



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 4 * № 6 * 1978

УДК 547.962.02 + 611.013.053

ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМБРИОНАЛЬНОГО ПРЕАЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА

*Оводов Ю. С., Калашников В. В., Курика А. В.,
Павленко А. Ф., Татаринов Ю. С.*

*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ
Академии наук СССР, Владивосток;*

*2-й Московский государственный медицинский институт
им. Н. И. Пирогова, Москва*

Дана общая химическая характеристика эмбрионального преальбумина, выделенного из сыворотки плодов человека. Он является сульфатированным гликопротеином (содержание сульфата составляет 2%, углеводов — 21%, белка — 76,9%). Углеводную часть входят манноза, фукоза, галактоза, глюкоза, глюказамин, галактозамин в следующих весовых соотношениях: 8,1: 1,5: 1,0: 1,1 : 1,5 : следы. Белковая часть характеризуется высоким содержанием остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот, а также пролина.

Открытие синтеза организмом альфа-фетопротеина при химически индуцируемой гепатоме у мышей [1] и при гепатоцеллюлярном раке [2] положило начало новому направлению в иммунодиагностике злокачественных новообразований. В настоящее время найдено несколько эмбриональных белков, или фетопротеинов, которые могут быть использованы как маркеры канцерогенеза в клинике и эксперименте [3, 4]. Многие из изученных фетопротеинов являются сиалопротеинами с высоким содержанием углеводов. Изучение структуры и биосинтеза эмбриональных белков — один из важнейших аспектов в изучении клеточных механизмов канцерогенеза.

В настоящей работе приводятся результаты определения химического состава эмбрионального преальбумина (ЭПА), выделенного из сыворотки крови плодов человека [5, 6]. Ранее было показано, что этот эмбриональный преальбумин присутствует в экстрактах из adenокарцином некоторых тканей [5, 6].

Данные по общему анализу ЭПА представлены в табл. 1, из которой видно, что антиген является сульфатированным гликопротеином. Наличие сульфата, кроме того, подтверждается присутствием полос поглощения при 843 и 1240 см⁻¹ на ИК-спектрах.

Качественный и количественный анализ на сахара показал, что в состав ЭПА входят фукоза, галактоза, манноза, глюкоза, глюказамин и галактозамин. Сиаловые кислоты не были обнаружены ни одним из методов. Данные по количественному содержанию сахаров приведены в табл. 2, результаты аминокислотного анализа — в табл. 3. Существенных различий между гидролизатами с разным временем гидролиза (см. «Экспер. часть») обнаружено не было.

Таблица 1

Общий химический анализ ЭПА

Состав	мг/100 мг, без золы	Состав	мг/100 мг, без золы
Белок	76,9	Сульфат	2,0
Углеводы	21,0	Фосфат	0,0
Сиаловые кислоты	0,0	Нуклеиновые кислоты	Сл.
Гексозамины	Сл.		

Таблица 2

Содержание моносахаридов в ЭПА

Моно- сахариды	мг/100 мг	Весовое соотношение	Моно- сахариды	мг/100 мг	Весовое соотношение
Man	18,8	8,1	Glc	2,5	1,4
Fuc	3,3	1,5	GlcN	3,2	1,5
Gal	2,2	1,0	GalN	Сл.	Сл.

Таблица 3

Аминокислотный состав ЭПА

Амино- кислота	мг/100 мг белка	Весовое соотношение	Амино- кислота	мг/100 мг белка	Весовое соотношение
Cys(O ₃ H)	6,62	4,7	Met	Сл.	Сл.
Asx	12,43	8,5	Ile	3,65	2,5
Thr	5,60	3,8	Leu	3,65	2,5
Ser	4,63	3,2	Tyr	1,46	1,0
Glx	13,65	9,3	Phe	3,65	2,5
Pro	13,90	9,5	His	2,19	1,5
Gly	8,29	5,7	Lys	4,14	2,8
Ala	2,92	2,0	Arg	5,12	3,5
Cys	2,19	1,5	Trp	Не обнаружено	
Val	5,60	3,8			

Так как триптофан в условиях кислотного гидролиза полностью разрушается, данные по его содержанию в образце в табл. 3 отсутствуют. Специальными методами содержание триптофана не определяли.

Белковая часть эмбрионального преальбумина характеризуется высоким содержанием остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот, а также пролина. Резкое преобладание этих аминокислот над другими позволяет предполагать преимущественный тип амидной связи между углеводной и белковой частью молекулы, хотя не исключается возможность других типов связи.

Таким образом, ЭПА представляет собой высокомолекулярный гликопротеин с высоким отрицательным зарядом, что, естественно, затрудняет определение его гомогенности обычными методами. Антигенная гомогенность подтверждается тем, что при иммуноэлектрофорезе в агаре антиген дает одну полосу против специфической антисыворотки.

Химический анализ очищенного антигена показал, что он представляет собой сульфатированный гликопротеин. Неравномерность распределения сульфатных групп, вероятно, обусловливает молекулярно-зарядовую гетерогенность ЭПА, проявляющуюся при электрофорезе в полиакриламидном геле.

Полученные данные свидетельствуют о не совсем обычном химическом составе ЭПА по сравнению с ранее изученными гликопротеинами, присутствующими одновременно в эмбриональных и раковых тканях.

Экспериментальная часть

Эмбриональный преальбумин получали из сыворотки крови плодов человека путем фракционного осаждения сульфосалициловой кислотой, ионообменной хроматографией и изоэлектрическим фокусированием [5]. Полученный препарат обладал иммунохимической гомогенностью, т. е. образовывал одну полосу преципитации при иммунодиффузии и иммуноэлектрофорезе в агаре [5, 6], но был гетерогенен при электрофорезе в полиакриламидном геле.

Углеводы определяли фенол-сернокислотным и орциновым методами [7, 8], гексозамины — по методу Эльсона — Моргана [9], сиаловые кислоты — по методу Уоррена [10], белок — по методу Лоури [11] и нуклеиновые кислоты — как описано в [12]. Содержание сульфата в образце было определено методом Доджсона [13], фосфата — по работе [14].

Анализ на аминокислоты и гексозамины проводили после гидролиза образца 6,0 н. HCl в течение 24, 48 и 72 ч и 4,0 н. HCl в течение 12 ч при 105° на аминокислотном анализаторе Bio-Cal 3201 (LKB, Швеция).

Перед анализом на сахара образец гидролизовали 6,5 ч 2,0 н. H₂SO₄ при 100°.

Качественный моносахаридный состав определен исходящей бумажной хроматографией на бумаге FN-15 (Filtrak, ГДР) в системе *n*-бутанол — пиридин — вода (6 : 4 : 3).

Количественное определение моносахаридов было проведено ионообменной хроматографией на анионообменной смоле JRC 11 (Jeol, Япония) с элюзией линейным градиентом (0,1 → 0,128 M) боратного буфера (pH 8,4 → 10,0) при 65°; содержание углеводов в элюате определяли орциновым методом.

Инфракрасные спектры были получены на спектрофотометре Specord 75 IR (Carl Zeiss Jena, ГДР) в вазелиновом масле.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абелев Г. И. (1963) Тр. VIII Международного противоракового конгресса, т. 3, с. 224—227, М.
2. Татаринов Ю. С. (1963) I Всес. биохим. съезд, т. 2, с. 274, Изд-во АН СССР, М.—Л.
3. Alexander P. (1972) Nature, 235, 137—140.
4. Martin F., Martin M. S. (1976) Eur. J. Cancer, 12, 165—175.
5. Калашников В. В., Борисенко С. А., Татаринов Ю. С. (1976) Бюл. экспер. биол., 6, 725—726.
6. Tatarinov Y. S., Kalashnikov V. V. (1977) Nature, 265, 638—639.
7. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. (1956) Anal. Chem., 28, 350—356.
8. Winzler R. J. (1955) Meth. Biochem. Analysis, 2, 279—311.
9. Elson L. A., Morgan W. T. Y. (1933) Biochem. J., 27, 1824—1826.
10. Warren L. (1959) J. Biol. Chem., 234, 1974—1975.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Fasr A. L., Randal R. J. (1951) J. Biol. Chem., 193, 265—275.
12. Спирин А. С. (1958) Биохимия, 23, 656—662.
13. Dogson K. S., Price R. G. (1962) Biochem. J., 84, 106—108.
14. Chen P. S., Jr., Toribara T. I., Watner H. (1956) J. Anal. Chem., 28, 1756—1758.

Поступила в редакцию
28.XI.1977

CHEMICAL CHARACTERIZATION
OF HUMAN EMBRYONIC PREALBUMIN

OVODOV Yu. S., KALASHNIKOV V. V., KURIKA A. V.,
PAVLENKO A. F., TATARINOV Yu. S.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East
Scientific Center, Academy of Sciences of the USSR,
Vladivostok; N. I. Pirogov 2nd State Medical Institute, Moscow*

General chemical characterization of embryonic prealbumin isolated from human embryonic serum was given. The preparation is a sulfated glycoprotein containing 76,9% protein, 21% carbohydrate, and 2 % sulfate groups. The carbohydrate portion is composed of mannose, fucose, galactose, glucose, glucosamine and galactosamine in the following weight ratio 8.4:1.5:1.0:1.1: 1.5: traces, respectively. The protein constituent is characterized by high contents of aspartic and glutamic acids as well as of proline.
