

Ю. Т. АЛЕКСАНЯН, Г. П. ТРИБУЛЕВ, И. И. ПОДОПЛЕЛОВ, В. Т. ТИМОФЕЕВ

ИЗУЧЕНИЕ ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИГЕНОВ КЛЕТОК КРЫСИНОЙ КАРЦИНОМЫ В ОДНОСЛОЙНЫХ КУЛЬТУРАХ

За последние годы в связи с развитием иммуногенетики соматических клеток большое значение приобретает проблема антигенов как естественных генетических маркеров [7, 14, 15]. Антигены видовой специфичности как стойкие признаки клеток [4] нашли широкое применение в иммунологических исследованиях. Однако в литературе по вопросу о наличии видовых антигенов в клетках, выращиваемых в однослойных культурах, имеются противоречивые данные [6, 9, 11—13, 16, 17].

Задачей настоящего исследования явилось изучение этого вопроса на клетках крысиной карциномы, выращиваемых в однослойных культурах.

Методика опытов. Для выявления видоспецифических свойств в клетках культур применяли реакцию микропреципитации в геле [5] и цитотоксический «экспресс»-тест [3]. В качестве антигенов в реакции преципитации в геле использовали водносолевые экстракты, приготовленные из тканей перевиваемой карциномы почки крыс [1], а также—селезенки, почки и эмбриона крыс, клеток первичной культуры рака почки крыс [2] и перевиваемой линии клеток той же опухоли, названной нами РПК (рак почки крыс). Кроме того, были взяты нормальные сыворотки крысы и быка. Исследование проводили с помощью антител, полученных путем иммунизации кроликов крысиной сывороткой.

Клетки культивировали в матрасах Ру, на среде 199, с добавлением 30% гидролизата лактальбумина и 20% сыворотки крупного рогатого скота. Для получения антигенного материала клетки снимали раствором трипсина, центрифугировали при 2000 об./мин., осадок разводили физиологическим раствором, а затем подвергали 15-кратному замораживанию и оттаиванию. Надосадочная жидкость служила антигеном. Концентрацию белка в исследуемых антигенах определяли по Лоури. В опыт брали антигены, содержащие 15 мг белка в 1 мл.

При постановке цитотоксического «экспресс»-теста в опыт брали клетки четырехдневных культур различных линий: РПК [10] HeLa (рак шейки матки человека), L (мышинные фибробласты). В качестве реагентов использовали три сыворотки: лошадиную анти-HeLa, полученную методом «иммунологического очищения» [8], и кроличьи сыворотки против нормальной и раковой тканей почки крыс. Контролем служили нормальные сыворотки кролика, лошади и морской свинки. Цитотоксическую реакцию считали положительной, если процент мертвых клеток превышал 50.

Результаты опытов. В реакции преципитации в геле (рис. 1 и 2) было обнаружено, что сыворотка, преципитирующая белок крысы, образует полосы преципитации с антигенами нормальных и опухолевых тканей и сывороткой крысы, но не реагирует с антигенами клеток первичных культур крысиной карциномы и перевиваемой линии клеток РПК,

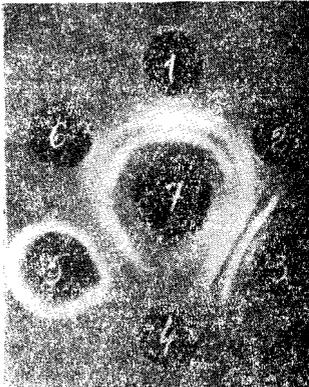


Рис. 1. Обнаружение антигенов, сходных с сывороткой крысы, в гомологичных нормальных и опухолевых тканях. 1 — рак почки крыс. 2 — нормальная почка крыс. 3 — 20% нормальная крысиная сыворотка. 4 — 20% нормальная бычья сыворотка (контроль). 5 — эмбриональный экстракт крыс. 6 — селезенка крыс. 7 — сыворотка, преципитирующая белок крысы.

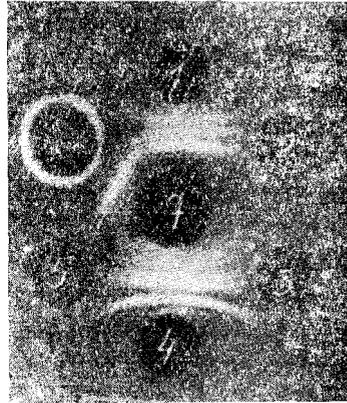


Рис. 2. Утрата антигенов, сходных с сывороткой крысы, в клетках карциномы, выращиваемой вне организма. 1 — рак почки крыс. 2 — клетки первичной культуры рака почки крыс. 3 — клетки линии РПК. 4 — 20% нормальная крысиная сыворотка. 5 — 20% нормальная бычья сыворотка (контроль). 6 — эмбриональный экстракт крыс. 7 — сыворотка, преципитирующая белок крысы.

а также с сывороткой быка. Эти данные свидетельствовали о наличии крысиных сывороточных антигенов в нормальных и опухолевых тканях крыс и отсутствии их в культивируемых крысиных клетках. Кроме того, было выявлено, что крысиная сыворотка и ткани не имеют антигенной общности с сывороткой быка.

Для того, чтобы выяснить вопрос о сохранении видовой специфичности в клетках культур крысиной карциномы, был применен цитотоксический «экспресс»-тест с различными линиями клеток. Как показали данные трех воспроизводимых опытов (таблица), сыворотки, содержащие антитела к тканям крысы, обнаружили цитотоксическое действие только в отношении клеток РПК, но не влияли на жизнеспособность человеческих (HeLa) и мышиных (L) клеток. В то же время лошадиная сыворотка анти-HeLa оказывала избирательное повреждающее действие только на клетки человека.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов можно сделать следующие выводы:

1. В клетках первичных культур крысиной карциномы и клетках перевиваемой линии РПК, полученной из той же опухоли, при помощи

Таблица 1

Результаты изучения видоспецифических антигенов перевиваемых линий клеток РПК, HeLa, L с помощью цитотоксического „экспресс“-теста

Сыворотки	Клетки		
	РПК	HeLa	L
Сыворотка против рака почки крыс + комплемент	93,3 *	8,1	33,1
Та же сыворотка без комплемента	12,5	10,2	6,9
Сыворотка против нормальной почки крыс + комплемент	98,6	8,9	12,2
Та же сыворотка без комплемента	9,7	7,8	14,0
Нормальная кроличья сыворотка	6,6	7,8	5,8
Анти-HeLa + комплемент	6,2	95,5	7,8
Та же сыворотка без комплемента	5,5	7,9	3,7
Нормальная лошадиная сыворотка	6,4	4,5	7,4
Комплемент (сыворотка морской свинки)	4,0	5,3	4,1

* Все цифры обозначают процент мертвых клеток.

реакции преципитации в геле не удастся выявить антигены, общие с сывороткой крысы, хотя во всех крысиных нормальных и злокачественных тканях эти антигены постоянно обнаруживаются.

2. Как показали результаты цитотоксического теста, длительно перевиваемые вне организма клетки линии РПК сохраняют крысиную видовую специфичность, а клетки HeLa—видовую специфичность человека.

Институт экспериментальной биологии
АМН СССР

Поступило 13.III 1967 г.

ՅՈՒ. Տ. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Գ. Պ. ՏՐԻԲՈՒԼԵՎ, Ի. Ի. ՊՈԴՊԵԼՈՎ, Վ. Տ. ՏԻՄՈՖԵԵՎ

**ՄԻԱՇԵՐՏ ԿՈՒՆՏՐԱԿՏՆԵՐՈՒՄ ԱՌՆԵՏԱՅԻՆ ԿԱՐՑԻՆՈՄԱՅԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ
ՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ՍՊԵՑԻՖԻԿՈՒԹՅԱՄԲ ՕԺՏՎԱԾ ԱՆՏԻԴԵՆՆԵՐԻ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ**

Ա մ փ ո փ ու մ

Հեղինակներն ուսումնասիրել են առնետի երիկամի կարցինոմայի բջիջների տեսակային սպեցիֆիկությունը սկզբնական կուլտուրաներում և օրգանիզմից դուրս նրանց երկարատև աճեցումից հետո:

Ցիտոտոքսիկ էքսպրես-տեստի ավյալներով նույնիսկ օրգանիզմից դուրս երկարատև վերապատվաստվող վերոհիշյալ բջիջները պահպանում են առնետի տեսակային-սպեցիֆիկ անտիգենները: Միկրոպրեցիպիտացիայի հակազդեցություն օգնություն (գելի մեջ) նույն այդ բջիջներում, ինչպես և ուռուցքի սկզբնական կուլտուրաների բջիջներում չի հաջողվել հայտնաբերել առնետի շիճուկի հետ ընդհանուր անտիգեններ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акимова Р. Н. *Вопр. онкол.*, 9, 12, 51, 1963.
2. Алексанян Ю. Т. *Материалы конф. молодых ученых Института эксперим. биол. АМН СССР*, М., 3, 1965.
3. Брондз Б. Д. *Бюлл. эксперим. биол. и мед.*, 5, 64, 1964.
4. Жуков-Вережников Н. Н. *Руков. по микробиол., клинике и эпидемиол. инфекцион. болезней*, т. 3, М., 51, 1964.
5. Зильбер Л. А., Абелев Г. И. *Вирусология и иммунология рака*, М., 1962.
6. Подоплелов И. И., Трибулев Г. П., Шарый Н. И., Ковеза В. М. *Материалы конференции по эксперим. медицинской генетике Института эксперим. биол. АМН СССР*, М., 49, 1964.
7. Трибулев Г. П., Подоплелов И. И. *Материалы конф. по эксперим. медицинской генетике Института эксперим. биол. АМН СССР*, М., 38, 1964.
8. Трибулев Г. П., Подоплелов И. И. *Бюлл. эксперим. биол. и мед.*, 11, 125, 1964.
9. Трибулев Г. П., Подоплелов И. И., Тимофеев В. Т. *Материалы конф. по иммунобиол. злокачеств. новообразований Ин-та эксперим. биол. АМН СССР*, М., 37, 1965.
10. Трибулев Г. П., Подоплелов И. И., Алексанян Ю. Т., Глинский И. А., Тимофеев В. Т. *Материалы конфер. молодых ученых Института эксперим. биол. АМН СССР*, М., 130, 1966.
11. Brand K. G. *Nature*, 194, 4830, 752, 1962.
12. Brand K. G. Syverton J. T. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 3, 8, 1959.
13. Furminger J. G. *J. Pathol. and Bact.*, 89, 1, 337, 1965.
14. Korngold R. D. *Med. Bull. Ann. Arbor, Michigan*, 28, 337, 1962.
15. Spencer R. A., Haushchka T. S., Amos D. B., Ephrussi B. J. *Nat. Cancer Inst.*, 33, 5, 893, 1964.
16. Vainio T., Lahti A. *Ann. Med. Exptl. et Biol. Fenniae*, 37, 1, 9, 1959.
17. Vainio T., Penttinen K. *Ann. Med. Exptl. et Biol. Fenniae*, 37, 1, 18, 1959.