



УДК 547.962.04+577.171.087

**ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕПТИДОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ
АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ФРАГМЕНТОВ
ГАСТРИНА***Ирусакон А. Н., Самарцев М. А., Полосатов М. В.**Институт физиологии им. И. П. Павлова Академии наук СССР, Ленинград*

Проведено иммунохимическое исследование гастрина, его фрагментов, «биг»-гастрина и холецистокинина с использованием антисывороток, специфичных к целой молекуле и С-концевому тетрапептиду гастрина. Показано, что пептиды, в которых остается неизменной последовательность 14–17 гастрина, обладают одинаковым сродством к антителам, специфичным к С-концевому фрагменту. При использовании антител к гастрину 1–17 происходит резкое возрастание связывания пептидов при переходе от пентагастрина и холецистокинина к гептадекапептиду гастрина и его С-концевому октапептидному фрагменту. Участки последовательности 1–6 и 10–13 молекулы гастрина проявляют незначительное сродство к антителам. Эти результаты подтверждают существующее представление, что основная антигенная детерминанта гастрина расположена в области С-концевого пептида. Показано, что замены аминокислот в С-концевом тетрапептиде, влекущие за собой потерю физиологической активности, ведут и к изменению иммунохимического поведения. В то же время изменения структуры вне пределов концевой тетрапептида, приводящие к почти полной утрате физиологической активности, не изменяют сродства этих пептидов к антителам.

Со времени открытия и установления структуры гормона желудочно-кишечного тракта гастрин [1] он неоднократно подвергался иммунохимическому изучению. Это связано прежде всего с разработкой метода радиоиммуноанализа и исследованием специфичности антител к гастрину. Кроме того, этот гормон является удобной моделью для изучения взаимосвязи между биологической и иммунологической активностью благодаря тому, что С-концевой тетрапептид гастрина обладает полным спектром физиологического действия природного гептадекапептида.

Вызывает удивление тот факт, что гастрин, несмотря на небольшой молекулярный вес, обладает свойствами антигена. Многие исследователи сообщали, что антитела к гастрину возникают независимо от того, используют ли при иммунизации свободный гормон или гормон, конъюгированный с белками, и что они специфичны в основном к С-концевой части молекулы [2–4]. Так, полученные при иммунизации кроликов гастрином человека антитела специфичны к С-концевому фрагменту и обнаруживают лишь небольшую перекрестную реакцию с пептидами, соответствующими последовательности 11–13 и 1–13 гастрин [4]. Тем самым они аналогичны антителам, полученным при иммунизации кроликов конъюгатом С-концевого пептида — «пентагастрина» с белком-носителем — гамма-глобулином быка и специфичны только к биологически активной части гор-

Сокращения: Sly — *L*-сарколизин, *n*-[бис(2-хлорэтил)амино]фенилаланин.

Гормоны, фрагменты гастрина и их аналоги, использованные в качестве ингибиторов при радиоиммуноисследовании

№	Пептид	Обозначение	Молекулярный вес
(I)	Гастрин 1-17 (Человеческий гастрин I). $\langle \text{Glu-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-Tyr-}$ $\text{Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$	Г(1-17)	2098
(II)	«Биг»-гастрин $\langle \text{Glu-Leu-Gly-Pro-Gln-Gly-His-Pro-Ser-Leu-Val-Ala-}$ $\text{Asp-Pro-Ser-Lys-Lys-Gln-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Glu-}$ $\text{Glu-Glu-Glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$	БГ	3840
(III)	Холецистокинин $\text{H-Lys-Ala-Pro-Ser-Gly-Arg-Val-Ser-Met-Ile-Lys-Asn-}$ $\text{Leu-Gln-Ser-Leu-Asp-Pro-Ser-His-Arg-Ile-Ser-Asp-}$ $\text{Arg-Asp-Tyr(SO}_3\text{H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$	ХЦК	3918
(IV)	Пентагастрин $\text{Boc-}\beta\text{Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$	Г(14-17)	768
(IVa)	$\text{H}_2^+-\beta\text{Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2 \cdot \text{Cl}^-$	II-Г(14-17)	704
(V)	$\text{Boc-}\beta\text{Ala-Glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$	Г(10-17)	1206
(VI)	$\text{H}_2^+-\text{Lys(H}_2^+)-\beta\text{Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2 \cdot 2\text{Cl}^-$	H-Lys-Г(14-17)	868
(VII)	$\text{Z-Trp-Orn(H}_2^+)-\text{Asp-Phe-NH}_2 \cdot \text{Cl}^-$	[Orn ¹⁵]Г(14-17)	750
(VIII)	$\text{Boc-Trp-Met-Asp-(I)Sly-NH}_2$	[Sly ¹⁷]Г(14-17)	837
(IX)	$\text{H}_2^+-\text{Glu-Ala-Tyr-Gly-OH} \cdot \text{Cl}^-$	Г(10-13)	476
(X)	$\langle \text{Glu-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-OH}$	Г(1-6)	712
(XI)	$\text{H}_2^+-\text{Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-OH} \cdot \text{Cl}^-$	Актон	831
(XII)	Гастрин 1-17, меченный ¹²⁵ I	[¹²⁵ I]Г(1-17)	

мона [2]. Известен ряд фактов, указывающих на параллельное изменение иммунологической активности и физиологического действия гастрина: например, дезамидирование гептадекапептида или его С-концевого фрагмента приводит к почти полной потере ими сродства к гастринным антителам и одновременно к утрате физиологической активности (4, 5).

В задачу данной работы входило изучение пептидов, отвечающих N- и С-концевой последовательности гастрина, и некоторых их аналогов (табл. 1) как ингибиторов в системе радиоиммуноанализа с использованием антисывороток двух типов, полученных при иммунизации кроликов коэлюгатами бычьего альбумина с Г(1-17) и яичного альбумина с Г(14-17).

Относительная активность различных пептидов как ингибиторов связывания антителами гастрина, меченного ¹²⁵I, характеризуется величиной C_{50} (концентрация пептида, необходимая для достижения 50% связывания [¹²⁵I] Г(1-17)) и степенью ингибирования (А), равной отношению C_{50} гастрина 1-17 к C_{50} ингибирующего пептида, выраженной в процентах. Чем меньше значение А, тем слабее связывание пептида с антителом по сравнению с Г(1-17).

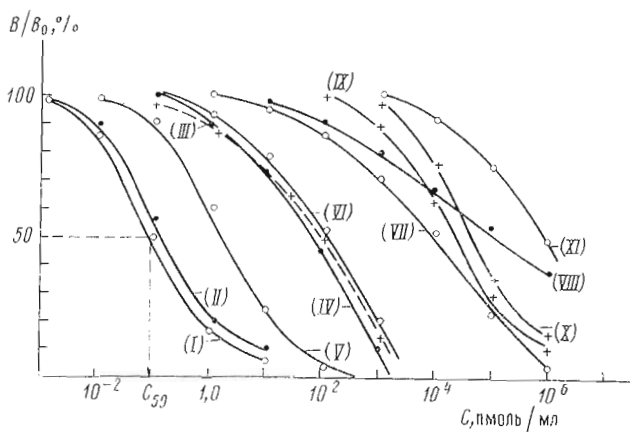


Рис. 1. Взаимодействие гормонов и пептидов последовательности гастрина [соединения (I)–(XI), см. табл. 1] с антисывороткой к гастрину 1–17. B и B_0 – количество меченого гастрина 1–17, связанного антисывороткой в присутствии и в отсутствие ингибирующих пептидов соответственно; C , пмоль/мл, – концентрация пептида

В наших опытах наибольшее сродство к антителам, выработанным к конъюгату гастрина 1–17, проявляли гастрин 1–17 и «биг»-гастрин; холецистокинин и «пентагастрин» обладали одинаковой ингибирующей способностью, гораздо меньшей, чем $\Gamma(1-17)$ и $\Gamma(10-17)$. Самыми слабыми ингибиторами из пептидов последовательности гастрина оказались пептиды $\Gamma(1-6)$ и $\Gamma(10-13)$. Из аналогов С-концевого пептида Н-Lys- $\Gamma(14-17)$ реагировал с антителами аналогично $\Gamma(14-17)$, а [Orn¹⁵] $\Gamma(14-17)$ и [Sly¹⁷] $\Gamma(14-17)$ проявляли лишь незначительное сродство (рис. 1).

Нами были изучены три антисыворотки к $\Gamma(14-17)$. Антисыворотка 18 связывала 50% гастрина 1–17, меченого ¹²⁵I, при разведении 1:2000; антисыворотка 21 – при разведении 1:1500, антисыворотка 22 – при разведении 1:200. Все они обладали близкой специфичностью при связывании различных пептидов. Зависимость связывания [¹²⁵I] $\Gamma(1-17)$ антисывороткой 18 от концентрации ингибирующих пептидов представлена на рис. 2. Пептиды, имеющие немодифицированный С-концевой тетрапептид, ингибируют связывание меченого гастрина в одной области концентраций. Пептиды последовательности 1–6 и 10–13 гастрина препятствуют связыванию меченого гастрина антителами в той же мере, что и «актон», не имеющий в последовательности аналогии с гастрином, поэтому такое взаимодействие нельзя считать специфическим. Аналоги С-концевого тетрапептида гастрина, [Orn¹⁵] $\Gamma(14-17)$ и [Sly¹⁷] $\Gamma(14-17)$, являются более сильными ингибиторами для антисыворотки к $\Gamma(14-17)$, чем для антисыворотки к $\Gamma(1-17)$.

Полученные данные позволяют сделать ряд интересных выводов. По данным Розенквиста и Холмквиста [5], антитела к гастрину 1–17 способны связывать С-концевой дипептид, однако связывание возрастает в 1000 раз при увеличении длины пептида еще на два аминокислотных остатка. В наших экспериментах дальнейшее значительное увеличение связывания происходит при переходе к октапептиду $\Gamma(10-17)$, а холецистокинин, имеющий несколько иную последовательность С-концевого октапептида, имеет такое же сродство к антителам, что и тетрапептид $\Gamma(14-17)$. Центральный фрагмент последовательности гастрина $\Gamma(10-13)$ имеет такую же ингибирующую способность, как и $\Gamma(1-6)$, причем при использовании антисыворотки к гастрину 1–17 это ингибирование специфично, поскольку C_{50} для актона, проявляющего неспецифическое связывание, на порядок больше, чем для $\Gamma(1-6)$.

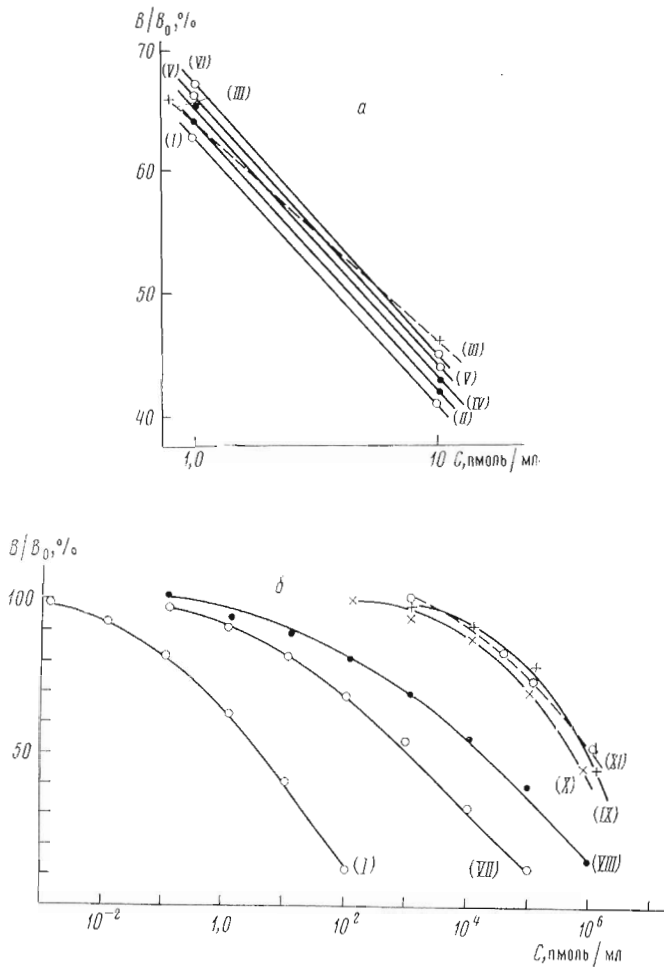


Рис. 2. Взаимодействие гормонов и пептидов последовательности гастрина [а — соединения (I) — (VI), б — соединения (I), (VII) — (XI)] с антисывороткой к гастрину 14—17

Антисыворотка к Г(14—17) содержит антитела только к С-концевому тетрапептиду и практически не различает пептиды, имеющие общий С-концевой фрагмент. В то же время Г(10—13) и Г(1—6) ингибируют связывание $[^{125}\text{I}]\text{Г}(1—17)$ этой антисывороткой неспецифично: C_{50} этих фрагментов — величина одного порядка с C_{50} актона.

Характер связывания различных пептидов с антисывороткой к гастрину 1—17 подтверждает сделанное ранее предположение [4], что возникающие при иммунизации гастринном антитела специфичны не только к С-концевому тетрапептиду, но, хотя и в меньшей мере, и к остальной части молекулы, а антигенная детерминанта гастрина не ограничивается С-концевым тетрапептидом, но включает и часть центрального участка молекулы гормона. Если бы антитела к Г(1—17) были направлены только против тетрапептида, то характер взаимодействия их с различными ингибирующими пептидами был бы аналогичен взаимодействию последних с антителами к Г(14—17).

Изучение ингибирующего эффекта модифицированных пептидов гастрина позволяет сделать заключение, что модификации в С-концевой части молекулы гастрина, приводящие к уменьшению или полной потере физиологической активности, вызывают значительное изменение иммунологиче-

Иммунохимические свойства пептидов

Пептид		Антисыворотка к Г(1—17)		Антисыворотка (№ 18) к Г(14—17)	
№	Обозначение	C ₅₀ , пмоль/мл	A, %	C ₅₀ , пмоль/мл	A, %
(I)	Г(1—17)	9,4·10 ⁻²	100	4,2	100
(II)	БГ	4,3·10 ⁻¹	72,3	4,5	93,3
(III)	ХЦК	100	0,09	5,5	76,4
(IV)	Г(14—17)	70	0,13	4,8	87,5
(IVa)	II-Г(14—17)	68	0,14	4,17	100
(V)	Г(10—17)	2,0	4,7	5,1	82,3
(VI)	H-Lys-Г(14—17)	84	0,11	5,9	71,2
(VII)	[Orn ¹⁵]Г(14—17)	1,1·10 ⁴	0,85·10 ⁻³	1,2·10 ³	0,35
(VIII)	[Sly ¹⁷]Г(14—17)	1,6·10 ⁶	0,58·10 ⁻⁴	1,6·10 ⁴	2,6·10 ⁻²
(IX)	Г(10—13)	3,0·10 ⁴	3,1·10 ⁻⁴	6,0·10 ⁵	7,0·10 ⁻⁴
(X)	Г(1—6)	4,3·10 ⁴	2,1·10 ⁻⁴	6,8·10 ⁶	6,1·10 ⁻⁴
(XI)	Актон	8,4·10 ⁵	1,1·10 ⁻⁵	9,1·10 ⁵	4,6·10 ⁻⁴

ских свойств пептида. Так, для [Orn¹⁵]Г(14—17) и [Sly¹⁷]Г(14—17), являющихся, по нашим данным, совершенно физиологически неактивными [6], ингибирующая способность существенно понижена (табл. 2). В то же время известно, что замена метионина в положении 15 на лейцин не ведет к потере ни физиологических, ни иммунохимических свойств [7—9]. Напротив, наличие моногенных группировок на некотором удалении от С-концевого тетрапептида у H-Г(14—17) и H-Lys-Г(14—17) ведет к заметному снижению секреторного эффекта по сравнению с «пентагастрином» [6], однако не вызывает изменения иммунохимических свойств аналогов: эти пептиды обладают таким же ингибирующим эффектом, как и «пентагастрин».

Антитела к Г(14—17) имеют большее сродство к [Orn¹⁵]Г(14—17) (VII) и [Sly¹⁷]Г(14—17) (VIII), чем антитела к Г(1—17); при этом непараллельность кривых ингибирования с кривыми для других пептидов, например Г(14—17) (IV), и более широкая область концентраций, в которой заметно уменьшается связывание меченого гастрина, свидетельствуют об измененном характере взаимодействия между антителами и данными пептидами (рис. 1, 2, табл. 2). Можно предположить, что в этом случае комплекс антиген — антитело оказывается менее устойчивым, т. е. внесенные модификации делают структуру пептидов менее комплементарной к антителу.

Вопрос о перекрестной реакции антител к гастрину с холецистокинином и «биг»-гастрином заслуживает особого внимания. Эти гормоны присутствуют в организме человека и животных, и поэтому важно выяснить, насколько различается их взаимодействие с антисывороткой при радиоиммуноанализе. Наши результаты не противоречат литературным данным, полученным с антисыворотками к гастрину 1—17 и 2—17 [5, 10]. Так, «биг»-гастрин связывается антителами к Г(1—17) несколько слабее, чем гастрин 1—17, но этого различия явно недостаточно для отдельного определения этих гормонов в одной системе радиоиммуноанализа (рис. 1, табл. 2). Холецистокинин связывается этими антителами так же, как Г(14—17), и не оказывает существенного влияния на определение гастрина при радиоиммуноанализе. Как видно из табл. 1, фрагмент «биг»-гастрин, соответствующий последовательности 19—34, полностью повторяет строение Г(2—17), он является предшественником гастрина 1—17 и обладает, хотя и в меньшей степени, физиологической активностью последнего [11, 12]. Холецистокинин проявляет слабую гастриноподобную активность, у него общий с гастрином С-концевой пентапептид, в положениях 26—28 он имеет последовательность -Asp-Tyr(SO₃H)-Met- вместо -Glu-Ala-Tyr-

у гастрин. Оба гормона близки по длине пептидной цепи. Вполне естественно, что если бы антигенной детерминантой гастриновых пептидов был только С-концевой тетрапептид, а остальная часть молекулы лишь пезначительно влияла на средство к антителам, то гастрин, «биг»-гастрин и холецистокинин мало отличались бы по ингибирующей способности. Так и происходит, когда мы имеем дело с антителами к Г(14—17). Антитела к гастрину 1—17 отличают гастрин и «биг»-гастрин от холецистокинина и пентагастрин; более того, они специфически взаимодействуют с пептидами, отвечающими последовательности 10—13 и 1—6 гастрин. Следовательно, отличия вблизи С-концевой области холецистокинина играют большую роль при реакции с антителами к гастрину. Эти факты еще раз подтверждают, что антигенная детерминанта гастрин не ограничивается С-концевым тетрапептидом, а затрагивает и центральную часть молекулы.

Исходя из положения, что размер антигенного участка, распознаваемого одной молекулой антитела, не превышает 6—8 аминокислотных остатков [10], можно утверждать: при иммунизации гастринном возникает популяция антител, направленных как к С-концевому фрагменту так и к остальной части молекулы. Но преобладающая часть антител специфична именно к основной антигенной детерминанте, расположенной в области С-концевого октапептида.

Экспериментальная часть

Часть использованных в работе препаратов взята из коммерческих наборов GASK (CEA-SORIN, Франция — Италия), предназначенных для радиоиммуноанализа гастрин: синтетический человеческий гастрин 1—17 (ICI, Англия), кроличья антисыворотка к конъюгату синтетического гастрин человека с бычьим сывороточным альбумином, препарат меченого ^{125}I синтетического гастрин с уд. акт. 1000 мкКи/мкг, активированный уголь («норит») и нормальная (неиммунная) лошадиная сыворотка.

Препарат холецистокинин наивысшей очистки получен от проф. В. Мутта из Каролинского института (Стокгольм, Швеция). Синтетический «биг»-гастрин представлен проф. Л. Демлингом и Э. Вюншем из института биохимии им. М. Планка (Мюнхен, ФРГ), актон — гексапептид, отвечающий последовательности 5—10 адренокортикотропного гормона быка (Serva, ФРГ). Аналог С-концевого тетрапептида гастрин с *L*-сарколизинном в положении 17, [Sly 17]Г(14—17), синтезирован в Онкологическом научном центре АМН СССР [13]. Фрагменты гастрин 1—17 и их аналоги, а также препараты для иммунизации синтезированы на кафедре химии природных соединений Ленинградского университета им. А. А. Жданова (зав. кафедрой проф. В. Ф. Мартынов) [6].

Получение кроличьих антисывороток к гастрину 14—17. Пять кроликов-самцов весом 3,5—4,5 кг иммунизировали конъюгатом Г(14—17) с овальбумином. Первую инъекцию антигена в дозе 1 мг на животное производили внутривенно. Через 2—3 недели каждому кролику в подушечки лап вводили 2 мг антигена в полном адъюванте Фрейнда. Поддерживающие инъекции производили в различные участки тела (в том числе и в подушечки лап) в течение нескольких месяцев. Активные антисыворотки были получены после 3—4 инъекций антигена.

Радиоиммунохимическое исследование. Активность антисывороток и ингибирующую активность пептидов проверяли в системе радиоиммуноанализа по схеме, представленной в табл. 3. На каждое разведение антисыворотки (при определении титра) и на каждую концентрацию ингибирующего пептида делали по 3—5 проб. Растворы всех реагентов готовили на 0,02 М вероналовом буфере, pH 8,4. Во все группы проб добавляли по 8 пг меченого антигена (0,008 мкКи). После добавления реагентов по схеме (табл. 3) реакционную смесь инкубировали в полиэтиленовых пробирках емкостью 1,5 мл 18 ч при 20° и 2 ч при 4°. Затем в каждую пробирку

Таблица 3

Схемы радиоиммунологического исследования и дозировка реагентов

Группы проб *	Вероналовый буфер, мл	Раствор [1 ²⁵ I]Г(1—17), мл	Раствор антисыворотки, мл	Раствор ингибирующего пептида, мл
Т	0,4	0,1	—	—
Г	0,4	0,1	—	—
С	0,3	0,1	0,1	—
К	0,2	0,1	0,1	0,1

* Группа проб Т служит для определения радиоактивности раствора меченого антигена, добавляемого в каждую пробирку; группа Г — для определения радиоактивности меченого антигена, осаждаемого активированным углем в отсутствие антисыворотки и ингибирующего пептида; группа С — для определения связывания меченого антигена антисыворотками в отсутствие ингибирующего пептида; группа К — для определения связывания меченого антигена антителами в присутствии ингибирующего пептида.

исключая группу Т, добавляли 0,1 мл нормальной сыворотки и 0,5 мл суспензии 2 г активированного угля в 50 мл буфера. Добавление нормальной (неиммунной) сыворотки имеет целью предотвращение сорбции на угле комплекса антиген — антитело, а также выравнивание концентрации белка в пробах. После выдерживания с периодическим перемешиванием в течение 5 мин при 4° пробы центрифугировали 15 мин при 7000 об/мин и отделяли надосадочную жидкость.

Радиоактивность осадка определяли на сцинтилляционном блоке детектирования БДВСЗ-1еМ «Воря» (СССР) при экспозиции каждой пробы в течение 100 с. Радиоактивность надосадочной жидкости определяли на сцинтилляционном счетчике ISOCAP-300 (США), время экспозиций 1 мин. Связывание меченого гастринга антисыворотками при их последовательном разбавлении от 1:100 до 1:10 000 оценивали по формулам

$$B_0 = \frac{G-S}{G} \cdot 100 \quad (1)$$

при подсчете по радиоактивности осадка,

$$B_0 = \frac{S-G}{T-G} \cdot 100 \quad (2)$$

при подсчете по радиоактивности супернатанта. B_0 — связывание меченого гастринга антисывороткой, в % от количества меченого антигена, осаждаемого активированным углем в отсутствие антисыворотки; G — радиоактивность осадка (1) или надосадочной жидкости (2) в отсутствие антисыворотки, имп/мин; S — радиоактивность осадка (1) или надосадочной жидкости (2) при добавлении антисыворотки, имп/мин; T — радиоактивность раствора меченого антигена, добавленного в каждую пробирку, имп/мин.

В отсутствие антител в пробе активированным углем осаждалось 96—97% меченого антигена. Из антисывороток, полученных при иммунизации пяти кроликов, три антисыворотки с рабочими номерами 18, 21, 22 связывали 50% меченого антигена при разведениях 1:2000, 1:1500 и 1:200 соответственно.

Связывание [¹²⁵I] гастринга 1—17 антителами в присутствии ингибирующих пептидов оценивали по формулам

$$B/B_0 = \frac{G-K}{G-S} \cdot 100 \quad (3)$$

при подсчете по радиоактивности осадка,

$$B/B_0 = \frac{K-G}{S-G} \cdot 100 \quad (4)$$

при подсчете по радиоактивности супернатанта. B/B_0 — связывание меченого антигена в присутствии ингибирующего пептида в % от связывания без добавления ингибитора; K — радиоактивность осадка активированного угля (3) или надосадочной жидкости (4) в пробе при добавлении антисыворотки и ингибирующего пептида, имп/мин.

На основании рассчитанных значений B/B_0 строились кривые ингибирования (рис. 1, 2), по которым находили C_{50} (табл. 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Gregory R. A., Tracy H. J. (1964) *Gut*, 5, 109-117.
2. McGuigan J. E. (1968) *Gastroenterology*, 54, 1005-1011.
3. Jalow R. S., Berson S. A. (1970) *Gastroenterology*, 58, 1-9.
4. Rosenquist J. L., Holmquist A. M. (1974) *Immunochemistry*, 11, 489-494.
5. McGuigan J. E., Thomas H. F. (1972) *Gastroenterology*, 62, 553-559.
6. Прусаков А. Н., Самарцев М. А., Мартынов В. Ф. (1979) *Биоорг. химия*, 5, 497-507.
7. Morley J. S., Smith J. M. (1968) *J. Chem. Soc., C*, 726-730.
8. Feurle G., Ketterer H., Becker H. D., Kreuzfeldt W. (1972) *Gastroenterologie*, 7, 177-182.
9. Münsch E., Konz B., Holle F. (1971) In: *Proc. Intern. Union of Physiological Sciences*, vol. 9, p. 610, Munich.
10. McGuigan J. E., Herbst C. A. (1975) In: *Gastrointestinal Hormones. A Symposium* (Thompson J. C., ed.), pp. 85-89, Texas-Press, Austin - London.
11. Walsh J. H., Debas H. T., Grossman M. I. (1974) *J. Clin. Invest.*, 54, 477-485.
12. Dockray G. J., Debas H. T., Walsh J. H., Grossman M. I. (1975) *Proc. Soc. Exptl Biol. Med.*, 149, 550-553.
13. Смирнова Л. И., Кашникова Н. М., Софьина Э. П., Дегтева С. А., Шкодинская Е. Н. (1977) Четвертый Всесоюзный симпозиум по химии белков и пептидов, с. 158, Минск.

Поступила в редакцию
31.X.1978

IMMUNOCHEMICAL STUDIES ON PEPTIDES HAVING THE AMINO ACID SEQUENCES OF GASTRIN FRAGMENTS

PRUSAKOV A. N., SAMARTSEV M. A., POLOSATOV M. V.

*I. P. Pavlov Institute of Physiology, Academy of Sciences
of the USSR, Leningrad*

The reactivity of gastrin and its fragments 1-6, 10-13, 10-17, as well as of big gastrin and cholecystokinin was compared towards antisera against gastrin 1-17 and gastrin C-terminal tetrapeptide 14-17 (pentagastrin). The peptides with the unchanged gastrin 14-17 sequence possessed equal affinity for C-terminal fragment specific antibodies. When the antibodies raised against gastrin 1-17 were used, a sharp increase in peptide binding was observed on passing from pentagastrin and cholecystokinin to gastrin heptadecapeptide or C-terminal octapeptide fragment. The sequences 1-6 and 10-13 of a gastrin molecule manifested negligible affinity for antibodies. These results substantiate the view that the gastrin main antigenic determinant is localized in its C-terminal region. It was shown that the amino acid substitutions in the C-terminal tetrapeptide abolishing the physiological activity result also in a concomitant alteration of the immunochemical properties. On the other hand, modifications outside the C-terminal tetrapeptide bring about almost complete loss of physiological activity, but induce no alteration in the binding of respective peptides to the antibodies.