

полиферментными системами поджелудочной железы коров. Одним из характерных признаков превращения глюкозо-1-фосфата является интенсивное вовлечение в глюкомутазно-изомеразную и транскетолазную реакции.

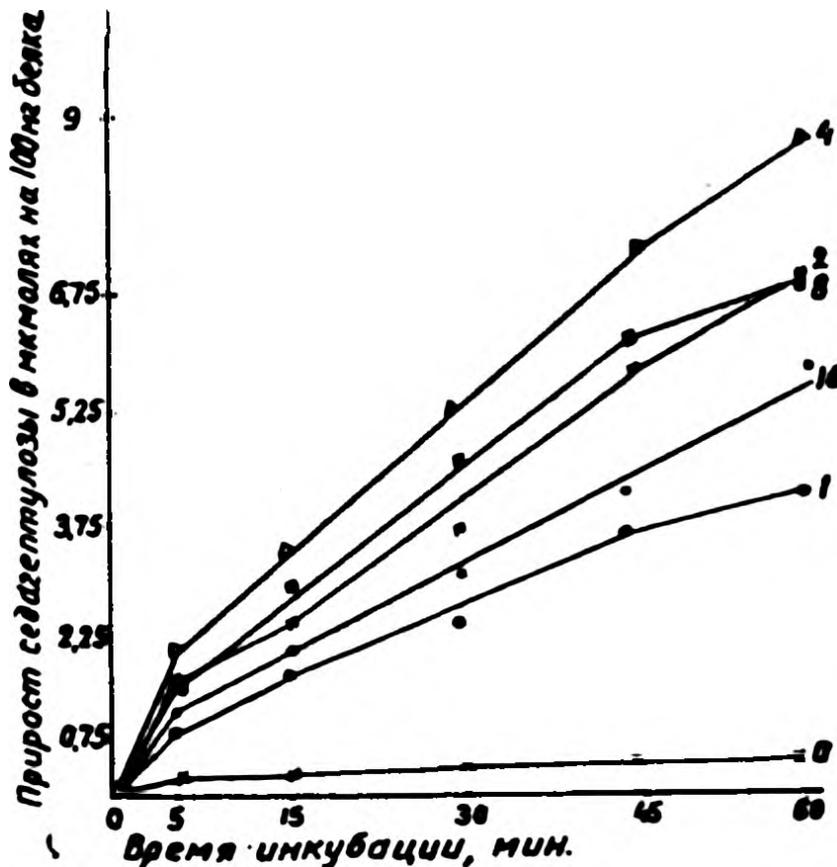


Рис. 2. Превращение Г-1-Ф в седогептулоза-7-фосфат (обозначения концентрации Г-1-Ф такие же, как и на рис. 1).

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПЛОДОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ХОЛОД В. М.

Изучение белкового состава сыворотки крови плодов интересно как с точки зрения проницаемости плаценты для отдельных белковых фракций, так и для выяснения возможности синтеза белков в этот период. Электрофоретическое и иммунохимическое изучение сывороточных белков плодов человека и различ-

ных животных показало, что по своему белковому составу сыворотки крови эмбрионов значительно отличаются от сыворотки взрослых животных.

В данной работе приводятся результаты исследования сыворотки крови плодов крупного рогатого скота методом диск-электрофореза в акриламидном геле.

Было исследовано 67 плодов в возрасте 3—9 месяцев. Сыворотку крови получали из пупочной вены плода непосредственно после извлечения его из матки (при убое животных на мясокомбинате). Изучали белковый спектр сыворотки крови методом дифференциального диск-электрофореза по G. L. Wright, W. L. Mallman, используя гели разной плотности (4,75% и 10% по акриlamиду). Техника дифференциального диск-электрофореза в отличие от стандартной техники дает возможность белкам сыворотки мигрировать вначале в большие поры геля (4,75% гель по акриlamиду), где происходит отделение более крупных молекул от более мелких.

Последние разделяются затем в более плотном геле (10%-ный гель по акриlamиду).

Главной отличительной особенностью эмбриональной сыворотки крови является наличие в ней массивного белка, занимающего почти всю зону между альбумином и трансферринами. Этот белок — фетуин (α_{11} -глобулин) — впервые описан К. О. Pedersen и встречается в сыворотке крови плодов всех исследованных возрастов в 100% случаев (рис. 1 и 2).

Аналогичный белок обнаруживается в сыворотке крови плодов других сельскохозяйственных животных и человека. Однако и до настоящего времени структура бычьего фетуина, а также фетальных глобулинов других животных мало изучена. Методом диск-электрофореза в акриламидном геле удается показать, что в электрофоретическом отношении этот белок не является гомогенным. При покраске амидошварцем или ализарином довольно часто можно отчетливо различить, что он состоит из 3 отдельных фракций (рис. 1). Таким образом то, что принято называть фетуином, в действительности, очевидно, представляет 3 индивидуальных белка с близкой, но все же отличающейся электрофоретической подвижностью.

В зоне α -глобулинов между альбумином и фетуином располагается в виде очень слабой полосы еще один белок с электрофоретической подвижностью, близкой к α_1 -глобулину сыворотки взрослых животных, который мы обозначили как α_{f_2} -глобулин. Он обнаруживается в основном на ранних стадиях эмбриогенеза и с возрастом частота его появления резко уменьшается (см. табл.).

Таблица

Встречаемость α_{f_2} -глобулина в сыворотке крови плодов

Возраст, мес.	Количество плодов	Число плодов с α_{f_2} -глобулином
3	8	4
4	17	8
5	14	4
6	14	2
7	7	0
8—9	7	1

Трансферрины эмбриональной сыворотки представлены 2—4 линиями, в отличие от 3—5 фракций, которые встречаются в сыворотке взрослых животных. Обнаруживаются в сыворотках крови плодов всех возрастов в виде четких, хорошо дифференцированных линий в средней части гелевой колонки (рис. 1 и 2).



Рис. 1. Электрофореграмма сыворотки крови 4-месячного плода (стрелкой показано положение α_{f_2} -глобулина).

1—альбумин; 2—фетуин (видно деление фетуина на три подфракции); 3 — трансферрины; 4 — β_2 -глобулины.

Далее, по степени убывания электрофоретической подвижности, в сыворотке взрослых животных располагаются гаптоглобины. Наличие их в эмбриональной сыворотке является спорным. П. Грабар, П. Буртэн при-

водят данные, согласно которым гаптоглобины отсутствуют в сыворотке плацентарной крови, но считают, что этот эффект может быть связан с очень низким содержанием их в крови. Высокая чувствительность метода диск-электрофореза (0,01 ν белка) позволяет выявить наличие гаптоглобинов в эмбриональной сыворотке плодов всех возрастов. Но обнаруживаются гаптоглобины не во всех исследованных образцах сыво-

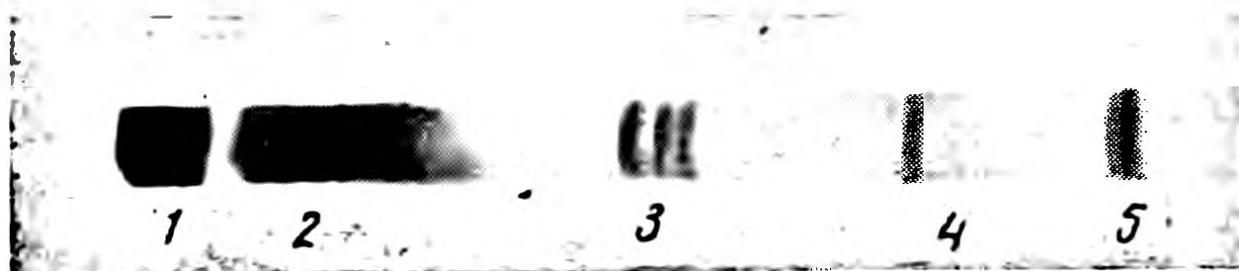


Рис. 2. Электрофореграмма сыворотки крови 9-месячного плода:

1 — альбумин; 2 — фетун (α_f -глобулин); 3 — трансферрины; 4 — следы α_2 -макроглобулина; 5 — β_2 -глобулины.

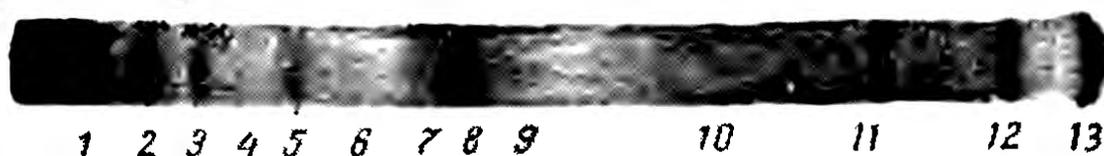


Рис. 3. Электрофореграмма сыворотки крови взрослого животного:

1—альбумин; 2—6— α -глобулины; 7—8—9—трансферрины; 10—«зона тумана»; 11— β_2 -глобулины; 12— β_2 -липопротеид; 13— γ_s γ -глобулин.

роток. То, что мы имеем дело именно с гаптоглобинами, подтверждает окраска их бензидиновым реактивом. При этом вследствие образования комплекса гаптоглобин-гемоглобин они окрашиваются в характерный синий цвет. Таким образом, гаптоглобины не только присутствуют в эмбриональной сыворотке, но и выполняют присущие им функции — связывают гемоглобин.

В отличие от сыворотки крови взрослых животных, у которых в катодной части гелевой колонки наблюдается так называемая «зона тумана», обусловленная присутствием γ -глобулина (рис. 3), в сыворотках

плодов она отсутствует. Однако α_2 -макроглобулин, очевидно, в небольшом количестве все же присутствует в сыворотках плодов, так как диффузная фракция, которая располагается в сыворотках крови взрослых животных в «зоне тумана», обнаруживается менее выражено и во многих случаях при исследовании эмбриональных сывороток. Часто рядом с ней располагается еще одна или 2 более слабых фракций, которые в сыворотках взрослых животных обычно не обнаруживаются вследствие наличия диффузно окрашенной зоны.

В отношении присутствия β_2 -глобулинов также существуют противоречивые данные. W. H. Hitzig и I. I. Scheidigger не обнаружили их в сыворотке крови новорожденных детей, но отметили, что концентрация их резко возрастает в течение первых девяти месяцев жизни. I. Muralt и D. L. Roulet установили наличие β_2 -глобулинов в сыворотке крови плодов человека 11-недельного возраста. Методом диск-электрофореза β_2 -глобулины обнаруживаются в сыворотке плодов всех возрастов, правда, в значительно меньшем количестве (рис. 1 и 2). Вблизи линии старта иногда располагается слабая фракция, по электрофоретической подвижности соответствующая β_2 -липопротеиду в сыворотках взрослых животных. γ_5 ν -глобулин, который в сыворотках крови взрослых животных обнаруживается на линии старта, в сыворотках плодов отсутствует или в небольшом числе случаев можно обнаружить его следы.

Отсутствие или резкое уменьшение в сыворотке крови плодов некоторых белков, в сравнении с сывороткой крови взрослых животных, указывает на то, что плацента крупного рогатого скота непроницаема или мало проницаема по крайней мере для некоторых белков (α_2 -макроглобулин, γ_5 ν -глобулин, гаптоглобины). Учитывая тип плаценты крупного рогатого скота (десмо-хориальная), возможность проникновения белков из кровяного русла матери в кровь плода еще меньшая, чем у человека. В то же время обнаружение эмбриоспецифических белков на ранних стадиях эмбриогенеза указывает на способность печени уже в этом возрасте синтезировать белки. Раннее формирование печени также допускает такую возможность.

Вполне вероятно, что сыворотка плодов, за исклю-

чением эмбриоспецифических белков, по своему белковому составу отличается от сыворотки взрослых животных только в количественном, а не в качественном отношении. Эффект «отсутствия» таких белков, как α_2 -макроглобулин, гаптоглобина, γ -глобулины, при использовании методов электрофореза на бумаге, агаре или даже иммуноэлектрофореза, объясняется не действительным их отсутствием, а очень низкой концентрацией их в сыворотке.

Находясь в небольшом количестве, эти белки не могут в достаточной степени обеспечивать нормальные физиологические потребности организма. Так, присутствие следов γ -глобулина в сыворотке крови плодов и новорожденных телят не может обеспечить надежную защиту от инфекции, поэтому практические выводы, сделанные на основе более ранних работ, сохраняют свое значение.

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ИММУНОЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ХОЛОД В. М.

Метод иммуноэлектрофореза является точным и высокоспецифическим методом исследования. Однако и до настоящего времени он не получил такого широкого распространения, как, например, электрофорез белков на бумаге. Это объясняется, с одной стороны, более сложной техникой выполнения, а с другой, — трудностями, с которыми приходится встречаться при расшифровке электрофореграммы. Довольно часто расшифровка иммуноэлектрофореграмм вообще не проводится, а просто описываются количество и взаиморасположение образовавшихся линий преципитации или они просто нумеруются в порядке увеличения электрофоретической подвижности. В настоящей работе мы приводим описание иммуноэлектрофоретической кар-