

В. Т. ТИМОФЕЕВ, Ю. В. ЗЫКОВ, Ю. Т. АЛЕКСАНЯН

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ГРУППОВЫХ АНТИГЕНОВ СИСТЕМЫ АВО ВО ФРАКЦИЯХ ДЛИТЕЛЬНО КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Ранее нами было показано, что методом абсорбции антител изоантитены обнаруживаются в культивируемых клетках только после разрушения их многократным замораживанием и оттаиванием [7, 8]. Вопрос о нахождении изоантитенов в субклеточных фракциях перевиваемых линий клеток до сих пор еще не изучен. Однако в литературе имеется небольшое число работ [5, 11] о выявлении изоантитенов во фракциях некоторых тканей человека (печень, головной мозг).

В связи с этим целью настоящей работы было изучение антигенов системы АВО в цитоплазматических фракциях различных клеточных линий человека.

Объектом исследования служили перевиваемые клеточные линии HeLa (рак шейки матки), CaVe (рак желудка), 580 (кожа эмбриона), А-1 (амниотические клетки) и Tg-33 (фаллопиева труба). Следует отметить, что групповая принадлежность тканей, из которых получены указанные линии, известна лишь в отношении HeLa (выведена из опухоли женщины 0 группы крови). Кроме того, линия РПК [2], взятая нами в качестве контроля, получена из карциномы почки крысы [1], в ткани которой обнаружен В-антиген. Этот же гетерологичный антиген выявлен в клетках перевиваемой линии РПК [2, 8].

Клеточные линии выращивали на среде 199 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота. Субклеточные фракции получали методом дифференциального центрифугирования [12]. В опытах абсорбции антител [4] брали осадок фракций митохондрий и микросом, полученный после центрифугирования 2 мл суспензии, содержащей 1 мг белка в 1 мл, а растворимую фракцию (клеточный сок) использовали в методе дробного истощения стандартных сывороток [3].

Реагентами служили стандартные сыворотки 0, А, В группы крови с титром 1 : 32, а также фитогемагглютинин анти-О(Н), полученный из семян рикитника сидячелистного [6], с титром 1 : 24.

При постановке реакции абсорбции антител к осадку фракций клеток добавляли 10 капель изосыворотки или фитогемагглютинина, тщательно перемешивали и оставляли на 18—20 часов при 4°C, после чего производили центрифугирование и надосадочную жидкость (агглютинин

после контакта с материалом) титровали в последовательных разведениях 1:2, 1:4, 1:8, 1:12, 1:16, 1:24, 1:32, 1:48. К каждому разведению добавляли одну каплю 2% взвеси стандартных эритроцитов О, А, В группы крови.

Учет результатов производили после центрифугирования при 1500 об/мин в течение 1 мин. Падение титра на 3—4 ступени по сравнению с контролем служило основанием для заключения о наличии соответствующего антигена в исследуемом материале. Все опыты повторяли не менее 3—4 раз и были хорошо воспроизводимы.

Нами исследованы цитоплазматические фракции двух клеточных линий из раковых (HeLa и CaVe) и трех из нормальных (А-1, 580, Tg-33) тканей человека.

Таблица 1
Антигены системы АВО в субклеточных фракциях первичных клеток

Исследуемый материал		Гемагглютинины		
линии клеток	фракции	анти-0	α	β
HeLa	МХ	+	—	—
	МС	+	—	—
	КС	—	—	—
CaVe	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+
А-1	МХ	+	—	—
	МС	+	—	—
	КС	—	—	—
580	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+
Tg-33	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+

Обозначения: + наличие антигена, — отсутствие антигена, МХ — митохондрии, МС — микросомы, КС — клеточный сок.

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что во всех изученных фракциях клеток линии CaVe, 580, Tg-33 удается показать наличие В-антигена, в то время как О-антиген обнаруживается в митохондриальных и микросомальных фракциях клеток HeLa и А-1 и не является растворимым.

Невозможность выявить О-антиген в клеточном соке связана, вероятно, с особой природой этого антигена [10].

Следует отметить, что мы не обнаружили разницы в результатах, полученных нами при сравнении метода дробного истощения изосыворо-

ток с 15-минутными интервалами с использованным нами «экспресс-тестом» этой реакции (без интервалов).

Наряду с клетками человека нами были исследованы и субклеточные фракции из тканей нормальных органов крысы (печень, почка), из ткани перевиваемой крысиной карциномы почки штамма РА, из клеток линии РПК, полученной из этой опухоли, а также из тканей опухоли, возникшей в результате введения крысам клеток линии РПК.

Эти опыты показали, что в цитоплазматических фракциях всех перечисленных объектов четко обнаруживается антиген В, сходный с В-изоантигеном человека (табл. 2). Этот факт подтверждает ранее опубликованные данные и лишней раз свидетельствует о стойком сохранении изоантигенов при малигнизации и эксплантации клеток.

Таблица 2
Гетерогенный В-антиген в цитоплазматических фракциях
крысиных клеток и тканей

Исследуемый материал		Гемагглютинины		
ткани и клетки	фракции	анти- ρ	α	β
Печень	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+
Почка	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+
Опухоль РА	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+
Клетки РПК	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+
Опухоль РПК	МХ	—	—	+
	МС	—	—	+
	КС	—	—	+

Обозначения те же, что и в табл. 1.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что антигены системы АВО сохраняются в клетках при их культивировании и четко обнаруживаются в цитоплазматических фракциях клеточных линий. Это дает основание считать изоантигены стойкими иммуногенетическими маркерами и использовать их при изучении вопросов обмена генетической информации между соматическими клетками *in vitro*.

Институт экспериментальной биологии

АМН СССР,

Институт экспериментальной биологии

АН АрмССР

Поступило 27.IV 1969 г.

Վ. Տ. ՏԻՄՈՖԵԵՎ, Յու. Վ. ԶԻՆՈՎ, Յու. Թ. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ

ABO ՆԱՄԱԿԱՐԳԻ ԽՄԲԱՅԻՆ ԱՆՏԻԳԵՆՆԵՐԻ ԼՈԿԱԼԻԶԱՑԻԱՆ ՄԱՐԳՈՒՄ ԵՐԿԱՐԱՍՏԵՎ ԿՈՒԼՏԻՎԱՑՎՈՂ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՖԲԱԿՑԻԱՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ն փ ու մ

Հետազոտված են ABO համակարգի անտիգենները մարդու տարբեր երկարատև կուլտիվացվող բջիջների ցիտոպլազմատիկ ֆրակցիաներում:

ABO իզոանտիգենների ուսումնասիրումը միտոխոնդրիանների և միկրոսոմների ֆրակցիաներում կատարվել է յուրահատուկ (սպեցիֆիկ) աբսորբցիայի մեթոդի օգնությամբ, իսկ լուծվող ֆրակցիայում (բջիջային հյուսվածք) — ստանդարտ շիճուկների կոտորակային հյուսվածույթյան մեթոդով:

Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ ABO համակարգույթյան (սիտոեմի) անտիգենները պահպանվում են բջիջներում իրենց կուլտիվացման էնթացքում և հայտարերվում են բջիջների ցիտոպլազմատիկ ֆրակցիաներում:

Այսպիսով, ABO իզոանտիգենները կարելի է գիտել որպես մարդու երկարատև կուլտիվացվող բջիջների կայուն մարկերներ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акимова Р. Н. Вopr. сикол., 12, 51, 1963.
2. Алексанян Ю. Т., Тимофеев В. Т., Глинский И. А., Манучарян Д. Ш. Материалы конфер. молодых ученых ИЭБ АМН СССР, М., 3, 1967.
3. Косяков П. Н., Ровнова З. И. Ж. микробиол., II, 11, 1952.
4. Кричевский И. Л., Шварцман Л. А. Труды микробиол. ин-та Наркомпроса, М., 4, 215, 1928.
5. Кузнецова Н. И. Материалы симпозиума по биол. исследованию шизофрении, М., 81, 1967.
6. Потанов М. И. Бюлл. exper. биол., 8, 108, 1964.
7. Тимофеев В. Т. Канд. дисс., М., 1967.
8. Тимофеев В. Т., Трибулев Г. П., Подоппелов И. И., Алексанян Ю. Т. Бюлл. exper. биол., 7, 80, 1967.
9. Трибулев Г. П., Подоппелов И. И., Алексанян Ю. Т., Глинский И. А., Тимофеев В. Т. Бюлл. exper. биол., 1, 1968.
10. Boyd W. In book: Methodology in Human Genetic. 335, 1952.
11. Fujii K. Bull. Tokyo Med. Dent. Univer., 10, 1, 27, 1963.
12. Schneider W. C., Högeboom G. H. Cancer Res., v. 11, p. 1, 1951.