Immunpräzipitationsbilder (KIE-Pherogramme) praktisch identisch sein.

Dies läßt sich einerseits optisch durch Superposition beider Pherogramme und andererseits durch Wägung (7) der einzelnen aus Photographien gleicher Größe ausgeschnittenen Pherogrammpeaks feststellen. Sowohl die „Flächengewichte“ der einzeln geprüften Pherogrammpeaks als auch das der beiden Pherogrammsilhouetten differierten bei unserem Modellfall

um maximal $\pm 1,5\%$ vom arithmetischen Mittel, das aus den betreffenden „Parallelwerten“ der beiden simultan „präzipitierten“ Immungelplatten gebildet worden war.

Dieser Grad an Reproduzierbarkeit wurde erst durch die Verwendung der neuen Gießvorrichtung ermöglicht. Die mit ihrer Hilfe gegossenen Immungelplatten weisen eine streng planparallele Gelschicht von definierter, gleicher Schichtdicke auch an den Plattengrenzflächen auf. Dies ermöglicht in reproduzierbarer Weise Trenngel und Immungel mit Hilfe von flüssiger, 50°C warmer Agarose miteinander zu verbinden (Abb. 2).

Das Ergebnis ist eine gleichmäßige Verteilung der im ersten KIE-Schritt aufgetrennten Proteinfractionen bei ihrer unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes stattfindenden Wanderung in die beiden Immungelplatten, d.h. während der simultan verlaufenden doppelten Immunpräzipitationsphase der KIE.

Diskussion

Die Applikation der VGT (4–6) auf die Immunglobulinuntersuchung im klinischen Laboratorium birgt eine

Abb. 2:

Aus der schematischen Darstellung ist ersichtlich, daß die reproduzierbare Herstellung einer Verbindung zwischen dem im Gelmagazin befindlichen Trenngel und dem im angrenzenden Trog der Variantgelkammer liegenden Immungel mit Hilfe von warmer Agarose nur bei Vorhandensein einer definierten Grenzfläche der antikörperhaltigen Agarosegelschicht (= Immungel) gewährleistet ist. Für den Fall des „Überlaufens“ trifft dies nicht zu.

Abb. 3:

1,25 µl eines Nabelschnurblutserums wurden kreuzimmunelektrophoretisch mit der Variantgeltechnik untersucht. Die Trennphase wurde auf Zelluloseacetatfolie und die Präzipitationsphase in antikörperhaltigem Agarosegel (1,66 µl Anti-Human-IgG + IgA-Serum vom Kaninchen der Firma Dakopatts, Code: 100GA, H-Ketten-spezifisch, pro cm²) durchgeführt.

1 = Antikörperhaltiges Agarosegel (= Immungel).

2 = Antikörperfreies Agarosegel (= Verbindungsgel, liegt zwischen dem Trägermedium mit den in der ersten Phase aufgetrennten Proteinfractionen und dem Immungel. Seine Verwendung ist typisch für die Variantgeltechnik).

Pfeil parallel zum unteren Bildrand symbolisiert die Wanderungsrichtung in der Trennphase.

Pfeil parallel zum rechten Bildrand symbolisiert die Wanderungsrichtung in der Präzipitationsphase.

Aufgrund der Elektroendosmose kommt es zum Übertritt von Antikörpermolekülen aus dem Immungel in das ursprünglich antikörperfreie Verbindungsgel. Dadurch kommt es bei der Variantgeltechnik zu einer Differenzierung der in bezug auf ihre elektrophoretische Mobilität sehr heterogenen Human-IgG-Molekülpopulation. Dies gestattet es, für das IgG auch bei der KIE eine charakteristische Peakform optisch deutlich zu machen.

Reihe neuer analytischer Aspekte in sich: erstens die Möglichkeit von Feinauftrennungen - Darstellung von Mikroheterogenitäten - z. B. des IgG (Abb. 3), zweitens entfällt die Einengung von eiweißarmem Untersuchungsmaterial, z. B. des Liquor cerebrospinalis, wenn in der Trennphase Polyacrylamidgel (PAA-Gel) verwendet wird.

Wird auch im kathodenwärts vom Gelmagazin (mit den in der ersten KIE-Phase aufgetrennten Proteinfractionen) gelegenen kleineren Trog der Variantgelkammer ein Immungel plaziert, so kommen auch die zur Kathode wandernden Anteile von IgG-Populationen (8-11) durch Immunpräzipitation zur Darstellung. Dabei fanden wir in Analogie zu anderen (10), daß die auf der Kathodenseite entstehenden Immunpräzipitate weniger deutlich ausgeprägt, d. h. diffuser sind als jene, die während der Wanderung zur Anode gebildet werden.

Bei der Verwendung von CAF (Abb. 4), dem heute im klinischen Laboratorium wohl am häufigsten verwendeten Elektrophoreseträger, können die auf ihm aufgetrennten Proteinfractionen bei -20 °C eingefroren und für eine eventuelle spätere Durchführung des zweiten Kreuzimmunelektrophoreseschrittes aufbewahrt werden (5). Bei Verlaufskontrollen von Paraproteinämien kann dies z. B. von Interesse sein.

Abschließend sei noch auf den in dieser Mitteilung modifizierten, zweiten doppelten KIE-Schritt hingewiesen. Verbindet man diese Komponente der VGT mit jener der Immunpräzipitation auf der Anoden- und Kathodenseite, ergeben sich wegen des unterschiedlichen elektrophoretischen Verhaltens von IgG- und IgA-Populationen unter den Bedingungen der KIE (11) Vorteile bei der Differenzierung von diklonalen Gammopathien.

Wenden wir uns nun den Problemen der Verwendung unterschiedlicher Trägermedien in den beiden Phasen der KIE zu. Die spezifischen physikalischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der verschiedenen elektrophoretischen Trägermedien sind außer der oft unterschiedlichen Schichtdicke die Ursache von Kombinationsschwierigkeiten wie z. B. Wasserstau, Schrumpfung bzw. Austrocknung des Trägermediums. Mechanische Abtrennung beider Trägermaterialien und damit Unterbrechung des zweiten KIE-Schrittes sind häufig die Folge (4, 12, 13).

Mit der VGT gelang es uns, außer mit den Trägermedienkombinationen PAA-Gel-Agarosegel (4) und CAF-Agarosegel (5) auch bei der Kombination Stärkegel-Agarosegel und Indubiose Plates-Agarosegel einwandfreie KIE-Pherogramme (Präzipitationsbilder) zu erhalten. Neue Perspektiven, besonders für die Durchführung der simultanen doppelten bzw. mehrfachen Immunpräzipitationsphase der KIE, könnten sich durch die Verwendung von Sepraphore X, einer sog. „unter-

Logos

gmbh
Meiendorfer Mühlenweg 21
2000 Hamburg 65
Tel. 040/ 601.25.05/06

maßgeschneiderte elektrophorese

für
ihr labor

in der praxis
elvi 145
densitron

im labor
elvi 160
seroskop

in der klinik
elvi 190
seroprint

Poliphor: elektroph. Streifen • Eurochima: Reagenzien • Elvi: Laborgeräte

Sekundenschneller Methodenwechsel und bis zu 180 Proben in der Stunde. So empfiehlt sich das neue vollmechanisierte Analysen - System PA 800. Steuerung durch vorprogrammierte Methodenkarten. Eigenprogrammierung möglich. Der Reagenzienverbrauch ist gering und neben kinetischen Enzymen und Substraten sind auch Endpunktbestimmungen möglich. Das Preis-/Leistungsverhältnis ist sehr günstig. DM 88.000 zzgl. MwSt.

Fordern Sie ausführliche Unterlagen an.

Vitatron GmbH
Analysen-Geräte
für die klinische Chemie

Robert-Perthel-Str. 2-4
5000 Köln 60

Telefon 02 21 / 17 10 28
Telex 8 883 209

VITATRON

Besuchen Sie uns auf der ANALYTICA in München vom 18. - 22. 4. 1978, Halle 7, Stand 7022/7122

Abb. 4:

2 μ l eines Humanserums wurden kreuzimmunoelektrophoretisch mit der Variantgeltechnik untersucht. Die Trennphase wurde auf Zelluloseacetatfolie und die Präzipitationsphase in antikörperhaltigem Agarosegel (2,77 μ l Anti-Human-Serum vom Kaninchen, der Firma Dakopatts, Code 100SA, polyspezifisch, pro cm^2) durchgeführt.

1 = Antikörperhaltiges Agarosegel (= Immungel).

2 = Antikörperfreies Agarosegel (= Verbindungsgel, liegt zwischen dem Trägermedium mit den in der ersten Phase aufgetrennten Proteinfractionen und dem Immungel. Seine Verwendung ist typisch für die Variantgeltechnik).

Pfeil parallel zum unteren Bildrand symbolisiert die Wanderungsrichtung in der Trennphase.

Pfeil parallel zum rechten Bildrand symbolisiert die Wanderungsrichtung in der Präzipitationsphase.

Aufgrund der Elektroendosmose kommt es zum Übertritt von Antikörpermolekülen aus dem Immungel in das ursprünglich antikörperfreie Verbindungsgel, wie aus dem Präzipitationsbild zu ersehen ist.

Abb. 5:

2 μ l eines Standard-Human-Serums der Firma Behringwerke AG wurden kreuzimmunoelektrophoretisch mit der Variantgeltechnik untersucht. Die Trennphase wurde auf Zelluloseacetatfolie und die Präzipitationsphase in antikörperhaltigem Agarosegel (1,11 μ l Anti-Human-IgG + IgA + IgM-Serum vom Kaninchen der Firma Dakopatts, Code: 10GAM, H-Ketten-spezifisch, pro cm^2) durchgeführt.

1 = Antikörperhaltiges Agarosegel (= Immungel).

2 = Antikörperfreies Agarosegel (= Verbindungsgel, liegt zwischen dem Trägermedium mit den in der ersten Phase aufgetrennten Proteinfractionen und dem Immungel. Seine Verwendung ist typisch für die Variantgeltechnik).

Pfeil parallel zum unteren Bildrand symbolisiert die Wanderungsrichtung in der Trennphase.

Pfeil parallel zum rechten Bildrand symbolisiert die Wanderungsrichtung in der Präzipitationsphase.

Die Morphologie der Peakformen der untersuchten Immunglobuline wird einerseits von der unterschiedlichen elektrophoretischen Mobilität des IgG und des IgA sowie andererseits vom Grad der Heterogenität ihrer Molekülpulks in bezug auf die Nettoladung bestimmt. Das IgM bildete kein mit bloßem Auge sichtbares Immunpräzipitat.

stützten“ CAF, ergeben. Die Sepraphore X ist eine Zelluloseacetatfolie, die auf eine dünne Plastikplatte aufgeklebt ist. Sie ist de facto unzerreißbar, weniger empfindlich und beim Arbeiten sehr handlich: ein neuer Elektrophoreseträger-Typ auf CAF-Basis. Unsere diesbezüglichen Versuchsarbeiten sind derzeit noch nicht abgeschlossen.

Zur Bedeutung der KIE für das klinische Laboratorium ist abschließend zu sagen, daß der Schwerpunkt ihrer Applikation mehr zur qualitativen Aussage tendiert, besonders auch im Hinblick auf die Immunglobuline. Hier gestattet sie z. B. in Verbindung mit dem Analysensystem der VGT eine besonders fein differenzierte Aufschlüsselung des Immunglobulinstatus (Abb. 5). Schon daraus geht hervor, daß die KIE derzeit eine eher in großen klinischen Laboratorien praktizierte Elektrophoresemethode ist.

Methodischer Anhang

Alle Untersuchungen wurden mit dem Analysensystem der Variantgeltechnik (3–6) durchgeführt. Die Methode der doppelten zweiten KIE-Phase (6) wurde modifiziert, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

Material und Geräte:

1. Spezialgelkammer (Variantgelkammer) MEDAC
2. Elektrophoreseapparatur Jenapharm und Behringwerke
3. Gießvorrichtung – neu entwickelt – zur Herstellung von Immungelplatten
4. Antiseren der Firmen Dakopatts und Behringwerke
5. Standard-Human-Serum, Behringwerke
6. Agarose, Behringwerke
7. Zelluloseacetatfolie, Sartorius Membranfilter
8. Sepraphore X, Supported Cellulosic Membrane for Electrophoresis, Gelman Instrument Company
9. Indubiose Plates, Acrylamide Agarose dessicated gel for electrophoresis, L'Industrie Biologique Française
10. Stärke-Gel zur Elektrophorese nach Smithies, Serva
11. Coomassie Brilliant Blue R, Gurr
12. Veronalpuffer (pH 8,6; Ionenstärke 0,02)
13. Sowie das sonst übliche Material zur Durchführung von Elektrophoresen, Pipetten, Filterpapier, Puffer für den ersten Elektrophoreseschritt der KIE usw.

Schrifttum

1. LAURELL, C.-B.: Antigen-antibody crossed electrophoresis. *Anal. Biochem.* 10 (1965) 358.
2. CLARKE, M. H. G., FREEMAN, T.: A quantitative immunoelectrophoresis method (Laurell electrophoresis). In: *Prot. Biol. Fluids* 14, p. 503, ed. H. Peeters Elsevier, Amsterdam, 1967.
3. KROTZ, W.: Kammer und Verfahren für die Durchführung des zweiten Kreuz-Elektrophoreseschrittes. Auslegeschrift 23 85 284. Deutsches Patentamt Bekanntmachungstag: 6. 3. 75
4. GROG, W., JENDREY, M.: Modification of Laurell's crossed immunoelectrophoresis with special gel chamber. *Clin. Chim. Acta* 52 (1974) 59.
5. GROG, W., HARMS, A., LAHN, W.: Electrophoretic separation of serum proteins on cellulose acetate followed by electrophoresis in antibody-containing agarose gel. *Clin. Chim. Acta* 60 (1975) 371.
6. GROG, W., HARMS, A.: Antigen-antibody crossed electrophoresis with dual second step. *J. Immunol. Methods* 8 (1975) 85.
7. BERNE, B. H.: Discrepant equations derived from the single radial immunodiffusion technique. *Immunochemistry* 9 (1972) 1259.
8. AFONSO, E.: Laurell's two-dimensional electrophoresis: improved technique. *Clin. Chim. Acta* 54 (1974) 123.
9. BECKER, W.: Immunchemische Differenzierung gamma-G-monoclonaler und polyclonaler Gammopathien durch Elektroimmundiffusion. *Z. analyt. Chemie* 243 (1968) 442.
10. GRUBB, A.: Quantitation of immunoglobulin G by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 26 (1970) 249.
11. LAURELL, C.-B.: Antigen-antibody crossed electrophoresis in clinical immunoglobulin research. In: *Nobel Symposium 3 „Gamma Globulins“, Structure and Control of Biosynthesis*, ed. J. Killander. Almqvist and Wiksell, Stockholm, Interscience Publishers, a Division of John Wiley and Sons, Inc., New York-London-Sydney, 1967, p. 295.
12. JOHANSSON, B. G., STENFLO, J.: Polyacrylamide slab electrophoresis followed by electrophoresis into antibody-containing agarose gel. *Analyt. Biochem.* 40 (1971) 232.
13. SKUDE, G., JEPPESSON, J.-O.: Thin layer electrofocusing followed by electrophoresis in antibody containing gel. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 29 suppl. 124 (1972) 55.

Anschriften der Verfasser:

Dr. Walter Krotz (Groc)
Heinrich-Pette-Institut
Martinistraße 52
2000 Hamburg 20

Angelika Harms
Braukamp 15
3015 Wennigsen 5

Dr. Dr. Wilhelm Lahn
Völklinger Weg 36
6000 Frankfurt-Schwanheim

LEITZ SM-LUX. DAS PERFEKTE DIAGNOSE- MIKROSKOP FÜR PRAXIS UND LABOR IST AUCH IN SACHEN KOSTENRECHNUNG NICHT ZU SCHLAGEN.

Ein Mikroskop für die täglichen Routineuntersuchungen in medizinischen und biologischen Laboratorien wird nicht nur an der optischen Leistung gemessen. Es muß auch Zeit und Kosten sparen. Genau das tut das LEITZ SM-LUX. Bereits mit der Grundausstattung mikroskopieren Sie im Hellfeld, Dunkelfeld und Phasenkontrast. Und zwar ohne das Mikroskop umrüsten zu müssen.

Histologische Schnitte, Abstriche, Blutbilder, Harnsedimente oder immunologische Fluoreszenzpräparate: Das LEITZ SM-LUX bietet sofort das richtige Verfahren für die eindeutige Beurteilung.

Daß dabei immer alle Einzelheiten des mikroskopischen

Bildes schnell und sicher erkannt werden, dafür bürgt die weltberühmte Leitz-Optik.

Die robuste, bedienungsfreundliche Bauweise garantiert nicht nur rationelles Arbeiten, sondern auch höchste Zuverlässigkeit.

Prüfen Sie, ob die sogenannten billigen Labormikroskope auch nur annähernd dieselben Vorzüge haben. Sie werden sehen, wie teuer ihr geringerer Preis erkaufte werden muß.

Der Leitz-Berater zeigt Ihnen gerne an Ort und Stelle, wie das LEITZ SM-LUX Ihre speziellen mikroskopischen Probleme meistert. Und er kann Ihnen noch einiges zum Thema Preis-Leistungsverhältnis sagen.

Sie brauchen uns nur den Coupon zu schicken.

- ☐ Ich möchte mehr über das LEITZ SM-LUX erfahren und bitte um den ausführlichen Prospekt.
☐ Ich möchte bald den Leitz-Berater sprechen und bitte um Terminabsprache.

Name/Dienststelle: _____

Institut/Lehranstalt/Labor: _____

Telefon: _____

Straße: _____

Ort: _____
Schicken Sie uns den Coupon oder schreiben Sie einfach an den Informationsdienst 322
Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Postfach 2020,
D-6330 Wetzlar

**Leitz heißt Präzision.
Weltweit.**

Harnsediment im Hellfeld...

Blutbild

... und im Phasenkontrast

Der bewährte und von Millionen Patienten akzeptierte Test auf okkultes Blut im Stuhl.

Aufgrund seiner bewiesenen Effizienz seit 1.1.1977 für die gesetzliche Krebsfrüherkennungs-Untersuchung* zugelassen.

Haemoccult®

Der modifizierte Guajak-Test nach Greegor

○ Die ausgewogene Empfindlichkeit von Haemoccult bewahrt Sie, Ihre Patientinnen und Patienten vor vermeidbaren falsch-positiven Ergebnissen etwa

wegen zu hoher Empfindlichkeit des Indikatorsystems**

○ Jetzt noch hygienischer durch Sicherheitsbeutel aus mikrobensicherem Papier.

○ Ab sofort bietet Ihnen Haemoccult weitere Vorteile, die Sie den jeder Originalpackung beigefügten Hinweisen entnehmen können.

Plakate für das Wartezimmer und eine Gebrauchsanweisung in italienisch, spanisch, serbokroatisch, griechisch und türkisch stehen auf Anfrage zur Verfügung.

OP mit 50 x 3 Testbriefchen mit Spateln und Entwicklerlösung (ausreichend für 50 Patienten), ab jetzt mit 50 Sicherheitsbeuteln aus mikrobensicherem Papier.

* Veröffentlicht im Bundesanzeiger Nr. 214 v. 11. Nov. 76 als Bekanntmachung der Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen. Haemoccult ist mit dem in der Bekanntmachung genannten modifizierten Guajak-Test nach Greegor identisch.

** Greegor, D. H., in der Monographie von Kl. Görttler u. a.: Kolorektale Krebsvorsorge, Wachholz-Verlag, Nürnberg (1978).

Röhm Pharma
GMBH DARMSTADT