

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1992

Том 38 выпуск 3

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 meditsinskoj khimii

ISSN 0042-8809

1992

Volume 38 issue 3

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>

Таблица 3

Иммунодиффузионный анализ в биологических жидкостях

Образец жидкости	Число образцов	Содержание ПППА, мг/л
Сыворотка доноров	2	Нет
Женское молоко	8	Нет
Ликвор	8	Нет
Слюна	10	Нет
Мужская семенная плазма	10	Нет
Сок простаты	6	Нет
Амниотическая жидкость, II триместр	8	5
Амниотическая жидкость, III триместр	8	10
Сыворотка беременных, I триместр	15	Нет
Сыворотка беременных, II триместр	20	Нет
Сыворотка беременных, III триместр	20	Нет
Пуповинная кровь	8	Нет
Ретроплацентарная кровь	8	Нет
Моча мужчин	10	2,5
Моча женщин	10	2,5
Моча беременных	30	2,5

определялся в экстрактах печени, селезенки, легкого, мозга и других органах плода и взрослого. Преальбумин был обнаружен в экстрактах ранней и терминальной плаценты, а также в экстрактах почки плода² и взрослого (табл. 2).

При исследовании содержания ПППА в биологических жидкостях организма он определялся в моче плодов, детей и взрослых, моче беременных и в амниотической жидкости. Содержание ПППА в амниотической жидкости возрастало по мере развития беременности и достигало максимальных значений на 36—38-й неделе беременности (табл. 3).

Для изучения связывания ПППА с иммобилизованными стероидными гормонами использовали амниотическую жидкость с содержанием преальбумина до 10 мкг/мл. Связывающую способность ПППА оценивали как отношение содержания белка во фракции, пропущенной через колонку с иммобилизованным гормоном, к его содержанию в исходной амниотической жидкости. Преальбумин при pH 8,0 с высокой аффинностью связывал иммобилизованный тестостерон и эстрадиол и не связывал синтетический аналог эстрогенов диэтилстильбэстрол, причем подобный результат достигался однократным пропусканием 10-кратного объема амниотической жидкости через колонку с иммобилизованным гормоном (табл. 4).

На основании полученных результатов можно заключить, что в ткани ранней плаценты и почки присутствует белок с подвижностью преальбумина и мол. м. 40 кДа. ПППА определяется в ткани почки, начиная с ранних стадий эмбриогенеза

Таблица 4

Аффинная хроматография ПППА на иммобилизованных стероидах

Гормон	Содержание ПППА в исходной фракции, мг/л	Содержание ПППА в несорбированной фракции, мг/л	% ПППА, связанный с гормоном
Тестостерон-ТХТ-сефароза	10	2,5	75
Эстрадиол-ТХТ-сефароза	10	2,5	75
Диэтилстильбэстрол-ТХТ-сефароза	10	10	0

и кончая дифинитивной тканью. В ткани плаценты этот белок также определяется на всем протяжении существования этого органа. ПППА секретируется в мочу доноров, плода, беременных и в амниотическую жидкость. Присутствие белка в амниотической жидкости, возможно, объясняется попаданием его туда с мочой плода.

Установленный факт связывания молекулой ПППА иммобилизованных гормонов позволяет предположить, что преальбумин является рецептором и (или) переносчиком стероидных гормонов в ткани почки и плаценты.

Дальнейшие исследования, направленные на получение очищенного препарата ПППА и разработку более чувствительного метода его определения, позволят прояснить его биологическую роль.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петрунин Д. Д., Грязнова И. М., Петрунина Ю. А., Татаринцев Ю. С. // Бюл. exper. биол.— 1976.— № 7.— С. 803—804.
2. Петрунин Д. Д., Грязнова И. М., Петрунина Ю. А., Татаринцев Ю. С. // Акуш. и гин.— 1977.— № 1.— С. 65—66.
3. Прокопенко П. Г. // Бюл. exper. биол.— 1982.— № 4.— С. 70—73.
4. Татаринцев Ю. С., Масюкевич В. Н. // Там же.— 1970.— № 6.— С. 66—68.
5. Татаринцев Ю. С., Калинин Ю. А., Терентьев А. А. // Там же.— 1988.— № 11.— С. 552—553.
6. Храмова Н. И., Абелев Г. И. // Там же.— 1961.— № 12.— С. 107—111.
7. Bonh H. // Proteins of the Placenta / Eds W. Bischof, A. Klopffer.— Basel, 1985.— P. 1—25.

Поступила 20.05.91

PLACENTA-KIDNEY PREALBUMIN: IMMUNOCHEMICAL IDENTIFICATION, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND AFFINITY CHROMATOGRAPHY ON IMMOBILIZED STEROIDS

Yu. A. Kalinin, A. D. Efremov, A. A. Terentyev, Yu. S. Tatarinov

Chair of Biochemistry, N. I. Pirogov II Medical Institute, Moscow

A protein with prealbumin mobility and MW of 40 kD was identified in early placental tissue. Using immunodiffusion analysis the protein was also detected in fetal and adult kidney tissues, in urine of donors and pregnant women and in amniotic fluid. The protein was termed placenta-kidney prealbumin (PKPA). During affinity chromatography on immobilized steroid hormones, PKPA was bound to testosterone and was not bound to diethylstilbestrol.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 618.346-008.84:577.175.3281-074

А. А. Булатов, Е. Е. Макаровская, М. И. Сеганова, В. П. Кузнецов

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ, ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛАКТИНА АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Институт экспериментальной эндокринологии Всесоюзного эндокринологического научного центра АМН СССР, Москва

В амниотической жидкости человека обнаруживается иммунореактивный пролактин (ПРЛ) в количестве, значительно превышающем его уровень в крови беременных женщин [1, 3]. Услов-

но этот пул гормона может быть назван амниотическим ПРЛ (аПРЛ), хотя ясно, что амниотическая жидкость является лишь местом его накопления. Вырабатывают же аПРЛ при беременности какие-то другие ткани. Сравнительное изучение в ходе беременности изменения в крови матери, гипофизе плода и амниотической жидкости содержания ПРЛ указывает на его негипофизарное происхождение [3]. Вероятным источником аПРЛ может быть децидуальная ткань [8], где показан синтез этого гормона *in vitro*. Хотя уровень иммунореактивного ПРЛ в амниотической жидкости во все сроки беременности выше, чем в крови матери, абсолютное содержание его очень мало. В наиболее доступной для исследования родовой амниотической жидкости оно не превышает 0,5 нг/мл [1, 4]. Данное обстоятельство серьезно затрудняет выделение гормона из этого источника и изучение его свойств. Предпринимавшиеся ранее попытки такого рода исследований не дали полной информации об аПРЛ. Вместе с тем вопрос о свойствах этого гормона и его роли при беременности представляет значительный интерес.

В настоящей работе приводятся результаты изучения физико-химических, иммунохимических и биологических свойств ПРЛ, выделенного и очищенного из амниотической жидкости человека.

Методика. Выделение ПРЛ проводили из амниотической жидкости, собранной в поздние сроки беременности в родильном доме № 15 Пролетарского района Москвы при прерывании беременности по медицинским показаниям. Объединенную амниотическую жидкость (5,5 л) центрифугировали при 5000 об/мин в течение 20 мин при 4 °С, концентрировали с помощью ультрафильтрационной установки «Минитан» с фильтром НПМВ 10 000 («Millipore», Голландия) до конечного объема около 170 мл, делили на 3 равные порции и хранили при -20 °С.

При гель-фильтрации концентрата амниотической жидкости через сефадекс G-100 около 60 мл концентрата амниотической жидкости наносили на колонку сефадекса G-100 («Pharmacia», Швеция) размером 4,5×200 см, уравновешенную 0,1 М NH₄HCO₃ pH 8,5. Элюцию материала с колонки проводили тем же буфером со скоростью 8 мл/ч. Содержание белка на данной и последующих стадиях очистки определяли по величине оптической плотности при длине волны 280 нм. Концентрацию иммунореактивного ПРЛ измеряли радиоиммунологическим методом с использованием наборов, поставляемых ВОЗ.

Полученные в результате 3 гель-фильтраций фракции, содержащие наибольшее количество иммунореактивного ПРЛ, объединяли, лиофилизировали, растворяли в 20 мл 0,01 М трис-HCl pH 8,6 и подвергали повторной гель-фильтрации через сефадекс G-100 в том же буфере. Скорость элюции составляла 4 мл/ч.

Содержащие ПРЛ фракции после повторной гель-фильтрации были объединены и нанесены на колонку (1,6×35 см) с ДЭАЭ-сефарозой CL 6В («Pharmacia»), уравновешенную 0,01 М трис-HCl буфером pH 8,6. Элюцию белка с колонки проводили ступенчатым солевым градиентом (0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1,0 М NaCl) в этом же буфере со скоростью 36 мл/ч.

Фракции, содержащие иммунореактивный ПРЛ, после хроматографии на ДЭАЭ-сефарозе были объединены, концентрация NaCl доведена до 0,2 М, а pH — до 5,6 уксусной кислотой. Этот материал наносили на колонку (1×10 см) конканавалин А-сефарозы («Pharmacia»), уравновешенную 0,05 М трис-HCl буфером pH 5,6, содержащим 0,2 М NaCl и по 1 мМ CaCl₂, MgCl₂, MnCl₂. После окончания нанесения колонку промывали 0,05 М трис-HCl буфером pH 8,5 с теми же добавками до прекращения элюции белка, не связавшегося с сорбентом. Элюцию гликозилированных белков с аффинной матрицы проводили 20 мМ метил- α -D-маннопиранозидом («Serva», Германия). Фракции, содержащие иммунореактивный ПРЛ, объединяли.

Материал, не сорбированный конканавалин А-сефарозой, был разведен водой (1 : 2) для снижения ионной силы раствора и нанесен на колонку (1,6×15 см) с КМ-целлюлозой (СМ 23, «Whatman», Англия), уравновешенной 0,01 М ацета-

том аммония pH 5,6 со скоростью 70 мл/ч. Элюцию материала осуществляли вначале 0,01 М ацетатом аммония, содержащим 0,01 М NaCl, а затем 0,1 М NH₄HCO₃ pH 8,3. ПРЛ-содержащие фракции объединяли и концентрировали путем ультрафильтрации через фильтр СХ 10 («Millipore»).

Концентрат белка, полученный после предыдущего этапа очистки, наносили на колонку (1,6×100 см) сверхтонкого сефадекса G-100 («Pharmacia»), уравновешенного 0,1 М NH₄HCO₃ pH 8,3. Элюцию проводили этим же буфером со скоростью 4 мл/ч. Фракции, соответствующие пику иммунореактивного ПРЛ, объединяли и концентрировали ультрафильтрацией. Этот материал после определения в нем содержания белка по Лоури и аликвотирования хранили при -20 °С до использования для дальнейших исследований.

Очищенный аПРЛ анализировали с помощью электрофореза в 12 % полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) по методу [11] с обработкой образцов 2-меркаптоэтанолом и окраской белковых фракций в гелях азотнокислым серебром. Радиоиммуноблоттинг осуществляли методом [14]. Для детекции ПРЛ использовали полученную нами специфическую антисыворотку к гипофизарному ПРЛ человека и белок А, меченный ¹²⁵I. В качестве маркеров молекулярной массы в электрофоретических исследованиях служили две хорошо охарактеризованные формы свиного ПРЛ: негликозилированный с мол. м. 23 кДа (23К) и гликозилированный с мол. м. 25 кДа (25К), а также высокоочищенный препарат доминирующей формы гипофизарного ПРЛ человека с мол. м. 23 кДа. Аминокислотный состав препарата определяли на аминокислотном анализаторе «Биотроник 7000» N-концевые аминокислоты идентифицировали по реакции с дансилхлоридом с последующей хроматографией на полиамидных пластинах в нескольких системах растворителей [15].

Биологическую активность ПРЛ определяли по увеличению зоны пролиферации зоба голубей, используя в качестве стандарта гипофизарный овечий ПРЛ с активностью 22 МЕ/мг в этом тесте [9]. Свойство выделенного гормона связываться с пролактиновыми рецепторами исследовали в радиорецепторном тесте [6] с использованием мембранной фракции печени беременных крыс в качестве источника рецепторов и меченного ¹²⁵I гипофизарного ПРЛ человека.

Иммунологические свойства аПРЛ исследовали в радиоиммунологической системе для определения гипофизарного ПРЛ человека.

Гипофизарный ПРЛ человека для сравнительных исследований выделяли методом [13], изоформы свиного ПРЛ (23К и 25К) — методом [2].

Результаты и обсуждение. Содержание ПРЛ в амниотической жидкости изменяется в процессе развития беременности, достигая максимальных величин к ее середине, а затем существенно снижается к моменту родов [1, 3]. В связи с этим выделение ПРЛ проводили из амниотической жидкости, собранной в середине беременности.

В табл. 1 представлены данные о выходе белка и иммунореактивного ПРЛ на каждом из этапов

Таблица 1
Выход белка и иммунореактивного ПРЛ на этапах выделения из амниотической жидкости (5,5 л)

Этап очистки	Содержание белка, мг	Иммунореактивный ПРЛ	
		ЕД	ЕД/мг белка
Амниотическая жидкость	36 200	268	0,007
Концентрат амниотической жидкости	20 800	248	0,012
Гель-фильтрация через сефадекс G-100	1 662	89,5	0,054
Повторная гель-фильтрация через сефадекс G-100	378	77,1	0,204
Хроматография на ДЭАЭ-сефарозе	76	58,4	0,770
Хроматография на КМ-целлюлозе	3,8	17,36	4,570
Гель-фильтрация через сверхтонкий сефадекс G-100	1,4	16,0	11,400

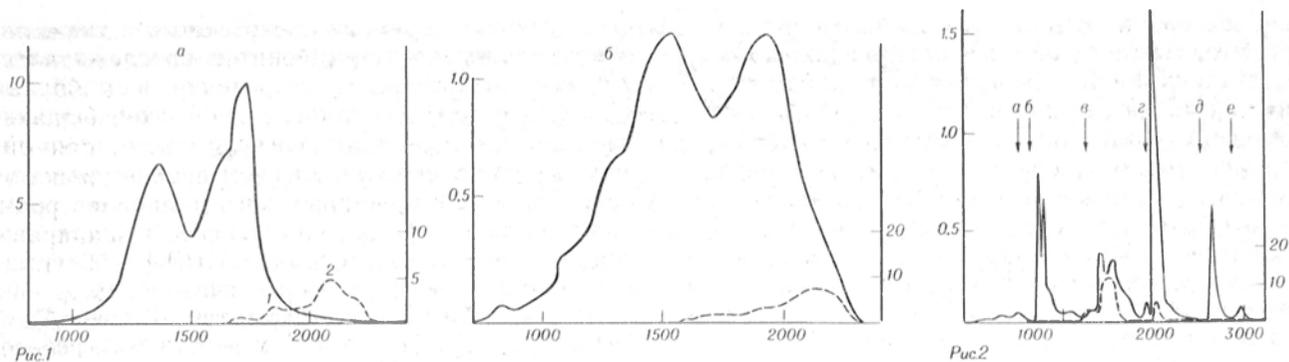


Рис. 1. Гель-фильтрация концентрата амниотической жидкости (а) и повторная гель-фильтрация материала пика 2 (б) через сефадекс G-100.

По осям абсциссе — объем элюата, мл; по осям ординат: слева — оптическая плотность при длине волны 280 нм, справа — концентрация иммунореактивного ПРЛ, мкг/моль. Здесь и на рисунке 2: сплошная линия — содержание белка, пунктирная — содержание иммунореактивного ПРЛ во фракциях.

Рис. 2. Хроматография ПРЛ-содержащего материала на ДЭАЭ-сефарозе.

а — 0,01 М трис pH 8,6; б — как на а+0,05 М NaCl; в — как на а+0,1 М NaCl; г — как на а+0,2 М NaCl; д — как на а+0,5 М NaCl; е — как на а+1 М NaCl.

очистки гормона из амниотической жидкости. При начальном концентрировании материала с помощью фильтра, отделяющего белки с мол. м. до 10 кДа, общее количество белка снизилось примерно на 40 %, а убыль иммунореактивного ПРЛ не превышала 7,5 %.

При гель-фильтрации концентрата амниотической жидкости через сефадекс G-100 (рис. 1) получено два пика иммунореактивного ПРЛ. Белок пика 1 с более высокой молекулярной массой имел в своем составе не более 1/10 000 иммунореактивного ПРЛ. В белке главного пика 2 доля ПРЛ была во много раз больше. Для дальнейшей очистки ПРЛ использовали материал пика 2. В результате повторной гель-фильтрации этого материала через сефадекс G-100 (см. рис. 1) была достигнута 30-кратная очистка ПРЛ (см. табл. 1).

При ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефарозе фракции, содержащие ПРЛ, элюировались также двумя пиками — в 0,1 и 0,2 М NaCl. Дальнейшую работу проводили с фракцией, полученной при элюции 0,1 М NaCl. Эта фракция содержала наибольшее количество ПРЛ и наименьшее —

примесей других белков (рис. 2). Удельная активность этой фракции увеличилась в 110 раз по сравнению с исходным материалом.

В гипофизе и циркулирующей крови человека найдена гликозилированная форма ПРЛ с мол. м. 25 кДа [10, 12]. Как видно на рис. 3, в концентрате амниотической жидкости методами электрофореза в ПААГ и радиоиммуноблотинга выявляется наряду с доминирующей формой ПРЛ с мол. м. 23 кДа, еще одна иммунореактивная форма — с мол. м. 25 кДа, соответствующая гликозилированному гипофизарному ПРЛ. В связи с этим нами была сделана попытка адсорбировать эту форму гормона на лектине, проявляющем высокое сродство к гликопротеинам. Результаты, полученные при аффинной хроматографии на конканавалин А-сефарозе, свидетельствуют о том, что небольшая доля ПРЛ в амниотической жидкости может действительно быть представлена гликозилированной формой. Однако достичь заметной очистки гликозилированного аПРЛ таким способом не удалось. Удельная активность гормона, элюированного с помощью метил- α -D-маннопира-

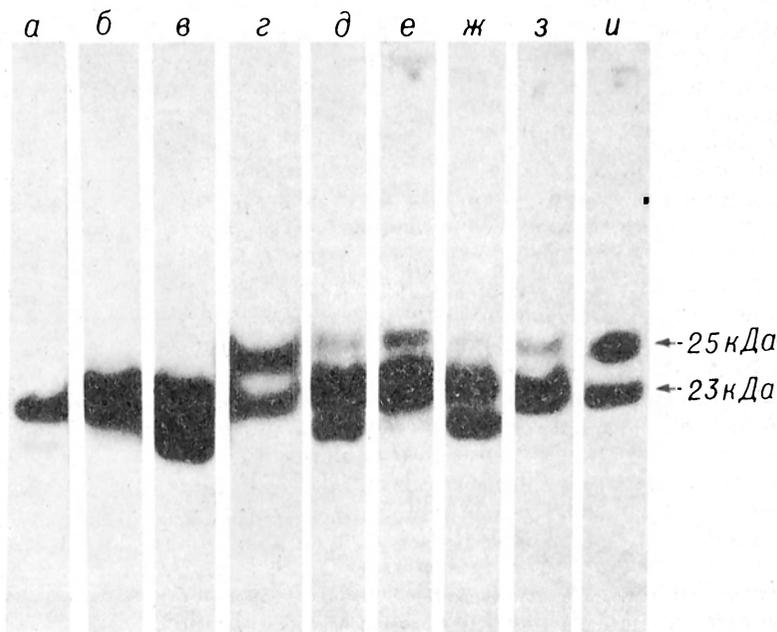


Рис. 3. Радиоиммуноблотинг препаратов аПРЛ на различных стадиях очистки.

а — высокоочищенный гипофизарный ПРЛ человека; б — аПРЛ человека после заключительной гель-фильтрации через сверхтонкий сефадекс G-100, в — после очистки на КМ-целлюлозе, г — после элюирования с конканавалин А-сефарозы метил- α -D-маннопиранозидом; д — материал, не сорбированный на конканавалин А-сефарозе, е — после очистки на ДЭАЭ-сефарозе; ж — материал пика 2 после первой гель-фильтрации концентрата амниотической жидкости; з — концентрат амниотической жидкости; и — свиной гликозилированный (25К) и негликозилированный (23К) ПРЛ.

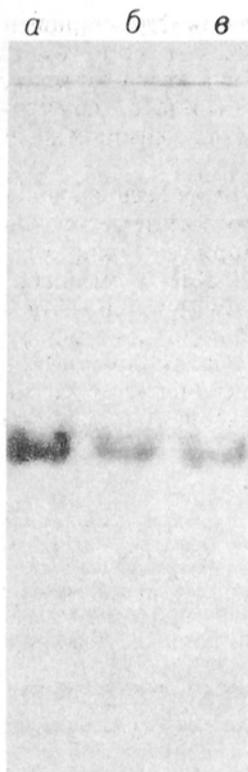


Рис. 4. Электрофорез аПРЛ в ПААГ с ДСН после восстановления 2-меркаптоэтанолом.

а — после хроматографии на КМ-целлюлозе; б — после заключительной гелефильтрации на сефадексе G-100; в — высокоочищенный гипофизарный ПРЛ человека.

Аминокислотный состав аПРЛ и гипофизарного ПРЛ человека (гидролиз 24 ч)

Аминокислота	аПРЛ	Гипофизарный ПРЛ	Гипофизарный ПРЛ, согласно структуре кДНК [5]
АСП	19,0	18,7	18
ТРЕ	8,0	7,5	8
СЕР	21,4	18,9	17
ГЛЮ	29,0	26,2	27
ПРО	9,0	10,2	8
ГЛИ*	26,2	9,1	7
АЛА	13,6	11,1	11
ЦИС	1,1	1,6	6
ВАЛ	10,8	7,7	10
МЕТ	3,3	6,0	5
ИЛЕЙ	8,4	7,4	13
ЛЕЙ	22,1	24,7	24
ТИР	4,5	4,5	7
ФЕН	6,9	7,5	5
ГИС	6,2	15,2	9
ЛИЗ	10,3	9,9	10
АРГ	13,9	16,8	12
ТРП	—	—	2

Примечание. Звездочка — завышение за счет присутствия свободного глицина в реактивах.

нозида, была очень низка (0,01 Ед/мг белка), как и общее его содержание в собранной фракции. Причиной этого явления может быть высокое содержание в амниотической жидкости других гликозилированных белков. Исследование методом радиоиммуноблотинга материала, сорбированного на конканавалин А-сефарозе и затем элюированного с нее, показало существенное обогащение препарата 25К-формой гормона. Напротив, в материале, не сорбированном на лектине, иммунореактивный ПРЛ с мол. м. 25 кДа присутствовал в малом количестве (см. рис. 3).

Следующей стадией очистки ПРЛ была ионообменная хроматография на КМ-целлюлозе, в результате которой иммунореактивный гормон элюи-

ровался с колонки одним пиком в 0,1 М NH_4HCO_3 рН 8,3. При этом произошла очистка гормона еще в 6,5 раз по сравнению с предыдущим этапом. Был получен препарат, в котором при электрофорезе в ПААГ и окраске ультрачувствительным методом с помощью серебра обнаруживалась одна полоса белка (рис. 4).

Заключительная очистка аПРЛ была проведена с помощью геле-фильтрации через сверхтонкий сефадекс G-100. В результате было получено 1,4 мг белка, очищенного в 1600 раз (судя по удельной иммунореактивности) по сравнению с исходным материалом.

Результаты исследования препарата ПРЛ, выделенного из амниотической жидкости, с помощью электрофореза в ПААГ свидетельствуют о его гомогенности. Электрофоретическая подвижность исследуемого белка совпадала с подвижностью

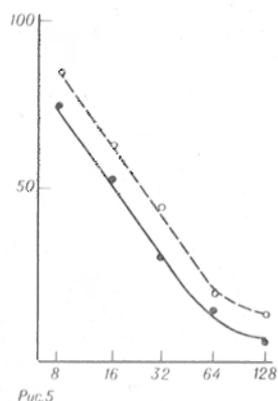


Рис.5

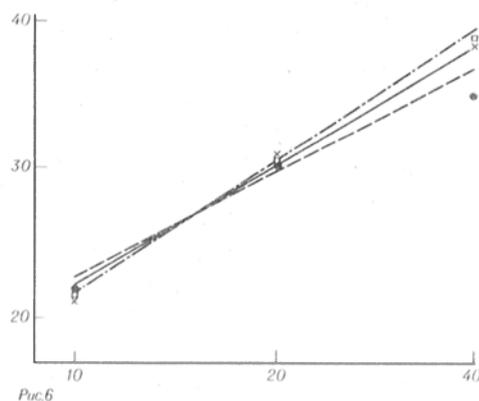


Рис.6

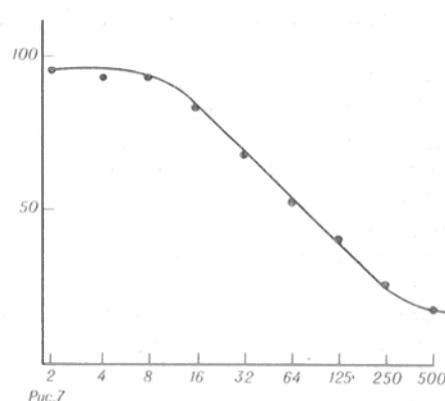


Рис.7

Рис. 5. Кривые вытеснения гипофизарным (сплошная линия) и амниотическим (пунктирная линия) ПРЛ человека гипофизарного ПРЛ- ^{125}I из комплекса с антителами к гипофизарному гормону.

По оси абсцисс — концентрация гормона, нг/мл; по оси ординат — $V/V_0 \times 100$.

Рис. 6. Дозозависимые линии регрессии 2-го международного стандарта овечьего ПРЛ (пунктирная линия с точками), гипофизарного (сплошная линия) и амниотического (пунктирная линия) ПРЛ человека, в тесте пролиферации зоба голубей.

По оси абсцисс — \lg дозы препарата, мкг; по оси ординат — диаметр зоны пролиферации, мм.

Рис. 7. Кривая вытеснения гипофизарного ПРЛ- ^{125}I немеченым амниотическим гормоном в радиорецепторном тесте.

По оси абсцисс — концентрация ПРЛ, нг/мл; по оси ординат — $V/V_0 \times 100$.

выделенного из гипофизов человека ПРЛ с мол. м. 23 кДа (см. рис. 4).

С помощью реакции с дансилхлоридом в качестве N-концевой аминокислоты в аПРЛ был идентифицирован лейцин (как и в гипофизарном ПРЛ человека). Аминокислотный состав аПРЛ в сравнении с гипофизарным гормоном приведен в табл. 2. Можно видеть, что состав препаратов ПРЛ человека из двух различных источников существенно не различается.

Таким образом, из амниотической жидкости человека получен высокоочищенный препарат ПРЛ с мол. м. 23 кДа, представляющий собой преобладающую форму гормона в этой биологической жидкости.

При исследовании иммунологических свойств аПРЛ в радиоиммунологической системе, включающей в качестве стандарта и меченого компонента гипофизарный ПРЛ человека и поликлональные антитела к этому гормону, было показано, что характер взаимодействия с антителами ПРЛ из амниотической жидкости и гипофиза не различается. Об этом свидетельствует одинаковый наклон кривых вытеснения меченого гипофизарного гормона из комплекса с антителами (рис. 5). На рис. 5 видно, что иммунологическая активность аПРЛ, не отличаясь качественно от активности препарата гипофизарного гормона, в количественном отношении была несколько ниже. Однако следует отметить, что высокоочищенные препараты ПРЛ, выделяемые из гипофизов, обычно характеризуются значительными колебаниями удельной иммунологической активности в зависимости от процедуры выделения и условий хранения. Нельзя исключить, что наибольшая иммунологическая активность принадлежит какой-то нестабильной форме ПРЛ, легко подверженной под влиянием физических или химических воздействий конформационным или более глубоким структурным изменениям, сопровождающимся снижением или потерей иммунореактивности. Интересно, что при исследовании методом иммуноблотинга препаратов аПРЛ на отдельных этапах выделения, а также в разные сроки хранения в них закономерно появляется и исчезает форма с мол. м. менее 23 кДа. Эта форма присутствует и в высокоочищенном гипофизарном ПРЛ (см. рис. 3).

Биологическое тестирование аПРЛ, показало, что он по своему влиянию на пролиферацию зоба голубей практически не отличается от гипофизарного гормона человека и использованного в качестве стандарта овечьего ПРЛ с биологической активностью 22 МЕ/мг (рис. 6). В радиорецепторном тесте аПРЛ активно конкурировал с меченым гипофизарным гормоном человека за связывание с рецепторами мембран печени беременных крыс ($ED_{50}=64$ нг) (рис. 7).

Представленные данные свидетельствуют о том, что выделенный из амниотической жидкости ПРЛ по физико-химическим, иммунологическим и биологическим свойствам не отличается от преобладающей в гипофизе формы ПРЛ с мол. м. 23 кДа. Гормоны из обоих источников являются, вероятно, продуктами экспрессии одного и того же гена. Заметим, что в случае другого гипофизарного гормона человека — соматотропина, структурно родственного ПРЛ, мы сталкиваемся с иной си-

туацией. Недавно показано, что при беременности в плаценте в отличие от гипофиза происходит экспрессия иного, вариантного гена этого гормона, приводя к образованию «плацентарного» соматотропина с несколько иными физико-химическими характеристиками [7].

Данные, полученные нами в процессе выделения аПРЛ, указывают на то, что в амниотической жидкости, как и в гипофизе, наряду с охарактеризованной выше доминирующей 23К-формой гормона присутствует его гликозилированный вариант (25К), а также могут наблюдаться высокомолекулярные формы, свойства и физиологическое значение которых остаются пока нераскрытыми.

Работа выполнена при финансовой поддержке ВОЗ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Булатов А. А., Макаровская Е. Е., Сеганова М. И. // Пробл. эндокринологии.— 1991.— № 3.— С. 32—34.
2. Бутнев В. Ю., Панков Ю. А. // Биохимия.— 1984.— Т. 49.— С. 1828.
3. Andersen J. R. // Dan. med. Bull.— 1982.— Vol. 29.— P. 266.
4. Clements J. A., Reyes F. I., Winter J. S. et al. // J. clin. Endocr. Metab.— 1977.— Vol. 42.— P. 408.
5. Cooke N. E., Coit D., Shine Y. et al. // J. biol. Chem.— 1981.— Vol. 256.— P. 4007.
6. Costlow M. E. // Lab. Sci.— 1975.— Vol. 17.— P. 1457.
7. Frankenne F., Rentier-De true F. // J. clin. Endocr. Metab.— 1987.— Vol. 64.— P. 635.
8. Gollander A., Richards R., Thraillkill K. et al. // Endocrinology.— 1988.— Vol. 123.— P. 335.
9. Grosvenor C. C., Turner C. W. // Ibid.— 1958.— Vol. 63.— P. 535.
10. Lewis U. J., Singh R. N. P., Sinha Y. N. et al. // Ibid.— 1985.— Vol. 116.— P. 359.
11. Laemmli U. K. // Nature.— 1970.— Vol. 227.— P. 680.
12. Markoff E., Lee D. W. et al. // J. clin. Endocr. Metab.— 1988.— Vol. 67.— P. 519.
13. Reay P., Bluck N. et al. // J. Endocr.— 1985.— Vol. 104, Suppl.— P. 71.
14. Towbin H., Staehelin T., Gordon G. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— Vol. 76.— P. 4350.
15. Woods K. R., Wang K. T. // Biochim. biophys. Acta.— 1967.— Vol. 133.— P. 366.

Поступила 24.09.90

PHYSICO-CHEMICAL, IMMUNOCHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF PROLACTIN FROM HUMAN AMNIONIC FLUID

A. A. Bulatov, E. E. Makarovskaya, M. I. Seganova, V. P. Kuznetsov

Institute of Experimental Endocrinology, All-Union Endocrinological Research Centre, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Highly purified preparation of prolactin with molecular mass 23 kDa, which is the main form of the hormone in human amniotic fluid, was isolated from the fluid using gel filtration on Sephadex G-100, chromatography on DEAE-Sepharose, concanavaline A Sepharose, CM-cellulose. Physico-chemical, immunochemical and biological properties of the amniotic prolactin were studied as compared with those of hypophyseal hormone. Properties of the hormonal forms isolated from both these tissues were similar. The glycosylated form of prolactin with molecular mass 25.0 kDa was detected either in amniotic fluid or in hypophysis.