

OSZILLOPOLAROGRAPHISCHES VERHALTEN EINIGER EIWEISSSTOFFE

OTAKAR MACH

Institut für Hämatologie und Bluttransfusion in Praha

Albumin, γ -globulin, fibrinogen a hemoglobin skýtajú na oscilopolarografické krivke shodné zářezy. Vlivem tepelné denaturace se však tyto zářezy posunují k pozitivnějším potenciálům. Je sledován vliv formaldehydu a peroxydu vodíku na křivky bílkovin. Rovněž byly zkoumány některé interakce bílkovin s antigeny.

Diese Arbeit befasst sich mit dem oszillopolarographischen Verhalten einiger Eiweissstoffe wie Albumin, γ -Globulin, Fibrinogen und Hämoglobin, bei denen die Möglichkiet der qualitativen und quantitativen Bestimmung verfolgt wurde.

Die Versuche wurden in Phosphat Puffer vom pH 7,1, μ 0,15, 0,15 m-NaCl, 1 m-NaCl und 0,3 m Natriumazetat ausgeführt. Diese Lösungen dienten auch als Lösungsmittel für die Eiweissstoffe bei diesen Untersuchungen. Die Bestimmung der nativen isolierten Eiweissstoffe sind im Konzentrationsbereich von 10—70 μ g/ml, d. h. in 0,01—0,07 % Lösungen möglich.

Alle untersuchte Eiweissstoffe bieten Kapazitätseinschnitte vom ähnlichen Q -Wert (0,42), ähnlich wie schon von anderen Autoren gefunden wurde [1, 2] (Abb. 1). Eine qualitative Unterscheidung der Mischungen ist leider nur in einigen Fällen, z. B. bei der Mischung Hämoglobin-Cyanhämoglobin möglich.

Das Ferritin bietet in 1 m-NaCl (Abb. 2) zwei kathodische Einschnitte vom Q 0,36 und Q 0,83; in anderen Grundlösungen hat die Kurve gleiche Form wie bei anderen Eiweissstoffen.

Charakteristische Einschnitte bieten einige Derivate der Eiweissstoffe. Es wurde deswegen die Abhängigkeit des Q -Wertes vom Substituent oder modifizierender Gruppe untersucht.

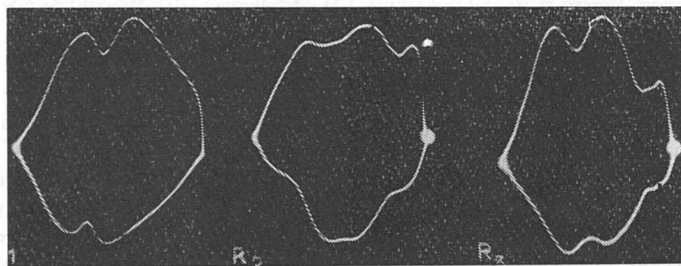


Abb. 1. $dE/dt = f_1(E)$ -Kurve des γ -Globulins von der Konzentration 0,07 % in Phosphat Puffer pH 7,1. — Abb. 2. $dE/dt = f_1(E)$ -Kurve des Ferritins von der Konzentration 0,04 % in 1 m-NaCl. — Abb. 3. $dE/dt = f_1(E)$ -Kurve des Azetylalbumins von der Konzentration 0,05 % in Phosphat Puffer pH 7,1.

Azetylhemoglobin bietet in Phosphat Puffer zwei Einschnitte (Q 0,48 und Q 0,85), menschliches Azetyl-Serumalbumin mit 50 Azetylgruppen (Abb. 3) zwei Einschnitte (Q 0,45 und Q 0,77). Der für die Azetylgruppen charakteristische zweite Einschnitt verkleinert sich mit der Erhöhung der Konzentration.

Das Cyanhämoglobin bietet zwei Einschnitte (Q 0,28 und Q 0,40); der erste von ihnen (Q 0,28) ist charakteristisch für die Cyangruppe und seine Tiefe ist von der Konzentration abhängig.

In allen diesen Fällen sind die für die Eiweissstoffe charakteristischen Einschnitte an die Seite, wo der Einschnitt der modifizierenden Gruppe liegt, verschoben.

Es wurde auch das oszillopolarographische Verhalten der nativen Rinden-Heteroplasma studiert. In Phosphat Puffer pH 7,1 entsteht ein Einschnitt vom selben Q -Wert, wie bei anderen Eiweissstoffen (Abb. 4a). Durch Erhitzen mit Formol oder Formol und Wasser-

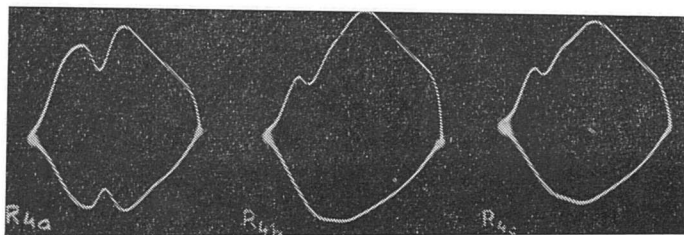


Abb. 4. Einfluss der Denaturation auf die Kurve der nativen Heteroplasma. Phosphat Puffer pH 7,1.

a) native Heteroplasma; b) durch Erhitzen denaturiert; c) Mischung der nativen Heteroplasma und denaturierten (3 : 1).

stoffperoxyd entsteht die gleiche Kurve. Doch durch das Erhitzen ohne Formol- oder H_2O_2 -Zugabe verschiebt sich der kathodische Einschnitt zu positiven Potentialen (Q 0,22) und der anodische Einschnitt verschwindet (Abb. 4b). Auch bei Zugabe von sehr kleiner Menge, durch Wärme denaturierter Heteroplasma zur nativen Heteroplasma wird derselbe Effekt beobachtet (Abb. 4c).

Bei allen diesen Verbindungen wurden keine grosse Differenzen in den physikalisch-chemischen Eigenschaften (optische Drehung, innere Viskosität) gefunden. Diese Effekte sind von dem Gehalt der freien $-S-S-$ und $-SH$ -Gruppen abhängig und werden durch Maskierung mit Formol oder Oxydation durch H_2O_2 gehemmt. Das gleiche oszillopolarographische Verhalten wie bei der durch Wärme denaturierten Plasma wurde auch bei anderen Eiweissstoffen schon nach milder Denaturation gefunden.

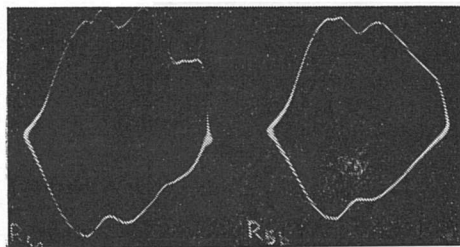


Abb. 5. Oszillopolarographisches Verfolgen einer Interaktion.

a) Serum *Antiglobulinum humanum*; b) wie aber nach Zugabe von γ -Globulin; 0,15 M-NaCl.

Es wurde auch oszillopolarographisch die Interaktion zwischen einigen Eiweissstoffen und Antigen—Antikörpern studiert. Die Abbildung 5a zeigt die Kurve eines spezifischen Antigen und zwar des Serum *Antiglobulinum humanum*. Dieses bietet drei Einschnitte, einen bei Q 0,45 (charakteristisch für Eiweissstoffe) und zwei Einschnitte bei Q 0,33 und Q 0,82. Bei Zugabe kleiner Mengen (oder Titrieren) von γ -Globulin

vermindern sich diese zwei Einschnitte (Abb. 5b), was mit der Bildung des Eiweisskomplexes verbunden ist.

Aus diesen Experimenten zeigt sich auch eine Möglichkeit der Anwendung bei Studium

der Interaktionen zwischen Makromolekülen oder zwischen einem Makromolekül und Molekül oder Ion.

Die bisherigen Ergebnisse erlauben aber noch nicht die Erklärung der beobachteten Effekte; es wird auf diesem Gebiet weiter gearbeitet.

Zusammenfassung

Albumin, γ -Globulin, Fibrinogen und Hämoglobin bieten an der oszillopolarographischen Kurve identische Einschnitte, die sich nach der Denaturierung zu positiveren Potentialen verschieben. Es wurde auch die Interaktion zwischen einigen Eiweissstoffen und Antigen—Antikörpern studiert.

ОСЦИЛЛОПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ

ОТАКАР МАХ

Институт гематологии и переливания крови в Праге

Альбумин, γ -глобулин, фибриноген и гемоглобин дают на осциллополярографической кривой одинаковые зубцы. Под влиянием термической денатурации эти зубцы сдвигаются в направлении более положительных потенциалов. Исследуется влияние формальдегида и перекиси водорода на кривые белков. Изучались также некоторые случаи взаимодействия белков с антигенами.

LITERATUR

1. Kaláb D., Pharmazie 10, 528 (1955). — 2. Kalaidzhiev A. T., Waltschewa L. W., Izv. Fiziolog. Inst. Akad. Nauk Sofia 4, 207 (1960).

Otakar Mach, Praha 2, U nemocnice 1, Ústav hematologie a krevní transfuse.