

В. И. КАЛЕДИН, Н. А. МАТИЕНКО, Р. П. МАРТЫНОВА

**К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ
«ИММУННОЙ» РНК В СИСТЕМЕ IN VITRO**

(Представлено академиком Д. К. Беляевым 27 VIII 1973)

Имеются сведения о том, что препараты РНК, полученные из лимфоидной ткани иммунизированных животных («иммунная» РНК), способны переносить иммунитет к антигенам, использованным для иммунизации (¹⁻⁵). Нами были предприняты попытки с помощью препаратов «иммунной» РНК перенести противоопухолевый иммунитет у экспериментальных животных. Плохая восприимчивость полученных данных побудила нас поставить проверочные эксперименты для того, чтобы выяснить, способны ли вообще получаемые нами препараты «иммунной» РНК переносить иммунитет.

В качестве модели мы выбрали наиболее часто используемую для этой цели систему эритроцитов барана — селезеночные клетки мышей. Донорами «иммунной» РНК служили взрослые крысы Вистар и мыши линии СС57Br, которых однократно иммунизировали внутрибрюшинно 5% суспензией эритроцитов барана. На четвертый день после иммунизации из селезенок и лимфоузлов животных выделяли РНК по методике Шерера и Дарнелла (⁶). В качестве контроля был использован препарат РНК, полученный из печени крупного рогатого скота. Препараты РНК лиофильно высушивали и хранили при -20° . Удельная оптическая плотность, определенная при λ 260 мμ, составляла 14–17 ед. на 1 мг препарата РНК. Препараты содержали 1–3% белка и 0,5–2% ДНК. Способность РНК переносить иммунитет оценивали в реакции локального иммунного гемолиза по методу Эрне — Кавинггема (⁷) в камерах, изготовленных из предметных стекол. Селезенки мышей линии СВА гомогенизировали и клетки дважды отмывали в среде Игла, после чего их суспендировали в минимальном объеме этой же среды и инкубировали в течение 30 мин. при 37° с «иммунной» или контрольной РНК (1–2 мг препарата на 1 мл среды, содержащей $2-4 \cdot 10^7$ клеток) или в среде без добавления РНК. После инкубации клетки отмывали средой Игла, смешивали с эритроцитами барана и комплементом морских свинок, приготовленным на этой же среде, и загружали в камеры. О количестве бляшкообразующих клеток (б.о.к.) судили по числу бляшек гемолиза после 0,5–1 часа инкубации камер в термостате при 37° . Подсчет бляшек производили только в зашифрованных препаратах.

Результаты, полученные в этих экспериментах, не были однозначными. В 10 из 17 опытов «иммунная» РНК примерно в два раза увеличивала число б.о.к. по сравнению с контрольной РНК и интактным контролем. В 7 экспериментах она не оказывала стимулирующего действия. Добавление в инкубационную среду сахарозы (до концентрации 0,34 М), которая, согласно литературным данным (⁸), усиливает эффект «иммунной» РНК, не только не увеличивало число индуцированных бляшек, но и снижало его. Некоторое увеличение числа б.о.к. по сравнению с интактным контролем было получено и под давлением препарата контрольной РНК. Выясняя причину плохой воспроизводимости результатов, мы обратили внимание на тот факт, что эффект «иммунной» РНК, получаемый на используемой нами модели, носит не качественный, а количественный характер. Более того,

даже в интактном контроле число б.о.к. колебалось от опыта к опыту. Колебания эти могли быть обусловлены неодинаковой интенсивностью синтеза или экскреции антител селезеночными клетками вследствие различий в рН инкубационной среды. Мы предположили, что, если использованные нами препараты РНК имеют неодинаковые значения рН и по-разному сдвигают рН среды, противоречивость и невоспроизводимость полученных нами данных может объясняться именно этим. Для выяснения этого вопроса определили рН растворов десяти имевшихся в нашей лаборатории препаратов «иммунной» РНК (из селезенки крыс, иммунизированных различными опухолями мышей). Оказалось, что рН этих препаратов варьирует от 6,0 до 9,4 и что при растворении их в среде Игла, имеющей рН 7,5, до конечной концентрации 2 мг/мл они сдвигают реакцию среды в кислую (до рН 7,0) или в щелочную сторону (до рН 8,2).

Далее мы проверили зависимость числа б.о.к. от рН инкубационной среды. Для этого интактные селезеночные клетки мышей линии СВА инкубировали 30 мин. при 37° в среде Игла, рН которой была доведена до 7,2

Таблица 1

Влияние условий инкубации селезеночных клеток мышей
на число бляшек, образуемых ими с эритроцитами
барана в реакции Эрне

Группа	рН	Число бляшек на камеру	Статистическая достоверность (<i>td</i>)
1	Среда, 7,2	28,2±2,5	(1—2) 11,8
2	Среда, 8,2	53,2±3,8	(1—3) 0,2 (1—5) 1,8
3	Контр. РНК, 7,2	27,6±1,6	(2—6) 0,9
4	Контр. РНК, 8,2	47,7±2,8	(3—4) 6,4 (3—5) 2,5
5	«Иммунная» РНК, 7,2	34,0±2,0	(4—6) 0,3
6	«Иммунная» РНК, 8,2	48,8±2,9	(5—6) 4,2

Примечание. В каждой группе $n = 28$.

и 8,2. После инкубации клетки однократно отмывали большим количеством среды Игла, имеющей рН 7,5, и в дальнейшем все операции производили, как описано выше. Оказалось, что инкубация селезеночных клеток в щелочной среде достоверно увеличивает (до 45), а в кислой — уменьшает (до 20) число б.о.к. по сравнению с контролем, рН 7,2 (30—31). Результаты эти хорошо воспроизводились. Наиболее существенным в наших экспериментах является, по нашему мнению, то, что инкубация селезеночных клеток в определенных условиях, а именно в щелочной среде, приводит к увеличению доли клеток, лизирующих эритроциты барана в реакции Эрне. Поскольку авторы, опубликовавшие положительные данные о переносе иммунитета к эритроцитам барана с помощью «иммунной» РНК, не приводят значений рН использованных ими препаратов, можно предположить, что наблюдавшийся ими (так же как и нами) эффект обусловлен влиянием рН. Тот факт, что разные исследователи связывают активность «иммунной» РНК с разными фракциями препарата (⁹⁻¹¹), также ставит под сомнение истинность феномена переноса иммунитета с помощью РНК. Против этого феномена свидетельствуют также и результаты наших экспериментов, представленные в табл. 1. В этих экспериментах был препарат «иммунной» РНК, который давал эффект в предыдущих опытах. Оказалось, что рН его раствора в среде Игла имеет значение 8,2, в то время как рН раствора контрольной РНК составляет 7,6. Оба раствора, как контрольной, так и «иммунной» РНК, были доведены 0,1 N HCl или 0,1 N NaOH до рН 7,2 и 8,2. В качестве дополнительного контроля была взята среда Игла при

таких же значениях рН. Селезеночные клетки мышей инкубировали в этих растворах, как указано выше, и анализировали в реакции Эрне. Как видно из табл. 1, число гемолитических бляшек в условиях опыта зависит от рН инкубационной среды и, по-видимому, не зависит от наличия в ней «иммунной» РНК. Некоторое увеличение числа бляшек в группе 5, в которой клетки были инкубированы с «иммунной» РНК, по сравнению с группами 1 и 3, не позволяет окончательно отрицать способность «иммунной» РНК переносить иммунитет. Однако кажется более вероятным, что такие различия обусловлены неодинаковым сдвигом рН среды при инкубации клеток с использованными препаратами РНК вследствие различного содержания в них токсических примесей (¹²). Эти предположения мы намерены проверить в дальнейшем. Специального анализа требуют также данные, касающиеся переноса иммунитета с помощью РНК в системе *in vivo*.

Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
27 VIII 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. A. Gottlieb, R. H. Schwartz, *Cellular Immunology*, 5, 341 (1971).
- ² В. А. Ляшенко, Журн. микробиол., эпидемиол., иммунол., 7, 102 (1972).
- ³ А. А. Воробьев, Л. А. Ключарев, Журн. микробиол., эпидемиол., иммунол., 10, 26 (1972).
- ⁴ P. Alexander, E. J. Delorme et al., *Nature*, 213, 569 (1967).
- ⁵ C. Kennedy, D. B. Kater, F. Hartweit, *Acta pathol. microbiol. Scand.*, 77, 2, 196 (1969).
- ⁶ K. Scherer, J. E. Darnell, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 7, 486 (1962).
- ⁷ A. J. Cunningham, *Nature (Engl.)*, 207, 5001, 1106 (1965).
- ⁸ R. Ramming, J. H. Pilch, *J. Nat. Cancer Inst.*, 46, 4, 735 (1971).
- ⁹ H. Mikami, S. Kurashige et al., *Japan J. Microbiol.*, 16, 2, 159 (1972).
- ¹⁰ H. K. Meiss, M. Fishman, *J. Immunol.*, 108, 5, 1172 (1972).
- ¹¹ H. Mikami, M. Kawakami, S. Matsushashi, *Japan J. Microbiol.*, 15, 2, 169 (1971).
- ¹² В. И. Рыкова, Г. М. Роничевская, ДАН, 209, № 2, 486 (1973).