

А. П. АНДРЕЕВА, В. М. БЕЛОСТОЦКИЙ, Г. Я. РОЗЕНБЕРГ

ОТСУТСТВИЕ ВЛИЯНИЯ ВИДОВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ГАПТОГЛОБИНОВ НА ПЕРОКСИДАЗНЫЕ СВОЙСТВА ГАПТОГЛОБИН-ГЕМОГЛОБИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

(Представлено академиком С. Е. Севериным 19 VI 1972)

Широкое и интенсивное изучение гаптоглобин-гемоглобиновых (Нр-Нб) комплексов позволило в последние годы выявить ряд принципиальных вопросов. Выделены и изучены гаптоглобины человека, собаки, кролика, крысы, свиньи, недавно нами выделен и охарактеризован Нр лошади (¹). Гаптоглобины большинства видов млекопитающих, в отличие от Нр человека, не имеют генетических форм и по свойству образовывать комплексы с Нб в молярных соотношениях 1:1 они аналогичны Нр человека типа 1—1. Показано, что гаптоглобины животных и человека способны к перекрестному образованию стабильных комплексов с Нб различных видов (²⁻⁴), кроме некоторых аномальных форм Нб (⁵). Образование комплексов Нр-Нб приводит к изменению ряда функциональных свойств гема, в том числе к увеличению его пероксидазных свойств (⁶⁻⁸).

В настоящей работе проведено сравнительное изучение пероксидазных свойств перекрестно образованных Нр-Нб-комплексов, полученных из Нр и Нб соответственно человека, собаки и лошади. Нр лошади и Нр человека выделяли фракционированием сульфатом аммония с последующей хроматографией на ионообменном сефадексе А-50 и гель-фильтрацией на сефадексе Г-200; Нр собаки получали по методу (⁹). Молекулярные веса Нр 1—1 человека, Нр лошади и Нр собаки принимали соответственно равными 85 000 (¹⁰), 71 000 (по данным ультрацентрифугирования) и 80 000 (¹¹). Пероксидазную активность (п.а.) определяли по методу (⁷) и выражали в пероксидазных единицах (п.е.). Концентрацию Нр и Нб О₂ определяли спектрофотометрическим методом, используя $E_{1\text{см}}^{1\%} = 12$ при 280 мμ и $E_{1\text{см}}^{1\%} = 8,5$ при 540 мμ; мет-Нб получали с помощью феррицианида.

На основе данных п.а. было найдено, что все 9 перекрестных Нр-Нб-комплексов являются полностью насыщенными комплексами и содержат 1 моль Нр и 1 моль Нб. Следовательно, стехиометрический характер Нр-Нб-комплексов не зависит от вида Нр и вида Нб. Можно полагать, что Нр и Нб различных видов имеют идентичные участки молекул, которые принимают участие в комплексообразовании. Эквимоларные Нр-Нб-комплексы (для определения значений их п.а.) получали смешением Нр и Нб в количествах, определенных на основании вышеприведенных опытов, а именно: 68 μг Нб человека, лошади или собаки с 85 μг Нр 1—1 человека, с 80 μг Нр собаки или с 71 μг Нр лошади. Для сравнения определяли п.а. гемоглобинов, в тех же количествах, которые использовались для пригото-

Таблица 1

Пероксидазная активность перекрестных Нр-Нб-комплексов
человека, собаки и лошади (в п. е.)

Вид Нр	Нб человека		Нб собаки		Нб лошади	
	окси-	мет- $\frac{1}{10}$	окси-	мет-	окси-	мет-
Нр человека	590	780	610	800	780	940
Нр собаки	600	810	640	810	810	980
Нр лошади	600	800	630	830	840	1020

ления комплексов. Определение п.а. Нб проводили при pH 5,3, а Нр-Нб-комплексов при pH 4. Сравнительные данные по п.а. гемоглобинов следующие: человека НбО₂ 360 и мет-Нб 520, собаки 380 и 560, лошади 530 и 780 соответственно.

П.а. Нб лошади выше по сравнению с п.а. Нб человека и Нб собаки; п.а. последних двух практически одинакова как в окси-, так и в мет-формах. Мет-форма всех трех видов Нб имеет большие значения п.а. сравнительно с оксигенированной формой. Результаты исследования п.а. девяти перекрестно образованных комплексов представлены в табл. 1. Было найдено, что комплексы Нб человека и Нб собаки с любым видом Нр имеют близкие значения п.а., которые составляют 600 п.е. для Нр — НбО₂ и 800 п.е. для Нр — мет-Нб; п.а. мет-формы, как и у самих Нб, также была выше по сравнению с окси-формой. Следовательно, Нб человека и Нб собаки, имея близкие значения п.а. (360—380 п.е. для окси-формы), сохраняют близкую п.а. и в Нр-Нб-комплексе, образованном как с гомологичным Нр, так и с Нр других видов (590—640 п.е.). Комплексы, образованные Нб лошади с любым из исследуемых видов Нр, обладали более высокой (на 20—25 %) п.а. Отсюда можно сделать вывод, что повышение пероксидазных свойств Нр-Нб комплексов не зависит от видовой специфичности Нр и обуславливается лишь п.а. входящего в состав комплекса Нб.

Полученные данные позволяют считать вполне правомерным использовать Нр животных (собаки, лошади) в качестве модели Нр 1—1 при изучении Нр-Нб-комплексов. Нр животных лишены генетического полиморфизма и более доступны для выделения.

Причины усиления пероксидазных свойств Нр-Нб-комплексов сравнительно с исходным Нб в настоящее время широко исследуются⁽¹²⁻¹⁴⁾. Предполагается, что п.а. гемовых белков обусловлена специфически контактами гема с белковой частью молекулы. Показано изменение белкового окружения гема в β-цепях Нб при присоединении к нему Нр, что и приводит к увеличению п.а. комплексов⁽¹²⁾. Поскольку гем находится в гидрофобном кармане каждой цепи Нб между F и E спиральными участками, мы решили сравнить аминокислотную последовательность этих участков для Нб человека, собаки и лошади⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Оказалось, что первичная структура указанных участков Нб лошади имеет несколько аминокислотных замен по сравнению с Нб человека и Нб собаки. Выявлено три замены в α-цепях и три замены в β-цепях: E 14, α-65 (ала → гли); E 20, α-71 (ала → гли); F3, α-82 (ала → асп. кислота); E 16, β-72 (ала → гли); E 17, β-73 (асп → глут); E 19, β-75 (лейц → вал). Можно полагать, что все или некоторые из указанных аминокислотных остатков приводят к изменению гем-белковых контактов в Нб лошади и в образуемых им комплексах с Нр различных видов (сравнительно с Нб человека или собаки), что и обуславливает более высокую их пероксидазную активность.

Центральный институт гематологии и переливания крови
Министерства здравоохранения СССР
Москва

Поступило
21 IV 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. М. Белостоцкий, А. П. Андреева и др., Биохимия, 38, № 5 (1973).
² В. Д. Успенская, С. С. Трапезникова и др., ДАН, 122, 754 (1963). ³ С. В. Laurell, C. Gronvall, Advances Clin. Chem., 5, 135 (1962). ⁴ А. В. Поспелова, В. М. Родионов, Усп. биол. хим., 11, 128 (1970). ⁵ M. Waks, J. de Castro et al., Federat. Proc., 30, 1071, Abstr., 109 (1971). ⁶ M. F. Jayle, Bull. Soc. Chem. Biol., 33, 876 (1951). ⁷ G. E. Connell, O. Smithies, Biochem. J., 72, 115 (1959). ⁸ M. J. Smith, W. S. Beck, Biochim. et biophys. acta, 147, 324 (1967). ⁹ В. Д. Успенская, М. В. Плескова, М. И. Неделева, Вопр. мед. хим., в. 14, 324 (1968). ¹⁰ M. Jayle, G. Boussier, Exp. Ann. Biochim. Med., 17, 157 (1955). ¹¹ А. П. Андреева, А. А. Левина и др., Бюлл. эксп. биол. и мед., 12, 58 (1971). ¹² M. W. Makinen, H. Kon, Biochemistry, 10, 43 (1971). ¹³ H. Hamaguchi, A. Isomoto et al., Biochemistry, 10, 1741 (1971). ¹⁴ G. Braunitzer, K. Hilse et al., Adv. Protein Chem., 19, 1 (1964). ¹⁵ R. T. Jones, B. Brimball, M. Duerst, Federat. Proc., 30, 1207, Abstr. (1971). ¹⁷ M. F. Perutz, Proc. Roy. Soc. B, 173, 113 (1969).