

研究简报

聚氨酯表面偶联重组水蛭素
及其抗凝血酶活性的评价*

潘仕荣** 王琴梅 刘 晃 阮慧敏

(中山大学附属一院, 广州 510080)

摘要 在 PU 和 Chro 表面上涂覆含羧基硬段的 PU1 溶液并用次甲基蓝吸附法测定表面羧基含量; 用 EDC 接枝牛血清白蛋白并用 FT-ATR-IR 谱的差减测定表面 BSA 接枝量; 用 EDC 偶联 rHir 并用放射性同位素测定表面 rHir 偶联量, 最后用白陶土部分凝血酶时间测定 (KPTT)、凝血酶原测定 (PT)、凝血酶时间测定 (TT) 试验评价样品的抗凝血酶活性。CPU 和 C-Chro 表面羧基含量分别为 3.77 和 3.03 mmol/m², CPU-BSA 和 C-Chro-BSA 表面 BSA 含量分别为 426 和 262 mg/m², CPU-BSA-¹²⁵I-rHir 和 C-Chro-BSA-¹²⁵I-rHir 表面 rHir 含量分别为 716.7 和 691.1 μg/m², 比对照样品都有很大的提高。抗凝血酶试验评价表明, rHir 偶联样品的 KPTT、PT、TT 时间都明显延长, 它们的抗凝血酶活性确有提高, 抗血栓性能得到有效的改善。

关键词 重组水蛭素, 聚氨酯, 偶联, 牛血清白蛋白, 抗凝血酶的活性

学科分类号 R973.2, R318.08

20 世纪 60 年代以来, 聚氨酯在医学领域得到广泛的应用, 成为制造人工心脏、人工血管、医用导管、心脏起搏器等的主要材料之一。为了满足长期与血液相接触的要求, 聚氨酯的抗血栓性必须进一步提高。水蛭素 (hirudin) 是一种多肽, 具有与凝血酶高度特异性结合, 阻止凝血因子 V、VIII、IX 活化, 阻断血小板释放和聚集, 引起凝血酶原-血小板受体复合物的离解, 从血管内皮转移活化的 X 因子等生物功能, 其抗血栓性比肝素强得多^[1]。天然水蛭素由水蛭的唾液制取, 来源有限, 近年已使用重组 DNA 技术克隆出水蛭素基因, 制备重组水蛭素 (recombinant hirudin, rHir), 用于临床抗凝研究。将 rHir 共价结合到生物材料表面, 改善抗血栓性, 这是国外刚起步的工作, 许多学者已做了有益的尝试^[2~4]。小径人工血管的长期植入往往失败, 内腔过早发生血栓堵塞是主要原因。本文在聚氨酯表面先接枝牛血清白蛋白, 再进一步键合重组水蛭素, 评价了材料表面的抗凝血酶活性。该工作对改善聚氨酯人工血管内腔的抗血栓性能, 促进自然内皮细胞化, 解决小径人工血管长期植入后通畅率低下的问题具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 聚合物: a. 聚碳酸酯聚氨酯 (PU), 本实验室制备, 由聚六亚甲基碳酸酯二醇、二苯基甲烷二

异氰酸酯、乙二胺等合成^[5], 溶剂为二甲基甲酰胺 (DMF), 所得的聚合物溶液倒入水平玻璃模具中, 烘干后得到 PU 无色透明的薄片, 厚度约 0.5 mm。b. 含羧基的聚碳酸酯聚氨酯 (PU1), 本实验室制备^[5,6], 除扩链剂用二羟甲基丙酸代替乙二胺外, 其他原料同 PU, 将聚合物溶液倒入蒸馏水中沉淀, 烘干后得浅黄色透明固体。c. ChoroFlex (Chro): 美国 PolyMedica 公司出品, 是国外医学常用的一种聚碳酸酯聚氨酯, 产品以二甲基乙酰胺的溶液提供, 制片方法同 PU, 用作对照研究。

1.1.2 生化试剂: 凝血酶, 美国 Sigma 公司, 批号 36F94781, 活性 60 U/mg (NIH 标准)。rHir, 大连高新生物制药公司提供, 使用凝血酶, 按文献 [7] 测定, 抗凝血酶活性为 2.7×10^4 ATU/mg。牛血清白蛋白 (BSA) 和盐酸乙基-3-(二甲氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC), 美国 Sigma 公司。2-(N-吗琳代) 乙烷磺酸 (MES), 超纯级, AMRCO 分装品 (上海生物工程技术有限公司)。Na-¹²⁵I, 北京中国原子能科学院同位素研究所。白陶土部分凝血酶时间测定 (KPTT) 试剂盒, 上海荣盛生物技术公司。凝血酶原测定 (PT) 试剂盒, 上海太阳生物技术公司。凝血酶时间测定 (TT) 试剂盒, 上海

* 国家自然科学基金资助项目 (30070223)。

** 通讯联系人。

Tel: 020-87755766-8163, E-mail: gzpsr@163.net

收稿日期: 2003-01-06, 接受日期: 2003-02-27

太阳生物技术公司。

1.2 实验方法

1.2.1 聚氨酯表面的羧基化 (CPU): 将 PU1-异丁酮-2-DMF (质量比为 4 : 96 : 4) 配成溶液, 涂覆于 PU 薄片上, 60℃干燥 2 h, 共重复 3 次, 得 CPU。表面羧基浓度的测定: 次甲基蓝溶解于 1.2 g/L Tris 溶液中, 浓度为 0.05 g/L。将 PU、CPU 试片裁成 1 cm×2 cm, 每组 3 片, 浸入次甲基蓝溶液中, 1 h 后取出, 蒸馏水清洗 3 次, 再浸入 5 g/L Tris-乙醇 (体积比 1 : 1) 10 ml 溶液中洗脱, 洗脱液在 752C 紫外分光光度计 (上海第三分析仪器厂) 上测定 611 nm 处的吸光度 (A_{611}), 按拟合方程 $\rho = 12.06A + 0.224$ ($n=7$, $r=0.9965$) 求出洗脱液浓度 ρ , 试片表面羧基含量 (mmol/m²) 为: 洗脱液浓度×洗脱液体积 / (次甲基蓝分子质量×试片表面积), 取平均值^[6]。以羧基化的 Chro (C-Chro)、无羧基化的 PU 和 Chro 作对照。

1.2.2 羧基化聚氨酯表面接枝 BSA (CPU-BSA): 将 EDC 溶解于蒸馏水/乙醇 (1 : 1) 溶液中, 浓度为 10 g/L, 方条状的 CPU 试片置于含 EDC 溶液的试管中, 塞子密封, 固定在旋转器上, 室温作垂直 360°旋转, 1 h 后停止, 取出试片用蒸馏水清洗 3 次, 再放入含 2 g/L BSA 水溶液的试管中, 在旋转器上室温旋转 2 h, 试片用 0.05% 吐温-20 的磷

酸盐缓冲溶液 (pH=7.4) 超声清洗 3 次以除去吸附的 BSA^[8]。C-Chro、无羧基化的 PU 和 Chro 也同步制备 (C-Chro-BSA、PU-BSA 和 Chro-BSA), 以作对照。表面 BSA 接枝量的测定: 将定量 BSA 涂覆于 C-Chro 样片表面上 (C-Chro-coat-BSA), 在 EQUINOX-55 红外光谱仪 (德国 Bruker 公司) 上测定其傅里叶变换衰减全反射红外光谱 (FT-ATR-IR), 上述样品的 BSA 接枝片也同步测定, 利用差减法计算 BSA 接枝量。

1.2.3 聚氨酯-BSA 表面偶联重组水蛭素: 采用氯胺-T 法, 由 Na-¹²⁵I 标记 rHir, 经 Sephadex 层析柱纯化, 所得 ¹²⁵I-rHir 标记率为 85.6%, 放射比活度为 5.6×10^9 Bq/g。将 ¹²⁵I-rHir 用 0.05 mol/L MES-0.05 mol/L NaCl (1 : 1 体积比) 配成 52.8 MBq/L 的溶液 (pH=4.75)。EDC 溶解于 0.05 mol/L MES 中 (pH=4.75), 浓度 10 g/L。CPU-BSA 试片放入含 EDC 缓冲溶液的试管内, 塞子密封, 在旋转器上室温旋转。2 h 后取出试片, 蒸馏水清洗 3 次, 将试片裁成 1 cm×1 cm 方片, 每片放入小容量瓶中, 倒入 1 ml ¹²⁵I-rHir 缓冲溶液, 4℃先静置 1 h, 再在摇床室温振荡 24 h, 取出用 0.05% 吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液 (pH=7.4) 清洗 3 次, 制得 CPU-BSA-¹²⁵I-rHir 样品^[9] (图 1)。在 FMJ-182γ 计数器 (上海原子核研究所日环仪器厂) 测定 CPU-BSA-¹²⁵I-rHir 样片的放射性, 计算表面结合的 rHir 量。C-Chro-

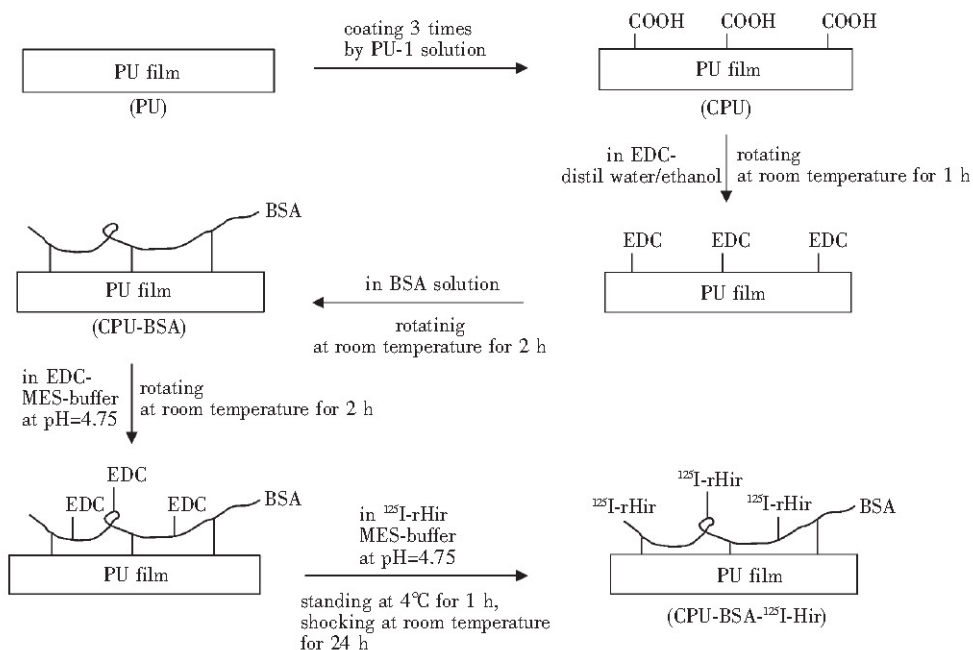


Fig. 1 Schematic illustration of immobilization of rHir to specimens surface

¹²⁵I-rHir 制备和测定同上, 此外, CPU-BSA 片不加 EDC, 没有偶联, 只有吸附的对照样片 (CPU-BSA+¹²⁵I-rHir) 亦以相同步骤制备和测定.

1.2.4 抗凝血酶活性试验: 将直径 1 cm, 长 7 cm 的玻璃试管用 8%PU 溶液涂覆, 80℃烘箱中干燥, 重复 3 次. 试管内壁的羧基化、接枝 BSA、偶联 rHir 的步骤同试片样品, 但使用无标记的 rHir, 制得 CPU-BSA-rHir. Chro-BSA-rHir 样管的制备同上. 无偶联的 CPU、Chro 和玻璃样管用作对照. 在新西兰白兔颈静脉上采血, 1/10 体积 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝, 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上层血浆. 试管内加血浆 0.1 ml, 再加 37℃预热的 KPTT 试剂 0.1 ml, 37℃孵育 3 min, 再加入 0.1 ml 0.025 mol/L 氯化钙, 计时, 出现纤维蛋白丝的时间即为 KPTT 值. 试管内加血浆 0.1 ml, 37℃孵育 2 min, 再加 37℃预热的 PT 试剂 0.2 ml, 计时, 凝固时间即为 PT 值. 试管内加血浆 0.2 ml, 再加 37℃预热的 TT 试剂 0.2 ml, 计时, 凝固时间即为 TT 值.

Table 1 Carboxylic acid group content on carboxylated polyurethane surfaces

Specimens	PU	CPU	Chro	C-Chro
The amount of carboxyl acid on surface/ (mmol·m ⁻²)	0.0385±0.0020	3.77±0.15	0.0568±0.0018	3.03±0.22

n=3.

2.2 聚氨酯表面 BSA 的接枝量

本文采用两步法, EDC 先与 CPU 或 C-Chro 表面的羧基反应, 再与 BSA 分子接枝, 材料表面上形成 BSA 的缓冲层, 目的在于减低外来材料对水蛭素活性的影响. 接枝反应在室温中性水溶液条件下进行, 保证 BSA 不发生变性, 反应时试管 360°转动, 使界面反应尽可能地均匀.

利用 FT-ATR-IR 谱的差减可以定量测定样品表面蛋白的接枝量^[10]. 在图 2 中, B 线为 BSA 涂覆量为 13.7 g/m² 的样品 C-Chro-coat-BSA 的谱图, 在 1 647 cm⁻¹ 处出现 BSA 的酰胺 I C=O 拉伸振动峰 (强)^[10]. A 线为 C-Chro 的图谱, 在 1 647 cm⁻¹ 处并无峰出现. C 线为待测样品 C-Chro-BSA 的图谱, 1 639 cm⁻¹ 处只有很弱的 BSA 的酰胺 I 峰出现, 由于键合的影响, 酰胺 I 峰向低波数转移. 差减 B-A 线保留了 1 647 cm⁻¹ 的强峰, 差减 C-A 线也保留了 1 639 cm⁻¹ 处的弱峰,

2 结果与讨论

2.1 羧基化聚氨酯表面的羧基含量

次甲基蓝分子内的胺基易结合质子生成季铵盐, 带正电荷, 呈鲜蓝色, 是一种阳离子型染料. 次甲基蓝能被羧基吸附, 吸附量随表面羧基量增加而提高. 有学者利用次甲基蓝作为羧基的快速定量指示剂^[6]. 本文中, 羧基化试片吸附次甲基蓝达到饱和, 再被洗脱出来, 由紫外光度计测定的洗脱液次甲基蓝的摩尔数即为试片表面羧基的摩尔数. PU1 由聚六亚甲基碳酸酯二醇 (相对分子质量 1 299)、二苯基甲烷二异氰酸酯、二羟甲基丙酸按 1 mol: 2.5 mol: 1.5 mol 制备, 其羧基固含量约为 2.1%. 由表 1 可以看到, PU、Chro 样片表面羧基的量非常少, 而 CPU、C-Chro 样片表面羧基的量分别是 PU、Chro 样片的 97.9 倍和 53.3 倍. 由于 PU 与 PU1 的原料大部相同, 结构相似, 两者有更好的相容性, 所以 CPU 羧基化的效果略大于 C-Chro, 前者表面羧基是后者的 1.24 倍.

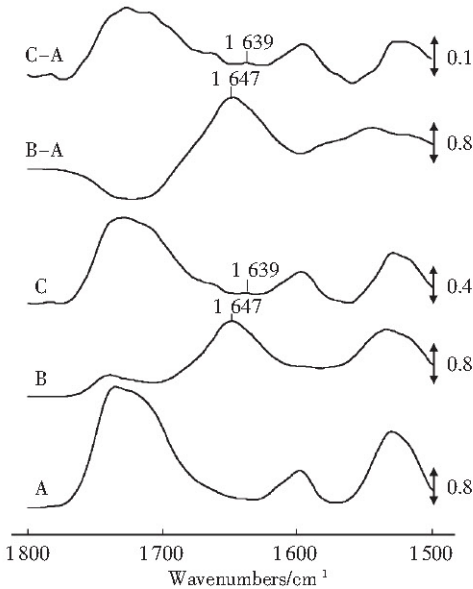


Fig. 2 The FT-ATR-IR spectra of specimens C-Chro, C-Chro-coat-BSA and C-Chro-BSA at 1 500~1 800 cm⁻¹ and their substratum

A: C-Chro; B: C-Chro-coat-BSA; C: C-Chro-BSA.

由于B-A的BSA量为已知,因此由峰面积比可求出C-Chro-BSA的BSA接枝量,其余样品的BSA接枝量也同法测定,测定结果见表2. CPU-BSA和C-Chro-BSA的BSA接枝量分别是PU-BSA和Chro-BSA的10.7倍和4.5倍,这是由于

大量羧基在CPU-BSA和C-Chro-BSA表面存在的结果,它们成为与EDC反应的活性点. CPU-BSA的BSA接枝量是C-Chro-BSA的1.63倍,原因是前者表面的羧基比后者表面多.

Table 2 The amount of BSA covalently linked to surface of specimens by subtraction of FT-AIR-IR spectra

Specimen	PU-BSA	CPU-BSA	Chro-BSA	C-Chro-BSA
The amount of BSA	40+8	426+26	58+5	262+14
covalently linked to surface / (mg · m ⁻²)	(n=2)	(n=3)	(n=2)	(n=3)

2.3 聚氨酯表面r-Hir的偶联量

重组水蛭素由65个氨基酸残基组成的肽,C端具含丰富的谷氨酸和门冬酸,肽链上27、36、47位是赖氨酸^[11],rHir肽链上多个-NH₂和-COOH存在是与DEC的潜在反应点. BSA与rHir的反应也采用两步法,先让试片表面的BSA与EDC反应,再将rHir接上,两步都在MES的

缓冲溶液中进行,对后一步,先在4℃反应,再在室温振荡,使偶联在缓和条件下进行,以减少对rHir活性的伤害. 测定结果总结于表3, CPU-BSA-¹²⁵I-rHir样品的rHir的偶联量为CPU-BSA+¹²⁵I-rHir的3.6倍,可见,在BSA基层上偶联反应是有效的.

Table 3 The amount of rHir immobilized to surface of specimens by isotopes tagging

Specimens	CPU-BSA+ ¹²⁵ I-rHir*	CPU-BSA- ¹²⁵ I-rHir	C-Chro-BSA- ¹²⁵ I-rHir
The amount of rHir	199+15.7	716.7+175.0	691.1+178.4
immobilized to surface/ (μg · m ⁻²)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
The theoretical activity of rHir			
immobilized to surface/ (ATU · cm ⁻²)	0.57+0.04	1.93+0.47	1.87+0.48

* CPU-BSA+¹²⁵I-rHir was the controlled specimen after immersion in ¹²⁵I-rHir-buffer solution in the same condition without using EDC.

CPU-BSA-¹²⁵I-rHir样片和C-Chro-BSA-¹²⁵I-rHir样片相比,前者偶联的rHir量略多于后者,因为前者BSA接枝量多一些的缘故. 按rHir原料的活性计,这两个样品表面rHir的活性应在1.8~1.9 ATU/cm²范围.

2.4 抗凝血酶的活性评价

rHir的构效分析表明,其C端10肽开始具有抗凝性,12肽的抗凝活性最大,其他肽段如Tyr⁶³、Thr⁵⁶、Glu⁵⁷等的存在和变化对12肽的活性有重要的影响^[12]. 本文中,rHir某些基团参加了反应,本文使用KPTT、PT、TT试验来评价偶联后rHir的抗凝血酶活性. 血浆与试管内壁接触时会受到rHir的作用,凝血酶活性受到抑制,KPTT、PT、TT值都会不同程度地增加,偶联

rHir的量越多,rHir活性保持越大,KPTT、PT、TT值就会越大.

由表4可以看到,玻璃的KPTT、PT、TT值最少,这是新西兰兔自身血液指标,属临床正常范围. 无偶联的PU和Chro的KPTT、PT、TT值都好于玻璃,说明无论是实验室合成的PU或是国外进口的Chro都有良好的抗凝血酶的活性. CPU-BSA-rHir和C-Chro-BSA-rHir的KPTT、PT、TT值都比无偶联的PU和Chro有较大增加. CPU-BSA-rHir的KPTT、PT、TT值稍优于C-Chro-BSA-rHir,是因为前者表面偶联的rHir量略多于后者的缘故. 结果表明,偶联反应后的rHir仍保持活性,聚氨酯表面偶联rHir后,其抗凝血酶活性能得到较大的改善.

Table 4 The summary of KPTT, PT, TT evaluation test of specimens

Specimens	Glass	PU	CPU-BSA-rHir	Chro	C-Chro BSA-rHir
KPTT/s	35.5±0.6	42.6±0.2	59.4±3.6	45.3±1.0	56.7±0.4
	(n=3)	(n=3)	(n=3)	(n=3)	(n=3)
PT/s	12.7±0.8	17.6±0.6	28.4±0.7	16.7±0.9	25.7±1.3
	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
TT/s	10.4±0.6	17.4±0.7	29.4±1.4	16.8±0.6	28.0±1.7
	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)

3 结 论

无论 PU 或是 Chro，通过表面羧基化，接枝 BSA 和偶联 rHir 等步骤，可以得到 690 ~ 710 μg/m²的偶联量。KPTT、PT、TT 试验表明，偶联 rHir 后的聚氨酯表面的抗凝血酶活性得到较大改善。本文的 rHir 偶联方法是有效的。

参 考 文 献

1 Fu K, Izquierdo R, Walenga J M, *et al.*, Comparative study on the use of anticoagulants heparin and recombinat hirudin in a rabbit traumatic anastomosis model. *Thromb Res*, 1995, **78** (5): 421~428

2 Berceli S A, Phaneuf M D, LoGerfo F W. Evaluation of a novel hirudin-coated polyester graft to physiologic flow conditions: hirudin bioavailability and thrombin uptake. *J Vasc Surg*, 1998, **27** (6): 1117~1127

3 Phaneuf M D, Berceli S A, Bide M J, *et al.* Covalent linkage of recombinant hirudin to poly (ethylene terephthalate) (Dacro): creation of a novel antithrombin surface. *Biomaterials*, 1997, **18** (10): 755~765

4 Steifert B, Romaniuk P, Grothv T. Covalent of hirudin improves the haemocompatibility of polylactide-polyglycolide *in vitro*. *Biomaterials*, 1997, **18** (22): 1495~1502

5 Muller M, Kallert L W, Stammheim C, *et al.* Hydrolysis resistant elastomeric poly (carbonate urethanes). US patent,

3509233. 1970-03-28

6 Dempsey D J, Phaneuf M D, Bide M J, *et al.* Synthesis of novel small diameter polyurethane vascular graft with reactive binding sites. *Am Soc Artif Inter Organes Journal*, 1998, **44**: 506~510

7 韩玉珉, 葛庆远, 王增丰, 等. 重组水蛭素的纯化和鉴定. *生物化学杂志*, 1991, **7** (6): 657~661

Han Y M, Ge Q Y, Wang Z F, *et al.* *J Biochemistry*, 1991, **7** (6): 657~661

8 Mattuew D P, Michael S, Scott A B, *et al.* Covalent linkage of recombinant hirudin to a novel poly (carbonate) urethanes polymer with protein binding sites: determination of surface antithrombin activity. *Artificial Organes*, 1998, **22** (8): 657~665

9 Yoshihiro I, Masahiko S, Yukio I. Synthesis and antithrombogenicity of anionic polyurethanes and heparin-bound polyurethanes. *J Bimed Mater Res*, 1986, **20** (8): 1157~1177

10 Goldberg E P. *Biomedical polymer*. NewYork: Academic Press, 1980. 335~379

11 王鸿利, 王立志. 水蛭素的基础与临床. *上海医学*, 1999, **22** (11): 695~697

Wang H L, Wang L Z. *Shanghai Medicine*, 1999, **22** (11): 695~697

12 李天全, 万昌秀, 李倚剑, 等. 新一代高效特异抗凝药物——水蛭素. *生物医学工程杂志*, 1998, **15** (3): 306~310

Li T Q, Wan C X, Li Q J, *et al.* *J Biomedical Engineering*, 1998, **15** (3): 306~310

Immobilization of Recombinant Hirudin to Polyurethane Surfaces and Evaluation of Their Antithrombin Activity*

PAN Shi-Rong**, WANG Qin-Mei, LIU Huang, RUAN Hui-Min
(The Frist Affilliate Hospital , Zhongshan University, Guangzhou 510080, China)

Abstract Immobilization of rHir to polyurethane surfaces was studied. A PU1 solution with carboxyl acid in hard segment was cast on PU or Chro surfaces and the carboxyl acid content on the surfaces was measured by methylene blue adhesion. BSA was covalently linked on carboxylated surfaces by EDC and the BSA content on the surfaces was measured by substration of FT-ATR-IR spectra. rHir was immobilized to BSA lay on polymers by EDC and the r-Hir content on surfaces was measured by isotopes tagging. The results showed that the carboxyl acid content on CPU and C-Chro surfaces was 3.77 and 3.03 mmol/m² respectively, the BSA content on CPU-BSA and C-Chro-BSA surfaces was 426 and 262 mg/m²

respectively, the rHir content on CPU-BSA-rHir and C-Chro-BSA-rHir surfaces was 716.7 and 691.1 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ respectively. Thrombin activity inhibition test indicated that the KPTT、PT、TT times of rHir-immobilized specimens were prolonged as compared with controlled, the antithrombin activity on rHir-immobilized PU and Chro surfaces was increased obviously and their antithrombogenicity was improved effectively.

Key words recombinant hirudin, polyurethane, immobilization, bovine serum albumin, antithrombin activity

* This work was supported by grants from National Natural Sciences Foundation of China (30070223).

** Corresponding author. Tel: 86-20-87755766-8163, E-mail: gzpsr@163.net

Received: January 6, 2003 Accepted: February 27, 2003

知识与动态

HSP60 的功能

龚兴国 于红

(浙江大学生命科学学院, 杭州 310027)

HSP60 家族属于热激蛋白, 存在于所有的原核与真核生物中, 是细胞最保守的保护机制之一。当机体受到胁迫时, 热激蛋白大量合成, 以恢复变性蛋白或凝聚蛋白的天然构象。而对病原体的侵入, HSP60 会充当免疫原来激活免疫系统。HSP60 在细胞生命活动中具有重要的功能。

病原体衍生热激蛋白被认为是细菌或寄生物侵染过程中的一种优势抗原。HSP 能够激活先天存在的免疫系统。通过儿童用抗白喉、百日咳、破伤风的三价疫苗接种牛痘时产生高效价的优势抗 HSP60, 证实 HSP60 在许多侵染过程中是一种免疫优势抗原。一个病原体的吞噬作用中会经过一次热休克反应, 导致热激蛋白增加, 这些热激蛋白被加工和作为外源因子进入 MHC 组 I / II 分子, 随后这个 MHC-多肽复合物被 T-细胞识别。

用细菌 HSP60 基因和分子生物学方法能够对肠的病原体进行特异性和快速鉴定。HSP60 IgA 抗体 (HSP60 IgA) 的升高常常为患有冠心病的征兆, 尤其是同时伴有肺炎和炎症反应时。

炎症反应和 NF-kappa β 的激活能够从根本上中断动脉粥样硬化, 衣原体热激蛋白 60 (cHSP60) 能够激活人的微管动脉内皮细胞 (EC) 和鼠的巨噬细胞中 NF-kappa β , 同时 cHSP60 能够提高和维持天然的免疫炎症反应。因此, cHSP60 可有效阻止动脉粥样硬化。

HSP60 与 HSP70 作用类似, 具有 ATPase 活性, 对 ATP 具有高度亲和力。与 HSP70 相比, HSP60 只能恢复部分折叠或凝聚多肽的天然构象, 但作用于蛋白质的时间要迟于 HSP70。此外, 大肠杆菌的 GroEL 能结合新生的分泌蛋白前提, 稳定它们并协助其穿膜转运, 另外还能促进多种酶分子的折叠和组装。

胁迫条件使酵母 HSP60 生理缺失或功能失活, 则酵母

细胞停止生长, 但仍有片刻积聚 HSP60 的能力, 大量的其他线粒体基质定位蛋白能够转移到线粒体基质中, 但是常常以不可溶状态凝聚, 如果含有 HSP60 则可解除这种情况。

热激蛋白提高了细胞的“应急耐受”能力, 帮助变性、不可溶的凝聚蛋白重新恢复天然构象。氧化条件下, 对 Fe/S 酶免受氧化的保护与细胞 HSP60 的含量有一个剂量关系, 氧化条件下, 高含量的 HSP60 避免了 Fe/S 酶释放 Fe 离子。

在牛的大脑提取物中, 钙调蛋白 (CaM) 的调节亚基 CaMB 优先与 CaMA 结合, 而在牛的肾提取物中优先和 HSP60 结合。CaMB 和 HSP60 的结合不能被 HSP10、Mg²⁺、ATP 中断, 但是有变性蛋白存在时却被中断。这说明 HSP60 具有变性蛋白优先结合能力, 保护细胞免受胁迫伤害。

正常状态下 HSP60 以稳定状态存在于细胞质和线粒体基质中, 胁迫条件下, HSP60 在胞质中 HSP70 作用下迅速从胞质中转移到线粒体基质中, 以修复线粒体基质中的变性蛋白。

以成年鼠胃贲门肌细胞为对象, 正常条件下胞质中的 HSP60 与 bax 形成复合体。在缺氧条件时, 二者解离, HSP60 转移到胞质膜, bax 进入到线粒体。而线粒体中的 HSP60 的含量并没有改变, bax 的增加引发细胞凋亡, 由此看出 HSP60 和 bax 调节细胞凋亡的发生。

HSP60 作为热激蛋白的重要家族, 已成为研究的热点。以上仅仅是对已知 HSP60 功能的概括介绍, 至于 HSP60 是否还有其他的功能, 以及在行使这些功能时与其他细胞因子的作用方式, 仍有待于进一步研究。