

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУННЫХ СЫВОРОТОК К КАРДИОАКТИВНЫМ БЕЛКАМ ГИПОТАЛАМУСА

Ж. Г. АБЕЛЯН, Р. М. СРАПИОНЯН, А. А. ГАЛОЯН

Ключевые слова: антиген, антисыворотка, нейрогормон.

В течение многих лет нами проводятся исследования по выделению и идентификации водорастворимых белков гипоталамуса, в частности, коронарорасширяющих, генераторов и предшественников ряда биоактивных соединений [1—3].

Исследования ряда физико-химических свойств (электрофоретическая подвижность, изоточка, молекулярный вес, аминокислотный состав) сделали правомочным предположение о существовании группы кардиоактивных белков, условно названных по признаку связывания с соответствующими кардиоактивными нейрогормонами БНС—белок-носитель нейрогормона С, БНК—белок-носитель нейрогормона К и БНГ—белок-носитель нейрогормона Г.

Необходимость иммунохимического контроля, дающего возможность рассмотреть эти данные в качестве окончательных, была очевидной. С другой стороны, разработка иммунохимических методов позволила бы выяснить ряд вопросов, касающихся специфичности белков и дифференциации их друг от друга, что явилось целью настоящего сообщения.

Материал и методика. Антисыворотки получали методом многократной инъекции соответствующим антигеном кроликов массой 2,5—3,0 кг. Животных иммунизировали по следующей схеме. Первую инъекцию проводили подкожно в нескольких точках. Животные получали антиген в виде коллоидной смеси с адьювантом Фрейнда. Через две недели проводили второй цикл иммунизации, включающий однократную внутримышечную инъекцию антигена с адьювантом. Третий цикл (через 4 недели) состоял из подкожного введения вещества в четырех точках и одной внутримышечной инъекции. Спустя 4 недели проводили четвертый цикл иммунизации, который состоял из однократного введения антигена в одной точке. Реимунизация была сделана в виде повторного однократного внутривенного введения животным 1 мг белка без адьюванта. Каждый кролик получал по 2 мг очищенного специфического белка. Кровь брали из ушной вены на 4, 7, 9, 14-й и 20-й день иммунизации и через 7—10 дней после реимунизации. Отделялась сыворотка крови, которая лиофилизировалась и хранилась при —14°. Иммунофорез по методу Шейдигера [4] проводили на предметных стеклах размером 76×26 мм, которые заливались 2 мл 1,5%-ным раствором агара на веронал-мединаловом буфере, рН 8,6. Ионная сила буфера 0,05 М. В качестве консерван-

та в агар добавляли мертиолат в концентрации 1:100000. Разгонку белков проводили в специальном приборе фирмы «Lабог» (Венгрия) в веронал-мединаловом буфере рН 8,6, при комнатной температуре в течение 1,5 ч при градиенте напряжения 150 в и силе тока 5 мА на каждую пластинку. Антиген наносили в маленькие луночки, расположенные друг против друга. По окончании электрофореза между двумя лунками вырезали трапецию, в которую пастеровской пилеткой наносили 2—5%-ную преципитирующую кроличью антисыворотку. Затем стекла помещали в герметически закрытую влажную камеру и оставляли при комнатной температуре в течение 48 ч. Иммунофореграммы оставляли для высушивания при комнатной температуре в течение 24 ч. Перед окрашиванием стекла промывались физиологическим раствором. В качестве красителя применяли амидошварц. Избыток красителя удаляли путем промывания 2%-ным раствором уксусной кислоты в течение 40—60 мин. Окрашенные фореграммы высушивали на воздухе и хранили в сухом месте.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследований, активными оказались иммунные сыворотки, взятые на 7-й и последующие дни, они и были использованы в наших исследованиях.

Были поставлены перекрестные реакции с различными антисыворотками. При иммуноэлектрофорезе антисыворотки БНС и антигена белка-носителя БНК не были получены дуги преципитации. Аналогичные результаты были получены при использовании антисыворотки БНС к антигену БНГ, а также антисыворотки БНК к антигену БНГ. Все эти данные подтвердили строгую специфичность каждого отдельного белка.

Следующим этапом исследования явилась попытка доказать специфичность указанных белков для нервной ткани. С этой целью были приготовлены водные гомогенаты различных органов (печень, сердце, легкие, почки, поджелудочная железа, селезенка) крыс, которые были использованы в качестве источника антигенов. В опытах с кроличьей антисывороткой против указанных экстрактов иммунологическими методами нам не удалось получить реакции преципитации.

Таким образом, подводя итог рассмотрению результатов, касающихся выявления реакции между полученными нами иммунными сыворотками со специфическими антителами, мы пришли к заключению, что полученные в этой работе данные подтверждают высказанное ранее предположение о возможности существования группы кардиоактивных белков в гипоталамусе.

Авторы приносят благодарность А. К. Антоняну за методическую консультацию.

Институт экспериментальной биологии
АН Армянской ССР

Поступило 29.XII 1980 г.

**ՀԻՊՈԹԱԼԱՄՈՒՍԻ ԿԱՐԴԻՈԱԿՏԻՎ ՍՊԵՍԱԿՈՆՅՆԵՐԻ ԵՎ ԱՏԻՎԱՄԲ
ՍՏԱՅՎԱԾ ՀԱԿԱՄԱՐՄԻՆՆԵՐԻ ՌԻՍՈՒՄԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ**

Յ. Գ. ԱՔԵՆՅԱՆ, Ռ. Մ. ՄՐԱՊԻՈՆՅԱՆ, Ա. Ա. ԳԱՂՅԱՆ

Փորձերով ստացվել են *K*, *S* և *G* նեյրոհորմոնների հիպոթալամուսի յուրաքանչյուրի սպիտակուցային կրողների (БНК, БНС, БНГ) նկատմամբ հակամարմինների առկայությունը վկայող իմունաէլեկտրաֆորետիկ տվյալներ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галоян А. А. Докл. АН Армянской ССР, 38, 5, 1964.
2. Галоян А. А., Срапионян Р. М. Докл. АН Армянской ССР, 42, 4, 1966.
3. Срапионян Р. М., Саакян С. А., Саакян Ф. М., Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 13, 67, 1978.
4. Schidegger J. J. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 1, 103, 1955.