

БИОХИМИЯ

УДК 577.15.024

Академик НАН Армении А. А. Галоян, Т. Д. Ли, С. С. Алексанян,
Б. Я. Гурвиц, С. Г. Чаилян, Ц. А. Егоров, К. А. Маркосян

**Новые полипептиды гипоталамуса:
выделение и первичная структура**

(Представлено 26/Х 1996)

Открытие и расшифровка первичной структуры каждого нового соединения мозга является этапом фундаментальных исследований роли этих веществ в сложных регуляторных механизмах мозга. Выделение же пептидов из нейросекреторных гранул, вырабатываемых в магноцеллюлярных ядрах гипоталамуса, с большой вероятностью свидетельствует о гормональной природе этих соединений. Нами выделен ряд новых полипептидов не только из состава пептидно-белковой фракции гипоталамуса, но и из нейросекреторных гранул нейрогипофиза. После выделения вазопрессина и окситоцина в 50-х гг., а также коронароактивных нейрогормонов (К, С и G) из нейросекреторных гранул гипоталамуса и нейрогипофиза в 70-х гг. нам удалось выделить новые полипептиды и полностью расшифровать их первичную структуру.

Новые полипептиды гипоталамуса были изолированы из белково-пептидной фракции, полученной по ранее разработанной методике (1), а также из нейросекреторных гранул нейрогипофиза крупного рогатого скота (2).

Выделенные нейропептиды дочистили до получения индивидуальных форм с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в градиенте ацетонитрила (0-40%) в течение 40-50 мин на реверз фазовых колонках (С₈, С₁₈). Первичную структуру полипептидов определяли методом Эдмановской деградации и масс-спектрального анализа.

Из белково-пептидной фракции гипоталамуса с помощью ВЭЖХ в градиенте ацетонитрила изолирован ряд полипептидов и расшифрована их первичная структура масс-спектральным анализом и микросеквенированием.

В табл. 1, показана первичная структура выделенных полипептидов. Как видно из таблицы, они являются фрагментами альфа- и бета-цепи гемоглобина быка. Исследование первичной структуры некоторых этих полипептидов было проведено А.Галояном в лаборатории Т.Ли (США).

Первичная структура новых полипептидов, фрагментов
альфа- и бета-цепи гемоглобина, выделенных из гипоталамуса

Пептиды альфа-цепи гемоглобина

Val-Leu-Ser-Ala-Ala-Asp-Lys-Gly-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Gly- -Lys-Val-Gly-Gly-His-Ala	1-21
Ala-Ser-His-Leu-Pro-Ser-Ala-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser	110-124
Ser-His-Leu-Pro-Ser-Ala-Phe-Thr-Pro-Ala-Val	111-121
His-Leu-Pro-Ser-Ala-Phe-Thr-Pro-Ala-Val	112-121
His-Leu-Pro-Ser-Ala-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp	112-126

Пептиды бета-цепи гемоглобина

Phe-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asn-Ala-Leu-Ala-His-Arg- -Tyr-His	129-145
Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asn-Ala-Leu-Ala-His-Arg-Tyr-His	133-145

В литературе нам не удалось обнаружить данных о наличии подобных полипептидов ни в крови, ни в мозге. Ранее (3-5) обнаруженные нами в гипоталамусе крупного рогатого скота кальмодулин связывающие пептиды – без участия ионов кальция – оказались фрагментами бета-цепи гемоглобина, активаторами Ca^{2+} -кальмодулин зависимых ферментов (путем активирования кальмодулина). В 1990 г. была расшифрована их структура. Они оказались 31-41 фрагментами β -цепи гемоглобина быка (6).

Огромный общебиологический интерес представляют результаты изучения полипептидного состава нейросекреторных гранул гипоталамо-нейрогипофизарной системы, так как они содержат не только вазопрессин и окситоцин, но и кардиоактивные нейрогормоны и еще неидентифицированные начала.

А.А.Галояном, К.Маркосян и Б.Гурвиц в индивидуальном виде получен ряд новых полипептидов и расшифрована их первичная структура (табл.2). Они оказались С-концевыми фрагментами нейрофизина II, которые образуются внутри нейросекреторных гранул частичным протеолизом, под влиянием протеолитических ферментов. В этих гранулах идентифицированы (микросеквенированием) также вазопрессин и окситоцин. Последние являются маркерами нейросекреторных гранул, вырабатываемых магноцеллюлярными ядрами гипоталамуса. В нейросекреторных гранулах обнаруживается также тимозин β_1 (убиквитин).

Таким образом, в этих гранулах имеются как нейрофизины (предшественники вазопрессина и окситоцина), вазопрессин, окситоцин, так и ряд других фрагментов нейрофизина II, а также кардиоактивные белок-гормональные комплексы. Можно полагать, что в нейросекреторных гранулах имеются каскадные системы протеолитических ферментов, ответственных за образование множественных фрагментов кардиоактивных белков и нейрофизинов по ходу транспорта гранул через аксоны.

Первичная структура полипептидов, изолированных из нейросекреторных гранул нейрогипофиза быка

1. Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly-Val-Tyr
2. Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly-Val
3. Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly
4. Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro
5. H-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH₂
6. H-Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂

По предварительным данным указанные новые полипептиды принимают участие в регуляции иммунного ответа, а также в образовании интерлейкинов мозга.

Институт биохимии НАН Армении

Հայաստանի ԳԱԱ ակադեմիկոս Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ, Տ. Դ. ԼԻ, Ս. Ս. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ,
Բ. Յ. ԳՈՒՐՎԻՑ, Ս. Գ. ՉԱՅԻԼՅԱՆ, Յ. Ա. ԵԳՈՐՈՎ, Կ. Ա. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ

Հիպոթալամուսի նոր պոլիպեպտիդները՝ անջատումը և առաջնային կառուցվածքը

Հիպոթալամուսի պեպտիդ-սպիտակուցային ֆրակցիայից, ինչպես նաև հիպոթալամուսի և նեյրոհիպոֆիզի նեյրոսեկրետոր գրանուլներից անջատված է մի շարք նոր պոլիպեպտիդներ և պարզված նրանց առաջնային կառուցվածքները:

Նեյրոսեկրետոր գրանուլներում հայտնաբերված են 4 պոլիպեպտիդներ-նեյրոֆիզին II-ի C⁻-ծայրային ֆրանգմենտները:

Հայտնաբերված են նաև հեմոգլոբինի α- և β շղթաների 7 ֆրագմենտներ, որոնք չեն հայտնաբերված արյան մեջ, ինչպես նաև ուղեղում կամ այլ օրգաններում: Ուսումնասիրվում է վերջիններիս կենսաբանական ակտիվությունը և առաջացման մեխանիզմները:

ЛИТЕРАТУРА-ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ А.А.Галоян, Авторское свидетельство СССР №403214, 1968; Патенты: Швеции №721540-0 (1976) и Канады №97 3474, 1975. ² А.А.Галоян, Ф.М.Саакян, ДАН СССР, т.201, №2, с.483-485 (1970). ³ А.А.Галоян, Н.А.Бархударян, К.Валко и др., Нейрохимия, т.7, №2, с.120-131 (1988). ⁴ А.А.Галоян, ДАН АрмССР, т.92, №4, с.173-176 (1991). ⁵ Т.Ф.Захарян, Н.А.Бархударян, Л.А.Шувалова и др., Нейрохимия, т.9, №4, с.444-449 (1990).