

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1986

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1986

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986



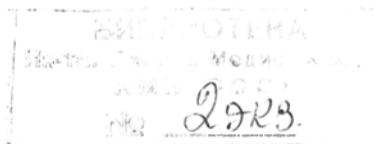
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОК-
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-
ВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)	ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)	ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)	ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)	УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)	ШАПОТ В. С. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)	ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)	ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

15. *Dahan A., Reynaud C. A., Weill J. C.* — Nucl. Acids Res., 1983, vol. 11, p. 5381—5389.
16. *Goldstein G., Anghya T., Heavner G. A.* — In: Peptides. Synthesis, Structure, Function / Ed. D. H. Rich, E. Gross. Rockford, 1981, p. 535—539.
17. *Kabal E. A., Wu T. T., Bilofsky H. et al.* — In: Sequences of Proteins of Immunological Interest. Bethesda, 1983, p. 188—196.
18. *Krishna N. R., Heavner G. A., Vangh J. B.* — J. Amer. Chem. Soc., 1983, vol. 105, p. 6930—6934.
19. *Najjar V. A., Nishioka K.* — Nature, 1970, vol. 228, p. 672—673.
20. *Ovchinnikov Y., Chipens G., Ivanov V.* — In: Peptides, 1982 / Ed. K. Blaha, P. Malon. Berlin, 1983, p. 1—17.
21. *Stanworth D. R.* — Molec. Immunol, 1982, v. 19, p. 1245—1254.

Поступила 28.11.84

THE PRIMARY STRUCTURE AND SPECIFICITY OF IMMUNOPOIETINS

G. I. Chipens, P. P. Zarin'sh, L. P. Osis, Yu. E. Anlsans

Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences of the Latvian SSR, Riga

A model involving quasicyclization of protein molecules following the stepwise reactions of limited proteolysis was developed. On the basis of the model new active sites were detected in immunoglobulins of various species as well as chemical synthesis of the sites was carried out. The new group of the substances was designated as immunopoielins. The primary structure of various species immunoglobulins was analyzed and evolutionary stability of the immunopoielins structure was shown.

УДК 616.379-008.64-092.9-07:[616.15-008.6:616.151.55]

Б. А. Кудряшов, Л. А. Ляпина

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ГЕПАРИНА С ДИАБЕТОГЕННЫМ ФАКТОРОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Лаборатория физиологии и биохимии свертывания крови МГУ им. М. В. Ломоносова

Ранее было показано присутствие в плазме крови крыс, больных аллоксановым диабетом [1], и в плазме крови людей, больных сахарным диабетом [6], диабетогенного фактора (ДФФ), вызывающего у здоровых животных устойчивую гипергликемию после внутривенного его введения. Предварительная инфузия гепарина реципиентам за 5 мин до инъекции плазмы крови больных диабетом животных или людей полностью исключала развитие гипергликемии [1, 6].

Настоящее исследование было проведено с целью изучения характера взаимодействия ДФФ с гепарином.

Методика

Гомогенный ДФФ был выделен из плазмы крови больных диабетом крыс и людей. Он представлял собой белок альбумин с мол. массой 60 000 дальтон. Комплексообразование ДФФ с гепарином контролировали методом пересекающего электрофореза [9]. Электрофорез проводили в 0,05 М фосфатном буфере рН 7,4 при напряжении 15 В/см в течение 2,5 ч. Электрофореграммы окрашивали 0,033 % раствором азуря II (на кислые группы гепарина) и 0,1 % раствором амидо черного 10В (на белок).

Для образования комплекса гепарина с ДФФ использовали 0,1 % растворы в 0,85 % растворе NaCl каждого из реагентов. Их смешивали в соотношениях гепарин — ДФФ, равном 6:1, 3:1, 1:1, 1:3, 1:6, 1:12 (по весу) и выдерживали в течение 15—30 мин при

37 °С. Максимальное образование комплекса гепарина и ДФФ происходило при их весовом соотношении 1:1 в реакционной среде. Наилучшее осаждение комплекса наблюдали при изоэлектрической точке рН 5,0. Осаждение производили при 4—6 °С в течение не менее 40—60 мин, после чего центрифугировали в течение 10—15 мин при 1800 об/мин. Полученные осадки (комплексы) промывали дважды охлажденной до 0 °С дистиллированной водой, центрифугируя каждый раз, и высушивали в струе воздуха.

Антикоагулянтные свойства комплекса изучали, используя метод, описанный Сирман [7]; неферментативную фибринолитическую активность комплекса определяли, как описано ранее [3, 5].

Результаты и обсуждение

Методом пересекающегося электрофореза было показано комплексообразование между гепарином и белковым ДФФ (см. рисунок на вклейке). В месте контакта гепарина с ДФФ белок не окрашивался амидо черным 10В, а гепарин — азуром II. Это свидетельствовало о достаточно прочном взаимодействии между гепарином и ДФФ, а также о том, что в комплексообразовании принимают участие кислые, по-видимому, сульфогруппы гепарина.

Поскольку известно, что многие ранее изученные комплексные соединения гепарина обладают антикоагулянтной активностью [8] и являются физиологическими растворителями неста-

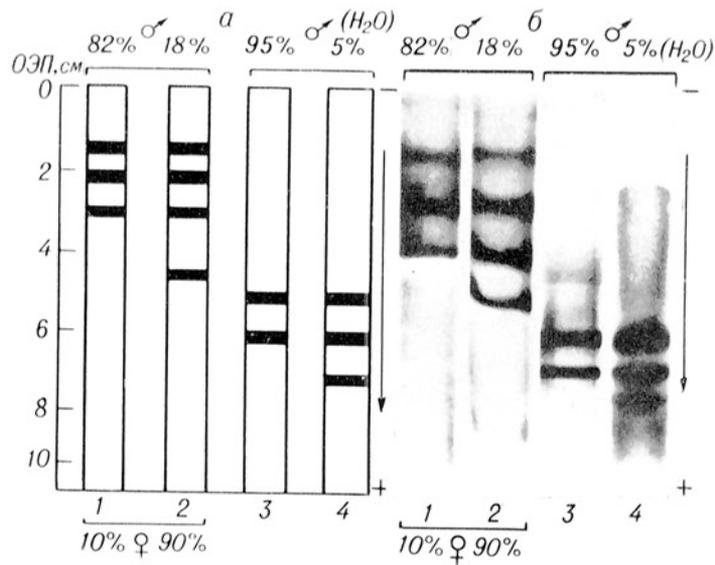


Рис. 1. Частота встречаемости изоферментов АльДГ печени в общей популяции крыс:

1, 2 — цитозольная фракция, 3, 4 — митохондриальная, ОЭП — относительная электрофоретическая подвижность, а — диаграмма, б — фореграмма.

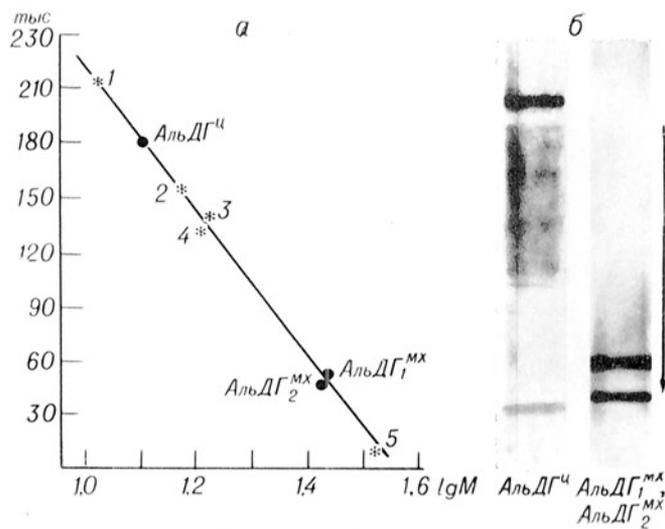
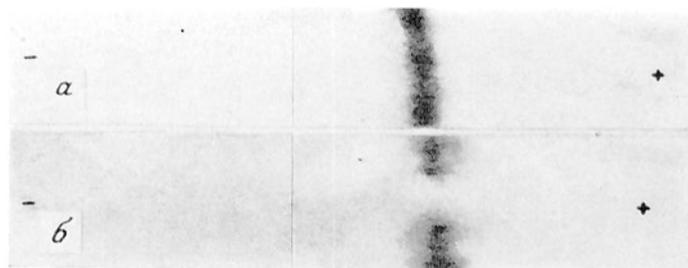


Рис. 2. Определение молекулярной массы митохондриальной и цитозольной фракций печени крыс при электрофорезе в 7% ПААГ с додецилсульфатом натрия.

По оси абсцисс — обратные логарифмы молекулярной массы; по оси ординат — молекулярная масса (в тысячах дальтон). а — графическое изображение; б — фореграмма. АльДГ^ц — молекулярная масса АльДГ цитозоля, АльДГ₁^{мх} и АльДГ₂^{мх} — молекулярные массы АльДГ митохондрий. 1 — альбумин бычий; 2 — альбумин бычий (димер); 3 — глутаматдегидрогеназа; 4 — лактатдегидрогеназа; 5 — пананин.



Электрофорезграммы гепарина (а) и комплекса гепарин — ДГФ (б). Окраска азуром II.

Антикоагулянтные и неферментативные фибринолитические свойства комплекса гепарин—ДГФ

Соотношение (по весу) гепарина и ДГФ в 1 мг комплекса			Тромбиновое время в присутствии препаратов, с
соотношение по весу	гепарин, мкг	ДГФ, мкг	
1:1	500	500	300±0 (7)
1:3	250	750	140±7 (10)
1:6	143	857	100±6,5 (7)
1:12	77	923	100±5,0 (7)
Контроль 1 — 0,85% NaCl			91±6 (9)
Контроль 2 — гепарин:	500		300±12 (10)
	250		140±6,8 (7)
	143		100±7 (6)
	77		100±5 (5)
Контроль 3 — ДГФ — 500			87±4 (7)

Примечание. В скобках—указано число опытов.

билизированного фибрина [2, 4], полученный нами комплекс также был исследован на наличие этих активностей.

Навески сухих препаратов комплексов растворяли в определенных объемах 0,85 % раствора NaCl pH 7,2—7,4 или в боратном буфере pH 7,4. Контролем служили препараты гепарина и ДГФ в дозах, эквивалентных их содержанию в комплексах.

Как видно из таблицы, комплексные соединения гепарина с ДГФ, полученные при соотношениях 1:1, 1:3, 1:6, 1:12, а также контрольные растворы гепарина и ДГФ не обладали неферментативной фибринолитической активностью, о чем свидетельствовало отсутствие зон лизиса на нестабилизированных фибриновых пластинах при действии указанных препаратов. В то же время комплексные соединения гепарина с ДГФ, полученные только при соотношениях 1:1 и 1:3, проявляли антикоагулянтные свойства, эквивалентные содержащемуся в них гепарину. В других комплексах, с более высоким содержанием ДГФ, эта активность была подавлена.

Таким образом, комплексобразование ДГФ с гепарином осуществляется. Получены комплексы гепарина с ДГФ при соотношениях гепарин — ДГФ, равных 1:1, 1:3, 1:6, 1:12, при фи-

зиологических условиях (pH 7,4). Установлено, что полученные комплексы гепарин — ДГФ не оказывают неферментативного фибринолитического действия на нестабилизированный фибрин, что отличает их от известного ряда комплексов гепарина с некоторыми белками крови и аминами [2, 4].

Полученные данные дают основание считать, что эффективная нейтрализация активности ДГФ обусловлена комплексобразованием его с гепарином. Образующийся комплекс гепарин — ДГФ не обладает диабетогенными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баскакова Г. М., Кудряшов Б. А., Пытель Ю. А. — Пробл. эндокринолог., 1981, № 4, с. 42—45.
2. Кудряшов Б. А. Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови и ее свертывания. М., 1975.
3. Кудряшов Б. А., Ляпина Л. А. — Лаб. дело, 1971, № 6, с. 326—329.
4. Кудряшов Б. А., Ляпина Л. А. — В кн.: Биохимия животных и человека. Киев, 1982, вып. 6, с. 64—73.
5. Кудряшов Б. А., Ляпина Л. А., Баскова И. П. — Вестн. Моск. ун-та. Серия: биол., 1974, № 5, с. 41—45.
6. Кудряшов Б. А., Поносенкова Г. В., Пытель Ю. А. — Пробл. эндокринолог., 1982, № 5, с. 61—64.
7. Сирмаи Э. — Пробл. гематол., 1957, № 6, с. 38—44.
8. Mansfeld V., Hladovec J. — Coll. esl. chem. Commun., 1956, vol. 21, p. 1209—1213.
9. Nakamura S., Takeo K., Tanaka K., Ueta T. — Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., Bd 318, S. 115—128.

Получена 15.11.81

COMPLEXES BETWEEN HEPARIN AND THE DIABETOGENIC FACTOR OF BLOOD PLASMA

B. A. Kudrjashov, L. A. Lyapina

Biological Faculty, M. V. Lomonosov State University, Moscow

Development of complexes between diabetogenic factor and heparin was shown to be responsible for effective neutralization of the factor activity. The complexes of heparin and the diabetogenic factor were obtained when various ratios of the reagents were used; properties of the complexes were studied. The complexes produced, in the ratios of heparin / diabetogenic factor 1:1, 1:3, 1:6, 1:12, did not exhibit the nonenzymatic fibrinolytic activity.