

Ю. Т. АЛЕКСАНЯН

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОЙ ИММУНОГЕНЕТИКИ И АНТИГЕННАЯ СТРУКТУРА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК

За последнее время на стыке двух наук (иммунологии и генетики) бурно развивается весьма важная дисциплина—иммуногенетика. Ее актуальность отмечалась рядом исследователей [6, 11, 16, 22, 24, 36, 41, 42, 71]. С помощью иммунологических методов она изучает генетические отношения. Перспективность использования иммунологических реакций в значительной мере определяется исключительной специфичностью реакции антиген—антитело. Кроме того, многие мутации у человека и животных (так называемые молекулярные или точковые) сопровождаются изменением антигенных свойств клеток, и иммунологические реакции являются весьма эффективными для анализа этих мутаций, не обнаруживаемых существующими методами цитогенетики. Так, по расчетам некоторых исследователей, у крупного рогатого скота возможно более чем 150 млрд. типов крови [6]. Колоссальное количество возможных антигенных типов обусловлено мутациями определенных локусов хромосом, что создает большие предпосылки для изучения столь важного теоретического вопроса, как вопрос о строении гена.

Как известно, генетическая информация реализуется в определенные фенотипические признаки (ферменты, антигены, морфоструктуры и т. д.). Антигены строго наследственно обусловлены и не меняются в течение жизни животного. Наличие антигена, как правило, доминирует над его отсутствием. Поэтому антигены рассматриваются как маркеры или метки клеток и используются при изучении генетических отношений [17, 36, 75].

Иммуногенетика, изучающая закономерности наследования антигенов клеток и тканей, выросла из неинфекционной иммунологии [14, 26] и подразделяется на ряд областей:

- иммуногенетика групп крови [19, 22, 42];
- » сывороточных фракций [17];
- » трансплантаций тканей и органов [15, 23, 25, 57, 65, 74];
- » сперматозоидов [22, 31];
- » гибридов животных [6];
- » онтогенеза [9, 14, 17];
- » клеток и тканей, выращиваемых вне организма [36, 75].

Следует отметить, что некоторые патологические процессы (например, несовместимость матери и плода по антигенам системы резус) воз-

никают на генетической основе и реализуются через иммунологические механизмы. За последнее время генетические представления были использованы для трактовки процесса иммуногенеза, и результатом этого явилось создание клонально-селекционной теории иммунитета [5].

Проблемы иммуногенетики имеют не только большое теоретическое, но и практическое значение. Так, группы крови человека, открытые в 1901 г. Ландштейнером [64] и являющиеся одним из первых и наиболее четких примеров простого менделевского наследования у человека, обязательно учитываются при переливании крови. Нынешние возможности внутривидовой пересадки органов и тканей ограничиваются не хирургической техникой, которая в ряде случаев доведена до совершенства, а законами иммуногенетики.

Основным методом генетического анализа является, как известно, гибридологический анализ. Однако человек не принадлежит к числу таких объектов генетических исследований, которыми экспериментатор может располагать по своему усмотрению. Человек и животные характеризуются длительным циклом развития и немногочисленностью потомства. Как ни значительны успехи, достигнутые в области генетики микроорганизмов, как ни универсальны генетические закономерности, крайне необходима экспериментальная разработка вопросов генетики человека. Отмеченные выше ограничения и генетическая тождественность соматических клеток и исходных зигот обуславливают актуальность работ в области генетики соматических клеток человека и млекопитающих [7, 8, 27, 39, 40]. Конечной целью исследований по генетике соматических клеток человека является составление подробных генетических карт, что будет иметь колоссальное значение для медицинской генетики, онкологии и т. д. Некоторые важные проблемы, как, например, проблема генетического контроля дифференцировки клеток в онтогенезе, могут быть поставлены и изучены лишь при использовании соматических клеток многоклеточных организмов. Изучение генетики соматических клеток стало возможным благодаря разработке и применению метода однослойных клеточных культур [3, 10, 30, 32]. Проблема генетики соматических клеток в целом все еще остается исключительно сложной, однако за последние годы получены данные принципиального значения, открывающие методические подходы к разработке данной проблемы:

- 1) разработка методов и выведение клоновых культур клеток [38];
- 2) трансформация клеток в культуре с помощью ДНК [28, 77];
- 3) «гибридизация» культивируемых соматических клеток [4, 43, 75].

Необходимо изучение условий, обеспечивающих сегрегацию клеток с появлением рекомбинантов в потомстве гетерозиготных клеток, что может открыть путь для рекомбинационного анализа соматических клеток.

Для идентификации процесса слияния соматических клеток в культуре применяются различные маркеры-хромосомы, степень злокачественности и т. д. [4, 27, 40]. При анализе «гибридизации» мышинных клеток в однослойных культурах, наряду с другими маркерами, были использованы изоантигены системы H-2, причем оказалось, что это наиболее ста-

бильные маркеры клеток [75]. Применение антигенов в качестве маркеров в генетике соматических клеток создает основу для развития иммуногенетики соматических клеток.

Таким образом, важность работ по изучению антигенов клеток, выращенных вне организма, становится очевидной. Этот вопрос разработан недостаточно, а имеющиеся в литературе данные противоречивы. Некоторые исследователи [51, 52, 69] обнаружили стойкое сохранение видоспецифических антигенов в первичных культурах клеток человека и животных. Ряд других авторов [44, 45, 47, 48, 54, 62] говорит о стойком сохранении видоспецифических антигенов при длительном культивировании клеток. Однако имеются работы [2, 79, 80], показывающие утрату видовых сывороточных антигенов клеток в процессе их культивирования вне организма. В клетках линии Hela удалось выявить сывороточный белок человека с помощью методов преципитации в геле, РСК, иммуноэлектрофореза и нагрузки эритроцитов [63]. В клетках линий Hela, Cave, A-1, 580 и т. д. видоспецифические сывороточные антигены были обнаружены с помощью продолжительного цитотоксического теста [21].

Представляют значительный интерес и некоторые данные [55], показывающие, что уже в первом пассаже при выращивании клеток на синтетической питательной среде с добавлением гетерологичной сыворотки клетки приобретают чужеродный сывороточный белок. Спустя два пассажа исходную сыворотку в них уже не удастся обнаружить. В другой работе [76] клетки Hela выращивались на среде с лошадиной сывороткой и затем переводились на среду, содержащую сыворотку человека. Используя реакцию преципитации в геле, автор уже на втором пассаже в клетках не смог обнаружить лошадиной сыворотки. Еще в 1938 г. [35] было показано, что так называемое «приобретение» клетками свойств чужеродной сыворотки носит характер абсорбции. Позднее этот взгляд был подтвержден и в ряде других работ [33, 60, 78].

В целях устранения влияния сывороточного компонента питательной среды на результаты иммунологических исследований был предложен метод «иммунологического очищения» [37]. Сущность метода заключается в том, что клетки выращивают на синтетической среде с добавлением сыворотки только того животного, которое впоследствии этими клетками подвергается иммунизации. Полученные методом «иммунологического очищения» антисыворотки не содержат антител к сывороточному компоненту питательной среды [72]. Эти сыворотки использовались для изучения видовых, органоспецифических, гетерогенных, изоантигенных свойств клеток различных перевиваемых линий (Hela, Cave, эпителий 580, амнион-1 и др.). Авторы [29] пришли к выводу, что длительно выращиваемые вне организма клетки по антигенной структуре значительно отличаются от раковых и нормальных тканей человеческого организма. Было выявлено наличие видоспецифических антигенов, О антиген в клетках линии Hela, однако не удалось обнаружить многих сывороточных, органоспецифических и изоантигенных веществ (в частности, типовых М и N-антигенов).

Следует отметить, что относительно наличия изоантигенов (в частности, изоантигенов человека) в культивируемых клетках имеются весьма противоречивые данные. Некоторые исследователи [61 и др.] говорят об утрате изоантигенов при длительном культивировании клеток, другие же [18, 59, 66, 70] — выявляют их. Нами изучалось наличие антигенов системы А, В, О в первичных культурах и перевиваемых линиях клеток человека [34]. Был использован комплекс иммунологических методов: абсорбция антител, смешанная агглютинация и метод дробного истощения стандартных сывороток. Антигены системы А, В, О были обнаружены как в первичных культурах, так и в перевиваемых линиях клеток, однако для их выявления необходимо разрушать клетки многократным замораживанием и оттаиванием. Эти данные позволяют выдвинуть предположение о топографически более глубокой локализации указанных антигенов в культивируемых клетках человека.

Довольно противоречивы также данные относительно наличия органоспецифических антигенов в культивируемых клетках. Некоторые авторы [56, 81] обнаруживают полную утрату органоспецифических антигенов, другие [20, 73] — сохранение органоспецифических антигенов в культивируемых *in vitro* клетках.

Нет полной ясности и в вопросе об антигенах, присущих определенным линиям клеток. В реакциях агглютинации и цитотоксического теста были выявлены специфические антигены линий клеток Hela, Cave и др. [58]. Другие же исследователи [49, 50] говорят о наличии единого антигена линий клеток даже различного видового происхождения. Мельник и Габель [68], установившие с помощью РСК антигенную общность линий клеток различного видового происхождения (кролик, человек, обезьяна), считают, что это может быть результатом: 1) заражения всех линий каким-нибудь видом клеток; 2) наличия во всех культурах микроорганизмов; 3) утраты клетками органических и приобретения сходных антигенов. По-видимому, антигенное сходство линий клеток различного видового происхождения в некоторых случаях может быть также обусловлено наличием в клетках гетерогенных антигенов, например, антигена, открытого Форссманом [53].

О специфических антигенах опухолевых клеток, выращиваемых в однослойных культурах, в литературе имеются лишь единичные данные. Несмотря на длительное их культивирование [12], специфический антиген был выявлен в клетках ангиосаркомы человека. Авторы использовали реакцию анафилаксии с десенсибилизацией и РСК. В этом плане представляет интерес и их другое исследование [13]. Было показано, что при длительном культивировании эмбриональные ткани человека по антигенным свойствам приближаются к опухолевым клеткам. В нашей работе [1] проводилось сравнительное изучение антигенов перевиваемой крысиной карциномы и полученной из нее линии длительно культивируемых клеток. После длительного культивирования опухолевые клетки приобрели антигенное сходство с крысиными эмбриональными тканями. В клетках линии Hela с помощью метода преципитации в геле был выяв-

лен специфический антиген [67]. Следует отметить также работу Черни и Кориела [46], методом микропреципитации в геле в стабильных культурах клеток человека обнаруживших антигены, отсутствующие в нормальных тканях и культурах диплоидных клеток. Необходимо отметить, что природа этого антигена авторами окончательно еще не выяснена.

Таким образом, можно сделать заключение, что антигенный состав культивируемых клеток изучен еще недостаточно. В дальнейших исследованиях необходимо использовать комплекс иммунологических методов, что позволит провести всестороннее изучение антигенной структуры выращиваемых вне организма клеток. Особое внимание следует обратить на изучение стабильных антигенов, которые в иммуногенетических исследованиях можно использовать в качестве маркеров.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР, лаборатория иммунологии

Поступило 24.IX 1968 г.

Յու. Թ. Ալեքսանյան

ԺԱՄԱՆԱԿԱԿԻՅ ԻՄՈՒՆՈԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՀԱՐՅԵՐ ԵՎ ԿՈՒՏԻՎԱՅՎՈՂ
ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԱՆՏԻԳԵՆԱՅԻՆ ԿԱՌՈՒՅՎԱԾՔԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հոդվածում տրվում է ժամանակակից իմունոգենետիկայի որոշ հարցերի համառոտակի տեսությունը և դիտարկվում են կուլտիվացվող բջիջների անտիգենային հատկության հետազոտման վերաբերյալ աշխատանքներ:

Իմունոգենետիկան, որն ուսումնասիրում է բջիջների և հյուսվածքների անտիգենային ժառանգականության օրինաչափությունները, առաջացել է ոչ ինֆեկցիոն իմունոլոգիայից և ստորաբաժանվում է մի շարք ինքնուրույն բնագավառների (արյան խմբերի իմունոգենետիկա, օրգանների և հյուսվածքների տրանսպլանտացիայի իմունոգենետիկա և այլն):

Ներկայումս անտիգենները դիտվում են որպես բջիջների մարկերներ և օգտագործվում գենետիկական հարաբերությունների ուսումնասիրման ընթացքում:

Սոմատիկ բջիջների գենետիկան թույլ է տալիս կատարել մարդկանց գենետիկայի փորձառական ուսումնասիրություններ, որը հսկայական նշանակություն ունի բժշկական գենետիկայում, ուռուցքաբանությունում և այլ բնագավառներում:

Սոմատիկ բջիջների իմունոգենետիկայի զարգացման հիմք ծառայում է անտիգենների օդաազդրծումը, որպես կուլտիվացվող բջիջների մարկերներ: Այդ իսկ տեսակետից մեծ նշանակություն է ձեռք բերում կուլտիվացվող բջիջների անտիգենային կառուցվածքի ուսումնասիրումը:

Օրգանիզմից դուրս աճեցվող բջիջների անտիգենային հատկության ուսումնասիրման վերաբերյալ զրահանության տվյալները բավական հակասական են, որի պատճառով հետադա աշխատանքները այս ուղղությամբ համարվում են անհրաժեշտ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексанян Ю. Т., Подоплелов И. И., Трибулев Г. П., Тимофеев В. Т. Бюл. Экспер. биол., 6, 91, 1967.
2. Алексанян Ю. Т., Трибулев Г. П., Подоплелов И. И., Тимофеев В. Т. Биологический журнал Армении, 21, 1, 68, 1968.
3. Анджапаридзе О. Г., Гаврилов В. И., Семенов Б. Ф., Степанова Л. Г. Культура ткани в вирусологических исследованиях, М., 1962.
4. Барский Ж. Вопр. онкол., 5, 42, 1963.
5. Бернет Ф. Целостность организма и иммунитет, из-во «Мир», М., 1964.
6. Ватти К. В. В сб.: Актуальные вопросы современной генетики, М., 131, 1966.
7. Вахтин Ю. Б. Цитология, 6, 5, 537, 1964.
8. Вахтин Ю. Б., Швембергер И. Н. Цитология и генетика рабдомиосарком, Л., 1968.
9. Вязов О. Е. Иммунология эмбриогенеза, М., 1962.
10. Гаврилов В. И. Перевиваемые клетки в вирусологии, М., 1964.
11. Дубинин Н. П. Молекулярная генетика и действие излучений на наследственность, М., 1963.
12. Ерошкина А. М., Колмыкова В. Н. Вопр. онкол., 1, 60, 1961.
13. Ерошкина А. М., Колмыкова В. Н. Вопр. онкол., 3, 27, 1964.
14. Жуков-Вережников Н. Н., Трибулев Г. П. Руков. по микроб., клинике и эпидемиол. инфекционных болезней, М., 3, 15, 1964.
15. Зильбер Л. А., Абелев Г. И. Вирусология и иммунология рака, М., 1962.
16. Иоффе В. И. В сб.: Проблемы медицинской генетики, Л., 29, 1965.
17. Исследования по иммунологии, Всемирн. орг. здравоохранения, Женева, 1965.
18. Косяков П. Н., Константинова Т. П., Посева Т. А. Вопр. вирусологии, 4, 498, 1963.
19. Косяков П. Н. Иммунология изоантигенов и изоантител, М., 1965.
20. Кравченко А. Т., Колесникова Н. А., Патрикеев Г. Т. Бюл. экспер. биол., 9, 74, 1962.
21. Кулагин А. Н., Подоплелов И. И. Вопр. онкол., 2, 50, 1966.
22. Маккьюсик В. Генетика человека, Из-во «Мир», М., 1967.
23. Медавар П. В. сб.: Биологические проблемы трансплантации, М., 11, 1964.
24. Мюнтцинг А. Генетика, Из-во «Мир», М., 1967.
25. Петров Р. В., Зарецкая Ю. М. Трансплантационный иммунитет и радиационные химеры, М., 1965.
26. Петров Р. В. Журнал ВХО им. Д. И. Менделеева, 4, 362, 1968.
27. Погосянц Е. Е., Захаров А. Ф. В сб.: Биология злокачественного роста, М., 152, 1965.
28. Подгаецкая Д. Я., Бреслер В. М., Оленов Ю. М. Цитология, 4, 1, 59, 1962.
29. Подоплелов И. И., Трибулев Г. П., Шарый Н. И., Ковеза В. М. В сб.: Матер. конф. по экспер. мед. генетике (Ин-т экспер. биол. АМН СССР), М., 49, 1964.
30. Пол Дж. Культура клеток и тканей, М., 1963.
31. Попиванов Р. П., Вылчанов В. Х., Трибулев Г. П. и др. В сб.: Матер. второй научной конф. Ин-та экспер. биол. АН АрмССР, Ереван, 36, 1968.
32. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. Тканевые культуры в вирусологии, М., 1963.
33. Суворова Г. В. Бюл. экспер. биол., 1, 82, 1957.
34. Тимофеев В. Т., Трибулев Г. П., Подоплелов И. И., Алексанян Ю. Т. Бюл. экспер. биол., 7, 80, 1967.
35. Трибулев Г. П., Косяков П. Н. ЖМЭИ, 21, 6 (12), 105, 1938.

36. Трибулев Г. П., Подоппелов И. И. В сб.: Матер. конф. по exper. мед. генетике М., 38, 1964.
37. Трибулев Г. П., Подоппелов И. И. Бюл. exper. биол., 11, 125, 1964.
38. У-Минь. Тез. докл. 4-й итог. науч. конф. Ин-та exper. и клин. онкологии АМН СССР, М., 98, 1961.
39. Шапиро Н. И. В сб.: Актуальные вопросы современной генетики, М., 266, 1966.
40. Шапиро Н. И., Варшавер Н. Б. Усп. совр. биол., 62, 1 (4), 3, 1966.
41. Штерн К. Основы генетики человека, М., 1965.
42. Эфромсон В. П. Введение в медицинскую генетику, М., 1964.
43. Barski G., Sorieul S. a. Cornefert Fr. C. R. Acad. Sci., 251, 17, 1825, 1960.
44. Brand K., Syverton J. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 3, 2, 97, 1960.
45. Brand K. Nature, 194, 4830, 752, 1962.
46. Charn'ey J. and Corieil L. J. Nat. Cancer Inst., 33, 2, 285, 1964.
47. Coombs R., Daniel M., Gurner B., Kelus A. Nature, 189, 4763, 503, 1961.
48. Coombs R., Daniel M., Gurner B., Kelus A. Immunology, 4, 1, 55, 1961.
49. Defendi V., Kamrin A., Colter J. Nature, 182, 4644, 1246, 1958.
50. Defendi V., Colter J. Nat. Cancer Inst., 23, 3, 411, 1959.
51. Espmark A., Fagraeus A. Acta Path. Microbiol. Scand., 154, 259, 1962.
52. Espmark A., Fagraeus A. J. Immunology, 94, 4, 530, 1965.
53. Forssman F. Biochem. Z., 37, 78, 1911.
54. Furminger I. J. Pathol. and Bacteriol., 89, 1, 337, 1965.
55. Geissler A. und Knake E. Z. Naturforsch. 17, 2, 108, 1962.
56. Goldstein M. J. Immunology, 79, 2, 113, 1957.
57. Gorer P. J. Pathol. a. Bacteriol., 44, 691, 1937.
58. Gross W., Spechtmeyer E. Z. Krebsforsch., 65, 6, 565, 1963.
59. Hagiwara A. Exptl. cell. Res., 28, 3, 615, 1962.
60. Hamburger R., Pious D., Mills S. J. Immunology, 6, 5, 439, 1963.
61. Högmann C. Vox Sangs, 4, 4, 319, 1959.
62. Holstein B., Teyssie A., Lustig E., de Milner A. Rev. Soc. argent. biol., 38, 7-8, 400, 1962.
63. Kornstad L. and Rose N. Acta Path. et Microb. Scand. 154, 263, 1962.
64. Landsteiner K. Wien. Klin Wschr., 14, 1132, 1901.
65. Littl C., Strong L. J. Exptl. Zool., 41, 93, 1925.
66. Majsky A., Rerabkova E., Peskova D. Neoplasma, 9, 2, 141, 1962.
67. McKenna J., Sanderson R., Blakemore W. Cancer Res., 24, 4 (1), 754, 1964.
68. Melnic J., Habel K. Fed. Proc, 17, 1, 526, 1958.
69. Millgrom F., Kano K., Barron A., Witebsky E. J. Immunology, 92, 1, 8, 1964.
70. Moor-Jankowski J. J. Genet. hum., 12, 88, 1963.
71. Owedn R. Proceedings of The 10th genetics. Toronto, 1, 364, 1959.
72. Podoplelov I. I., Tribulovu G. P., Kakpacow W. T., Schary N. J., Folia biologia, Praha, 10, 465, 1964.
73. Rosenau W., Moon A. Lab. Investig., 10, 6, 2, 1209, 1961.
74. Snell G. J. Nat. Cancer Inst. 200, 4, 787, 1958.
75. Spencer R., Hauschka T., Amos D., Ephrussi B. J. Nat. Cancer Inst.-33, 5, 893, 1964.
76. Sweam G. Experientia, 19, 12, 628, 1963.
77. Szybalska E. and Szybalski W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 48, 12, 2026, 1962.
78. Taylor H., Culling F. Lab. Invest., 14, 2, 178, 1965.
79. Vainio T., Penttinen K. Ann. med. exptl. et biol. Fenniae., 37, 1, 18, 1959.
80. Vainio T., Lahti A. Ann. Med. exp. et biol. Fenniae, 37, 1, 9, 1959.
81. Weiler E. Brit. J. Cancer. 10, 3, 560, 1956.