



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.962.4.02 : 543.422.8

МЕЖДОМЕННАЯ ГИБКОСТЬ МОЛЕКУЛЫ ИММУНОГЛОБУЛИНА М ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ

Хургин Ю. И., Шмакова Ф. В.

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

*Каюшина Р. Л., Дембо А. Т., Рольбин Ю. А.,
Асадчиков В. Е.*

*Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова
Академии наук СССР, Москва*

Дамашун Г., Дамашун Х., Плитц П.

*Центральный институт молекулярной биологии
Академии наук ГДР, Берлин*

Иммуноглобулины — весьма конформационно - лабильные белки, их структура в кристаллическом состоянии и в растворе может заметно различаться [1]. Недавно было показано, что при кратковременной инкубации иммуноглобулина М (IgM) в слабокислой среде ($\text{pH} < 4,5$) наблюдается уменьшение поверхности макромолекулы белка, падает скорость ферментативного расщепления олигосахаридных групп и несколько увеличивается скорость ограниченного трипсинолиза [2-4]. На основании этих данных высказано предположение о необратимом конформационном переходе IgM в кислой среде [4].

В настоящей работе методом рентгеновского малоуглового рассеяния показано существенное изменение пространственной структуры IgM в кислой среде.

Препарат $\text{IgM}_{\text{сер}}$ был выделен из крови больного макроглобулинемией по методике работы [5] и для освобождения от агрегатов рехроматографирован на колонке с сефарозой 4В в 0,01 М трис-НСl-буфере ($\text{pH} 8,4$) с 0,3 М NaCl (IgM^I). Часть препарата IgM^I инкубировалась при 20°С в 0,001 н. HCl (IgM^{II}). Затем оба образца (IgM^I и IgM^{II}) диализовали против 0,015 М $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ($\text{pH} 8,6$). Концентрация растворов, определяемая спектрофотометрически ($E_{1\text{см}}^{1\%}(280) = 12,0$), составила для IgM^I 9,6 мг/мл и для IgM^{II} — 11,5 мг/мл. Для рентгеновских измерений растворы помещали в тонкостенные стеклянные капилляры диаметром 1 мм.

Измерение интенсивности малоуглового рентгеновского рассеяния $j(s)$ ($j(s)$ — разность экспериментальных нормированных интенсивностей рассеяния растворами IgM и растворителем) растворами IgM выполнено на дифрактометре типа Кратки с программным устройством, при 20°С, в интервале значений $s = 0,112 - 2,0 \text{ нм}^{-1}$ ($s = (4\pi/\lambda)\sin\theta$, где 2θ — угол рассеяния, $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$ для использованного в работе CuK_α -излучения).

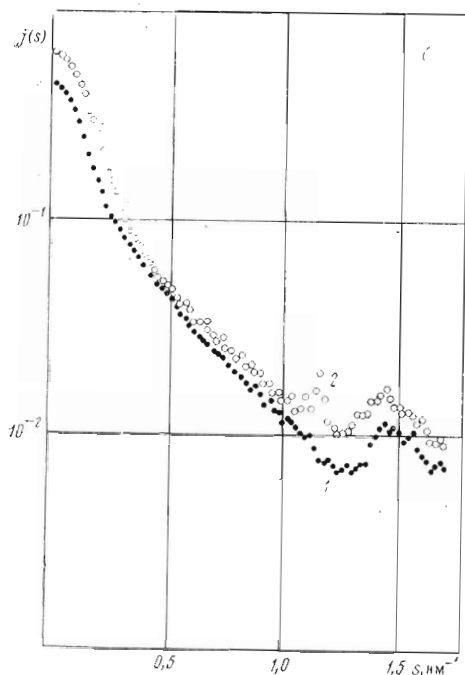


Рис. 1

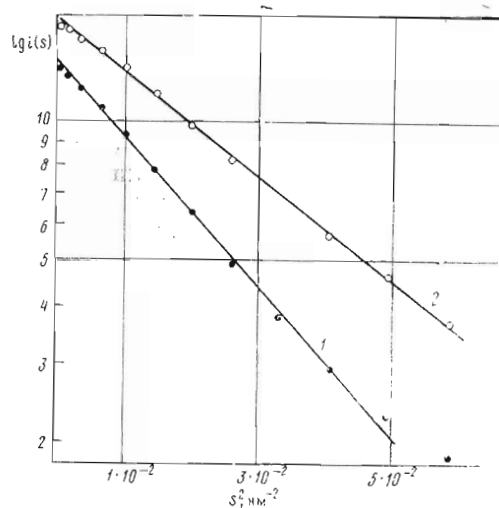


Рис. 2

Рис. 1. Угловая зависимость интенсивности рентгеновского рассеяния $j(s)$ (до внесения коллимационной поправки) растворами $IgM_{сер}$ в карбонат-аммониевом буфере (0,015 М, рН 8,6) для IgM^I (1) и IgM^{II} (2)

Рис. 2. Зависимость интенсивности рассеяния в координатах $lg i(s)$, s^2 (графики Гинье [8]) для IgM^I (1) и IgM^{II} (2)

Для каждого угла рассеяния (рис. 1) регистрировалось не менее $3 \cdot 10^4$ импульсов. Сглаживание кривых рассеяния проводилось с помощью методов третьей степени методом наименьших квадратов [6] и методом частотного фильтрования [7]. Оба метода дали близкие результаты.

Максимальный размер частиц (L) рассчитывался из соотношения [8]:

$$D(r) = (2r^2/\pi) \int_0^{\infty} i(s) s^2 (\sin sr/sr) ds,$$

где $D(r)$ — функция распределения расстояний r внутри частицы ($D(r)=0$ при $r \geq L$), а $i(s)$ — интенсивность рассеяния, исправленная с учетом коллимационных искажений [9, 10]. Величина L оказалась равной для IgM^I 31,2 нм и для IgM^{II} 24,0 нм. Радиусы инерции (R_g) определены по методу Гинье [8] из величины углового коэффициента зависимостей $lg i(s)$ от s^2 (рис. 2). Для IgM^I и IgM^{II} получены значения $R_g^I = 10,6$ нм и $R_g^{II} = 8,9$ нм. Соответствующие значения радиусов инерции (R_s), рассчитанные из уравнения

$$R_s^2 = \int_0^L D(r) r^2 dr / 2 \int_0^L D(r) dr$$

($R_s^I = 10,9$ нм и $R_s^{II} = 8,9$ нм), хорошо согласуются с данными, полученными по методу Гинье.

Близость кривых рассеяния и функций $D(r)$ для $IgM_{сер}$ и $IgM_{е.о.}$ [11] показывает, что оба этих белка имеют, по-видимому, сходные струк-

туры. Ранее на основе данных малоуглового рассеяния для IgM_{Е.О.} предложена модель молекулы в виде плоской звездообразной структуры, состоящей из пяти IgG-подобных субъединиц [11]. После «кислого» перехода радиус молекулы (IgM¹¹) уменьшается на 1,7 нм и максимальный размер — на 7,2 нм (обе величины уменьшились ~на 20%). Эта существенная разница в размерах отражает различия в структуре IgM^I и IgM¹¹, которые могут осуществляться лишь при очень большой междоменной гибкости молекулы IgM.

Полученные данные подтвердили высказанное ранее предположение о компактизации структуры IgM в кислой среде [4]. В первую очередь можно ожидать изменение ориентации Fab-фрагментов относительно внутренней части молекулы IgM-(Fc)₅-фрагмента. Выход Fab-фрагментов из плоскости и изменение угла между ними может привести к частичной экранировке углеводных групп молекулы IgM, благодаря чему эти группы могут стать менее доступными для гликозидаз [2] и молекулы среды [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Kratky O., Pilz I. (1978) *Quart. Rev. Biophys.*, **11**, 39–70.
2. Каверзнева Е. Д., Виха Г. В., Лапук В. А. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1379–1382.
3. Шмакова Ф. В., Виха Г. В., Каверзнева Е. Д. (1977) *Биоорган. химия*, **3**, 1205–1209.
4. Хургин Ю. И., Шерман Ф. Б., Тусупкалиев У., Лапук В. А., Шмакова Ф. В., Климова В. А., Каверзнева Е. Д. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1140–1145.
5. Лапук В. А., Шмакова Ф. В., Каверзнева Е. Д. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1134–1139.
6. Березня И. С., Жидков Н. П. (1959) *Методы вычислений*, т. I, Физматгиз, М.—Л.
7. Damaschun G., Müller J. J., Pürschel H. V. (1971) *Acta cryst.*, **A27**, 11–18.
8. Guinier A., Fournet G. F. (1959) in: *Small Angle Scattering of X-Rays* (J. Wiley and Sons), N. Y.
9. Müller J. J., Damashun G., Walter E. (1977) *Exp. Met. Molekülphysik*, **1**, 11–30.
10. Щедрина Б. М., Фейгина Л. А. (1966) *Кристаллография*, **11**, 159–163.
11. Wilhelm P., Pilz I., Palm W., Bauer K. (1978) *Eur. J. Biochem.*, **84**, 457–463.

Поступило в редакцию
15.VIII.1979

INTERDOMAIN FLEXIBILITY OF IMMUNOGLOBULIN M MOLECULE AS FOUND BY THE SMALL-ANGLE X-RAY SCATTERING

KHURGIN Yu. I., SHMAKOVA F. V., KAYUSHINA R. L., DEMBO A. T.,
ROL'BIN Yu. A., ASADCHIKOV V. E., DAMASCHUN G., DAMASCHUN H., PLITZ P.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry and A. V. Shubnikov
Institute of Crystallography, Academy of Sciences of the USSR,
Moscow; Central Institute of Molecular Biology, Academy
of Sciences GDR, Berlin*

The structure of immunoglobulin M (IgM) was studied by small-angle X-ray scattering method. The radius of gyration (R_g) and maximal dimension of particles (L) for IgM samples were measured at 20° in 0.015 M ammonium carbonate buffer, pH 8.6. The native IgM (IgM_{сеп}) is characterized by R_g 10.6 nm and L 31.2 nm, whereas IgM preincubated in 0.001 n. HCl has smaller molecule dimensions: R_g 8.86 nm and L 24.0 nm. This finding provides evidence in favor of the hypothesis on more compact structure of IgM in acidic media.