

УДК 535.361

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА СПЕКТРОВ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПРИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ ЛАЗЕРНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ

В. С. Горелик, Г. В. Козлова, Ю. П. Куркин, К. В. Показеев

Зарегистрированы спектры фотолюминесценции изотонических растворов антигенов – личинок “Taeniarrhynchus saginatus” (полисахарид) – и водных растворов антител к ним, выделенных из сыворотки крови телят. Спектры фотолюминесценции возбуждались ультрафиолетовым излучением (266 нм) четвёртой гармоники лазера на алюмоиттриевом гранате. Спектры этих объектов представляли собой интенсивные полосы с максимумами интенсивности на длинах волн 341 нм для сыворотки и 332 нм для полисахарида. Обнаружено, что в результате смешивания растворов полисахарида и сыворотки в соотношении компонентов 1:6 происходит радикальное уменьшение интенсивности спектра фотолюминесценции, свидетельствующее о связывании соответствующих молекулярных структур.

Ключевые слова: фотолюминесценция, антитела, антигены, альбумин, метаболизм, полисахарид, сыворотка, спектр.

1. Важным свойством биологических объектов являются процессы сильного возмущения иммунной системы организма под действием антигенов, приводящих к патологиям. Антигены – вещества различной природы, которые воспринимаются организмом как чужеродные и вызывают специфический иммунный ответ. Для нейтрализации антигенов в организме вырабатываются антитела – определённые белки, вступающие в химическую реакцию с антигенами с образованием пассивных молекулярных структур.

Учреждение Российской академии наук Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН, Россия, 119991, Москва, Ленинский проспект, 53; e-mail: gorelik@sci.lebedev.ru.

В данной работе ставилась задача изучения реакции нейтрализации антигенов, выделенных из личинок “*Taeniarrhynchus saginatus*”, антителами, содержащимися в сыворотке крови телят. Исследуемые антигены бактериального происхождения [1] являются полисахаридами, содержащими определённые типы комплементарных нуклеотидов. Присутствие антигенов в организмах может приводить к изменению генетической структуры живых объектов и, соответственно, к патологическим нарушениям и изменению процессов метаболизма.

Антитела – это белки глобулиновой фракции сыворотки крови, которые формируются иммунной системой организма в ответ на введение в него различных антигенов [2]. Такие белки называются иммуноглобулинами. Известно несколько видов иммуноглобулинов, отличающихся молекулярным весом и структурными характеристиками.

Изменение молекулярной структуры биологических объектов в результате их генетической модификации приводит к изменению положений атомов и, соответственно, к изменению электронного и колебательного спектров. Методы лазерной спектроскопии позволяют осуществлять диагностику на количественном и качественном уровне состава и структуры молекулярных объектов различной природы.

Целью нашей работы было исследование спектров вторичного излучения определённого типа антигенов, антител и их смеси методом фотолюминесценции при лазерном ультрафиолетовом возбуждении.

2. Методика эксперимента. В качестве исследуемых образцов были выбраны растворы двух видов веществ: 1) антигенов “*Taeniarrhynchus saginatus* (larvae)” в виде изотонических растворов с концентрацией 0.5–10%, 2) антител к “*Taeniarrhynchus saginatus* (larvae)” в виде водных растворов лиофильно высушенной сыворотки телят с концентрацией 1–10%. В дальнейшем эти образцы будем называть соответственно полисахаридом и сывороткой.

Фотолюминесценция (ФЛ) в исследуемых образцах возбуждалась с использованием четвёртой ($\lambda = 266$ нм) оптической гармоники лазера YAG:Nd³⁺. Измерения спектров ФЛ проводились на волоконно-оптической установке, разработанной ранее [3]. Мощность возбуждающего излучения на выходе волоконно-оптического зонда составляла 5 мВт. При таком режиме возбуждения практически не проявлялись процессы деструкции молекул органического соединения под действием ультрафиолетового лазерного излучения. Регистрация спектров ФЛ проводилась с помощью малогабаритного полихроматора типа FSD8 со спектральным разрешением 2 нм. Экспозиции при регистрации спектров ФЛ составляли 0.1–30 с.

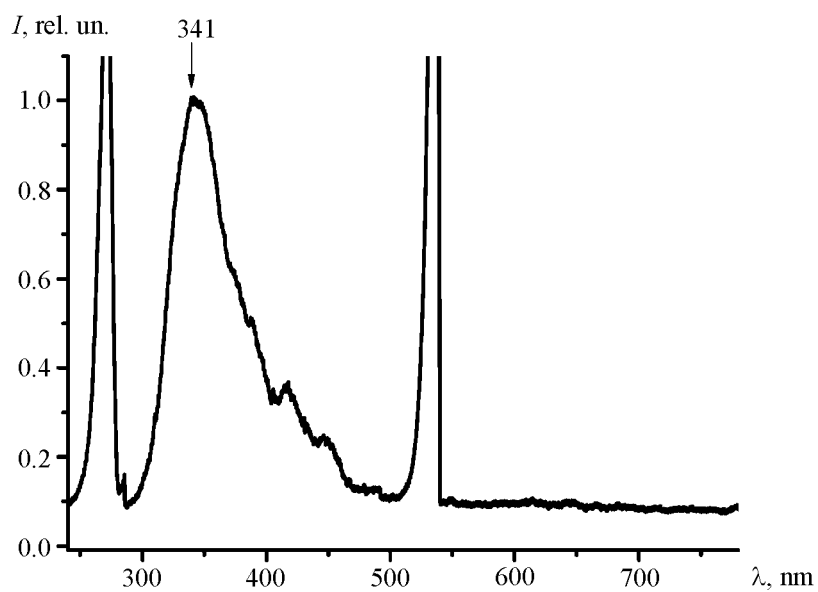


Рис. 1: Спектр фотолюминесценции сыворотки.

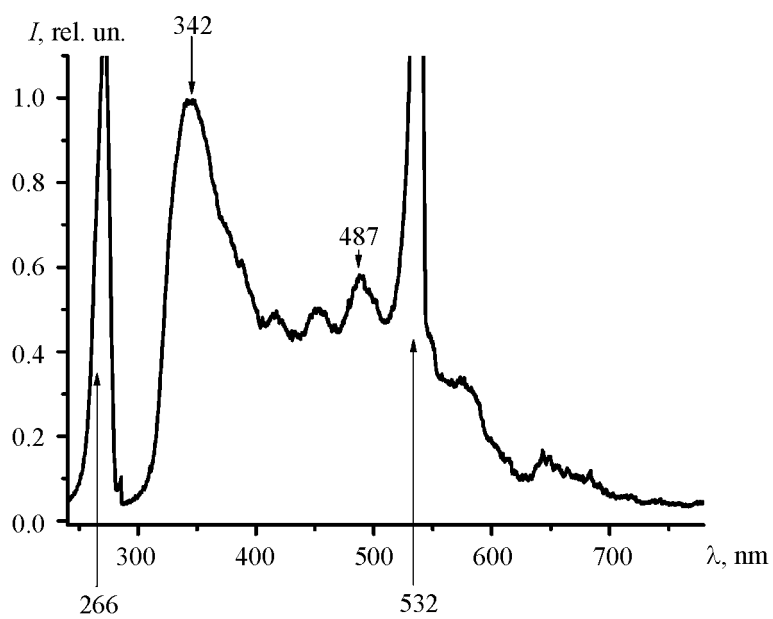


Рис. 2: Спектр фотолюминесценции альбумина.

3. *Результаты эксперимента.* На рис. 1 представлен нормированный спектр ФЛ 6% водного раствора сыворотки при времени экспозиции 8 с. Спектр представляет собой полосу люминесценции с максимумом на длине волны $\lambda = 341$ нм. На рис. 2 представлен нормированный спектр белка альбумина, зарегистрированный при экспозиции 30 сек. Как видно из сравнения этих рисунков, спектральное положение максимума интенсивности ФЛ в альбумине ($\lambda = 342$ нм) практически совпадает с соответствующим положением в спектре сыворотки. Как известно, главным люминофором в белках является ароматическая аминокислота – триптофан. Таким образом, для обоих типов исследуемых белков характерным является проявление ФЛ триптофана. Некоторые отличия спектра ФЛ альбумина от соответствующего спектра сыворотки можно объяснить присутствием сложных молекулярных структур в этом белке, проявляющихся в длинноволновой области спектра.

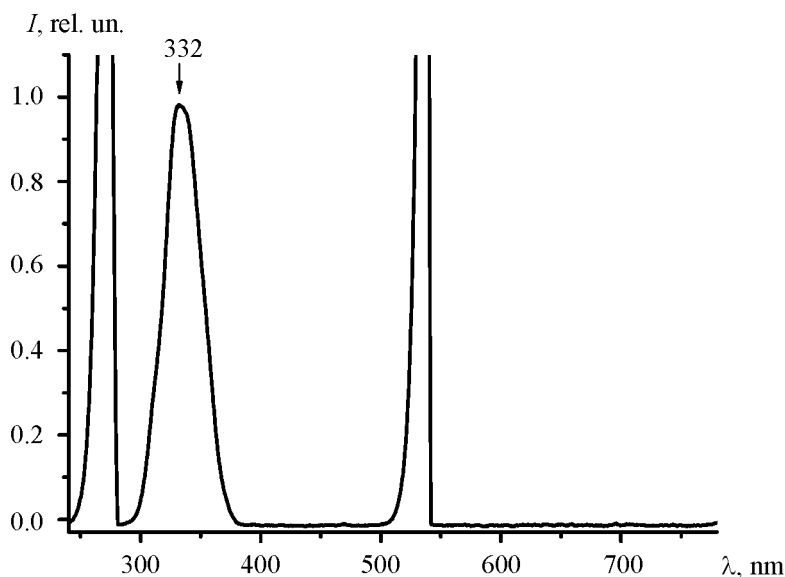


Рис. 3: Спектр фотолюминесценции полисахарида.

На рис. 3 изображен нормированный спектр изотонического раствора полисахарида 1%-й концентрации, полученный при экспозиции 256 мс. Этот спектр представлял собой симметричную узкую полосу люминесценции с максимумом $\lambda = 332$ нм.

На рис. 4 приведен нормированный спектр смеси сыворотки и полисахарида, полученный при экспозиции 256 мс. При этом отношение компонентов (полисахарида и сыворотки) составляло 1:6. Как видно из этого рисунка, характер спектра ФЛ смеси

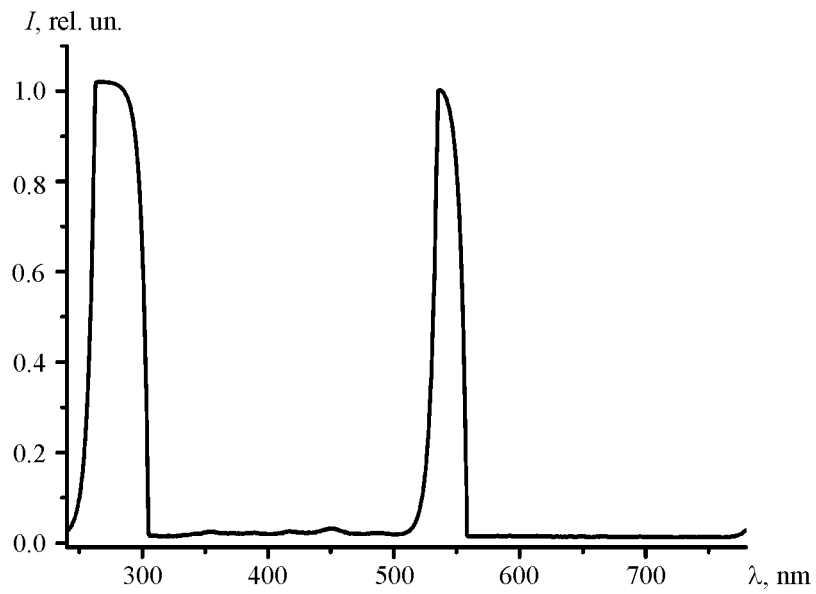


Рис. 4: Спектр фотолюминесценции смеси сыворотки с полисахаридом.

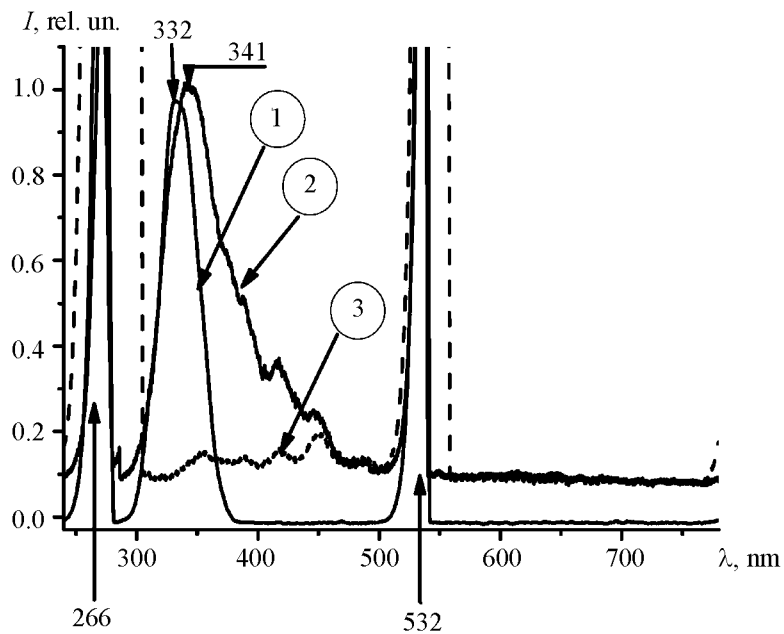


Рис. 5: Сопоставление спектров фотолюминесценции полисахарида (1) сыворотки (2) и их смеси (3).

радикально отличается от соответствующих спектров растворов исходных полисахарида и сыворотки (см. рис. 1 и 3). В спектре на рис. 4 исчезли характерные максимумы (341 нм для сыворотки и 332 нм для полисахарида). Интенсивность фона при этом уменьшилась на несколько порядков по сравнению с сигналом ФЛ исходных компонентов. Рис. 5 иллюстрирует обсуждаемый эффект путём сравнения спектров ФЛ исходных компонентов (кривые 1 и 2) и их смеси (пунктирная кривая 3) в приведенной выше пропорции.

Заключение. Таким образом, нами установлено, что в результате смешивания растворов полисахарида и сыворотки в соотношении компонентов 1:6 происходит радикальное уменьшение интенсивности спектра фотолюминесценции. Это свидетельствует о нейтрализации антигенов – личинок “*Taeniarrhynchus saginatus*” – антителами, содержащимися в сыворотке крови телят.

Полученный результат может быть использован для диагностики эффективности процессов связывания антигенов с антителами в биологических объектах, обеспечивающих эффективную нейтрализацию чужеродных микроорганизмов, ослабляющих иммунную систему живых объектов.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] А. А. Ярилин, *Основы иммунологии* (М., Медицина, 1999).
- [2] Р. И. Хаитов, *Иммунология* (М., ГЭОТАР – Медиа, 2008).
- [3] А. П. Гончаров, В. С. Горелик, Краткие сообщения по физике ФИАН, **35**(9), 3 (2008).

Поступила в редакцию 14 октября 2010 г.