

К ВОПРОСУ ТРАНСФОРМИРОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ КЛЕТОК *IN VIVO*

Ю. ПАВЕЛ,

кандидат ветеринарных наук

Индуктивная активность рибонуклеиновой кислоты в процессах гистодифференциации доказана Фишером с сотрудниками [14]. Это же подтвердили и дальнейшие исследования [9, 10], при этом рибонуклеопротеиду приписывали роль эвокатора [40]. Исследованиями, проведенными Куузи [24], было установлено, что неочищенный дезоксирибонуклеопротеид является более активным, чем очищенный дезоксирибонуклеопротеид (ДНП), но уступает по своей активности рибонуклеопротеиду (РНП).

В последнее время внимание многих исследователей обращено на изучение возможности переноса генетической информации соматическим клеткам животного организма нуклеиновыми кислотами. Побуждением к этим исследованиям явились открытие Эвери и сотрудников [1] передачи генетической информации у бактерий при помощи дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и данные, полученные Очоа с сотрудниками [37], указывающие на биологическую активность «синтетических» полирибонуклеотидов. Большой интерес представляют также сообщения Бенуа [4] и Гринвуда [46] о соматических изменениях, вызванных при помощи ДНК у уток. Но в дальнейших исследованиях не удалось введением ДНК получить фенотипических изменений у животных [2, 36, 33].

Проведенные опыты *in vitro* показывают, что изменение животных клеток рибонуклеиновой кислотой является возможным. Так, гомо- и гетерологичная рибонуклеиновая кислота (РНК) вызывает трансформацию фибробластов и клеток гепатомы [3, 12]. Опыты, проведенные *in vitro* с ДНК, дают основание полагать, что ДНК проникает в ядро клетки или в деполимеризованном, или в полимерном виде [15, 8, 23, 48]. Но исследования Бенша и Кинга [5] показали, что в клетки проникает не растворенный ДНК, а ее комплекс с белком или с каким-то другим веществом [20]. То же подтверждают в известной мере данные Дискиной [42], по которым биологическая активность ДНП снижается, если содержание белка в нем падает ниже 20%.

В работе Угрюмова [49] указывается, что ДНК оказывает влияние на биологические свойства раковых клеток.

На возможность трансформирования лимфатических клеток, в частности переноса нуклеопротеидами способности синтеза специфических антител указывают, в известной мере, данные, что ретикулярные клетки, по всей вероятности, реутилизируют зрелые лимфоциты, дифференцируются сами в лимфоциты [18, 19, 38, 21, 22]. По мнению Гамильтона [19], этим и можно объяснить передачу синтеза антител лимфатическими клетками, так как реутилизация клетками реципиента введенных клеток способствует сохранению в лимфатической ткани реципиента шаблонов, определяющих синтез антител.

Имеются наблюдения, что перенос нуклеопротеидов лимфатической ткани иммунизированного животного реципиенту вызывает у последнего синтез специфических антител [35, 29]. Нами было показано, что перенос неочищенного дезоксирибонуклеопр-

теида, выделенного из селезенки иммунизированного кролика, обуславливает синтез специфических антител только у иммунологически реактивных реципиентов [29, 43]. Это можно объяснить одним из двух обстоятельств: 1) активность нуклеопротеида, обуславливающая трансформацию лимфатических клеток реципиента, ограничена соответствием возрастной дифференциации (т. е. между трансформирующим ДНП и трансформируемыми клетками) или 2) синтез антител у реципиентов индуцирован бактериальным антигеном, могущим содержаться в препарате ДНП. На эту возможность указывает и обстоятельство, что бактериальный эндотоксин растворим в солевом растворе [30], которым пользовались для выделения ДНП. В пользу первого объяснения указывают в известной мере данные Бриггса и Кинга [11], утверждающие, что дифференциация энуклеированной клетки, вызванная трансплантированием клеточного ядра, зависит от соответствия уровня дифференциации клетки и трансплантируемого ядра.

Ввиду того, что пока не определено, обусловлен ли синтез антител у реципиентов нуклеопротеидом или бактериальным антигеном, могущим содержаться в растворе ДНП, нами проведены соответствующие опыты. В настоящем сообщении приведены данные о результатах введения подопытным животным полисахаридных фракций, извлеченных из ДНП.

Материал и методика

Для переноса синтеза антител использовались кролики породы венский голубой и белый великан. В качестве доноров были взяты кролики обеих пород, причем белые великаны были 1½–2 месяца перед вакцинацией сенсибилизированы гидролизатами ДНП. Обычно на 6–7 реципиентов брали 2–3 донора. В ушную вену донора вводили вакцину кишечной палочки (штамм 21)* в дозе 4,5–7,5 · 10⁸ бактериальных клеток. На третий день (спустя приблизительно 48 часов после вакцинации) животных обескровливали и из селезенки выделяли неочищенный ДНП по несколько модифицированному методу Швандера и Зигнера [32]. ДНП экстрагировали 5,85% (1 м) или 10% (около 2 м) раствором NaCl (+0,01 м цитрата натрия).

Кислотный гидролиз ДНП производили с 6 н HCl, деградирующим ДНК, по данным Меррифильда и Вулли [27], до олигонуклеотидов. Для этого раствор ДНП (14 мл) осаждали путем вливания тонкой струей в шестикратный объем дистиллированной воды. Полученный осадок ДНП гидролизировали с 2 мл 6 н HCl при постоянном перемешивании при 25°C в течение 3 минут и затем нейтрализовали с 6 н NaOH. Вязкий раствор центрифугировали при 4 000 об/мин в течение 10 минут и осадок отбрасывали.

Щелочной гидролиз ДНП проводили с 6 н NaOH — аналогично кислотному гидролизу.

При гидролизе ДНП щелочью в избытке этанола руководствовались способом, употребляемым для выделения бактериальных липополисахаридов [45]. Исходный раствор ДНП осаждали отдельно в три порции по 7 мл в дистиллированной воде. Один из осадков растворили в 6 мл 1 н раствора NaCl (+ цитрат), получив так раствор ДНП, который вводили контрольным животным. К остальным двум осадкам нуклеопротеида добавили по 3 мл 0,25 н NaOH и гидролизировали при постоянном перемешивании соответственно при +4° или +20°C. Через 15 минут к гидролизатам добавили равный объем этанола и через 10 минут еще по 0,7 объема этанола и перемешивали 35 минут. Осажденные центрифугированием (4000 об/мин, 15 минут) осадки (осадок 1) промывали 48%-ным этанолом и растворили в 2,5 мл 1 раствора NaCl (+ цитрат) (осадок, полученный при +4°C) или в 2 мл дистиллированной воды (осадок, полученный при +20°C). Центрифугаты нейтрализовали и образовавшиеся осадки (осадок 2) растворили в 2,5 мл 1 м раствора NaCl (+ цитрат).

Извлечение из ДНП полисахарида вероналовым буфером (0,06 м, pH 8,6) прово-

* Штамм 21 изолирован в Таллинской республиканской ветбактериологической лаборатории ветврачом Л. К. Лээсмент.

дилось следующим образом. Дважды осажденный в дистиллированной воде осадок ДНП экстрагировали при постоянном перемешивании равным или двукратным количеством (в отношении к взятому раствору ДНП) буфера в течение 20—30 минут (при +4°C). Затем ДНП отделяли центрифугированием и из центрифугата полисахарид осаждали 2—5 объемами этанола. Полученный полисахаридный осадок растворили в малом количестве раствора поваренной соли.

Оставшийся осадок, экстрагированный вероналовым буфером ДНП, растворили в 10%-ном растворе NaCl (+ цитрат). Полученный раствор вводили реципиентам без дополнительной обработки или выделяли из него центрифугированием нерастворяемую часть ДНП.

Для выделения из ДНП полисахарида водонасыщенным фенолом руководствовались методом, примененным Вестфалем с сотрудниками [41]. Исходный раствор ДНП взбалтывали двукратным количеством водонасыщенного (при +4°C) фенола в течение 20—30 минут при +4—+5°C. Затем смесь центрифугировали (4000 об/мин) в течение 10 минут и поверхностную водную фазу удалили шприцем. Из водной фазы осадили полисахариды вместе с рибонуклеиновой кислотой 3—5 объемами этанола. Осадок тщательно промыли этанолом и растворили в малом количестве раствора NaCl.

Для идентификации полисахарида пользовались рекомендуемым Ринитсом [31] электрофоретическим фракционированием. На бумажную полоску (34,5×3,5 см) на 2 см от середины полоски в сторону катода наносили в виде штриха 0,01 мл исследуемого материала. Фракционировали (м/15 фосфатный буфер, pH 6,7) в течение 18—20 часов при напряжении 200 вольт.

Полоски просушивали в потоке теплого воздуха из вентилятора и фиксировали по Гамерману [17] — электрофореграммы ставили на 15 минут в смесь формалин-этанола (20:80), затем сушили их при помощи вентилятора.

Кислотных мукополисахаридов выявляли путем окрашивания фиксированных электрофореграмм ацетоновым раствором толудинового синего [17] в течение 5 секунд (40 мг толудинового синего, 80 мл ацетона и 20 мл дистиллированной воды). Окрашенные полоски дифференцировали безводным ацетоном и подсушивали при комнатной температуре, следя за появлением гаммаметахроматической полосы.

Для суждения о полимерности обнаруженного кислотного мукополисахарида вторую электрофореграмму окрашивали реактивом Шиффа [47], так как известно, что высокополимерный кислотный мукополисахарид дает гаммаметахромазию, но почти или совсем не реагирует с реактивом Шиффа [46].

Для окраски нуклеиновых кислот использовали примененный Деймелем и Маурером [13] раствор Унна. Нами был использован раствор следующего состава: хлороформом обмытого метилзеленого 0,15 г, пиронина 0,25 г, этанола 7,5 мл, глицерина 60 мл и 0,5%-ного раствора фенола добавили до объема в 300 мл. Электрофореграммы красили 1 минуту, ополаскивали дистиллированной водой и дифференцировали безводным ацетоном.

В ДНП и полисахаридных фракциях фосфор определяли по Беренблему и Чейну [6] и азот по Лэнни с сотрудниками [25].

ДНП и полисахаридные фракции вводили реципиентам подкожно или внутривенно. Для определения агглютининов кровь брали пункцией сердца непосредственно перед введением препарата и на 5 и 9 или на 3, 5 и 7 день введения.

Результаты и их обсуждение

Для выяснения вопроса — обусловлен ли синтез антител у реципиентов после введения «иммунного» ДНП нуклеопротеидом или же индуцирован бактериальным антигеном (который мог быть выделен из селезенки донора вместе с нуклеопротеидом), в первых опытах применяли косвенный путь. ДНП деградировали при помощи сильной кислоты или щелочи. Обработка сильной кислотой разрушает не только ДНП, но и бактериальный эндотоксин благодаря его кислотолабильности [7, 45]. Параллельно

изучали активность ДНП, подвергнувшего гидролизу щелочью (6 ч NaOH), деградирующей нуклеопротеид в меньшей степени, судя по большей вязкости гидролизата и меньшему количеству образовавшегося осадка. Надо также учитывать общеизвестный фактор, что щелочь осаждает гистон [39] и обладает деградирующим действием на эндотоксин [45]. Как выяснилось, оба вида обработки уничтожали биологическую активность ДНП. Как кислотный гидролизат (N 563 γ/мл, P 84 γ/мл, N : P = 6,7) в дозе 84 γ P, так и щелочной гидролизат (N 733 γ/мл, P 205 γ/мл, N : P = 3,6) в дозе 144 γ P не вызвали у реципиентов из породы белый великан (4 кролика в каждой группе) появления специфических антител.

Таблица 1

Индукция синтеза антител продуктами щелочного гидролиза неочищенного дезоксирибонуклеопротеида (ДНП) у кроликов породы белый великан

№ препарата	Препарат	Доза (мл) и способ введения препарата	Титр агглютининов после введения препарата									
			На 3 день			На 5 день			На 7 день			
			Разведения сыворотки									
			1:5	1:10	1:20	1:5	1:10	1:20	1:5	1:10	1:20	
1	осадок 1	1	—	—	—	—	—	—	±	—	—	
			1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	центрифугат	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
			1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	осадок 1	Подкожно	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			0,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	осадок 2	Подкожно	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			0,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	центрифугат	Подкожно	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			0,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	ДНП (N 1500 γ/мл, P 200 γ/мл, N : P = 7,5)	Подкожно	2	—	—	—	+	±	—	++	+	—
			2	—	—	—	—	—	—	+	—	—
			2	—	—	—	+	±	—	+++	++	+

Замечания:

- Препараты 1—3 получены при гидролизе при температуре +4°C.
- Препараты 4—6 получены при гидролизе при температуре +20°C.
- Осадок 1 — образующийся при гидролизе с 0,25 н едким натрием в избытке этанола.
- Осадок 2 — образующийся при нейтрализации щелочного центрифугата.

В следующем опыте ДНП обрабатывали слабой щелочью в избытке этанола, так как, по данным Петросяна [45] и других авторов, в этом случае иммуногенность бактериального эндотоксина не уничтожается. Реципиентами были повторно использованы кролики породы белый великан, т. е. кролики, которым в предыдущем опыте ввели гидролизаты ДНП, полученные с 6 н кислотой или щелочью. Как видно из табл. 1, гидролиз с 0,25 н щелочью сильно влияет на биологическую активность препарата. Только в одном случае обнаружили сомнительную реакцию реципиента, получившего осадок 1, выделенный из 6 мл ДНП (т. е. равного дозе 3 реципиентов).

Эти качественные исследования дают основание предполагать, что при гидролизе разрушается или диссоциируется «активный комплекс» (ДНП + антиген). Ввиду того,

Таблица 2

Индукция синтеза антител полисахаридными фракциями неочищенного дезоксирибонуклеопротейда (ДНП) у кроликов породы венский голубой

№ опыта	Возраст реципиента	Препарат	Доза (мл) и способ введения препарата	Титр агглютининов										
				Перед введением препарата			На 5 день после введения препарата			На 9 день после введения препарата				
				Разведения сыворотки										
				1:5	1:10	1:20	1:5	1:10	1:20	1:5	1:10	1:20		
1	2,5 месяца	ДНП (N 3950 γ/мл, P 275 γ/мл, N : P = = 14,3)	Подкожно	2	—	—	—	—	—	—	+	±	—	
				2	—	—	—	—	—	—	+	±	±	
		Феноловая фракция (N 700 γ/мл, P 129 γ/мл)		1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Взрослые	ДНП (N 1810 γ/мл, P 186 γ/мл, N : P = = 9,7)	Подкожно	2	—	—	—	—	—	—	+++	+++	±	
				2	—	—	—	—	—	—	+	±	—	
		Вероналовая фракция (N 388 γ/мл, P 35 γ/мл)		2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
				2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	3 месяца	ДНП (N 1925 γ/мл, P 208 γ/мл, N : P = = 9,3)	Внутрибрюшинно	2	—	—	—	±	—	—	+	—	—	
				2	—	—	—	—	—	—	++	+	—	
		феноловая фракция (N 262 γ/мл, P 70 γ/мл)		2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
				2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		Вероналовая фракция (N 262 γ/мл, P 46 γ/мл)		2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
				2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		ДНП экстрагированный вероналовым буфером (N 2100 γ/мл, P 315 γ/мл)		2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

что гидролиз влияет на оба компонента — на ДНП и на полисахаридный компонент, — то в дальнейших опытах из ДНП экстрагировали полисахаридный материал водонасыщенным фенолом или вероналовым буфером.

В опытах, результаты которых представлены в табл. 2, донорами были кролики (породы белый великан), сенсibilизированные за 1½—2 месяца перед вакцинацией (доза $4,5 \cdot 10^8$ бактериальных клеток) гидролизатами ДНП.

В первом опыте реципиентам вводили полисахаридную фракцию (полисахарид экстрагировали из 10 мл исходной ДНП) в дозе 129 γ Р. Во втором опыте использовали полисахарид, экстрагированный из 12 мл исходного раствора ДНП вероналовым буфером, и вводили реципиентам в дозе 70 γ Р. Полисахаридная фракция, извлеченная феноловым методом, содержала неподвижную в электрическом поле рибонуклеиновую кислоту (окрашиваемую толуидиновым синим в синий цвет [28]) и подвижный в электрическом поле высокополимерный кислотный мукополисахарид. Рибонуклеиновая кислота, содержащаяся в полисахаридной фракции, по-видимому, представляет собой

Таблица 3

Индукция синтеза антител феноловой и вероналовой фракциями неочищенного дезоксирибонуклеопротеида (ДНП) у кроликов породы венский голубой

Возраст реципиентов	Препарат	Доза (мл) и способ введения препарата	Титр агглютининов								
			Перед введением препарата			На 5 день после введения препарата			На 9 день после введения препарата		
			Разведения сыворотки								
			1:5	1:10	1:20	1:5	1:10	1:20	1:5	1:10	1:20
3 месяца	ДНП (N 3025 γ/мл, P 265 γ/мл, N:P = 11,4)	2 2	—	—	—	±	—	—	++	++	+
			—	—	—	+	+	—	++	+	±
3 месяца	Феноловая фракция (N 300 γ/мл, P 80 γ/мл)	1 1	—	—	—	—	—	—	±	—	—
			—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 месяца	Вероналовая фракция (N 350 γ/мл, P 61 γ/мл)	2 2	—	—	—	—	—	—	±	—	—
			—	—	—	—	—	—	±	—	—
Взрослые	ДНП экстрагированный вероналовым буфером (N 575 γ/мл, P 61 γ/мл)	1,5 2	—	—	—	+	±	—	—	—	—
			—	—	—	±	—	—	±	—	—

растворимую РНК, так как полисахаридный осадок растворили в 10%-ном растворе NaCl, растворяющим только растворимый РНК [24, 26].

Вероналовый экстракт содержал высокополимерный кислотный мукополисахарид, нуклеиновых кислот в заметных количествах обнаружено не было.

Исходный раствор ДНП (вводимый контрольным животным) в электрическом поле не мигрировал, на что указывала четкая яркозеленая черта на электрофореграммах, окрашенных толуидиновым синим, обозначающая место нанесения материала. Других окрашенных полос на электрофореграмме не наблюдалось. На полосках, окрашенных по Унна-Паппенгейму, линия старта окрашивалась в сине-зеленый цвет.

Как видно из таблицы, обе полисахаридные фракции не вызвали у реципиентов синтеза специфических агглютининов, в то время как контрольные животные, получившие ДНП, образовали антитела.

В третьем опыте исходный ДНП, вводимый контрольным животным, содержал относительно мало кислотных мукополисахаридов. На это указывала едва заметная гаммаметахроматическая полоса на электрофореграмме. В полисахаридной фракции, экстрагированной вероналовым буфером (было взято 8 мл ДНП), кислотных мукополисахаридов оказалось мало. Присутствие нуклеиновых кислот не удалось установить. Во фракции, экстрагированной водонасыщенным фенолом, не было обнаружено кислотных мукополисахаридов (было взято 6 мл ДНП). Но эта фракция содержала в заметном количестве РНК, на что указывали результаты окрашивания электрофореграмм: при окраске толуидиновым синим линия старта окрасилась в синий цвет, при окраске по методу Унна-Паппенгейма выявилась синеватая, мало мигрировавшая в сторону анода, полоса. Указанные полисахаридные фракции, феноловая в дозе 140 γ Р, вероналовая в дозе 92 γ Р, как и экстрагированный вероналовым буфером ДНП в дозе 630 γ Р, не вызвали у реципиентов появления специфических агглютининов (см. табл. 2).

В последнем опыте (см. табл. 3) в качестве доноров и реципиентов были взяты нормальные кролики породы венский голубой. Как в исходном ДНП, так и во фракциях высокополимерные кислотные мукополисахариды обнаружены не были. В отличие от предыдущего опыта животным вводили экстрагированный вероналовым буфером ДНП после удаления нерастворимого денатурированного нуклеопротеида. В этом опыте вероналовая и феноловая фракции обусловили сомнительную реакцию у двух реципиентов. Это показывает, что причину, вызывающую синтез антител, нельзя, по-видимому, связывать с высокополимерными кислотными мукополисахаридами.

На основе полученных данных можно предполагать, что синтез антител у реципиентов после введения ДНП обусловлен комплексом нуклеопротеида (или нуклеиновой кислотой) с гаптенем. На возможную роль антигена указано и ранее [4]. Если оно действительно так, то это означает, что примененная модель не является подходящей для исследования возможности трансформирования лимфоидных клеток *in vivo*. Для окончательного решения пригодности использованной модели необходимо проведение исследований с очищенными нуклеопротеидами и нуклеиновыми кислотами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Avery O. T., MacLeod C. M., McCarty M., 1944. *J. Exptl Med.*, **79**, 2, 137—158.
2. Bearn J. G., Kirby K. S., 1959. *Exptl Cell. Res.*, **17**, 3, 547—549.
3. Benitez H. H., Murray M. R., Chargaff E., 1959. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, **5**, 1, 25—32.
4. Benoit J., Leroy P., Vendrely C., Vendrely R., 1958. *Compt. rend. Acad. sci. (Paris)*, **247**, 14, 1049—1052.
5. Bensch K. G., King D. W., 1961. *Science*, **133**, 3450, 381—382.
6. Berenblum I., Chain E., 1938. *Biochem. J.*, **32**, 2, 286—294.
7. Boivin A., Delaunay A., 1946. *Ann. Inst. Pasteur*, **72**, 1—2, 139—143.
8. Borenfreund E., Bendich A., 1961. *J. Biophys. and Biochem., Cytol.*, **9**, 1, 81—91.
9. Brachet J., 1942. *Acta biol. belg.*, **2**, 1, 16—19.
10. Brachet J., Chantrenne H., 1942. *Acta biol. belg.*, **2**, 4, 451—454.
11. Briggs R., King T. J., 1959. "The Cell" (J. Brachet, A. E. Mirsky, eds.), vol. 1, 537—617. Acad. Press, New York—London.
12. DeCarvalho, S., Rand H. J., 1961. *Nature*, **189**, 4767, 815—817.
13. Deimel M., Maurer W., 1952. *Naturwissenschaften*, **39**, 21, 489—490.
14. Fischer F. G., Wehmeier E., Lehmann H., Jühling L., Hultsch K., 1935. *Ber. Dtsch. chem. Ges.*, **68**, 6, 1196—1199.
15. Gartler S. M., 1959. *Nature*, **184**, 4697, 1505—1506.
16. Greenwood A. W., 1958. *Nature*, **181**, 4608, 533.
17. Hamerman D., 1955. *Science*, **122**, 3176, 924.
18. Hamilton L., 1954. *J. Clin. Inves.*, **33**, 6, 939—940.
19. Hamilton L. D., 1956. *Nature*, **178**, 4533, 597—599.
20. Higginbotham R. D., 1958. *Federat. Proc.*, **17**, 1, Part I, 516.
21. Hill M., 1959. *Nature*, **183**, 4667, 1059—1060.
22. Hill M., 1961. *Exptl Cell Res.*, **24**, 2, 405—413.
23. Hill M., 1961. *Nature*, **189**, 4768, 916—917.
24. Kuusi T., 1951. *Ann. Zool. Soc. «Vanamo»*, **14**, 4, 1—96.
25. Lanni F., Dillon M. L., Beard J. W., 1950. *Proc. Soc. Exptl Biol. and Med.*, **74**, 1, 4—7.
26. Lipshitz R., Chargaff E., 1960. *Biochim. et biophys. acta*, **42**, 3, 544—546.
27. Merrifield R. B., Woolley D. W., 1952. *J. Biol. Chem.*, **197**, 2, 521—537.
28. Michaelis L., 1947. *Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol.*, **12**, 131—141.
29. Pavel U., 1961. *ENSV TA Toimet. Biol. Seeria*, **10**, 4, 311—314.
30. Raynaud M., Digeon M., 1949. *Compt. rend. Acad. sci. (Paris)*, **229**, 11, 565—566.
31. Rienits K. G., 1953. *Biochem. J.*, **53**, 1, 79—85.
32. Schwander H., Signer R., 1950. *Helv. chim. acta*, **33**, 6, 1521—1526.
33. Shoffner R. N., Burger R. E., Roberts C. W., Leighton A. T., 1961. *J. Heredity*, **52**, 3, 105—108.
34. Smith K. C., 1960. *Biochim. et biophys. acta*, **40**, 2, 360—361.
35. Sterzl J., Hruběšová M., 1956. *Folia biol. (Ceskosl.)*, **2**, 1, 21—27.
36. Svoboda J., Haškova V., 1959. *Folia biol. (Ceskosl.)*, **5**, 5, 402—403.

37. Tanaka K., Egami F., Hayashi T., Winter J. E., Bernheimer A. W., Mii S., Ortiz P. J., Ochoa S., 1957. *Biochim. et biophys. acta*, 25, 3, 663—665.
38. Trowell O. A., 1957. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, 3, 2, 317—318.
39. U i N., 1957. *Biochim. et biophys. acta*, 25, 3, 493—502.
40. Waddington C. H., Needham J., Brachet J., 1936. *Proc. Roy. Soc. B*, 120, 817, 173—198.
41. Westphal O., Lüderitz O., Bister F., 1952. *Z. Naturforsch. b*, 7, 3, 148—155.
42. Дискина Б. С., 1959. Первая конф. по нуклеиновым кислотам и нуклеопротеидам. Тезисы докл. Москва, стр. 18—20.
43. Павел Ю., 1961. Изв. АН ЭССР, Сер., биол., 10, 2, 123—127.
44. Павел Ю. Г., 1961. Материалы Всес. конф. по биохимии с/х животных, вып. II. Москва, стр. 73.
45. Петросян Е. А., 1961. Комплексные антигены тифо-паратифозной группы бактерий. Медгиз, Москва.
46. Райхлин Н. Т., 1958. В кн. Гистохимические методы в нормальной и патологической морфологии (под ред. В. В. Португалова и А. И. Струкова). Медгиз, Москва, стр. 145—157.
47. Роскин Г. И., Левинсон Л. Б., 1957. Микроскопическая техника. Гос. изд. «Советская Наука», Москва, стр. 244.
48. Салганик Р. И., Морозова Т. М., Девич В. Ф., 1961. *Биохимия*, 26, 3, 399—407.
49. Угрюмов Е. П., 1959. Первая конф. по нуклеиновым кислотам и нуклеопротеидам. Тезисы докл. Москва, стр. 51.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
11. IV 1962

LOOMSETE RAKKUDE TRANSFORMEERIMISEST *IN VIVO*

U. Pavel,
veterinaariakandidaat

Resüme

Püüti selgitada, kas antikehade sünteesi esifekutsumine retsipientidel immuniseeritud küüliku põrnast isoleeritud puhastamata desoksüribonukleoproteiidiga kujutab endast transformatsiooninähtust.

Nukleoproteiidist vesifenooliga või veronaalpuhvriga (pH 8,6) ekstraheeritud polüsahhariidfraktsioonid kutsusid osal retsipientidel esile kahtlase reaktsiooni. Samal ajal aga kutsus nukleoproteiidi manustamine retsipientidel esile nõrga, kuid selgesti täheldatava antikehade sünteesi.

Oletatakse, et pärast nukleoproteiidi manustamist ilmnev antikehade süntees on tingitud nukleoproteiidi kompleksist bakteriaalse ainega.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Ekspérimentaalbioloogia Instituut*

Saabus toimetusse
11. IV 1962

ON THE TRANSFORMATION OF ANIMAL CELLS *IN VIVO*

U. Pavel

Summary

It was investigated whether the induction of the antibody synthesis in recipients with an unpurified deoxyribonucleoprotein of the spleen of immunized rabbits represents a transformation phenomenon.

The polysaccharide fractions extracted from nucleoprotein with water-saturated phenol or with veronal buffer (pH 8.6) provoked a doubtful reaction in some recipients. At the same time, the application of nucleoprotein called forth a weak, but observable antibody synthesis.

It is suggested that the resulting antibody formation after the administration of nucleoprotein is caused by the complex of nucleoprotein with bacterial material.

*Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental Biology*

Received
April 11th, 1962