



УДК 577.175.443/444.04

РОЛЬ УГЛЕВОДОВ ТИРЕОГЛОБУЛИНА
В ЕГО ГОРМОНООБРАЗУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ.
ПРОТЕИНОЛИЗ ДЕГЛИКОЗИЛИРОВАННОГО ТИРЕОГЛОБУЛИНА

Виха Г. В., Каверзнева Е. Д.

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

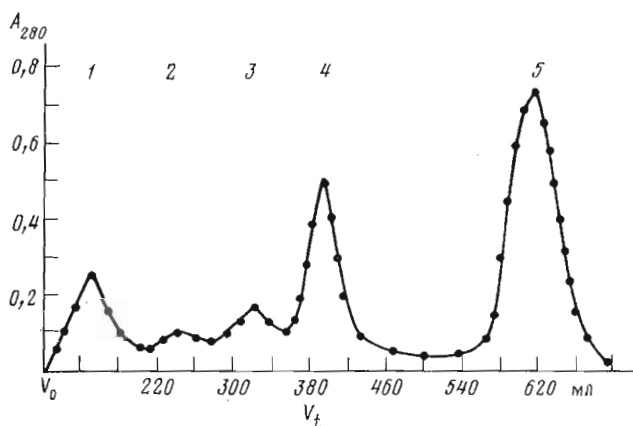
Алимбабаева Н. Т., Бабаев Т. А.

Институт биохимии Академии наук УзССР, Ташкент

В тиреоглобулине путем его иодирования осуществляется биосинтез гормонов тироксина и трийодтиронина, которые сохраняются в виде резервных проформ и по мере физиологической потребности организма поступают в ток крови после протеинолиза иодированного тиреоглобулина. В предыдущем сообщении [1] нами показано, что после ферментативного отщепления части углеводных групп от молекулы тиреоглобулина синтез тироксина в его составе при иодировании *in vitro* резко снижается.

Цель данной работы — исследование влияния углеводных групп тиреоглобулина на его протеинолиз, в результате которого образующиеся гормоны поступают в кровоток.

Для модификации углеводного компонента тиреоглобулина (выделен из щитовидной железы крупного рогатого скота, как описано в работе [2]) его подвергали действию гликозидаз*, затем модифицированный тиреоглобулин выделяли на колонке с сефарозой 4В. Данные по содержанию углеводов в исходном и модифицированных тиреоглобулинах приведены в



Хроматография тиреоглобулина (100 мг) после его инкубации с проназой на сефадексе G-25 (колонка 1,6×200 см) в 0,01 М трис-HCl-буфере, pH 7,5, содержащем 0,3 М NaCl

* Использованы следующие препараты гликозидаз: нейраминидаза (КФ 3.2.1.18) *Vibrio cholerae* (Англия), иммобилизованная на BrCN-сефарозе; α -D-маннозидаза (КФ 3.2.1.24) из семян люпина горького *Canavalia gladiata*, очищенная по методу Ли [3], уд. акт. 0,7–1,3 ед./мг белка; β -D-N-ацетилглюкозаминидаза (КФ 3.2.1.30) из эпидидимиса хряка, очищенная по методу [4], уд. акт. 100 ед./мг белка; β -D-галактозидаза (КФ 3.2.1.23) из печени крупного рогатого скота (получена хроматографией сульфатно-аммонийной фракции на DEAE-сефадексе А-50 при pH 6,4; уд. акт. 0,5 ед./мг белка. В этом препарате содержалась α -L-фукозидаза (КФ 3.2.1.51), уд. акт. 0,05 ед./мг белка).

Содержание углеводов в тиреоглобулинах после их ферментативного
дегликозилирования (в процентах к общей массе тиреоглобулина)

В скобках приведено отщепление данного сахара в процентах
к его содержанию в исходном белке

Тиреоглобулин	NeuNAc	Man	Gal	Fuc	GlcNAc
Исходный	1,15	2,43	1,43	0,63	2,78
Модифицирован- ный * I	0,88 (23,5)	2,48 (0)	1,46 (0)	0,63 (0)	2,77 (0)
II	0,94 (18,3)	1,75 (28)	1,05 (26,6)	0,57 (6,6)	1,37 (29,4)
III	0,75 (34,8)	2,46 (0)	1,43 (0)	0,63 (0)	2,83 (0)

* Образцы I и III получали обработкой нейраминидазой (рН 6,0; 18° С) в течение 24 и 44 ч соответственно; для получения образца II тиреоглобулин обрабатывали смесью гликозидаз при рН 6,4 и 18° С в течение 4 сут.

Таблица 2

Выход (%) фракций проназных гидролизатов
исходного и дегликозилированных тиреоглобулинов
Определение по Лоури [6] с каллбровкой по тиреоглобулину
и весовым методом

Тиреоглобулин	Фракции				
	1	2	3	4	5
Исходный	10,1	7,5	12,9	24,4	45,8
Модифицированный I	30,0	21,8	10,6	17,7	20,0
II	27,2	9,7	15,6	21,7	25,8
III	53,4	5,4	8,4	12,8	20,0

табл. 1. С целью изучения устойчивости к протеинолизу исходные и модифицированные тиреоглобулины инкубировали с проназой *P. Streptomyces griseus* (ФРГ) 24 ч при 37° С (0,1 М К, Na-фосфатный буфер, рН 7,5, содержащий 1 мМ ацетат кальция и 0,01% азид натрия; S/E 100 : 1, по весу). При гидролизе исходного тиреоглобулина образуется (как обнаружено хроматографией на сефадексе G-25) пять гликопептидных и пептидных фракций, из которых фракция 5 имеет объем элюции много больший, чем полный объем колонки (рисунок).

Во фракциях 4 и 5, как установлено УФ-спектроскопически и по результатам анализа с I^{125} , содержатся тироксин и триодтиронин. Следует отметить, что при гидролизе инвертазы проназой в этих же условиях не обнаружено фракции, выходящей за полным объемом колонки [5].

При протеинолизе модифицированного частичным отщеплением углеводных групп тиреоглобулина также образуются пять фракций, которые на сефадексе G-25 имеют те же объемы элюции, как и в случае хроматографии проназного гидролизата исходного тиреоглобулина. Однако в зависимости от глубины отщепления углеводных групп изменяется соотношение высокомолекулярной фракции 1 и фракций 4 и 5, содержащих триодтиронин и тироксин. Анализ этих фракций показал, что гидролиз проназой тиреоглобулина, в котором удалено только 23% N-ацетилнейраминовои кислоты (тиреоглобулин I), приводит к увеличению содержания высокомолекулярной фракции 1 с 10 до 30% и уменьшению доли фракций 4 и 5, содержащих гормоны, с 24 до 18% и с 46 до 20% соответственно (табл. 2). Примерно такое же изменение наблюдается во фракциях 1, 4 и 5, если гидролизу проназой подвергается модифицированный тиреоглобулин II, отличающийся от образца I содержанием нейтральных и аминокислот. Следовательно, отщепление других углеводов не влияет на изменение резистентности к гидролизу проназой. И наконец, удаление 35% N-ацетилнейраминовои кислоты из тиреоглобулина приводит к увеличению выхода фракции 1 с 10 до 53% за счет 2-кратного уменьшения выхода фракций 4 и 5. Таким образом, удаление N-ацетилнейраминовои кислоты

вызывает повышение резистентности тиреоглобулина к протеинолизу. Очевидно, только от степени сиапирования тиреоглобулина зависит выход гормонов из их резервной формы в кровоток. Вероятно, уменьшение суммарного отрицательного заряда молекулы тиреоглобулина при десиапировании инициирует конформационные перестройки, приводящие к компактизации молекулы тиреоглобулина и увеличению резистентности к протеинолизу.

Факт повышения резистентности к протеинолизу после отщепления части углеводных групп отмечен также для инвертазы [5] и иммуноглобулина М [7].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаев Т. А., Алимбабаева Н. Т., Виха Г. В. Биооргани. химия, 1978, т. 4, № 12, с. 1631–1634.
2. Городецкий С. И., Осечинский И. В., Соколов А. В., Малышева Л. Ф., Меклер Л. Б. Пробл. эндокринолог., 1972, т. 5, № 1, с. 93–97.
3. Lee Y. T. J. Biol. Chem., 1966, v. 241, № 4, p. 1010–1012.
4. Виха Г. В., Каверзнева Е. Д., Хорлин А. Я. Биохимия, 1971, т. 36, вып. 1, с. 33–41.
5. Виха Г. В., Карпова О. В., Ковалева Н. С., Юркевич В. В. Биол. науки, 1981, № 12, с. 20–25.
6. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. H. J. Biol. Chem., 1951, v. 193, № 1, p. 265–275.
7. Шмакова Ф. В., Виха Г. В., Ланук В. А., Каверзнева Е. Д. Биооргани. химия, 1977, т. 3, № 9, с. 1205–1209.

Поступила в редакцию
29.III.1983

ROLE OF THYROGLOBULIN CARBOHYDRATES IN ITS HORMONE LIBERATING FUNCTION. PROTEOLYSIS OF THE DEGLYCOSYLATED THYROGLOBULIN

VIKHA G. V., KAVERZNEVA E. D., ALIMBABAIEVA N. T., BABAIEV T. A.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow; Institute of Biochemistry, Academy
of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent*

The proteolysis of thyroglobulin was performed after partial cleavage of its carbohydrate moiety. It was demonstrated that enzymatic removal of some thyroglobulin sialic acids results in increasing its resistance to proteolysis. Apparently, sialic acids are essential for maintaining an optimal thyroglobulin conformation for the action of proteases at hormonal biosynthesis from the reserve form.

Технический редактор *Е. С. Кузьмишкина*

Сдано в набор 20.05.83 Подписано к печати 07.07.83 Т-09973 Формат бумаги 70×108¹/₄;
Высокая печать Усл. печ. л. 12,6 Усл. кр.-отт. 11,2 тыс. Уч.-изд. л. 13,7 Бум. л. 4,5
Тираж 871 экз. Зак. 2803

Издательство «Наука», 103717, ГСП, Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука». 121099, Москва, Шубинский пер., 10