

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 14, 1976, pp. 177-180

Quantitative Proteinbestimmung nach standardisierter Konzentrierung verdünnter physiologischer Flüssigkeiten

Von K. Eickhoff

Neurologische Klinik der Universität Göttingen

(Eingegangen am 20. Oktober/24. November 1975)

Zusammenfassung: Die quantitative Bestimmung von Gesamteiweiß und 10 Proteinen nach zehnfacher Konzentrierung eines 1:100 verdünnten Standard-Präparates in Minicon B-15-Kammern ergibt verringerte Analysenwerte. Die Substanzverluste sind nicht standardisierbar. Ihre Ursache wird untersucht und diskutiert.

Daraus ergibt sich, daß sowohl die quantitative Bestimmung einzelner Proteine mittels immunchemischer Methoden als auch die densitometrische Auswertung elektrophoretischer Untersuchungen nach Einengung physiologischer Flüssigkeiten mit sehr niedrigem Eiweißgehalt mit Vorbehalt zu interpretieren ist, da mit einer Änderung der absoluten und relativen Eiweißzusammensetzung durch den Konzentrationsvorgang zu rechnen ist. Für echte Absolutbestimmungen sind diese Methoden nicht statthaft. Eine nicht standardisierbare Korrektur müßte beachtet werden.

Quantitative protein estimation following standardized concentration of diluted physiological fluids

Summary: After the tenfold concentration of 1:100 diluted standard solutions in the Minicon B-15 concentrator, the quantitative determination of total protein and of ten single proteins showed a decreased yield. These losses are not standardizable. The reason is analyzed and discussed.

Therefore, the quantitative estimation of single proteins by means of immunochemical methods as well as the densitometry of electrophoreses of dilute protein solutions following concentration should be interpreted with caution, because changes in the absolute and relative concentration of proteins are to be expected. These methods are not suitable for exact measurements. An unstandardizable correction coefficient ought to be considered.

Einführung

Bei proteinchemischen Untersuchungen verschiedener physiologischer Flüssigkeiten (Liquor cerebrospinalis, Urin, Fruchtwasser, Kammerwasser des Auges, Pleuraergüsse, Ascites) ist man vielfach wegen des sehr niedrigen Eiweißgehaltes auf eine Konzentrierung des Probenmaterials angewiesen. Ein relativ gutes Einengungsverfahren erlaubt angeblich die Anwendung von Minicon B-15-Kammern (Aminco, Witten/Ruhr). Da nicht nur bei dieser Methode, sondern auch bei den meisten anderen Protein-Anreicherungsverfahren vergleichende Untersuchungen zur Ausbeute an einzelnen Proteinen fehlen, wird hier über Bestimmungen von Gesamteiweiß und 10 Proteinen nach zehnfacher Konzentrierung eines 1:100 verdünnten standardisierten Humanserums mittels Minicon B-15-Kammern berichtet.

Material und Methoden

Es wurden mit phosphatgepufferter physiologischer NaCl-Lösung (pH 7,2) kommerziell erhältliche Standard-Präparate (Standard-Human-Serum K-Nr. 974, Protein-Standard-Plasma K-Nr. 1174, Fluinorm N K-Nr. 123 der Behringwerke A.G., Marburg/Lahn) 1:100 verdünnt und dann in Minicon B-15-Kammern (Aminco, Witten/Ruhr) zehnfach eingengt. Jede Kammer wurde bis Marke „Fill“ gefüllt. Wenn der Flüssigkeitsspiegel die Marke „10 x“ erreicht hatte, wurde das eingengte Standard-Präparat mit einer lang ausgezogenen Pasteur-Pipette aus der Kammer in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt und zentrifugiert. Dann wurden die Proben auf ihren Gehalt an Gesamteiweiß (Methode: modifizierte Biuret-Reaktion) und an bestimmten Proteinen (Methode: einfache radiale Immunodiffusion) untersucht.

Aus jedem eingengten Standard-Präparat wurden mittels verschiedener Immunodiffusionsplatten (Partigen, Behringwerke A.G., Marburg/Lahn) gleichzeitig bestimmt: Albumin, IgG, IgA, IgM, Transferrin, saures α_1 -Glycoprotein, α_2 -Makroglobulin, Hämoexin, β_1 -A-Globulin. In dem eingengten Protein-Standard-Plasma wurde α_1 -Antitrypsin quantitativ untersucht. Für das ein-