

# 红鲫血型的血清学研究

童金苟 吴清江

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

## 提 要

运用经典血清学方法首次在红鲫中证明了一种与金枪鱼中的 A-B-O 血型及人类的 ABO 血型模式相似的红细胞抗原系统, 命名为 S 血型系统。该系统有四种血型表型:  $S^1$ ,  $S^2$ ,  $S^1S^2$  和  $S^0$ , 推测它由  $S^1$ ,  $S^2$  和  $S^0$  三个复等位基因决定。

**关键词** 血型, 红鲫, 抗原, 同种抗体

作为最高等生物的人类具有血型已是众所周知。然而, 自 50 年代以来, 随着免疫遗传学的发展, 在从低等脊椎动物的鱼类到两栖类、鸟类(鸡)和哺乳动物中的大鼠、羊、猪、牛、马、猴、猿等动物中相继发现了不下数十种的血型类型, 并就其遗传控制基础及血型在生态地理种群等研究中的应用等方面展开了研究<sup>[2-4, 6-8, 12, 13]</sup>。对淡水鱼类免疫遗传研究的资料罕见, 早期只有 Sanders 和 Wright 及 Wilkins 在迴游性的鲑鳟鱼类 (Rainbow trout 和 Atlantic salmon) 中作过研究<sup>[10, 14]</sup>, 近期仅见日本 T. Nakanish 对多倍体的关东鲫 (*C. auratus langsdorffii*) MHC 表达特性的研究<sup>[9]</sup>。国内, 最近我们报道过在鲤鱼 (*Cyprinus carpio L.*) 不同品种(系)中发现有红细胞抗原的差异<sup>[11]</sup>, 但是也未涉及到同一品种内不同个体间是否有血型抗原差异的问题。本文报道对红鲫 (Red Crucian Carp, *Carassius auratus var. red*, 以下简称 R. C. carp) 血型研究的初步结果。

## 材料与方法

试验所用的红鲫 (Red Crucian Carp), 全部取自本所关桥试验基地, 系自然繁殖之群体, 随机取样。每尾取血 1.5—1.8 ml, 全血以 1000r/min 离心 5min, 分离出血球后以 1% NaCl 洗 3 次, 立即与同种不同个体的异种的血清反应, 或贮存于自制的红血球保存液(将另文报道)内, 置零下 10—20°C 或 -10—20°C 备测。标准人血型分型试剂“A”和“B”购自武汉市中心血站, 贮藏于 4°C。

异种免疫所用的家兔为湖北省医学科学院实验动物中心提供的大耳白兔(日本种), 体重 2kg 左右, 皆雄性。在通过血清学程序检测出三种不同的红细胞抗原类型以后, 每一种类型选 1 尾鱼固定地免疫 1 只家兔。采用 1/8—1/4RBC 悬液加福氏完全佐剂腹腔

取材得到黄文郁、陈荣德、叶玉珍等同志的帮助, 谨此致谢。

1988 年 10 月 28 日收到。

注射,经3次免疫后,耳静脉采血检查血清抗体效价,在达到1000—2000后,颈动脉采血处死。兔血清在56°C水浴灭活30min去除补体,贮存于-20°C备用。

玻璃平板血球凝集试验及抗血清吸收试验均依照标准血清学方法<sup>11</sup>。这里区分为抗原阳性(+)和抗原阴性(-)的反应用肉眼或解剖镜很容易判断。

## 结 果

### (一) 同种交互凝集试验 (isoagglutination test)

16尾红鲫红血球、血清交互反应,结果见表1。红鲫血清平均效价为4。本试验重复两次,所设的生理盐水对照凝集均为阴性反应。

从表1中可以看出, No. 1, 14, 16 的反应模式是相同的。对于 RBC 来说, 这3尾鱼均不能与其他个体的血清发生反应(表1纵列), 对血清来说, 除与 No. 1, 14, 16 这3尾本身的 RBC 不发生反应外, 对其他13尾红鲫均产生反应(表1横列)。作者把这一种类型称为 type I。

No. 2—5, 7, 11 这6尾鱼也是相同的另一类。它们的 RBC 除与本身这6尾鱼的血清不反应外, 与其他10尾鱼的血清均有反应。对血清来说, 这6尾鱼的血清不能使16尾鱼中任何一尾的 RBC 产生凝集, 可能不含抗体(凝集素)。这一类型称之为 type II。

在 No. 6, 8—10, 12, 13, 15 共7尾中, 似乎有某些相似之处: 它们的 RBC 都可以与其它大部分个体的血清反应, 它们的血清也不完全缺乏抗体; 然而, 这7尾鱼中有些个体之间可产生血球-血清反应(如 No. 6 与 9 之间), 显然它们不可能是属于同一种类型。

表1 16尾红鲫血球—血清交互凝集结果

Tab. 1 The results of cross agglutination of sera and RBCs from 16 R. C. Carp

RBC (No.) 红血球	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Serum (No.) 血清	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
9	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
10	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
13	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
15	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
16	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-

进一步可发现，No.6,10,13 三个个体间不发生凝集反应，另外四个个体 No.8,9,12,15 之间也没有反应发生，所有发生的凝集反应都是在 No.6,10,13 这一组与 No.8,9,12,15 这一组之间产生的。因此，这 7 尾鱼分属二个类型。把 No.6,10,13 称之为 type III，则 No.8,9,12,15 这四尾就称为 type IV。

## (二) 同种抗体吸收试验 (isoantibody absorption test)

对表 1 中具有 4 种不同反应类型的红鲫的简单解释是，红鲫中存在着一种红细胞抗原 S(antigen S)，凡是能与其他个体的血清发生反应的就是抗原阳性 ( $S^+$ ) 个体，否则就是抗原阴性 ( $S^-$ ) 个体。对血清来说，假设存在一类与 S 抗原相对应的抗体，则凡是血清能使其它个体的 RBC 凝集的就是抗体阳性 (anti-S positive)，否则就是抗体阴性 (anti-S negative)。这种解释的合理与否，可用单一血清分别经过  $S^+$  和  $S^-$  个体的 RBC 吸收后的结果加以检验(表 2)。

用 No.1,16 的 RBC 吸收后，不能去除任何抗体，No.1 和 No.16 血清仍具有原有凝集活力；而用 No.2,5,11 的 RBC 吸收，可使所有的被测血清的抗体活性消失殆尽。用 No.8,6,10,15 的 RBC 分别吸收，也可使被吸收血清部分或全部地失去活性。以上结果表明以上解释是合理的。type I 中不含任何抗原，但却含较多的抗体，可以同时使 type III 和 type IV 的 RBC 发生凝集，单独地用 type III(No.6) 和 type IV (No.12) 的 RBC 吸收，只能使 No.1 和 No.14 的抗体活力部分消失。

表 2 红鲫同种抗体的吸收试验

Tab. 2 The results of the absorption of R. C. Carp isoantibodies

血清 Serum (No.)	吸收所用的 RBC absorbed by RBC of (No.)	测试所用的 RBC tested RBC									
		2	3	1	11	6	5	13	8	16	14
1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	1	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
1	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	6	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
1	15	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
1	16	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
14	12	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	6	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
8	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	16	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-

表 2 显示的另一个结果是 type III、type IV 都是只含单一的抗体，它们的 RBC 与血清相互吸收后，血清便失去全部活性，如 No.8 RBC 吸收 No.10 血清后，No.10 RBC 吸收 No.12 血清后。如果我们进一步假设，type III 的个体具有 S 抗原的第 1 类决定因子即  $S^1$ ，type IV 有第 2 类决定因子  $S^2$ ，则 type II 最有可能是同时具有  $S^1$  和  $S^2$  二

种抗原因子,即  $S^1S^2$ 。type I 中因为没有抗原,把它记作  $S^0$ ;抗体的情况相应是, type III 含有抗- $S^2$ , type IV 含有抗- $S^1$ , type II 无抗体, type I 含有抗- $S^1$  和抗- $S^2$  两种抗体。依据这样的假设,可以比较合理地说明交互凝集和同种抗体吸收的各种反应模式。

### (三) 异种抗血清吸收试验 (absorption test of rabbit anti-R. C. Carp sera)

抗原系统的构成的进一步证据来自兔抗红鲫红细胞抗血清的多重吸收分析结果。用 type II, type III, type IV 的 RBC 分别免疫而制得三种抗血清试剂, 分别用本型和其他二种类型的 RBC 吸收, 上清液再与供体试验细胞反应(表 3)。

表 3 兔抗红鲫 RBC 抗血清的吸收试验

Tab. 3 The results of rabbit anti-R.C.Carp sera absorption

兔抗血清 Rabbit antisera	吸收所用 RBC 类型 Absorbed by RBC of (type.)	抗-type II Anti-type II			抗-type III Anti-type III			抗-type IV Anti-type IV		
		II	III	IV	II	III	IV	II	III	IV
Type II		-	+	+	-	-	+	-	+	-
Type III		-	-	+	-	-	+	-	-	-
Type IV		-	+	-	-	-	-	-	+	-

抗-type III 和抗-type IV 抗血清经过 type II 的 RBC 吸收以后, 活性完全消失, 而用 type III 和 type IV 的 RBC 分别地吸收兔抗-type II 抗血清, 抗-type II 抗血清只部分丧失活力。结果表明, type II 中确实存在着可以使抗- $S^1$  和抗- $S^2$  同时失去活性的杂合抗原因子  $S^1S^2$ , type III 和 type IV 只是相互对立的两个单因子类型。

综合以上结果, 存在于红鲫中的 S-系统的血型类型是: type I( $S^0$ ), type II( $S^1S^2$ ), type III( $S^1$ ), type IV( $S^2$ ), 由于 type I 是完全隐性的表型(无抗原), 可以推断, 红鲫中的这一血型系统, 可能是由与二个抗原因子相对应的等显性基因  $S^1$  和  $S^2$  以及另外一个基因  $S^0$  ( $S^0$  则最可能是隐性)共同组成的复等位基因系列所决定。这三个基因的组合可顺利解释四种血型表型的各种免疫学特性。现将红鲫红细胞 S-血型系统的有关试验结果总结如下表(表 4)。

表 4 红鲫红细胞 S-血型系统及可能的基因决定型

Tab.4 The blood type S in R. C. Carp RBC and its possible genotype

原始类型编号 Primary type No.	RBC 抗原因子 Antigen factors on RBC	血清抗体 Antibodies	可能的基因型 Possible genotype
Type I	缺乏 ( $S^0$ )	抗- $S^1$ , 抗- $S^2$	$S^0S^0$
Type II	杂合子 ( $S^1S^2$ )	无任何抗体	$S^1S^2$
Type III	单一 ( $S^1$ )	抗- $S^2$	$S^1S^1, S^1S^0$
Type IV	单一 ( $S^2$ )	抗- $S^1$	$S^2S^2, S^2S^0$

### (四) 红鲫血型系统与人 ABO 血型的关系

从推断的红鲫 S 血型系统的遗传背景来看, 与人类 ABO 血型的复等位基因的决定很相仿, 它们是否就是同一血型? 为此, 进一步用标准人 ABO 血型分型试剂“A”和“B”与红鲫群体 RBC 反应, 了解它们的相关性(表 5)。

表5 人“A”、“B”血清与红鲫 RBC 的反应

Tab.5 The reaction between human "A" and "B" sera and RBC from R. C. Carp

红鲫血球 R. C. Carp RBC		No.														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
人血清 Human sera																
"A"		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
"B"		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

+ 凝集阳性, 平均凝集价 3+ - 凝集阴性

除 No.14 RBC 反应阴性外, 其它个体均没有差别地与人 "A" 和 "B" 血清反应。反应类型只有二种。另外, 红鲫 type I 中只有 No. 14 为阴性, 而 No.1,16 却为阳性反应, 可见人 ABO 血型与红鲫中的血型不是完全对应, 是二类性质不同的血型。

## 讨 论

本实验采用同种凝集、同种及异种抗血清吸收等方法证明了红鲫自然群体中 RBC 抗原和抗体的个体差异性。这种首次在鲫鱼中报告的血型称之为 S-血型系统。该系统与 Suzuki 在 tuna 中报道过的 A-B-O 血型特征相似<sup>[1]</sup>, 而与大鼠 (*Peromyscus maniculatus*) 中报道过的一对等位基因  $P^A$  和  $P^B$  决定 A, AB, B 三种血型的模式不同<sup>[2]</sup>。在红鲫中明显地存在着抗原完全缺乏型 type I ( $S^0$ ), 可能的合理解释是该血型系统是由三个等位基因来控制, 这三个基因分别标记为  $S^1$ 、 $S^2$ 、 $S^0$ , 其中  $S^1$  和  $S^2$  为等显性,  $S^0$  则最可能是一隐性基因, 由它们共同组成复等位基因系列, 构成红鲫 6 种可能的基因型, 4 种血型表型:  $S^1$ 、 $S^2$ 、 $S^1S^2$ 、 $S^0$ 。根据这种推断, 红鲫 S 血型系统与人类 ABO 血型具有遗传控制背景上的相似性, 然而人 "A"、"B" 血清与红鲫 S-系统的成员的 RBC 反应, 结果显示二者不具有吻合的抗原因子类型, 因此 S-血型是红鲫中存在的一种独立于人 ABO 之外的血型; 并且, 就初步数据来看, 红鲫中  $S^1S^2$  的比率(6/16)远高于人 ABO 血型中类似的 AB 型的比率, 这种差别是否意味着红鲫的特殊性有待证实。

血型作为基本的遗传控制性状, 需有确切的血清学证据和遗传学证据加以描述和说明。本实验用可靠的血清学经典方法, 证明实验群体中的红鲫个体, 或是具有单一 RBC 抗原(二类), 或是杂合性抗原, 或是缺乏抗原. 没有例外现象出现。每次凝集均设立生理盐水对照, 未发现非特异的凝集, 因此血清学反应中的非抗体凝集反应的可能性完全排除。实验群体中完全隐性的血型表型以及杂合性表型的出现,  $S^1$ 、 $S^1S^2$ 、 $S^2$ 、 $S^0$  四种类型的存在, 参考获得相同类型的海洋鱼类中过去的报道, 作者作出了红鲫 S-血型可能具有的遗传控制背景的推测。本实验尚属该项研究的第一步工作, 其下一步应进行血型的杂交组合及基因测交工作, 进而在大样本基础上对不同群体进行血型基因定量研究, 为本文提出的论点提供更多佐证, 在此基础上才有可能研究鲫鱼的种群与生态变异。

## 参 考 文 献

- [1] 童金苟、陈荣德、吴清江, 1987。鲤鱼不同品种(系)红血球抗原特异性的初步研究。水生生物学报, 11(2): 112—116。
- [2] 程光潮、吴丽城、张婷、刘坤凡、段章雄, 1988。鸡的血型研究 VIII. 滨白鸡品种间种群关系分析。遗传, 10(1): 12—16。
- [3] Chakravarti, M. R., 1977. ABO blood groups and chicken pox in an Indian population. *Acta Genet. Med. Gemellol.*, 26(3—4): 297—298.
- [4] Hojny, J., 1974. Factor Er and allied Eddeghjuur in blood groups of pig. *Anim. Blood Groups. Biochem. Gener.*, 5(3): 189—191.
- [5] Nakanishi, T., 1987. Histocompatibility analyses in tetraploids induced from clonal triploid crucian carp and in gynogenetic diploid goldfish. *J. Fish Biol.*, 31(Supplement A): 35—40.
- [6] Nguyen, T. C., 1975. Blood group in sheep. *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 7(2): 145—157.
- [7] Pasquier, Du L., Chardonnens, X. and Miggiano, V. C., 1975. A major histocompatibility complex in the *Xenopus laevis* (Daudin). *Immunogenetics*, (1): 482—494.
- [8] Podliachouk, L., 1975. Blood genetic marks in race horses. *Ann. N. Y. Genet. Sel. Anim.*, 7(4): 339—345.
- [9] Rasmussen, D. I., 1961. Erythrocyte antigenic differences between individuals of the deer mouse, *Peromyscus maniculatus*. *Genet. Res. Camb.*, 2(3): 449—455.
- [10] Sander, B. G. and Wright, J. E., 1962. Immunogenetic studies in two trout species of the genus *Salmo*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 97(1): 116—130.
- [11] Suzuki, A., 1962. On the blood types of yellow fin and bigeye tuna. *Am. Nat.*, 96(889): 239—246.
- [12] Trela, E., 1975. Studies on blood groups in Lowland Red-and-White cattle. *Genet. Pol.*, 16(3—4): 353—357.
- [13] Wiener, A. S., 1974. Homologues of human A-B-O blood group in apes and monkeys. *J. Haematologia*, 8 (1—4): 195—216.
- [14] Wilkins, N. P., 1972. Biochemical genetics of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. The significance of recent studies and their application in population identification. *J. Fish Biol.*, 4(4): 505—517.

## SEROLOGICAL STUDIES ON THE BLOOD TYPE IN RED CRUCIAN CARP

Tong Jingou and Wu Chingjiang

*(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)*

### Abstract

This paper investigated erythrocytic antigen differences between individuals in R. C. Carp population using routine serological methods. This antigen system is nominated as S blood type (or group) system. Based on the results of isoagglutination and isoantibody and rabbit antiserum absorption tests, four blood phenotypes were revealed: no antigen(type I, S<sup>0</sup>), two antigens(type II, S<sup>1</sup>S<sup>2</sup>) and single antigen(type III, S<sup>1</sup> and type IV, S<sup>3</sup>). In serum, type I has anti-S<sup>1</sup> and anti-S<sup>2</sup>, type II has no antibodies, type III has anti-S<sup>2</sup>, and type IV has anti-S<sup>1</sup>. This blood type system is similar to the phenotype models of "A-B-O" type in tuna and ABO type in human being, but is different from the model in deer mouse which has only 3 phenotypes, A, AB and B, possibly controlled by two alleles labelled P<sup>A</sup> and P<sup>B</sup>. It has been assumed that S blood type in R. C. Carp is determined by 3 multiple alleles labelled S<sup>1</sup>, S<sup>2</sup> and S<sup>3</sup> (here S<sup>1</sup> and

$S^2$  are codominant, and  $S^0$  is most likely to be recessive).

Although the genetic background of S system is possibly similar to that of human ABO, the results of agglutination test between human "A" and "B" serum and four types of S system in R.C.Carp showed that S system is a particular blood type independent of human ABO. The primary data present a much higher  $S^1S^2$  ratio(6/16) in R.C.Carp than in human AB type. Further investigations of crossing between genotypes for S system are in process.

**Key words**

Blood type (group), Red Crucian Carp, Antigen, Isoantibody