

DESOKSÜRIBONUKLEOPROTEIIDI OSATÄHTSUSEST ADAPTATIIVSESS PROTEOSÜNTEESIS

U. PAVEL,
veterinaariakandidaat

Desoksüribonukleoproteiidi (DNP) osatähtsuse uurimiseks valgu sünteesis on kasutatud antikehade sünteesi induktiivses faasis oleva doonori põrna DNP ülekandmist antikehade sünteesivõimetele retsiptendile [7, 9, 10]. Et antikehade sünteesivõime ülekandmisel saadud tulemused on vasturääkivad, nõuab see küsimus edasist uurimist.

Käesolevas artiklis tuuakse andmeid DNP funktsiooni uurimisest kohustuslikus valgu-sünteesis, mis on saadud «immuunse» DNP ülekandmisel nii immunoloogiliseid areaktiivsetele kui ka reaktiivsetele retsiptentidele.

Materjal ja meetodika

Katseloomadena kasutati viini sinist tõugu küülikuid.

Doonoreid (täiskasvanud küülikud) stimuleeriti *Escherichia coli* toksilise (tüvi O 111) ja suhteliselt atoksilise (tüvi 221) tüvega, mida süstiti kõrvaveeni $1-2 \cdot 10^9$ rakku. Kaks päeva pärast vaksineerimist* loomad veretustati ja nende põrnaest isoleeriti DNP H. Schwanderi ja R. Signeri veidi modifitseeritud meetodi [5] järgi. Võrreldes elmistele töödega [9, 11] lühendati nukleoproteiidide ekstraheerimise aega $1-1/2$ tunnile. Preparaadi P-sisaldus määrati I. Berenblumi ja E. Chajni [1] ning N-sisaldus F. Lanni jt. [4] järgi.

Retsiipientidena kasutati viie päeva vanuseid küülikupoegi, kolme kuni nelja kuu vanuseid küülikuid ja täiskasvanud küülikuid. Organismi aktiivse vastuse allasurumiseks DNP-preparaadis esineda võivatele *E. coli* antigeenidele kasutati kiiritamist röntgenikiirtega**. Kolme kuni nelja kuu vanuseid retsiptente kiiritati ca 420 r doosiga (röntgeni-aparaat PVM-3, filtrid 0,5 mm Cu + 1 mm Al, 180 kV, 15 mA, 20 r/min., fookuse kaugus looma keha keskkohast 60 cm). Täiskasvanud retsiptente kiiritati ca 600 r doosiga (kiiritamise intensiivsus 14 r/min.). Katserühma loomadele (D-rühm) süstiti esimesel või teisel päeval pärast kiiritamist 4–5 ml DNP-lahust kõhuõõnde, kontrollrühma loomadele (O-rühm) aga *E. coli* vaktsiini. Retsiipientidelt võeti verd südame punktsiooni teel vahetult enne preparaate süstimist ning viiendal ja üheksandal päeval pärast preparaate manustamist. Aglutinatsioonireaktsiooniga määrati vereseerumis O-aglutiniini olemasolu.

Uurimistulemused ja arutelu

Kuna «immuunse» DNP ülekandmisel saadud negatiivsed tulemused [2, 3] võisid olla tingitud ka DNP võimalikust inaktiviseerumisest ekstraheerimise käigus, siis käesolevas töös kasutati tunduvalt lühemat ekstraheerimisega. Samuti suurendati süstitavat DNP doosi. Nii süstiti esimeses

* Bakteriaalsete preparaate eest võlgneb autor tänu Tallinna Lastehaigla töötajale H. Lõivule.

** Selle osa tööst on teostanud Vabariikliku Onkoloogia Dispanseri röntgenitehnik V. I. Ivanov.

katseseerias kümnele 5 päeva vanusele küülikupojale 0,8—1 ml DNP-lahust (N 775 γ /ml, P 200 γ /ml, N:P=3,9). Ei viiendal ega üheksandal päeval pärast preparaadi manustamist leitud ühelgi katseloomal vereseerumis O-aglutiniini. Meie eelmistes töodes [2, 3] saadud negatiivsed tulemused ei tõenda veel, et DNP ei anna vajalikku informatsiooni antikehade sünteesi kohta. Nii võib kõne alla tulla asjaolu, et sünnijärgsel immunoloogilise areaktiivsuse perioodil puudub vastsündinu organismis metaboolne foon, mis võimaldab sisestatud DNP talitluse jätkumist. Sellele viitab mõningal määral ka J. Šterzli ja M. Hrubešová [6] teade, et nukleoproteiididega võib ülitundlikkuse fenomeni üle kanda küll täiskasvanud, kuid mitte vastsündinud küülikule.

Arvestades esitatud fakte, korraldati järgmised katsed immunoloogiliselt reaktiivsete retsipientidega Nagu selgus eelkatsetest (vt. täb. 1), kutsus 4—5 ml «immuunse» DNP (N 775 γ /ml, P 200 γ /ml, N:P=3,9) süstimine 3—4 kuu vanustel retsipientidel esile O-aglutiniinide moodustumise. Et antikehade moodustumine võis olla tingitud retsipientide aktiivsest vastusest preparaadis esineda võivatele *E. coli* antigeenidele, siis selle vältimiseks korraldati katsed kiiritatud (ca 420 r) loomadega (vt. tab. 2, seeria 1). Esimese seeria katserühma esindajaid mõjustati 5 ml DNP-lahusega (N 1,838 mg/ml, P 0,288 mg/ml, N:P=6,4). Kontroll-loomi mõjustati samaaegselt *E. coli* O 111 vaktsiiniga (doos $1 \cdot 10^9$ rakku). Nagu nähtub tabelist 2, moodustasid kõik selle seeria uuritud noorküülikud O-aglutiniini.

Tabel 1

O-aglutiniinide tiiter normaalseil DNP-ga mõjustatud küülikuil

Küüliku nr.	Vanus (kuudes)	O-aglutiniinide tiiter pärast preparaadi manustamist							
		5. päeval				9. päeval			
		1:5	1:10	1:20	1:40	1:5	1:10	1:20	1:40
58/31	3	—	—	—	—	+++	++	+	—
28/33	3	—	—	—	—	+++	++	+	±
23/32	4	—	—	—	—	++++	+++	++	+
23/34	4	—	—	—	—	+++	++	+	—

Kiirituse tõttu hukkus üheksast küülikust kolm. Üht kontrollrühma looma (nr. 14/03) ei ole tabelis esitatud, sest ta suri juba neljandal päeval pärast kiiritamist.

Et A. G. Johnsoni jt. [3, 8] uurimuste kohaselt enterobakterite endotoksiinid stimuleerivad antikehade sünteesi isegi kiiritatud loomadel, siis selle võimaluse vältimiseks järgmistes katsetes stimuleeriti nii doonoreid kui ka kontroll-loomi suhteliselt atoksilise *E. coli* tüvega (nr. 221). Samuti vähendati kontrollrühma küülikutele süstitavat *E. coli* vaktsiini doosi, sest kontrollrühma küülikud said palju rohkem bakteriaalset antigeeni, kui seda võis sisaldada katserühma küülikutele manustatud põrna DNP-lahus. Nii peetub J. S. Garvey jt. [2] andmeil põrnas, võrreldes teiste organite ja verega, tunduvalt vähem organismi viiud antigeenist. Seda arvestades süstiti kontrollloomadele $\frac{1}{5}$ sellest vaktsiini hulgest ($2 \cdot 10^8$ rakku), mida sai doonor ($1 \cdot 10^9$ rakku). Katserühma küülikutele sisestati samaaegselt 5 ml DNP-lahust (N 825 γ /ml, P 143 γ /ml, N:P=5,8). Organismi immunoloogilise reaktiivsuse mahasurumiseks kiiritati katseloomi kaks päeva enne preparaate manustamist ca 600 r-ga. Vaatamata kiiritamisele ja vähetoksilise bakteritüve kasutamisele moodustasid selles seerias vähesel määral aglu-

tiniine ka kontrollrühma küülikud. Siiski nähtub tabelist 2 (seeria 2), et üheksandal päeval pärast preparaate manustamist oli katserühma küülikute vereseerumi antikehade tiiter kõrgem kui kontrollloomadel.

Tabel 2

O-aglutiniinide esinemine kiiritatud küülikute vereseerumis

Seeria nr.	Rühm	Küüliku nr.	Kaal enne kiiritamist (kg)	Agglutiniinide tiiter pärast preparaadi manustamist								Märkusi	
				5. päeval				9. päeval					
				Kaal	1:5	1:10	1:20	Kaal	1:5	1:10	1:20		
1	D	23/11	1,98	1,88	+	--	--	1,95	++	+	--	Suri 17. päeval Suri 10. päeval	
		56/12	2,02	1,96	++	+	--	1,98	++	+	--		
		14/13	1,82	1,77				1,90	+	--	--		
		16/14	1,20	1,05	+++	++	+	0,93	+	--	--		
		18/15	0,92	0,80	++	+	--	0,66					
	O	58/01	1,31	1,40	++	±	--	1,52	+	--	--		
		23/02	1,55	1,62	++	±	--	1,74	++	+	--		
		56/04	2,05	2,05	+	--	--	2,06	+	--	--		
	2	D	60	4,70	4,40	++	+	±	4,35	+++	++		+
			5	4,50	4,25	+	--	--	4,25	++	+		±
38			4,40	4,20	++	+	±	4,10					
76			4,00	3,70	+	±	--	4,00	+	±	--		
O		12	3,60	3,40	±	--	--	3,10	--	--	--		
		2	5,00	4,75	--	--	--	4,70	--	--	--		
		19	4,20	4,00	±	--	--	4,00	±	--	--		
		203	4,30	4,15	++	+	--	4,15	±	--	--		

Esitatud andmed näitavad, et *E. coli* vaktsiiniga stimuleeritud küüliku põrnast isoleeritud DNP-fraktsioon kutsub immunoloogilise reaktiivsuse perioodil esile O-aglutiniinide sünteesi. See leid aga ei tõenda veel, et antigeeni poolt modifitseeritud DNP organiseerib antikehade sünteesi retsiptendil. Nii ei ole välistatud võimalus, et antikehade moodustumine on tingitud organismi aktiivsuse vastusest DNP-lahuses esineda võivatele *E. coli* antigeenidele. Sellele võimalusele viitab asjaolu, et ka kiiritatud kontrollloomad reageerisid süstitud antigeenile.

KIRJANDUS

- Berenblum, I., Chain, E., Studies on the Colorimetric Determination of Phosphate. *Biochem. J.*, 1958, **32**, 2, 286—294.
- Garvey, J. S., Eitzman, D. V., Smith, R. T., The Distribution of S³⁵ Labeled Bovine Serum Albumin in New-Born and Immunologically Tolerant Adult Rabbits. *J. Exptl. Med.*, 1960, **112**, 3, 533—550.
- Kind, P., Johnson, A. G., Studies on the Adjuvant Action of Bacterial Endotoxins on Antibody Formation. I, Time Limitation of Enhancing Effect and Restoration of Antibody Formation in X-Irradiated Rabbits. *J. Immunol.*, 1959, **82**, 5, 415—427.
- Lanni, F., Dillon, M. L., Beard, J. W., Determination of Small Quantities of Nitrogen in Serological Precipitates and Other Biological Materials. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, 1950, **74**, 1, 4—7.
- Schwander, H., Signer, R., Darstellung von hochmolekularem Natrium-thymonucleinat aus Kalbthymus. *Helv. chim. acta*, 1950, **33**, 6, 1521—1526.
- Sterzl, J., Hrubešová, M., Attempts to Transfer Tuberculin Hypersensitivity to Young Rabbits. *Folia Microbiol. (Ceskosl.)*, 1959, **6**, 1, 60—61.

7. Sterzl, J., Hruběšová, M., The Transfer of Antibody Formation by Means of Nucleoprotein Fractions to Non-Immunised Recipients. *Folia biol. (Ceskosl.)*, 1956, 2, 1, 21—27.
8. Ward, P. A., Johnson, A. G., Abell, M. R., Studies on the Adjuvant Action of Bacterial Endotoxins on Antibody Formation. III, Histologic Response of the Rabbit Spleen to a Single Injection of a Purified Protein Antigen. *J. Exptl. Med.*, 1959, 109, 5, 463—474.
9. Павел, Ю., О влиянии гомологичного дезоксирибонуклеопротеида на синтезирующую способность гаммаглобулинов в периоде иммунологической реактивности. *Изв. АН ЭССР, сер. биол.*, 1961, 3, 236—240.
10. Павел, Ю. Г., О влиянии парентально вводимого гомологичного ДНП на белковый состав сыворотки кролика в постнатальном периоде. I Биохим. конф. прибалтийских республик. Тезисы докладов, 98—99, Тарту, 1960.
11. Павел, Ю., О передаче иммунологической реактивности в постнатальном периоде. *Изв. АН ЭССР, сер. биол.*, 1961, 2, 123—128.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut*

Saabus toimetusse
31 V 1961

ОБ ИЗУЧЕНИИ РОЛИ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОПРОТЕИДА В АДАПТИВНОМ ПРОТЕОСИНТЕЗЕ

Ю. Павел,

кандидат ветеринарных наук

Резюме

В работе изучалась роль дезоксирибонуклеопротеида (ДНП) в синтезе антител у кроликов породы венский голубой. Новорожденным и облученным молодым и взрослым реципиентам в брюшную полость вводили ДНП, выделенный из селезенки донора в индуктивной фазе синтеза антител. Как доноры, так и контрольные животные стимулировались токсическим (O 111) или относительно атоксическим штаммом (221) кишечной палочки. Установлено, что в период иммунологической реактивности ДНП не вызывал у молодых крольчат образования O-агглютининов. У облученных трех-четырёхмесячных (около 420 г) и взрослых (около 600 г) кроликов введение ДНП вызвало появление O-агглютининов. O-агглютинины образовались также у облученных контрольных животных при введении вакцины кишечной палочки O 111. Контрольным животным, получавшим атоксический штамм кишечной палочки, вводили $\frac{1}{5}$ долю ($2 \cdot 10^8$ бактериальных клеток) от дозы доноров. На девятый день после стимулирования титр агглютининов у контрольных животных был ниже, чем у подопытных.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
31. V 1961

ON THE STUDY OF THE ROLE OF DEOXYRIBONUCLEOPROTEIN IN ADAPTATIVE PROTEOSYNTHESIS

U. Pavel

Summary

A study was made of the role of DNP in antibody synthesis in Vienna blue rabbits. DNP isolated in the inductive phase of antibody synthesis from the spleen of the donors was introduced intraperitoneally to new-born or irradiated young and adult recipients. The donors and control animals were stimulated with either a toxic strain of *E. coli* (O 111) or with a relatively atoxic one (221). DNP did not call forth any O-agglutinin formation in immunologically nonreactive young animals. An introduction of DNP to irradiated (with about 420 r) three- or four-month-old and irradiated (with about 600 r) adult animals called forth a formation of O-agglutinins. The same phenomenon was observed in control animals who had been stimulated with *E. coli* O 111 vaccine. At the application of *E. coli* 221 the irradiated control animals were injected with $\frac{1}{5}$ ($2 \cdot 10^8$ bacteria cells) of the dose that the donors had received. In such experimental conditions the agglutinin content in the control animals, on the 9th day after stimulation, was lower than in the experimental animals.

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

Received
May 31st, 1961