



УДК 577.112.6.083.3:615.371

# НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИММУНОТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНТЕТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ $\alpha 7$ -СУБЪЕДИНИЦЫ АЦЕТИЛХОЛИНОВОГО РЕЦЕПТОРА

© 2008 г. О. М. Вольпина<sup>\*,#</sup>, Т. Д. Волкова\*, М. А. Титова\*, Ю. Г. Гершович\*\*, Н. И. Медвинская\*\*, А. Н. Самохин\*\*, А. В. Камынина\*, В. С. Шалгунов\*, Д. О. Короев\*, М. П. Филатова\*, М. Б. Обозная\*, Н. В. Бобкова\*\*

\*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

\*\*Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино

Поступила в редакцию 13.02.2007 г. Принята к печати 30.05.2007 г.

Проведены эксперименты по изучению влияния иммунизации синтетическими фрагментами  $\alpha 7$ -субъединицы ацетилхолинового никотинового рецептора на пространственную память мышей, подвергшихся ольфакторной бульбэктомии, вызывающей развитие нейродегенеративного процесса альцгеймеровского типа (БЭ-животные). Мышей линии NMRI иммунизировали KLH-конъюгатами двух пептидных фрагментов N-концевого экстрацеллюлярного домена  $\alpha 7$ -субъединицы, затем проводили операцию ольфакторной бульбэктомии и оценивали у них состояние пространственной памяти. Установлено, что 20% БЭ-мышей, иммунизированных N-концевым фрагментом 1–23  $\alpha 7$ -субъединицы, после обучения демонстрировали хорошую память. В случае иммунизации пептидом (159–167)–(179–188), представляющим собой конструкцию из двух гидрофильных экспонированных участков белковой цепи, наличие пространственной памяти было выявлено у 50% БЭ-мышей, в то время как в контрольной группе, получавшей только инъекцию KLH, не обучилось ни одно БЭ-животное. Таким образом, разработка препарата на основе пептида (159–167)–(179–188) представляется перспективной для профилактики и лечения болезни Альцгеймера.

*Ключевые слова:* пептиды синтетические; ацетилхолиновый рецептор,  $\alpha 7$ -субъединица; болезнь Альцгеймера, пространственная память; ольфакторная бульбэктомия.

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой тяжелое нейродегенеративное заболевание, приводящее к потере памяти, выраженным когнитивным нарушениям и неизбежной смерти. Конечным результатом развития патологии является массовая гибель нейронов в специфических структурах мозга, связанных с хранением и переработкой информации [1]. Показано, что главную роль в механизме гибели нейронов при БА играют пептиды  $\beta$ -амилоидного ряда, в частности  $\beta A$ –(1–42) [2–5]. С другой стороны, известно, что развитие БА сопровождается понижением содержания нейронального ацетилхолинового рецептора (АХР)  $\alpha 7$ -типа, преимущественно локализованного в нейронах

центральной нервной системы [6]. Одна из современных гипотез предполагает, что  $\beta A$ –(1–42), связываясь с  $\alpha 7$ -субъединицей АХР, образует комплекс, который проникает внутрь клетки, накапливается там и запускает каскад реакций, приводящих к гибели клетки [7–9]. Таким образом,  $\alpha 7$ -субъединица АХР может явиться новой мишенью для терапевтического воздействия при БА [10]. Мы предположили, что антитела к  $\alpha 7$ -субъединице АХР могли бы препятствовать ее связыванию с  $\beta A$ . В качестве иммуногенов представляется перспективным использование синтетических фрагментов  $\alpha 7$ -субъединицы АХР, вызывающих выработку специфических к данному рецептору антител. Моделью спорадической формы БА, на которой выполнено данное исследование, явились бульбэктомированные мыши линии NMRI, развивающие в отдаленные сроки после удаления обонятельных луковиц поведенческие, морфологические и биохимические признаки нейродегенеративного процесса альцгеймеровского типа, включая потерю пространственной памяти, дефицит ацетилхолинергической системы и повышенный уровень мозгового  $\beta A$  [11–13].

Сокращения: АХР – ацетилхолиновый рецептор; БА – болезнь Альцгеймера; БЭ-животные – животные (мыши), подвергшиеся операции ольфакторной бульбэктомии; ЛО-животные – ложнооперированные животные; НАФ – неполный адъювант Фрейнда; ПАФ – полный адъювант Фрейнда; Fmoc – 9-флуоренилметоксикарбонил; KLH – гемоцианин улитки; PBS – 0.15 М раствор NaCl в 0.01 М растворе Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (рН 7.4).

<sup>#</sup> Автор для связи (тел.: (495) 336-57-77; эл. почта: volpina@ibch.ru).



**Таблица 2.** Результаты тестирования пространственной памяти и титры антител в сыворотках крови иммунизированных БЭ-мышей

Иммуноген	Число обученных	Число необученных	Доля обученных, %	Титр противопептидных антител ( $-\lg$ )*
(I)-KLH	3	12	20	5.1–5.7
(II)-KLH	8	8	50	5.1–5.7
Контроль (KLH)	0	5	0	<1.0
Контроль (PBS)	0	5	0	<1.0

\* Приведен диапазон титров антител, определенных индивидуально для каждого из животных в группе.

**Таблица 3.** Результаты тестирования пространственной памяти и титры антител в сыворотках крови иммунизированных ложноперирированных мышей

Иммуноген	Число обученных	Число необученных	Доля обученных, %	Титр противопептидных антител ( $-\lg$ )*
(I)-KLH	6	6	50	4.8–6.4
(II)-KLH	11	4	73	5.1–6.1
Контроль (KLH)	5	0	100	<1.0

\* См. примечание к табл. 2.

зированных KLH-конъюгатом пептида (II), – 50% животных (8 особей из 16). В то же время в контрольных группах животных, иммунизированных только KLH либо получивших только инъекцию PBS, не обучилось ни одно БЭ-животное (0% обученных) (табл. 2).

Таким образом, иммунизация конъюгатами пептидных фрагментов у части БЭ-животных предотвращала ухудшение памяти, причем иммунизация конъюгированным пептидом (II) была более эффективна, чем пептидом (I). У всех иммунизированных KLH-конъюгатами животных наблюдался высокий уровень противопептидных антител. Необходимо отметить, что в условиях данного эксперимента мы измеряли уровень антител в сыворотке, в то время как влияние на обучение, вероятно, могут оказывать антитела, прошедшие гематоэнцефалический барьер. Дальнейшие исследования по измерению уровня антител в препаратах мозга, возможно, позволят установить корреляцию между уровнем антител, прошедших гематоэнцефалический барьер, и способностью животных к обучению.

Аналогичные эксперименты были проведены на мышах, иммунизированных конъюгатами пептидов и подвергнутых всем вышеописанным манипуляциям, но без операции по удалению обонятельных луковиц – так называемых ложноперирированных (ЛО) животных (мышей) (табл. 3).

В данном эксперименте также наблюдалось влияние иммунизации KLH-конъюгатами пептидов на пространственную память мышей. В то время как среди ЛО-мышей, иммунизированных

только KLH (контрольная группа), все животные выделяли отсек обучения в водном лабиринте Морриса (100% обученных), среди мышей, иммунизированных пептидными конъюгатами, способность к запоминанию понижалась по сравнению с контролем. В группе мышей, иммунизированных пептидом (I), наличие пространственной памяти отмечено только у 50% животных (6 особей из 12), а в группе мышей, иммунизированных пептидом (II) – у 73% (11 особей из 15). Анализ сывороток, отобранных у иммунизированных пептидными фрагментами ЛО-мышей по окончании эксперимента, показал стабильно высокие титры противопептидных антител (4.8–6.4) как для пептида (I), так и для пептида (II). Таким образом, иммунизация ЛО-мышей конъюгатами пептидов приводила у части животных к снижению уровня пространственной памяти.

На следующем этапе было проведено исследование влияния иммунизации конъюгатами пептидов на состояние пространственной памяти интактных животных, не подвергавшихся никакой операции (табл. 4). Результаты, полученные на интактных животных, оказались сходными с данными, полученными на ЛО-мышах. Было показано, что среди животных, иммунизированных KLH-конъюгатом пептида (I), 5 особей из 8 (63%) выделяли отсек обучения в водном лабиринте Морриса, а среди животных, иммунизированных KLH-конъюгатом пептида (II), – 7 особей из 8 (88%). Все контрольные животные, получавшие только инъекции PBS либо иммунизированные модельным конъюгатом гемоцианина, в котором пептидная часть заменена глицином – Gly-KLH, демонстрировали высокий уровень про-

**Таблица 4.** Результаты тестирования пространственной памяти и титры антител в сыворотках крови интактных животных после иммунизации

Иммуноген	Число обученных	Число необученных	Доля обученных, %	Титр противопептидных антител (-lg)
(I)-KLH	5	3	63	4.5–4.8
(II)-KLH	7	1	88	4.2–5.1
Gly-KLH	6	0	100	<1.0
Контроль (PBS)	10	0	100	<1.0

пространственной памяти (100% обученных). У всех животных, иммунизированных KLH-конъюгатами пептидов, наблюдался высокий уровень противопептидных антител.

Таким образом, в результате проведенной работы было показано, что иммунизация KLH-конъюгатами пептидов (I) и (II) мышей с экспериментально индуцированной формой БА оказывает терапевтическое действие, сохраняя способность части БЭ-животных к обучению. Наибольший эффект оказывает иммунизация конъюгатом пептида (II), индуцируя способность к обучению у половины БЭ-животных. В то же время иммунизация конъюгатами пептидов ЛО- или интактных мышей приводит к снижению их обучаемости. В случае применения пептида (I) перестают обучаться 6 из 12 ЛО-мышей и 3 из 8 интактных мышей. В случае применения пептида (II) отрицательное действие иммунизации было менее выражено: нарушение пространственной памяти отмечено у 4 из 11 ЛО-животных и у 1 из 8 интактных мышей.

По-видимому, именно антитела, вырабатывающиеся в ответ на иммунизацию пептидами, оказывают влияние на состояние памяти как у БЭ, так и у ЛО- и интактных мышей. Известно, что БЭ-мышцы с индуцированной формой БА отличаются высоким уровнем  $\beta$ A в мозге [11], что вызывает нарушение целостности гематоэнцефалического барьера [16]. В этом случае сохранность пространственной памяти у иммунизированных пептидами БЭ-мышей может быть обусловлена конкуренцией проникающих в мозг антител к синтетическим пептидам с эндогенным  $\beta$ A за связывание с  $\alpha$ 7-субъединицей АХР. Возможно, антитела экранируют поверхность субъединицы, предохраняя ее от связывания с  $\beta$ A и предотвращая гибель нейронов.

Снижение обучаемости ЛО- и интактных животных, по-видимому, также связано с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера. Исследования последних лет показали, что проницаемость гематоэнцефалического барьера изменяется в зависимости от функционального состояния организма, увеличиваясь при развитии различных воспалительных процессов, травмах мозга и т.п. [17]. Возможно, что в наших исследо-

ваниях на ЛО- и интактных животных стимуляция очень высокого уровня антител к эндогенному белку могла повысить проницаемость гематоэнцефалического барьера. В этом случае проникающие в мозг антитела экранировали сайты связывания АХР с ацетилхолином, что и сопровождалось у части животных ухудшением памяти.

Одно из объяснений одновременного влияния антител на улучшение (у БЭ-мышей) и на ухудшение (у ЛО- и интактных мышей) состояния пространственной памяти состоит в том, что образовавшийся комплекс АХР с антителами может под воздействием ацетилхолина частично диссоциировать с образованием комплекса рецептор-ацетилхолин, что вызывает улучшение состояния пространственной памяти у иммунизированных БЭ-мышей. В опытах на ЛО- и интактных мышцах недиссоциированная часть комплекса АХР с антителами замедляет связывание АХР с ацетилхолином, что приводит к снижению обучаемости животных.

Предложенный в настоящей работе подход принципиально отличается от направления терапии БА с применением иммунизации  $\beta$ -амилоидом [18, 19], при клинических испытаниях которого было показано, что у 6% больных возникают воспалительные реакции в мозге [20]. Приведенные результаты показывают принципиальную возможность использования иммунизации фрагментами  $\alpha$ 7-субъединицы для коррекции памяти при БА. Наиболее перспективной представляется иммунизация пептидом (II), которая имеет выраженное протективное действие на память БЭ-животных и которая практически не ухудшает память у интактных мышей. Использование предлагаемой нами иммунотерапии представляется перспективным для лечения прогрессирующих форм БА.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали реактивы и производные аминокислот (Merck, ФРГ; Fluka, Швейцария). В иммунологических исследованиях использовали раствор KLH в PBS в концентрации 5.3 мг/мл (Sigma, США), 25% водный раствор глутарового альдегида (Sigma, США), ПАФ, НАФ, козьи антитела против иммуноглобулинов мышей, конъюгированные с пе-

роксидазой хрена (Sigma, США), 96-луночные планшеты MaxiSorp (Nunc, Дания) для ИФА. Для иммунизации использовали 2-месячных мышей самцов линии NMRI.

**Твердофазный синтез пептидов.** Пептиды (I) и (II) синтезировали твердофазным методом на пара-алкокксибензильном полимере как описано в [12].

**Получение конъюгатов пептидов с KLH.** Раствор 0.5 мг пептида (I) или (II) либо раствор 0.014 мг глицина в 0.1 мл PBS перемешивали с 2.5 мг (0.45 мл) KLH 30 мин, затем в течение 1 ч добавляли 0.25 мл 0.25% водного глутарового альдегида. Реакционную массу перемешивали 15 ч, а затем диализовали против PBS с трехкратной сменой буфера.

**Схема биологических экспериментов.** 1 день – первая иммунизация. 28 день – операция бульбэктомии. 35 день – вторая иммунизация. 45 день – забор крови для ИФА. 57 день – начало обучения. 65 день – тестирование памяти.

Эксперименты проведены на мышах, содержащихся в клетках по пять особей при 21–23°C в условиях естественного освещения при свободном доступе к воде и пище.

**Иммунизация животных.** Мыши были иммунизированы дважды. Первую иммунизацию проводили в ПАФ, вторую – в НАФ. Растворы пептидов и KLH-конъюгатов пептидов или глицина в PBS смешивали с равным объемом адьюванта до получения эмульсии. Эмульсию вводили подкожно в основание хвоста в объеме 0.2 мл из расчета 100 мкг пептида на одну мышь.

**Получение сывороток и определение титра противопептидных антител.** Из индивидуально отобранной у животных крови готовили сыворотки. Титры противопептидных антител определяли с помощью твердофазного ИФА как описано в работе [21]. Пептиды (I) или (II) наносили на планшет в объеме 0.1 мл на лунку при концентрации пептида 20 мкг/мл для тестирования сывороток, полученных после иммунизации животных (I)-KLH или (II)-KLH соответственно. За титр противопептидных антител принимали отрицательный логарифм ( $-\lg$ ) значения наибольшего разведения сыворотки, дающего окрашивание более 0.1 ОЕ ( $\lambda$  492 нм) и превышающего фоновый уровень неиммунной сыворотки в три раза.

**Операция бульбэктомии.** Операцию ольфакторной бульбэктомии проводили на 28 день после первой иммунизации в стерильных условиях под гексеналовым наркозом (40 мг/кг внутривенно) с применением 0.5% раствора новокаина для местного обезболивания при скальпировании. Двустороннее удаление обонятельных луковиц проводили путем аспирации по стереотаксическим координатам ( $-1$ ;  $0$ ) через трепанационное отверстие. ЛО-животные подвергались аналогичной манипуляции, но без удаления обонятельных луковиц.

**Тест на пространственную память животных.** В качестве модели обучения использовали выработку пространственного навыка в водном лабиринте Морриса [22]. Экспериментальная камера представляла собой пластиковый круглый бассейн диаметром 80 см, заполненный на 30 см водой с температурой 23°C. Площадь бассейна условно делилась на четыре равных сектора, в одном из которых находилась спасательная платформа диаметром 5 см, погруженная на 0.5 см в воду. Вода забелялась молоком для того, чтобы животные не могли визуальным образом обнаружить спасательную платформу.

Для опытов отбирали мышей, умеющих хорошо плавать. В течение 5 дней проводили по четыре сеанса обучения ежедневно, при этом фиксировали время обнаружения платформы. В результате обучения все животные находили спасательную площадку менее чем за 10 с. Затем у животных тестировали сохранение пространственной памяти в бассейне при отсутствии спасательной платформы. Состояние пространственной памяти каждого животного оценивали по его способности помнить отсек обучения и выделять его из других трех индифферентных отсеков. В течение 1 мин учитывали время пребывания животных в каждом отсеке. Обучившимися считали животных, время нахождения которых в отсеке обучения достоверно ( $P > 0.95$ ) превышало время нахождения в каждом из других отсеков. Для оценки достоверности влияния иммунизации на память животных использовали однофакторный анализ ANOVA и Post-hoc-тест с применением критерия LSD (пакет статистических программ "Statistica 6.0").

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность Цетлину В.И. (ИБХ РАН) за участие в обсуждении результатов. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 06-04-48710-а) и программы РАН "Молекулярная и клеточная биология".

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mattson M.P. // Nature. 2004. V. 430. P. 631–639.
2. Hardy J., Selkoe D.J. // Science. 2002. V. 297. P. 353–356.
3. LaFerla F.M., Tinkle B.T., Bieberich C.J., Haudenschild C.C., Jay G. // Nat. Genet. 1995. V. 9. P. 21–30.
4. Tabira T., Chui D.H., Kuroda S. // Front. Biosci. 2002. V. 7. P. a44–a49.
5. Blennow K., de Leon M.J., Zetterberg H. // Lancet. 2006. V. 368. P. 387–403.
6. Kihara T., Shimohama S. // Acta Neurobiol. Exp. 2004. V. 64. P. 99–105.
7. Nagele R.G., D'Andrea M.R., Anderson W.J., Wang H.Y. // Neuroscience. 2002. V. 110. P. 199–211.

8. D'Andrea M.R., Nagele R.G., Wang H.Y., Peterson P.A., Lee D.H. // *Histopathology*. 2001. V. 38. P. 120–134.
9. D'Andrea M.R., Lee D.H.S., Wang H.-Y., Nagele R.G. // *Drug Development Research*. 2002. V. 56. P. 194–200.
10. D'Andrea M.R., Nagele R.G. // *Curr. Pharm. Des.* 2006. V. 12. P. 677–684.
11. Александрова И.Ю., Кувичкин В.В., Каширапов И.В., Медвинская Н.И., Нестерова И.В., Лукин С.М., Самохин А.Н., Бобкова Н.В. // *Биохимия*. 2004. Т. 69. С. 218–224.
12. Bobkova N.V., Nesterova I.V., Medvinskaya N.I., Aleksandrova I.Y., Samokhin A.N., Gershovich J.G., Gershovich P.M., Yashin V.A. // *New Trends in Alzheimer and Parkinson Related Disorders: ADPD 2005/Eds Fisher A., Hanin I., Memo M., Stocchi F. Medimond, 2005. P. 91–95.*
13. Бобкова Н.В., Нестерова И.В., Нестеров В.И. // *БЭБМ*. 2001. Т. 131. С. 507–511.
14. Volpina O.M., Titova M.A., Koroev D.O., Volkova T.D., Oboznaya M.B., Zhmak M.N., Alekseev T.A., Tsetlin V.I. // *Russ. J. of Bioorganic Chemistry*. 2006. V. 32. P. 154–159 (Вольпина О.М., Титова М.А., Короев Д.О., Волкова Т.Д., Обозная М.Б., Жмак М.Н., Алексеев Т.А., Цетлин В.И. // *Биоорганическая химия*. 2006. Т. 32. С. 169–175).
15. Koroev D.O., Titova M.A., Volkova T.D., Oboznaya M.B., Filatova M.P., Fufatchova E.N., Zhmak M.N., Tsetlin V.I., Bobkova N.V., Volpina O.M. // *Russ. J. of Bioorganic Chemistry*. 2007. V. 33. P. 410–414 (Короев Д.О., Титова М.А., Волкова Т.Д., Обозная М.Б., Филатова М.П., Фуфачева Е.Н., Жмак М.Н., Цетлин В.И., Бобкова Н.В., Вольпина О.М. // *Биоорганическая химия*. 2007. Т. 33. С. 410–414).
16. Ujije M., Dickstein D.L., Carlow D.A., Jefferies W.A. // *Microcirculation*. 2003. V. 10. P. 463–470.
17. Engelhardt B. // *Results Probl. Cell Differ.* 2006. V. 43. P. 259–280.
18. Schenk D., Barbour R., Dunn W., Gordon G., Grajeda H., Guido T., Hu K., Huang J., Johnson-Wood K., Khan K., Kholodenko D., Lee M., Liao Z., Lieberburg I., Motter R., Mutter L., Soriano F., Shopp G., Vasquez N., Vandeventer C., Walker S., Wogulis M., Yednock T., Games D., Seubert P. // *Nature*. 1999. V. 400(6740). P. 173–177.
19. Maier M., Seabrook T.J., Lazo N.D., Jiang L., Das P., Janus C., Lemere C.A. // *J. Neurosci.* 2006. V. 26(18). P. 4717–4728.
20. Orgogozo J.M., Gilman S., Dartigues J.F., Laurent B., Puel M., Kirby L.C., Jouanny P., Dubois B., Eisner L., Flitman S., Michel B.F., Boada M., Frank A., Hock C. // *Neurology*. 2003. V. 61. P. 46–54.
21. Koroev D.O., Kotel'nikova O.V., Vol'pina O.M., Zhmak M.N., Kuprianova M.A., Agafonova S.A., Aliluev A.P., Litvinov I.S., Nesmejanov V.A., Ivanov V.T. // *Russ. J. of Bioorganic Chemistry*. 2000. V. 26. P. 291–296 (Короев Д.О., Котельникова О.В., Вольпина О.М., Жмак М.Н., Куприянова М.А., Агафонова С.А., Аллилуев А.П., Литвинов И.С., Несмеянов В.А., Иванов В.Т. // *Биоорганическая химия*. 2000. Т. 26. С. 323–329).
22. Morris R.G.M. // *J. Neurosci. Methods*. 1984. V. 11. P. 47–60.

## New Approaches to the Immunotherapy of Alzheimer's Disease with the Synthetic Fragments of $\alpha 7$ Subunit of the Acetylcholine Receptor

O. M. Vol'pina<sup>a, #</sup>, T. D. Volkova<sup>a</sup>, M. A. Titova<sup>a</sup>, Yu. G. Gershovich<sup>b</sup>, N. I. Medvinskaya<sup>b</sup>, A. N. Samokhin<sup>b</sup>, A. V. Kamynina<sup>a</sup>, V. S. Shalgunov<sup>a</sup>, D. O. Koroev<sup>a</sup>, M. P. Filatova<sup>a</sup>, M. B. Obosnaya<sup>a</sup>, and N. V. Bobkova<sup>b</sup>

<sup>#</sup> Phone: +7 (495) 336-5777; e-mail: volpina@ibch.ru

<sup>a</sup> Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

<sup>b</sup> Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow oblast, 142290 Russia

The effect of immunization with the synthetic fragments of the  $\alpha 7$  subunit of the acetylcholine nicotine receptor on the spatial memory of mice subjected to olfactory bulbectomy, which causes the development of the neurodegenerative disease of Alzheimer's type, was studied. Mice of the NMRI line were immunized with the KLH conjugates of two peptide fragments of the N-terminal fragment of the  $\alpha 7$  subunit extracellular fragment, subjected to olfactory bulbectomy to cause the development of the neurodegenerative disease of Alzheimer's type, and then the state of the spatial memory was evaluated. It was shown that 20% of bulbectomized mice immunized with the N-terminal 1–23 fragment exhibited good spatial memory after training. Immunization with the peptide construct (159–167)–(179–188) consisting of two hydrophilic exposed regions of  $\alpha 7$ -subunit induced good spatial memory in 50% of bulbectomized mice, while in the control group, which received only KLH, none of the animals were educated. Thus, the development of immunotherapy with peptide (159–167)–(179–188) seems to be a promising approach to prophylaxis and treatment of Alzheimer's disease. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2008, vol. 34, no. 1; see also <http://www.maik.ru>

**Key words:** acetylcholine receptor,  $\alpha 7$  subunit; Alzheimer's disease; olfactory bulbectomy; spatial memory; synthetic peptides