

Пептиди серця свиней та поросят і їх взаємодія з альбуміном

Л.А. РОГОЗА, Т.С. ДЮБКО, С.Є. ГАЛЬЧЕНКО, Б.П. САНДОМИРСЬКИЙ
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Heart Peptides of Pigs and Piglets and Their Interaction with Albumin

L.A. ROGOZA, T.S. DYUBKO, S.YE. GALCHENKO, B.P. SANDOMIRSKY
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Відомо, що тканинноспецифічні пептиди можуть проявляти високу біологічну активність, зокрема стимулювати процеси фізіологічної та репаративної регенерації. Тому дослідження складу пептидних комплексів, одержаних з органів тварин, важливе для визначення механізму їх дії та стандартизації препаратів на їх основі. Очевидно, що набір пептидів може залежати від фізіологічного стану організму, зокрема від віку тварин.

Пептидні комплекси серця свиней (ПКСЦС) та новонароджених поросят (ПКСЦП) отримували з кріоконсервованих із швидкістю охолодження 1 град/хв в присутності 10% ПЕО-1500 фрагментів сердець шляхом їх інкубації у фізіологічному розчині 60 хв та видалення термолабільних білків. Молекулярно-масовий розподіл низькомолекулярних фракцій пептидної природи досліджували методом вискоєфективної гелпроникаючої хроматографії. Взаємодію екстрактів з альбуміном визначали спектрофлуориметричним методом на спектрофлуориметрі «Varian Cary Eclipse». Для визначення м.м. пептидів також використали прилад «MALDI MS Autoflex II».

З хроматограм ПКСЦС та ПКСЦП видно, що молекулярно-масовий розподіл пептидів в екстрактах залежить від віку тварин. Характерними особливостями молекулярно-масового розподілу пептидів в них є різна кількість піків: 3 – в ПКСЦС і 6 – в ПКСЦП. При цьому загальним для обох пептидних комплексів є тільки один пік, який відповідає середній м. м. 1784.

В результаті мас-спектрометричного дослідження методом MALDI виявлено ряд спільних для обох екстрактів пептидів з м. м. 3218 ± 5 ; 5734 ± 5 ; 8454 ± 5 і 8568 ± 5 . Інші виявлені пептиди специфічні для кожного з пептидних комплексів. Отже, склад досліджених пептидних комплексів пов'язаний із віковими особливостями розвитку серцевого м'яза і вони можуть проявляти різну біологічну активність.

Також були одержані спектри флуоресценції та синхронні спектри ПКСЦС і ПКСЦП. Встановлено, що пептиди, які входять до складу комплексів, зв'язуються з альбуміном сироватки крові. Дослідження, проведені з використанням альбумінспецифічного зонда K-35, показали, що квантовий вихід флуоресценції цього зонда в екстрактах у декілька разів нижче, ніж в розчині альбуміну або в сироватці крові і фактично такий же, як в буферному розчині.

Титрування пептидних комплексів зондом K-35 виявляє відмінності в їх зв'язуючих властивостях. Встановлений ефект проявляється також при титруванні комплексами сироватки крові або розчину альбуміну, до яких був задалегідь доданий флуоресцентний зонд.

It is known that tissue specific peptides can manifest a high biological activity, in particular stimulate the processes of physiological and reparative regeneration. Therefore the studies of composition of peptide complexes derived from the animal organs are important for revealing the mechanisms of their effect and standardizing of the preparations based on them. The peptide composition is evidently dependent on physiological state of an organism, in particular on animal's age.

Pig heart peptide complexes (PHPC) and those of newborn piglets (NPHPC) were obtained from cryopreserved with the cooling rate of 1 deg/min in presence of 10% PEO-1500 heart fragments. To do this the fragments were incubated in physiological solution for 60 min and then thermolabile proteins were removed. Molecular mass distribution of low molecular fractions of peptide origin was studied by the method of highly effective gel-penetrating chromatography. The interaction of extracts with albumin was found by spectrofluorimetric method with Varian Cary Eclipse spectrofluorimeter. To find the peptide molecular mass we also used MALDI MS Autoflex II device.

The chromatograms of PHPC and NPHPC show that molecular mass distribution of peptides in extracts depends on animal's age. The characteristic features of molecular mass distribution of peptides in them are the different numbers of peaks: 3 in PHPC and 6 in NPHPC. Herewith a common one for both peptide complexes is just only one peak, referred to average molecular mass 1784.

As a result of mass spectrometric study by means of MALDI there were revealed some common peptides in both extracts with molecular mass of 3.218 ± 5 ; 5.734 ± 5 ; 8.454 ± 5 and 8.568 ± 5 . Other revealed peptides were specific for each for peptide complexes. Thus, composition of the studied peptide complexes is specific to age peculiarities of the development of heart muscle and they may manifest different biological activity.

As well there were obtained the fluorescent and synchronous spectra for PHPC and NPHPC. It has been found that peptides being the part of the complexes bind with albumin of blood serum. Investigations performed with the albumin specific probe K-35 have shown that quantum yield of this probe fluorescence in the extracts was several times lower if compared with those in the solution of albumin or blood serum and actually was the same as in buffer solution.

Titration of peptide complexes with K-35 probe reveals the differences in their binding properties. The established fact is also manifested during titration with the complexes of blood serum or albumin solution to which the fluorescent probe was pre-added.