

红细胞膜与血红蛋白的相互作用

张志鸿 刘宏志 游永东 汤 虹

(复旦大学生物学系, 上海)

人红细胞中的血红蛋白不是完全和细胞膜相互隔离的, 部分血红蛋白分子和膜之间存在着相互作用。我们采用荧光猝灭法和离心分离 Scatchard 图分析法定量测定了: (1) 红细胞膜与 HbO_2 的结合; (2) 红细胞膜与 MetHb 的结合; (3) 抽提部分胆固醇后红细胞膜与 HbO_2 的结合。实验中同时进行了结合效应的化学计量学特性、温度特性以及和 pH、离子强度等因子之间的关系。一般, 都是在 5 m M 磷酸钠缓冲液、pH 6 (5P6) 条件下检测到较强的结合。我们在生理 pH (pH 7.5) 时仍能检测到结合: 高亲和位点数 $n_1 = 9 \cdot 10^4$ /细胞, 结合常数

$$K_1 = 1 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1};$$

低亲和位点数 $n_2 = 2 \cdot 10^6$ /细胞, 结合常数

$$K_2 = 4 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}.$$

MetHb 和膜结合时, n_1 , K_2 明显增加。EPC 脂质体和红细胞一起温育, 可改变红细胞膜中的胆固醇量。抽提了 30—40% 胆固醇的红细胞膜, 血红蛋白作用后荧光猝灭率下降, 由 Scatchard 图可知, 此时 n_1 , n_2 明显减小。这些结果表明膜脂质成分中胆固醇含量及血红蛋白的结构状态对血红蛋白和膜之间的结合效应有相当的作用。

进一步, 我们研究了这种相互作用对红细胞膜动态结构和某些功能参数的影响。用 12-AS 探针的荧光偏振测量表明, 5P6, 10℃ 时加入 HbO_2 (血影浓度 $5 \cdot 10^6$ /ml, Hb 浓度 $0.2 \mu\text{M}$)

后, 红细胞膜的荧光偏振度 P 值增加约 40%; 部分抽提了胆固醇的膜, 同样条件下, P 值只增加 15%。在 10—45℃ 范围内都显示出血红蛋白对膜流动性的限制作用。实验中还用了 9-, 6-, 2-AS 等荧光探针分子探测膜中不同深处的效应: P 值变化百分率 (A) 的顺序为

$$A_{2-AS} \leq A_{6-AS} < A_{9-AS} < A_{12-AS},$$

即说明血红蛋白的加入对膜中间区流动性影响最大。12SAL 自旋标记 ESR 波谱给出平行的结果: 加入血红蛋白后, 红细胞膜样品的波谱参数 $2T_{\parallel}$ 变大。完整红细胞中, MetHb 也使膜脂质流动性变小。流动性的降低看来不是脂质过氧化所致, 因为未见丙二醛含量的增加, 且 ESR 实验中, 和血红蛋白结合的膜再次去除血红蛋白后, $2T_{\parallel}$ 又回至正常值。采用自制的微机实时测量系统, 测定了上述诸种红细胞的低渗溶血速率 (K) 和渗透脆性 (H_{50})。得出, MetHb 减小 K 值、增大 H_{50} ; 胆固醇的抽提加大 K 值、增大 H_{50} 。再结合 pH 等因子的效应, 可以认为特别是溶血速率和膜-血红蛋白的相互作用有着密切关系。我们还观察到和红细胞膜作用后, 血红蛋白的 CD 谱发生变化, 表明血红蛋白分子构象的改变。本研究将有助于我们对真核细胞内水溶性蛋白质和膜的相互作用机制的了解; 对病理条件下这种相互作用的研究则在医学临床上有应用的前景。

[本文于 1987 年 6 月 4 日收到]