

Dissoziation von Hämoglobin in Untereinheiten. Biosynthetische Zwischenprodukte beim Hämoglobin

ABHANDLUNG
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOKTORS DER TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN
DER
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

VORGELEGT VON
BEAT GLATTHAAR
DIPL. ING.-CHEM. ETH
GEBOREN AM 25. AUGUST 1940
VON ZÜRICH

ANGENOMMEN AUF ANTRAG VON
PROF. DR. R. SCHWYZER, REFERENT
PD DR. K. H. WINTERHALTER, KORREFERENT

1971 ZÜRICH
ZENTRALSTELLE DER STUDENTENSCHAFT

F ZUSAMMENFASSUNG

Die Dissoziation von Hämoglobin wurde unter physiologischen Bedingungen untersucht. Eine ganze Reihe von Parametern wurde variiert, nämlich pH von 5.5 bis 8.4; Art des Puffers (Tris und Phosphat-Puffer), Hämoglobin-Konzentration (3 bis 0.00005%), Temperatur 4 bis 37°C sowie die Hämoglobin-Spezies (Hb A, S, A₂ und Can), Deoxyhämoglobin und verschiedene Liganden (Sauerstoff und CO). Nur bei pH 5.5 und 4°C und pH 6.0 und 37°C konnte nach längerem Inkubieren (länger als 24 Stunden) Untereinheiten-Austausch beobachtet werden.

Hybridisation konnte festgestellt werden bei Inkubation von Hämoglobin, das aus einer Kettenspezies aufgebaut ist (Hb H) und einer Hb-Variante (Hb S), wobei schon bei 4°C und pH 7.0 nach 3 Tagen das Hybridisationsprodukt in geringen Mengen (Hb A) auftrat.

Die Affinität der nativen, aus Kettentrennungen gewonnenen β -Ketten von Hb A und Hb S für die α -Ketten wurde mit Hilfe der Rekombination untersucht. Sie unterscheidet sich nur geringfügig. Der Unterschied reicht zur Erklärung des unterschiedlichen Gehalts an Hb S (maximal 30%) und Hb A im Blut heterozygoter Personen nicht aus.

Die kleinen Hämoglobine wurden im Hinblick auf eine mögliche Bedeutung in der Biosynthese des Hämoglobins untersucht. Es wurde eine Chromatographie entwickelt, um diese kleinen Komponenten auf einfache Weise innert nützlicher Frist und in grosser Ausbeute rein darzustellen. Hierbei wurde eine neue Komponente gefunden, die bisher nur in der Heterogenität einer beschriebenen Komponente vermutet wurde. Biosynthetische Inkubationen von Reticulocyten-reichem menschlichen Blut wurden mit radioaktiven Substanzen inkubiert und die Verteilung auf die Komponenten der Hämolyse-Chromatographie untersucht, wobei ein reproduzierbares Verhalten gefunden wurde. Die zu ca. 1% im normalen Hämolyse

enthaltene Komponente Hb X, vermutlich das Hb A_{1b} anderer Autoren, zeigte dabei ein Verhalten, das auf eine Vorläuferbeziehung zu Hb A schliessen liess. Dies konnte sowohl durch "Pulse-Chase"-Versuche, wie auch durch Inkubation mit Puromycin erhärtet werden. Eine weitere Komponente, die in viel geringerer Menge enthalten ist und zum grössten Teil von Hb X kontaminiert ist, zeigte ein analoges Verhalten, wurde aber nicht näher untersucht.

Die Eigenschaften von Hb X wurden weiter untersucht: Molekulargewicht und funktionelles Verhalten ist identisch mit dem von Hb A. Der isoelektrische Punkt von Hb X liegt um 0.3 pH-Einheiten unter dem von Hb A, wobei die zusätzliche Ladung auf der β -Kette lokalisiert ist. Die chemische Analyse der β^X -Kette liess aber bis zur Sequenzanalyse des N-terminalen Peptides keine Variation gegenüber den normalen β^A -Ketten erkennen.

Es wurde vermutet, dass Hb X nicht eine Hämoglobinvariante im üblichen Sinne ist, sondern als Komponente jedes normalen Hämolysats wie die anderen kleinen Komponenten eine unbekannt Funktion ausübt, möglicherweise in der Biosynthese des Hämoglobins. Es unterscheidet sich nicht von Hb A in Bezug auf die Primärstruktur, sondern durch eine andere geladene Gruppe. Es wurden die Komponenten der Hämolysechromatographie ebenfalls näher untersucht, die in Inkubationen hohe Aktivität erreichten, deren Präsenz schon bekannt ist, nicht aber die Bedeutung.