

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. Н. БЕЛОЗЕРСКИЙ и В. Д. ГЕККЕР

**АНТИГЕННЫЕ И ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА
НУКЛЕОПРОТЕИДОВ ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 1 XII 1947)

До сих пор при изучении бактерий кишечно-тифозной группы внимание микробиологов и биохимиков было обращено исключительно на всестороннее изучение полных антигенов. Что же касается нуклеопротеидов, которые часто составляют у этих бактерий до 80% от сухого веса, то эта группа веществ осталась вне поля зрения исследователей.

Между тем, изучение антигенных и иммуногенных свойств нуклеопротеидов представляет большой интерес в связи с выяснением роли отдельных компонентов микробной клетки в иммунологических процессах.

Наши исследования были проведены вначале с нуклеопротеидом, полученным из *Bacterium Shigella paradysenteriae* Flexner.

Нуклеопротеид получался из бактериальной массы, которая предварительно была обработана трихлоруксусной кислотой для удаления полного антигена. Полученный таким образом нуклеопротеид оказался препаратом, слабо токсичным для животных (доза в 3 мг являлась вполне толерантной для мышей). Антигенные свойства нуклеопротеида четко выражены. В сыворотке иммунизированных животных появляются агглютинины к дизентерийным бактериям в невысоком титре и преципитины. Однако при детальном изучении преципитирующих свойств полученных сывороток мы получили весьма неожиданные результаты. Сыворотки давали положительную реакцию преципитации как с нуклеопротеидами, так и с полным антигеном, причем титр преципитинов в отношении полного антигена был часто даже значительно выше, чем в отношении нуклеопротеида. В табл. 1 представлены данные, иллюстрирующие эти свойства нуклеопротеидов, полученных разными методами.

Таблица 1
Антигенные свойства нуклеопротеида

| Вид антигена | Кратность иммунизации | Количество антигена, введенного при инъекции, в мг | Средний титр агглютининов | Средний титр преципитинов в отношении | |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| | | | | нуклеопротеида | полного антигена |
| Нуклеопротеид (по Белозерскому ⁽¹⁾) | 4 | 5 | 1 : 6400 | 1 : 8000 | 1 : 12 000—1 : 64 000 |
| То же | 3 | 1,5 | 1 : 2400 | 1 : 8000 | 1 : 12 000—1 : 64 000 |
| Нуклеопротеид (по Конникову ⁽²⁾) | 4 | 2,5 | 1 : 6400 | 1 : 8000 | 1 : 16 000 |

Можно было бы предположить, что эта общность реакции происходит за счет наличия одинаковых белковых компонентов как в нуклеопротеиде, так и в белковой части полного антигена. Однако изучаемые сыворотки давали положительную реакцию преципитации не только с полным антигеном, но и с полисахаридом — гаптенит, лишенным белка. Кроме того, методом адсорбции удавалось разделить антигена к полному антигену и нуклеопротеиду.

Совершенно очевидно, что полученные антисыворотки содержали 2 антигена: одно — в отношении полного антигена и полисахарида, другое — в отношении белка.

Полученные данные могли свидетельствовать только о том, что в препаратах нуклеопротеида, с которыми мы работали, содержался, по видимому, также полный антиген.

В связи с этим мы поставили перед собой задачу получить нуклеопротеид по возможности свободным от полного антигена. Исследования были проведены с нуклеопротеидами, полученными из бактериальной массы после 3-, 5- и 8-кратной экстракции трихлоруксусной кислотой для возможно более полного удаления из нее остатков полного антигена.

Однако результаты исследования этих нуклеопротеидов не отличались от предыдущих, что можно видеть из данных табл. 2.

Таблица 2

Антигенные свойства нуклеопротеидов, полученных после различной экстракции дизентерийных микробов группы Флекснера

| № кролика | Число экстракций трихлоруксусной кислотой | Титр реакций преципитации | | № кролика | Число экстракций трихлоруксусной кислотой | Титр реакций преципитации | |
|-----------|-------------------------------------------|---------------------------|------------------|-----------|-------------------------------------------|---------------------------|------------------|
| | | к полному антигену | к нуклеопротеиду | | | к полному антигену | к нуклеопротеиду |
| 15 | 1 | 1 : 32 000 | 1 : 4 000 | 50 | 5 | 1 : 64 000 | 1 : 8 000 |
| 40 | 1 | 1 : 64 000 | 1 : 8 000 | 56 | 5 | 1 : 8 000 | 1 : 2 000 |
| 9 | 1 | 1 : 32 000 | 1 : 8 000 | 79 | 5 | 1 : 64 000 | 1 : 4 000 |
| 33 | 3 | 1 : 64 000 | 1 : 16 000 | 80 | 8 | 1 : 128 000 | 1 : 16 000 |
| 40 | 5 | 1 : 128 000 | 1 : 8 000 | 81 | 8 | 1 : 128 000 | 1 : 16 000 |
| 38 | 5 | 1 : 64 000 | 1 : 8 000 | | | | |

Как видно из табл. 2, в антисыворотках, полученных в результате иммунизации кроликов нуклеопротеидами, выделенными после различного числа экстракций трихлоруксусной кислоты, содержались преципитины как в отношении белка, так и полного антигена, причем здесь, так же как и раньше, титр в отношении полного антигена был значительно выше, чем в отношении нуклеопротеида.

Получив такие результаты, мы решили произвести фракционирование этого нуклеопротеида, так как совершенно очевидно, что нуклеопротеид, выделяемый непосредственно из бактериальной массы путем экстрагирования раствором слабой щелочи, не является индивидуальным телом. Фракционирование производилось по методу А. Н. Белозерского (1). В результате фракционирования нам удалось получить ряд продуктов, соответствующих по своей химической характеристике ядерным и цитоплазматическим элементам микробной клетки.

Наиболее поразительным был тот факт, что эта примесь специфического начала содержалась во всех продуктах фракционирования и в особенности четко обнаруживалась в тех продуктах, которые соответствовали ядерным элементам клетки. При иммунизации кроликов ядерным нуклеопротеидом, т. е. нуклеопротеидом, состоящим из белка

и тимонуклеиновой кислоты, были получены антисыворотки, обладающие способностью преципитировать с данным нуклеопротеидом в титрах 1 : 8000, в то время как с полным антигеном титр преципитации был 1 : 32 000—1 : 128 000.

Исследования, проведенные с нуклеопротеидами, выделенными из дизентерий Флекснера другого штамма и из брюшнотифозных бактерий, дали результаты совершенно аналогичные. Таким образом, в этих явлениях существует общая закономерность.

Тот факт, что 8-кратная экстракция микробной массы, полученной из S-формы микробов, и сложная химическая обработка нуклеопротеида в процессе его фракционирования не были в состоянии полностью освободить нуклеопротеид от специфического начала, позволяет, с нашей точки зрения, предположить, что эти специфические элементы входят в неразрывную органическую связь с нуклеопротеидом бактерий.

Мы обратились к исследованию нуклеопротеида из R-формы дизентерийных микробов. Было установлено, что в процессе иммунизации нуклеопротеид R-формы вызывал образование преципитинов только в отношении нуклеопротеидов в титрах 1 : 4000—1 : 8000. Последнее вполне согласуется с нашими знаниями об антигенной структуре R-форм бактерий.

Дальнейшей стадией нашей работы было исследование иммуногенных свойств нуклеопротеида. Результаты проведенных исследований показали, что основным антигеном, обуславливающим иммунизаторный эффект микроба, является его полный антиген. Что же касается нуклеопротеида, то иммунизаторная активность его либо ничтожна, либо вообще отсутствует. И только в условиях иммунизации большими дозами нуклеопротеид способен вызвать некоторый иммунизаторный эффект. Весьма вероятно, что этот небольшой иммунизаторный эффект обусловлен наличием остатков полного антигена.

Большой экспериментальный материал, который был в нашем распоряжении на протяжении нескольких лет работы, убедил нас в том, что нуклеопротеиды S-формы содержат в себе ничтожно малое количество специфического антигенного комплекса. Это специфическое начало может представлять собой либо специфический полисахарид, связанный с молекулой нуклеопротеида, либо полный антиген как таковой.

Для решения этого вопроса мы попытались обработать нуклеопротеид 0,1 N уксусной кислотой при кипячении с целью разложения полного антигена, если бы он присутствовал. Изучение антигенных свойств обработанных таким способом препаратов выявило утрату ими специфического начала. Полученные антисыворотки давали положительную реакцию только с нуклеопротеидом и совсем не реагировали с полным антигеном и полисахаридом. Эти опыты могли свидетельствовать в пользу того, что специфическим началом нуклеопротеида является, вероятнее всего, полный антиген, который при указанной обработке перешел в гаптен — полисахарид, лишенный антигенных свойств.

То положение, что специфическим началом, связанным с нуклеопротеидом, является полный антиген, подкрепляется также данными Буавена (3), который показал, что полный антиген может быть выделен целиком только после переваривания бактериальной массы протеолитическими ферментами.

Как следует трактовать полученный нами экспериментальный материал? Прежде всего мы самым решительным образом отвергаем предположение о том, что соответствующие антигенные свойства изученных нами нуклеопротеидов обусловлены загрязнением их полным антигеном. Против такой концепции свидетельствует тот факт, что полный антиген целиком может быть отделен от нуклеопротеида только в результате действия протеолитических ферментов, которые полностью разрушают

молекулу нуклеопротеида. С другой стороны, какие бы манипуляции ни производить (фракционирование, многократную обработку трихлоруксусной кислотой и др.), до тех пор пока остается нетронутой молекула нуклеопротеида, она всегда несет с собой свойства, обуславливающие наличие в ней полного антигена.

Известное подтверждение нашим экспериментальным данным мы нашли в только что опубликованной работе А. Г. Кравченко и А. И. Ларкина (4).

На основании всего имеющегося в нашем распоряжении экспериментального материала мы приходим к заключению, что главная масса полного антигена локализуется на поверхности клеток и может быть легко экстрагирована. Другая, незначительная часть полного антигена органически связана с элементами протоплазмы бактериальной клетки и, в частности, с ее ядерными элементами. Эта часть полного антигена, органически связанная с нуклеопротеидами бактерий, имеет, по видимому, генное значение, на что ранее было указано Пешковым и Белозерским.

Особенно показательным в этом отношении оказалось изучение химического состава протоплазмы R-формы дизентерии Флекснера и изучение антигенных и иммуногенных свойств нуклеопротеидов из R-форм.

В R-форме бактерий не удалось отметить каких-либо качественных и количественных изменений в составе основных веществ протоплазмы в сравнении с S-формой. Единственно, что можно было наблюдать в R-форме, это полное исчезновение полного антигена, причем переход в R-форму сопровождается не только утратой поверхностно расположенного полного антигена, но и той его части, которая органически связана с ядерными элементами клетки.

Теснейшая связь полного антигена с нуклеопротеидами и, в частности, с ядерным нуклеопротеидом представляется нам исключительно важной, имеющей большой биологический смысл.

Это, видимо, есть тот аппарат, функцией которого является воспроизводство поверхностно лежащего полного антигена. Переход в R-форму сопровождается утратой этого воспроизводящего аппарата.

Центральный институт эпидемиологии и микробиологии
Министерства Здравоохранения СССР и
Ботанический институт Московского
государственного университета им. М. В. Ломоносова

Поступило
1 XII 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Н. Белозерский, Микробиология, 10, 185 (1941). ² А. П. Конников, ЖМЭИ, № 1—2 (1942). ³ A. Boivin et L. Mesrobian, Rev. d'immunologie, 1, 553 (1935). ⁴ А. Г. Кравченко и А. И. Ларкин, ЖМЭИ, № 6 (1947).