Trennung von östradiolbindenden Proteinen in Cytosol und Plasma

P.		Huber
H.I.		Wyss

Universitäts-Frauenklinik Basel (Direktor: Prof. O. Käser), Basel

Adresse der Autoren: Dr. P. Huber und H. I. Wyss, Universitäts-Frauenklinik Basel, 4000 Basel (Schweiz)

Dasselbe Rezeptorprotein für Östradiol wie im Uterus findet sich auch in Mammakarzinomen. Bindungsstudien zur Abklärung der Frage, wie viele Östradiolmoleküle pro Proteinmolekül gebunden werden, ergaben ein Verhältnis von 1:1. Man erhält damit die Möglichkeit direkte Rückschlüsse auf die Quantität an Rezeptoren zu ziehen. In Zielorganen wie z. B. Mammakarzinomen liegen neben den mit endogenem Östradiol besetzten auch unbesetzte Rezeptoren vor, die radioaktivem Östradiol zugänglich sind und damit quantitativ erfassbar werden.

Aus den genannten Eigenschaften ergibt sich eine Grundlage, die Hormonabhängigkeit von Mammatumoren zu studieren. Leider arbeitet man jedoch bei solchen Studien nicht mit reinen Rezeptorlösungen, sondern mit einem Gemisch an löslichen Proteinen, in der Hauptsache Plasmaproteinen. Dieser Vortrag diskutiert nun die Frage, wie das unspezifisch gebundene Hormon vom spezifisch gebundenen abgetrennt werden kann.

Gewebeteile werden in einem geeigneten Puffer homogenisiert und zentrifugiert. Die Proteinlösung wird nun radioaktiv markiertem Hormon für einige Zeit inkubiert. Nach erfolgter Inkubation stellt sich die Frage der Abtrennung.

1. Abtrennung durch Norit

Dem inkubierten Supernatant wird eine bestimmte Menge Tierkohle (Norit) zugeführt. Dabei bindet sich das freie, ungebundene und das von den Plasmaproteinen abgelöste Östradiol an die Tierkohle, der östradiol-Rezeptor-Komplex aber bleibt in Lösung. Ein Nachteil dieser Methode: Ein unkontrollierbarer Teil des Rezeptor-Hormon-Komplexes bleibt

48

Huber/Wyss

ebenfalls an der Tierkohle hängen, was zu zu niedrigen Resultaten für die Quantität des Rezeptorkomplexes führt.

2. Agarose-Elektrophorese

Hier wird das inkubierte Supernatant in die Löcher im Zentrum der Agaroseplatte eingetragen. Während der nun anschließenden Elektro-phorese trennt sich das unspezifisch gebundene Hormon ab und wandert mit dem überschüssigen Hormon zusammen in den kathodischen Bereich. Die Plasmaproteine selbst, mit Ausnahme des γ -Globulins, wandern in den anodischen Bereich, jedoch wird zur Hauptsache der Rezeptorkomplex sichtbar. Der Nachteil dieser Methode ist, dass sie relativ arbeitsintensiv und teuer ist.

Hydroxylapatit

Die Arbeitstechnik schliesst sich den vorher besprochenen Methoden an, jedoch wird der Rezeptorkomplex an das Kolonnenmaterial adsorbiert und nicht in Lösung gehalten. Durch Ausspülen mit einem geeigneten Puffer trennt man überschüssiges und unspezifisch gebundenes Hormon ab. Mit einem organischen Lösungsmittel spült man die Säule nach und erhält so die spezifisch gebundene Menge an Hormon.

Mit Hilfe dieser Methode gelingt es auch, ganz im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Arbeitstechniken, die Gesamtmenge an Rezeptoren zu erfassen. Man inkubiert dabei das Supernatant mit nicht radioaktiv markiertem Östradiol, trennt die Lösung an Hydroxylapatit auf und bestimmt das spezifisch gebundene Östradiol mittels der sehr empfindlichen Immunkörpermethode.

Dieser Fortschritt

die Erfassung der Gesamtmenge an Rezeptoren

ist insofern wichtig

als der Hormonspiegel der Frau ja bekanntlich grossen Schwankungen unterworfen ist. Falls nun nur die unbesetzten Rezeptoren gemessen werden

könnte ein wichtiger und eventuell entscheidender Teil der Rezeptoren der Beobachtung entzogen werden. Wir sind nun daran

diese Methode an Biopsiematerial zu testen und zu verfeinern.