

BADANIA NAD DZIEDZICZENIEM CECHY ANTYGENOWEJ I_0 Z UKŁADU GRUPOWEGO B U BYDŁA

Marian Duniec, Jan Rapacz, Wiesława Krupińska

Instytut Zootechniki, Zakład Immunogenetyki

Kierownik: prof. dr Jan Rapacz

WSTĘP

Zapoczątkowane trzydzieści lat temu badania nad grupami krwi u bydła doprowadziły do poznania układu z najliczniejszą grupą znaczników genetycznych, gdyż tak możemy nazwać każdą z grup krwi. Układ ten okazał się bardzo użyteczny w badaniach nad polimorfizmem tkanek i płynów ustrojowych zwierząt, jak również w praktyce przy ustalaniu pochodzenia i tożsamości zwierząt, rozróżnianiu bliźniąt jednojajowych i dwujajowych oraz określaniu płodności jałówek z bliźniąt różnopłciowych.

Geny determinujące ok. 80 wykrytych dotychczas antygenów mają swoje miejsce na przeszło 1/3 autosomów, stąd mogą być bardzo użyteczne w badaniach nad strukturą i zróżnicowaniem genetycznym poszczególnych ras oraz nad związkami, jeżeli takie istnieją, między grupami krwi, a innymi cechami gospodarczo użytecznymi.

Dotychczasowe badania szły w kierunku stwierdzenia jak największej liczby antygenów, a ich zastosowanie w praktyce przyczyniło się w dużej mierze do postępu hodowlanego. Wśród dotychczasowych prac niewiele było badań nad istotą antygenów, wyjaśnieniem genetycznych i serologicznych zależności między antygenami oraz nad genetyczną strukturą odpowiedzialną za produkcję jednej fenogrupy.

Najbardziej interesującym, a zarazem najliczniejszym zespołem antygenów krwinkowych u bydła, któremu poświęcono bardzo dużo prac (1, 2, 3, 7, 9, 11, 15, 17) jest układ grupowy B. Dzięki dużej zmienności i możliwości stosunkowo łatwego ustalania genotypów w tym układzie stanowi on prawdziwie interesujący przedmiot zarówno do teoretycznych rozważań, jak i na polu praktycznego zastosowania. W układzie B znanych jest obecnie ok. 50 antygenów oraz przeszło 400 alleli lub fenogrup w zależności od tego jak kto je nazywa, jakkolwiek nie zmienia

to istoty rzeczy, że są to jednostki dziedziczne od prostych, jak I_2 czy I' , do bardziej skomplikowanych jak $BO_xY_2A'G'G''P'$ czy $BG_2KO_xY_2A'O'$.

Dyskusja wielu badaczy nad genetyczną strukturą kontrolującą fenogrupy toczyła się głównie nad dwiema możliwościami tej kontroli, z których jedna zakłada ścisłą determinację każdego antygeny przez odrębny gen, natomiast druga przyjmowała istnienie serii genów allelomorficznych, z których każdy kontroluje inną fenogrupę. Zaobserwowane fakty takie jak ten, że pewnych antygenów nigdy nie znaleziono w fenogrupach razem z innymi i że pewne antygeny występują zawsze w kompleksach jak np. K z B i G (16), następnie fakt spotkania nie-regularności w przekazywaniu na potomstwo fenogrup (1, 6, 13) sugerowały, że istnieją między nimi zależności, trudne jednak do ustalenia. Obecnie sądzi się również, że fenogrupa może być kontrolowana przez zespół podjednostek genetycznych (cistronów) w danym *locus*.

Jedną z pierwszych prawidłowości jaką zaobserwowano było stwierdzenie serologicznego pokrewieństwa między pewnymi antygenami np. Y_1Y_2 , T_1T_2 , I_1I_2 itd. Ustalono, że gen dla nadtypu np. Y_1 produkuje także oprócz antygeny Y_1 antygen Y_2 , natomiast gen dla podtypu Y_2 produkuje jedynie antygen Y_2 . Dowodem na to były reakcje surowic testowych z odpowiednimi antygenami. Tab. 1 przykładowo podaje reakcję surowicy anti- Y_1 i anti- Y_2 z korespondującymi antygenami Y_1 , Y_2 .

Tabela 1

Reakcje serologiczne surowic anti- Y_1 i anti- Y_2
z korespondującymi antygenami Y_1 i Y_2

Antygeny	Surowice	
	Y_2	Y_1
Y_1	+	+
Y_2	—	+
—	—	—

Opisaną powyżej zależność między antygenami określa się jako pokrewieństwo linearne. Można jednak zadać pytanie, czy gen determinujący podtyp nie determinuje jednocześnie czegoś, czego nie ma w produkcji nadtypu. Wydaje się, że praca ta daje odpowiedź na to pytanie w stosunku do genów B^{I_1} i B^{I_2} , determinujących spokrewnione linearne antygeny I_1 i I_2 .

MATERIAŁ I METODYKA

Surowicę poliwalentną, z której następnie na drodze absorpcji uzyskano surowicę testową anti- I_0 , otrzymano przez izoimmunizację krowy nr oborowy 235 rasy ncb, o składzie antygenowym krwi $A_1 BG_2KO_xY_2A'O'C_1R_2W F L S_2$ krwinkami krowy nr oborowy 131

rasy ncb, o składzie antygenowym krwi $I_2 X_2 W F S_2$. Krowy te pochodziły z Rolniczego Zakładu Doświadczalnego w Mydlnikach — WSR w Krakowie. Dokładną metodykę otrzymywania surowic na drodze izoimmunizacji, jak i metodę oczyszczania surowic z niepożądanych przeciwciał opisano w pracach Rendla (14), Neimann-Sørensen (8) i innych.

Ustalenia zależności pomiędzy cechami I_1 , I_2 i I_0 oraz określenia fenogrup w jakich występują, dokonano na materiale obejmującym ok. 5600 szt. bydła ras: ncb, czp, czerwonej duńskiej i Simental z obór Zakładów Doświadczalnych IZ w: Pawłowicach, Czechnicy, Kołudzie Wielkiej, Mełnie, Zatorze, Grodźcu Śląskim, Lipowej, Rabie Wyżnej, Chorzelowie, Balicach i w Brzeziu oraz z niektórych gospodarstw państwowych i indywidualnych województw: gdańskiego, bydgoskiego, olsztyńskiego, kieleckiego i krakowskiego.

Próbki krwi badano testem hemolitycznym przy użyciu następujących surowic: A_1 , A_2 , B, G_1 , G_2 , K, I_1 , I_2 , I_0 , O_1 , O_x , P, Q, T, Y_1 , Y_2 , A' , B' , G' , D' , I' , J' , K' , O' , Y' , E'_1 , E'_2 , G''_1 , G''_2 , P', Ba5, C_1 , C_2 , R, W, X_1 , X_2 , L', F, V, J_1 , J_2 , L, M, S, H', U_1 , U', U'', Z. Użyte surowice wyprodukowano w Zakładzie Immunogenetyki Instytutu Zootechniki oraz sprawdzono w międzynarodowych testach porównawczych w r. 1965 i w r. 1967. Dokładna metodyka oznaczania antygenów krwinkowych testem homolitycznym jest opisana w pracach Neimann-Sørensen, Rendla i innych.

WYNIKI BADAŃ

Poliwalentna surowica otrzymana po immunizacji krowy nr oborowy 235 krwinkami krowy nr oborowy 131, zawierała oprócz przeciwciał anti- I_2 , także inne, nie zidentyfikowane, o bardzo słabym mianie, które usunięto przez absorpcję krwinkami krów nr oborowy 175 i 164. Uzyskaną po absorpcji surowicę, po przetestowaniu z krwinkami 500 krów o znanym składzie antygenowym krwi i sprawdzeniu w międzynarodowym teście porównawczym, uznano za monowalentną anti- I_2 o mianie przeciwciał 1:6.

Analizując wyniki przeprowadzonych testów zauważono, że surowica ta dawała w niektórych przypadkach dużo słabsze wyniki z krwinkami krów, które miały antygen I_1 . Okazało się, że ostrożna absorpcja tej surowicy krwinkami, zawierającymi antygen I_1 usuwała z niej przeciwciała anti- I_2 pozostawiając przeciwciała, które później nazwano anti- I_0 . Spośród różnych warunków absorpcji wybrano najbardziej optymalne, mianowicie jednorazową absorpcję przez 25 krwinkami krowy nr oborowy 643, przy stosunku krwi do surowicy 3:4. Otrzymaną w ten sposób surowicą przebadano ogółem ok. 5600 szt. bydła. Wśród przebadanych osobników antygeny I_1 i I_0 spotkano w 19 fenogrupach, które podano w tab. 2.

Tabela 2

Wykaz fenogrup, w których spotkano antygeny I_1 i I_0

Lp.	Fenogrupy	Liczba spotkanych przypadków
1	BI_1	3
2	BI_1Q	50
3	BI_1QT_1P'	4
4	G_1I_1	2
5	I_1	30
6	$I_1O_xQA'K'E_1'$	46
7	$I_1O_xJ'K'O'$	89
8	$I_1Q'A'$	34
9	$I_1Q'E_1'$	2
10	I_1Y_2Y'	2
11	I_1Y_2I'	46
12	$I_1G'G''$	139
13	$I_1I'E_1'$	2
14	$I_1E_1'G''$	41
15	I_0	851
16	$I_0O_xJ'K'O'$	2
17	$I_0D'E_1'G''$	15
18	$I_0E_1'G''$	3
19	I_0I'	1

 I_0 = dawne I_2

Zaobserwowano, że surowica anty- I_0 dawała reakcję we wszystkich 872 przypadkach, w których występował antygen I_2 bez I_1 . Natomiast na 490 przypadków wystąpienia antygeny I_1 tylko u 26 szt. stwierdzono reakcję z anty- I_0 . Gdy sztukom tym ustalono genotypy okazało się, że każda z nich w jednej fenogrupie posiada antygen I_1 natomiast w drugiej I_0 . Genotypy tych 26 szt. w układzie B podaje tab. 3.

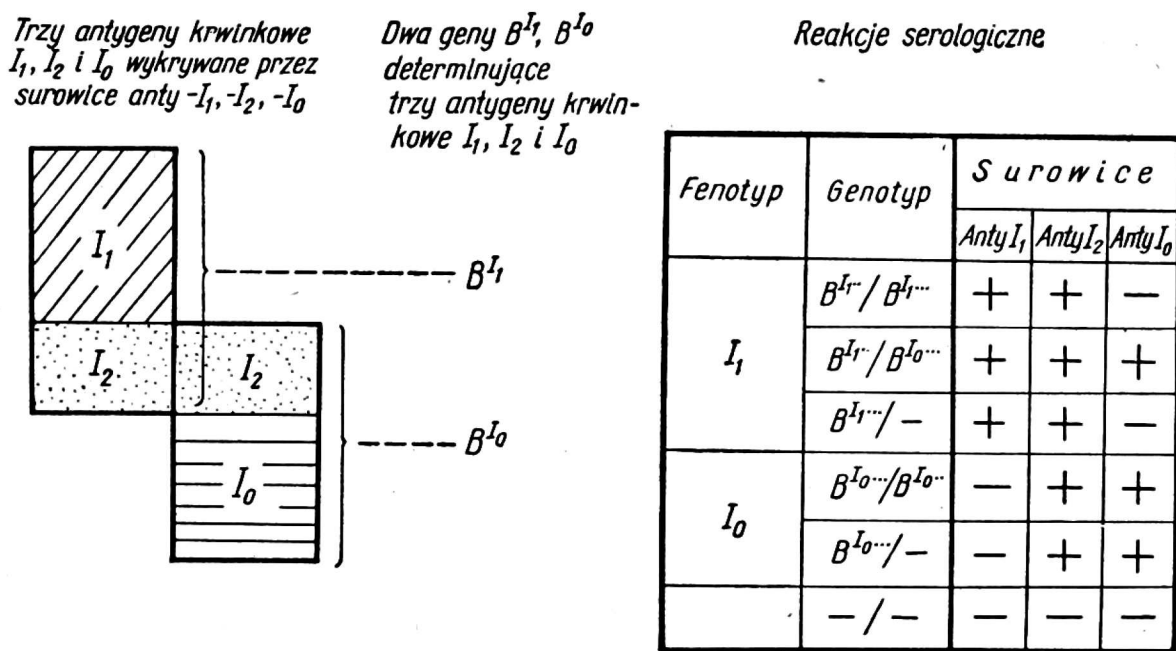
Tabela 3

Genotypy krów, które reagowały z surowicą anty- I_1 i anty- I_0

Lp.	Genotyp	Liczba spotkanych przypadków
1	BI_1/I_0	1
2	I_1/I_0	6
3	$I_1O_xJ'K'O'/I_0$	9
4	$I_1G'G''/I_0$	6
5	$I_1O_xQA'K'E_1'/I_0$	1
6	$I_1G'G''/I_0D'E_1'G''$	3

DYSKUSJA

Otrzymane wyniki pozwalają sądzić, że surowica anty- I_0 identyfikuje część produktu genu B^{I_0} , która nie występuje w produkcie genu B^{I_1} . Dlatego celowe wydawało się zmienić nazwę dla genu B^{I_2} na B^{I_0} , gdyż jak wykazano, produkuje on dwa antygeny I_2 i I_0 , a nie jak dotąd sądzono tylko antygen I_2 , który także występuje w produkcie genu B^{I_1} . Graficznie można to wytłumaczyć przy pomocy diagramu zaczerpniętego z pracy Rapacza (12) nad grupami krwi u nerek (rys. 1); tłumaczy on wzajemny układ i pokrewieństwo tych trzech antygenów I_1 , I_2 i I_0 , determinowanych przez dwa geny B^{I_1} i B^{I_0} .



Rys. 1. Genetyczne i serologiczne zależności pomiędzy antygenami I_1 , I_2 i I_0 z układu B u bydła

Zależność pomiędzy antygenami I_1 , I_2 i I_0 jest taka sama, jaką wykazał Rapacz (12) u nerek pomiędzy antygenami B , B_2 i C oraz pomiędzy A , A_2 i C . Podobny przypadek również w układzie B u bydła pomiędzy antygenami G' i G'' , bez podania zależności między genami warunkującymi te cechy, opisał Millot (5) w 1965 r. Także opisane przez Grosclaude (4) przypadki otrzymania surowic, reagujących jednocześnie z dwoma, a nawet trzema antygenami w układzie SU i nie dających się rozdzielić na drodze absorpcji, nazwanych przez niego terminem *secondary antibodies* sugerują, że i w tym układzie pomiędzy antygenami, a co za tym idzie i genami, które je determinują, istnieją podobnie jak w układzie B zależności, które dotychczas nie były znane.

Wydaje się, że opisane przypadki wnoszą dalszy element do wyjaśnienia nieznanych dotąd funkcji i pokrewieństw oraz niezależności poszczególnych genów.

Oprócz teoretycznego aspektu, wyniki niniejszej pracy mają również znaczenie praktyczne. Dzięki otrzymanej surowicy anty- I_0 we wszystkich 490 przypadkach, w których występowała reakcja z antygenem I_1 ,

na podstawie fenotypu nie czekając na potomstwo, można było ustalić genotyp dla I_1 i I_0 , a znając występujące w danej rasie fenogrupy — pełny genotyp. Szczególnie ważne okazało się użycie tej surowicy dla tych 26 szt., gdzie w jednej fenogrupie występował antygen I_1 a w drugiej I_0 . W tych przypadkach nigdy przedtem nie dało się na podstawie fenotypu powiedzieć, że jedna fenogrupa zawiera antygen I_1 a druga I_0 . Surowica ta oddaje więc duże usługi przy ustalaniu pochodzenia na podstawie grup krwi.

Z punktu widzenia podstawowych badań nad zrozumieniem istoty genu przypadek ten pozwala sądzić, że *crossing-over* i mutacja są zjawiskami wciąż niedostatecznie poznanymi. Jeżeli uda się stwierdzić fenogrupę, w której będą występowały antygeny I_1 , I_2 i I_0 razem, będzie to jednym z dowodów, że układ *B* powstał przez *crossing-over* podjednostek genetycznych tego *locus*, a ponadto byłby to pierwszy u ssaków przypadek, że w jednym *locus* wystąpiły dwie homologiczne jednostki genów, to znaczy, że znajdowałyby się w nim zarówno podjednostka determinująca I_1 jak i podjednostka determinująca I_0 .

Ostatnie badania Rapacza przeprowadzone w USA wskazują na to, że taki przypadek homologicznego, ale nierównego *crossing-over* miał miejsce.

STRESZCZENIE

W badaniach nad otrzymywaniem monowalentnych surowic do oznaczania poszczególnych antygenów krwinkowych u bydła natrafiono na interesujący przypadek surowicy anty- I_2 . Surowica ta dawała w niektórych przypadkach dużo słabsze reakcje z krwinkami krów mających antygen I_1 .

Po absorpcji tej surowicy krwinkami krów o słabszej reakcji pozostawały w niej jeszcze przeciwciała, które nazwano anty- I_0 .

W celu ustalenia zależności pomiędzy cechami antygenowymi I_1 , I_2 i I_0 przebadano 5600 szt. bydła ras: ncb, cp, cd i Simental. Zaobserwowano, że surowica anty- I_0 dawała reakcję we wszystkich 872 przypadkach, w których występował antygen I_2 bez I_1 . Natomiast na 490 spotkanych przypadków występowania antygeny I_1 tylko u 26 krów stwierdzono reakcję z anty- I_0 . Gdy krowom tym ustalono genotypy w układzie *B* okazało się, że każda z nich w jednej fenogrupie ma cechę antygenową I_1 , natomiast w drugiej antygen I_0 .

Uzyskane wyniki pozwalają sądzić, że surowica anty- I_0 identyfikuje część produktu genu B^{I_0} , która nie występuje w produkcie genu B^{I_1} . Dlatego celowe wydało się zmienić nazwę genu B^{I_2} na B^{I_0} , gdyż jak wykazano, produkuje on dwa antygeny I_2 i I_0 , a nie jak dotąd sądzono tylko antygen I_2 , który także występuje w produkcie genu B^{I_1} .

LITERATURA

1. Bouw J.: A Contribution to the Knowledge of the Genetic Structures Controlling the B- and C Blood Groups in Cattle. Collected Reports from the 8th Animal Blood Group Conference in Europe. Ljubljana, 1962.
2. Braend M.: The Immunogenetics Letter. Vol. 3. No 2. 1—6. 1963.
3. Gasparski J., Rapacz J., Rendel J.: Roczn. Nauk rol., t. 76-B-3, 1960, 565—568.

4. Grosclaude F.: Studies on the S Blood-group System in French Cattle Breeds. Proceedings of the 9th European Animal Blood Group Conference. 79—85. Prague 1965.
5. Millot P.: Bovine Isohaemolysins Seeming to Have Several Specificities. Proceedings of the 9th European Animal Blood Group Conference. 75—78. Prague 1965.
6. Nasrat G. E.: The Inheritance of Blood Groups in the Blood group system C in cattle. Proceedings of the 9th European Animal Blood Group Conference. 69—74. Prague, 1965.
7. Neimann-Sørensen A.: Investigations on the B-blood Allels in 3 Danish Breeds of Cattle. Yearbook, Roy, Vet, and Agr. Coll. Copenhagen, Denmark, 1956, 49—63.
8. Neimann-Sørensen A.: Blood Groups in Cattle. Immunogenetic Studies on Danish Cattle Breeds. A/S Carl Fr. Mortensen, København, 1958.
9. Osterhoff D. R., Miller W. J., Stormont C.: The Immunogenetics Letter, 2, 8, 1962, 136—138.
10. Owen R. D., Stormont C., Irwin M. R.: Evolution 12, 1950, 102—110.
11. Rapacz J., Dola L., Jakóbiec J.: Blood Group Studies on B-groups in Polish Red Cattle. Proceedings of the 9th European Animal Blood Group Conference. 39—42. Prague, 1965.
12. Rapacz J., Judith Hasler, Shackelford R. M.: Additional Blood Factor "A₂" Independently Determined by two Allelic Genes: A^a and A^c of the A System in the Domestic Mink. Nature, Genetica Polonica (praca w druku).
13. Rendel J.: Acta Agr. Scand. 8, 191, 1958.
14. Rendel J.: Acta Agr. Scand. VIII:1, 1958.
15. Stormont C., Owen R. D., Irwin M. R.: Genetics 36, 1951, 134—161.
16. Stormont C.: The American Naturalist. Vol. LXXXIX, nr 845, 1955, 105—116.
17. Stormont C., Miller W. J., Suzuki Y.: Abstr. Genetica 1961, 42:400.

Марян Дунец, Ян Рапач, Веслава Крупиньска

ИССЛЕДОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ АНТИГЕНОВОГО СВОЙСТВА
 I_0 ГРУППОВОЙ СИСТЕМЫ В У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

При исследованиях над получением моновалентных сывороток для обозначения отдельных антигенов кровяных тельц у скота исследователи наткнулись на интересный случай сыворотки анти- I_2 . Эта сыворотка в некоторых случаях давала очень слабые реакции с кровяными тельцами коров, имеющих антиген I_1 .

После абсорбции этой сыворотки кровяными тельцами с более слабой реакцией оставались в ней еще антитела, которые названы анти- I_0 .

С целью установления зависимости между антигеновыми особенностями I_1 , I_2 и I_0 исследовано 5600 голов скота пород: черно-пестрой, красной польской, красной датской и симментальской. Установлено, что сыворотка анти- I_0 давала реакцию во всех 872 случаях, в которых выступал антиген I_2 без I_1 . В то же время на 490 встреченных случаев выступления антигена I_1 только у 26 коров установили реакцию с I_0 , когда для этих животных установили генотипы в структуре B, оказалось, что каждая из них в одной феногруппе имеет свойства антигеновые I_1 , а в другой — антиген I_0 .

Полученные результаты позволяют утверждать, что сыворотка анти- I_0 идентифицирует часть продукта гена VI_0 , которая не выступает в продукте

гена B^{I_1} . Поэтому кажется целесообразным изменить название для гена B^{I_2} на B^{I_0} , так как установлено, что он производит два антигена I_2 и I_0 , а не, как до сих пор было известно, антиген I_2 .

Marian Duniec, Jan Rapacz, Wiesława Krupińska

STUDY ON INHERITANCE OF BLOOD GROUP ANTIGEN I_0 OF THE B SYSTEM
IN CATTLE

Summary

In the effort to produce the reagents for red blood cells antigens in cattle, one serum with anti- I_2 antibodies showed interesting patterns of reaction. The serum, when diluted, gave much weaker reactions with red blood cells, which possessed the I_1 antigen.

After absorption with any weaker reacting red cells, the serum still had antibodies against the I_2 antigen. We called this reagent anti- I_0 .

Using this reagent, 5600 cattle were tested. They represent four breeds: Black and White, Polish Red, Danish Red and Simental cattle. It was observed that the reagent anti- I_0 gave reactions in all cases (872) where the antigen I_2 without I_1 occurred. There were 490 cases with I_1 antigen, but only 26 of them gave reaction with anti- I_0 . When the genotypes were established for the group of 26 individuals it appeared that each of them had in one phenogroup the blood factor I_1 and in the other the I_0 antigen. The results demonstrate that reagent anti- I_0 identifies product of the gene which we proposed to call B^{I_0} , because antigen I_2 is produced by both genes.