

С. Е. БРЕСЛЕР, А. П. КОНИКОВ и Н. А. СЕЛЕЗНЕВА

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ, РЕСИНТЕЗИРОВАННЫХ ПОД ДАВЛЕНИЕМ

(Представлено академиком А. Ф. Иоффе 21 I 1949)

В ряде предшествующих работ. (1) было показано, что под давлением 5000—10 000 атм. происходит ферментативный ресинтез высокомолекулярных тел белковой природы из осколков ферментативного расщепления белков.

Иммунологическое изучение продуктов ферментативного ресинтеза белка под высоким давлением имеет двойное значение. Во-первых, оно должно показать, обладает ли продукт ресинтеза антигенностью, важным биологическим свойством, характерным для всех глобулярных белков, и если обладает, то какова его антигенная специфичность: та же, какой отличался исходный белок, или новая; во-вторых, это изучение может выяснить самую природу антигенной специфичности простых белков, т. е. решить до сих пор не разрешенный иммунохимией вопрос, обусловлена ли антигенная специфичность простых белков всей структурой макромолекулы белка или она зависит от наличия каких-либо одинаковых, сравнительно небольших по размерам структурных элементов, повторяющихся на протяжении полипептидной цепочки макромолекулы.

Результаты нашего исследования дали вполне определенные ответы на поставленные выше вопросы.

Мы имели четыре препарата белка и продуктов его превращения: 1) раствор кристаллического серумальбумина (лошади); 2) его триптический гидролизат с глубиной расщепления 13,5% (по росту аминоказота), что соответствует средней степени полимеризации осколков — 8 аминокислотных остатков; 3) раствор исходного белка, подвергнутый давлению в 6000 атм. в отсутствие фермента, и 4) раствор продукта ферментативного ресинтеза белка под давлением в 6000 атм. (ресинтез прошел на 98,5%, о чем мы судим по восстановлению первоначального аминоказота).

Все растворы 1% по белку в 0,2 М боратном буфере, pH = 9,15; концентрация фермента 0,031%.

Каждым из них иммунизировалось по 2 кролика; 4-кратно с 6-дневными промежутками вводилось по 1 мл 1% раствора; на 8-й день после последнего введения взята кровь.

С полученными сыворотками и четырьмя антигенами были поставлены перекрестные реакции кольцепреципитации. Через 3 часа пробирки перемешивались, ставились в рефрижератор и на следующий день наблюдался осадок на дне.

Реакция преципитации разных препаратов серумальбумина иммунными сыворотками

Антигены	Разведения	К исходному		К подвергнутому давлению		К гидролизату		К ресинтезированному	
		262	587	252	582	266	232	585	701
Серумальбумин исходный	10 ⁻²	++	++	+++	+	-	-	++	-
	10 ⁻³	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+
	10 ⁻⁴	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+
	10 ⁻⁵	+	+	+	+	-	-	+	-
Подвергнутый давлению	10 ⁻²	+	+	-	-	-	-	++	-
	10 ⁻³	+	+	++	++	-	-	+++	+
	10 ⁻⁴	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++
	10 ⁻⁵	+++	+	+	+	-	-	++	-
Гидролизат	10 ⁻²	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	-	-
Ресинтезированный	10 ⁻²	-	-	-	-	-	-	++	-
	10 ⁻³	+	+++	+++	+++	-	-	+++	+
	10 ⁻⁴	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++
	10 ⁻⁵	+	++	++	++	-	-	++	-

Обозначения: — нет преципитации, + слабое, но ясное кольцо преципитата, ++ более плотное кольцо преципитата, +++ весьма плотное кольцо преципитата.

Мы видим, что все иммунные сыворотки, кроме тех, которые были получены иммунизацией гидролизатом белка, давали резкую преципитацию со всеми препаратами, кроме гидролизата. Таким образом, гидролизат не обладал способностью ни иммунизировать, ни осаждаться с помощью иммунных сывороток, преципитировавших другие препараты белка. Между исходным белком и ресинтезированным никакой разницы не обнаружено ни в отношении способности иммунизировать, ни в способности преципитироваться, причем каждый из этих препаратов одинаково реагировал как с гомологичной, так и с гетерологичной антисыворотками.

Следовательно, оба они обладали одинаковой антигенной специфичностью. Проведенные опыты не исключают возможности, что в ресинтезированном белке, помимо специфичности исходного белка, имеется и дополнительная специфичность, возникшая в процессе синтеза. Для того чтобы решить этот вопрос, мы удаляли из иммунных сывороток антитела либо к гомологичному, либо к гетерологичному антигену, для чего добавляли к ним небольшой избыток соответствующего антигена. Все четыре сыворотки, истощенные таким образом, оказались пустыми в отношении обоих антигенов. Это свидетельствует о том, что никакой новой специфичности в процессе синтеза белка не возникло.

В качестве окончательного контроля остается решить вопрос о том, была ли при ресинтезе восстановлена не только антигенность, т. е. способность иммунизировать и давать видимый преципитат с антителом, но и антигенная специфичность, т. е. та химическая структура, которая обуславливает присоединение антигена к антителу.

Чтобы ответить на этот вопрос, надо посмотреть, сохранилась ли в продуктах гидролиза способность присоединять к себе антитела. Мы видели, что гидролизат не был способен ни иммунизировать, ни осаждаться иммунными сыворотками. Но это обстоятельство не исключает

способности продуктов гидролиза давать с антителами непреципитируемые, невидимые непосредственно соединения. О наличии этой способности можно судить по так называемой реакции «задержки», предложенной Ландштейнером.

Мы добавляли гидролизат в количестве 0,2—0,5 мл к 0,5 мл каждой из четырех иммунных сывороток, преципитирующих как исходный, так и ресинтезированный белок. С обработанными таким образом сыворотками ставилась реакция преципитации, пользуясь в качестве антигенов исходным и ресинтезированным серумальбумином. Во всех случаях мы получили нормальную преципитацию, т. е. продукты гидролиза никакой задержки преципитации не производили. Следовательно, они не соединялись с антителами и не обладали антигенной специфичностью. Таким образом, при ресинтезе дело не сводилось только к восстановлению коллоидности препарата, но, что самое главное, ресинтезовались именно те пептидные связи, с которыми связана антигенная специфичность и которые в продуктах гидролиза отсутствовали. Ресинтезированный серумальбумин по своим физико-химическим свойствам отличался от исходного белка и, прежде всего, был неоднороден, что было обнаружено и исследовано электрофоретическим методом.

Тем не менее, он обладал первоначальной и только первоначальной антигенной структурой. Это указывает на то, что антигенная специфичность определяется, по видимому, не всей структурой макромолекулы белка в целом, а известными группами, участками этой макромолекулы. При ферментативном гидролизе эти участки разрушаются, а при ресинтезе восстанавливаются, хотя макромолекула в целом может получать другое строение.

Выводы

1. При ферментативном гидролизе серумальбумина разрушается не только антигенность, но и антигенная специфичность белка.

2. При ферментативном ресинтезе белка под давлением восстанавливается присущая исходному белку (серумальбумину) антигенность и специфичность. Новой специфичности не возникает.

3. Антигенная специфичность простого белка обусловлена не всей макромолекулой в целом, а некоторыми структурными элементами ее.

Ленинградский физико-технический институт
Академии наук СССР и
Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступило
11 I 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

С. Е. Бреслер, ДАН, 55, 145 (1947). ² С. Е. Бреслер и М. В. Гликина, Биохимия, 12, 389 (1947). ³ С. Е. Бреслер, Изв. АН СССР, сер. физ., 12, 695 (148)