



УДК 616.111:577.112.85

ГЛІКОПРОТЕЇНИ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ТА БУДОВА ЇХНІХ ВУГЛЕВОДНИХ ДЕТЕРМІНАНТ

Н. О. Сибірна, Т. В. Буслик

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: sybirna_natalia@yachoo.com*

В огляді проаналізовано сучасні дані щодо структури основних глікопротеїнів мембран еритроцитів. Наведено характеристики лектинів, які широко використовуються для дослідження структури їхніх олігосахаридних детермінант.

Ключові слова: глікопротеїни, мембрани еритроцитів, лектини.

ВСТУП

Поверхневий рецепторний апарат клітинної мембрани є однією з найважливіших систем, що забезпечують життєдіяльність клітини [27, 36, 47, 61, 62, 65, 67]. Кількість рецепторів за різних умов функціонування клітини може змінюватись, але їхня структура залишається відносно стабільною [15, 22, 23, 66]. Вона представлена переважно глікопротеїнами, вуглеводна частина яких у вигляді олігосахаридних ланцюгів утворює надмембранний комплекс. Він відіграє ключову роль у механізмах міграції, адгезії, проліферації та апоптозу клітини [2, 3, 6, 42, 43].

Метою даного огляду є узагальнення сучасних даних про структуру основних глікопротеїнів мембран еритроцитів і аналіз шляхів дослідження їхніх олігосахаридних структур за допомогою лектинів.

1. Характеристика ключових глікопротеїнів еритроцитів людини

Глікофори́ни є гетерогенною групою сіалоглікопротеїнів еритроцитарної мембрани, які відіграють важливу роль у формуванні структури глікокаліксу на поверхні еритроцита. Вони містять основну частину вуглеводів плазматичної мембрани еритроцитів і, таким чином, вносять найбільший вклад у формування гідрофільних властивостей і негативного заряду поверхні клітини. Великий вуглеводний компонент, експонований на зовнішньому боці клітинної мембрани, робить глікофори́ни головними імунологічними детермінантами поверхні еритроцитів. У глікофоринах містяться детермінанти груп крові MN, Ss, Ge, рецептори, які взаємодіють з поверхнею бактерій, вірусів (вірус грипу, реовірус), паразитів (малярійний плазмодій) [13, 24, 32, 34, 38, 41, 56, 63]. Стан вуглеводного компонента глікофоринів є сигналом

для розпізнавання старіючих або пошкоджених еритроцитів для подальшого видалення їх із кров'яного русла [8, 17]. Взаємодіючи з білками цитоскелета, глікофорини впливають на стабільність і механічні властивості еритроцита [12, 42, 58].

Назву „глікофорин” для основного сіалоглікопротеїну еритроцитарних мембран людини дав Марчезі у 1972 р. [59]. Цей білок був відомий як глікопротеїн, що несе детермінанти груп крові M і N, а також як рецептор до аглютининів вірусу грипу [16, 46].

В еритроцитарній мембрані людини є принаймні 4 окремих сіалоглікопротеїни. Фурсмаєр позначив три з них як глікофорини А, В і С (GPA, GPB і GPC, відповідно) в порядку зменшення їхньої кількості в мембрані [39]. Ансті описав їх як глікопротеїни α , β , γ , δ у порядку зменшення їхньої молекулярної маси [11]. На електрофореграмах сіалоглікопротеїнів еритроцитів людини, як правило, є більша кількість Шифф-позитивних смуг, що відповідають мономерам цих сіалоглікопротеїнів і їхнім гомо- та гетеродимерам (а також олігомерам). Внаслідок молекулярно-генетичних досліджень незалежно двома групами науковців був виявлений новий член родини глікофоринів, позначений як глікофорин Е (Кудо і Фукуда, 1990 і Вігнал, 1990) [53]. Глікофорини становлять близько 2% від загального вмісту білка еритроцитарної мембрани.

GPA і GPB становлять 85% і 10% Шифф-позитивного матеріалу, відповідно, тоді, як GPC і глікофорин D (GPD) – лише 4% і 1% [39, 40]. Глікофорин Е (GPE) не виявляється таким методом фарбування [39]. Ці дані корелюють із кількістю копій кожного глікопротеїну, що становить близько 1×10^6 на клітину для GPA, від 1×10^5 до 3×10^5 для GPB, від $0,5 \times 10^5$ до 1×10^5 для GPC і 2×10^4 для GPD.

GPA – головний сіалоглікопротеїн еритроцитів людини. Його молекула складається з поліпептидного ланцюга, побудованого з 131-го амінокислотного залишка, і ковалентно зв'язаних із ним 16-ти олігосахаридних ланцюгів (рис. 1). Первинна структура білка визначена Томітою [68]. GPA має молекулярну масу 30 кДа, близько 60% маси молекули становить вуглеводний компонент, приблизно половина якого – це N-ацетилнейрамінові (сіалові) кислоти [19].

Молекула GPA пронизує ліпідний бішар мембрани таким чином, що N-кінцева ділянка з 72 амінокислотних залишків і приєднаних до поліпептидного ланцюга олігосахаридів розташована ззовні клітини, а С-кінцева – у цитоплазмі клітини. Центральна ділянка з 20-ти пере-

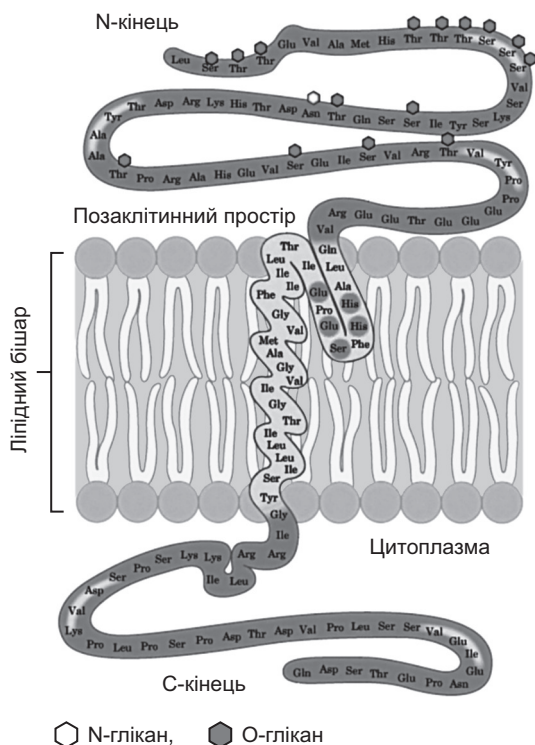


Рис. 1. Просторова структура та схема розташування у плазматичній мембрані глікофорину А

Fig. 1. The spatial structure and configuration scheme of glycophorin A in plasmatic membrane

важно неполярних амінокислот перетинає бішар у формі α -спіралі. Цитоплазматичний домен фосфорильований у положенні Ser-102 [35].

При вивченні первинної структури були знайдені дві заміни в положенні 1 і 5 поліпептидного ланцюга, які визначають антигенність по MN групах крові, описаних Ландштейнером і Левіном [54]. Глікофорин із детермінантою групи крові M містить залишки серину і гліцину, тоді як N-глікофорин містить залишки лейцину і глутамінової кислоти у положеннях 1 і 5, відповідно. Для прояву антигенних властивостей важливе значення мають O-глікани, приєднані до амінокислотних залишків Ser² і Thr⁴. Крім безпосередньої участі в утворенні антигенних детермінант, ці олігосахариди сприяють формуванню конформації поліпептидного ланцюга, яка впізнається специфічними антитілами [33].

GPB складається з 72 амінокислотних залишків, із яких лише 6 міститься на цитоплазматичному боці мембрани еритроцита, причому 3 з них є основними амінокислотами, які, як вважають, служать для заякорювання в мембрані. Цей глікопротеїн не несе N-зв'язаного олігосахариду, оскільки консенсусна послідовність для N-глікозилування Asn-Asp-Thr [6, 18] (амінокислотні залишки 26–28), яка присутня у глікофорині A, у GPB є модифікованою в Asn-Gly-Glu. GPB несе детермінанти груп крові Ss, а також N-антиген, оскільки послідовність перших 26 амінокислотних залишків його N-кінця відповідає такій GPA_N. Антиген N глікофорину B позначають як N', оскільки, на відміну від N-антигену GPA, він резистентний до трипсинового гідролізу нативних еритроцитів або глікопротеїнів, ізольованих з M і N еритроцитів [24]. Поліморфізм груп крові Ss визначає заміна Met/Thr, відповідно, в позиції 29.

Як показано за допомогою кДНК, GPE складається з 59 амінокислотних залишків і несе M-антиген, оскільки в позиціях 1 і 5 містить Ser і Gly, як в GPA_M [53]. Через відсутність консенсусної послідовності N-глікозилування (Asn-X-Ser/Thr, де X може бути будь-який амінокислотний залишок, крім Pro) GPE не містить N-гліканів, але GPE може нести такі ж O-зв'язані олігосахариди, які присутні в N-кінцевих ділянках GPA і GPB. GPE не містить антигенів груп крові Ss. Від амінокислотного залишку 27 до C-кінця GPE є подібним до C-кінця GPB [64].

GPC і GPD є мінорними сіалоглікопротеїнами еритроцитарної мембрани. Молекулярні маси цих сіалоглікопротеїнів становлять 32 і 23 кДа, відповідно. Один поліпептидний ланцюг GPC побудований з 128 амінокислотних залишків і має молекулярну масу 14 кДа. Цей глікопротеїн містить близько 50% вуглеводів [46]. Поліпептидний ланцюг глікофорину C не має гомології з GPA, GPB, GPE. Типово для інтегральних мембранних білків GPC організований у три структурні домени. Позаклітинний N-кінцевий домен побудований з 57, а внутрішньомембранний домен – з 24 неполярних амінокислот. Залишки 58–81 пронизують ліпідний бішар. Третій внутрішньоклітинний домен (залишки 82–128) утворює C-кінець молекули [29, 30].

GPD є вкороченою формою GPC – його поліпептидний ланцюг ідентичний з послідовністю амінокислотних залишків від 22 до 128 GPC. GPC і GPD кодуються одним геном. Причиною синтезу GPD є існування двох альтернативних рамок зчитування для одного гена [55].

Глікофорини є маркерами клітинної диференціації. GPA є специфічним для еритроцитарних клітин і в процесі еритроїдної диференціації з'являється на поверхні клітини на стадії проеритробласту. O-глікозилування глікофорину A поступово зростає протягом еритроїдної диференціації і стає завершеним на стадії поліхроматофільного нормоцита. Ранні форми глікофорину A, очевидно, не несуть активних детермінант груп крові MN. Активність M і N з'являється поступово, почи-

наючи зі стадії базофільного нормоцита. На відміну від гена глікофоруину А, ген глікофоруину С починає експресуватися під час еритроїдної диференціації значно раніше – починаючи зі стадії еритроїдної бурстутворювальної одиниці і еритроїдної колонієутворювальної одиниці. Хоча глікофорин С не є специфічним лише для еритроїдних клітин, його глікозилування є лінієспецифічним, зокрема, одержано моноклональні антитіла до глікофоруину С, які зв'язуються з вуглеводзалежними епітопами цього глікопротеїну лише на еритроїдних клітинах.

Трансмембранна орієнтація глікофоринів дає їм змогу бути посередниками у процесах передачі сигналів з поверхні клітини, взаємодіючи з білками цитоскелета [9]. Глікофорини С і D виконують важливу роль у формуванні та регуляції форми еритроцита і механічних властивостей мембрани, утворюючи зв'язки з білками цитоскелета [51]. Встановлено, що GPC і GPD утворюють кілька типів зв'язків з білками цитоскелета. В утворенні зв'язку з білком 4.1 беруть участь амінокислотні залишки 82–98 GPC (61–77 GPD), крім того, через залишки 112–128 GPC (91–107 в GPD) утворюється зв'язок з білком цитоскелета p55 [12]. Білок p55 іншою ділянкою утворює високоафінний зв'язок з білком 4.1 і власне такий зв'язок цитоскелета з плазматичною мембраною, який включає білок 4.1, p55 і GPC або GPD є найміцнішим [45].

На відміну від глікофоринів С і D, глікофорин А не зв'язаний постійно з білками цитоскелета, але взаємодіє з ним після приєднання лігандів до зовнішньоклітинного домену [25, 51]. Така ліганд-індукована взаємодія глікофоруину А з білками цитоскелета призводить до збільшення жорсткості мембрани. Встановлено, що після зв'язування моноклональних антитіл або їхніх моновалентних Fab-фрагментів до позаклітинного домену глікофоруину А рецептор знерухомлюється, а мембрана стає жорсткішою. Цього не відбувається, коли антитіла зв'язуються з еритроцитами Miltenberger V, які містять мутантну форму глікофоруину А з відсутнім цитоплазматичним доменом. Припускають, що здатність трансмембранних рецепторних білків взаємодіяти з цитоскелетом у відповідь на зв'язування ліганда може бути ключовим механізмом трансдукції сигналу через мембрану. Взаємодія глікофоруину з цитоскелетом може опосередковуватися поліфосфоінозитидами [10].

Було виявлено також, що глікофорин А людини може взаємодіяти з імуноглобуліном G і брати участь у зв'язуванні імунних комплексів і їхній доставці до фіксованих тканинних макрофагів.

Ще одним важливим глікопротеїном мембран еритроцитів людини є білок смуги 3. Він становить приблизно 25% загального білка мембрани і представлений 1×10^6 копій на 1 клітину. Молекулярна вага білка смуги 3 90–100 кДа, з цієї кількості 5500 Да привнесені одним розгалуженим вуглеводним ланцюгом із 30 залишків моноцукрів. Олігосахаридний ланцюг приєднаний до протеїнової частини молекули через залишок аспарагіну у певному домені, який виступає над ліпідним бішаром мембрани приблизно на 40–50 Å [49].

У детергентрозчинну фракцію при виділенні білків переходить білок смуги 3 у вигляді димеру, але залежно від умов виділення і очищення можна отримати як тетрамерну, так і мономерну форми [57].

Для зручності відомі функції білка смуги 3 розділили на 3 категорії. По-перше – білок смуги 3 є головним білком-транспортером аніонів у еритроцитарній мембрані, який здійснює швидкий обмін неорганічних аніонів, переважно Cl^- на HCO_3^- , через ліпідний бішар [57]. Білок смуги 3, імовірно, також задіяний у транспорті води через мембрану червоних кров'яних тілець. По-друге – білок смуги 3 містить антигенні

детермінанти, важливі для ідентифікації групової приналежності крові та клітинно-клітинної взаємодії [14, 60]. Нарешті, третя група функцій білка смуги 3 полягає в тому, що він задіяний у закорюванні білків, будучи об'єднувальним компонентом при створенні угруповань цитоплазматичних білків і білків цитоскелета [20, 21, 26, 44].

Таким чином, білок смуги 3 відіграє надзвичайно важливу роль у детермінації та регуляції морфофункціонального стану і біохімічних особливостей еритроцитів.

Зв'язок цитоскелета еритроцитів із мембраною здійснюється через цитоплазматичний домен білка смуги 3. Анкірин (синдеїн) – білок, що опосередковує цю взаємодію, має високоафінні сайти зв'язування як для білка смуги 3, так і для спектрину. Таким чином він утворює комплекс: *білок смуги 3* → *анкірин* ← *спектрин*. На кожен еритроцит припадає приблизно 1×10^5 тетрамерів спектрину і 1×10^5 молекул анкірину [57].

Важливу слід вважати роль білка смуги 4.1, який є біполярним мономерним протеїном [5], представленим 2×10^5 копіями у кожному еритроциті. Цей білок об'єднує спектрин та актин. Головний об'єднуючий з мембраною еритроцита сайт білка 4.1 взаємодіє з глікофорином (рис. 2).

Білок 4.1 також має сайт зв'язування з білком смуги 3. Але його афінність у даному випадку нижча порівняно з вищезгаданими взаємодіями. Важливо відзначити, що взаємодія білка 4.1 з глікофорином є регульованим процесом, узалежненим від ступеня фосфорилування такого важливого кофактора, як фосфатидилінозитол [57]. У випадку наявності дифосфорильованої сполуки афінність білка 4.1 та глікофोरину є максимальною. У разі відсутності фосфорильованого ліпиду взаємодія білка смуги 4.1 з глікофорином є неможливою. Цікаво, що білок 4.1 не може бути асоційований одночасно зі спектрином і білком смуги 3 [10], що, ймовірно, може бути молекулярною основою вибору певного морфофункціонального стану цитоскелета еритроцита (рис. 3).

Важко переоцінити роль білка смуги 3 у структурній організації такої метаболічно-функціональної одиниці, як метаболон гліколітичних ферментів. Гліцеральдегід-фосфатдегідрогеназа, альдолаза і фосфофруктокіназа мають високоспоріднені сайти зв'язування з цим протеїном. Білок смуги 3 асоціюється також із каталазою та гемоглобіном з боку N-кінця свого цитоплазматичного домену [5]. Без сумніву, високоафінна взаємодія білка смуги 3 з основним білком еритроцитів – гемоглобіном, не може не впливати на стан кисеньтранспортної функції червоних кров'яних тілець. Отримано карти розподілу електронної густини, що підтверджують наявність центру зв'язування у молекулі дезокси-Hb, за який можуть конкурувати 2,3-дифосфогліцерат і білок смуги 3. Отже, білок смуги 3 та 2,3-дифосфогліцерат взаємодіють з тією самою послідовністю на молекулі Hb. Білок смуги 3 легше і швидше взаємодіє з дезокси-Hb, ніж із оксиформою Hb, але це не означає, що окси-Hb не може зв'язуватись із цим білком. Цікаво, що окси-Hb розміщується ближче до мембрани еритроцита порівняно з дезокси-Hb [57].



Рис. 2. Схема розташування білка смуги 4.1 одночасно глікофोरину, спектрину й актину

Fig. 2. The configuration scheme of band 4.1 protein in relation to spectrin and actin glycoporphin

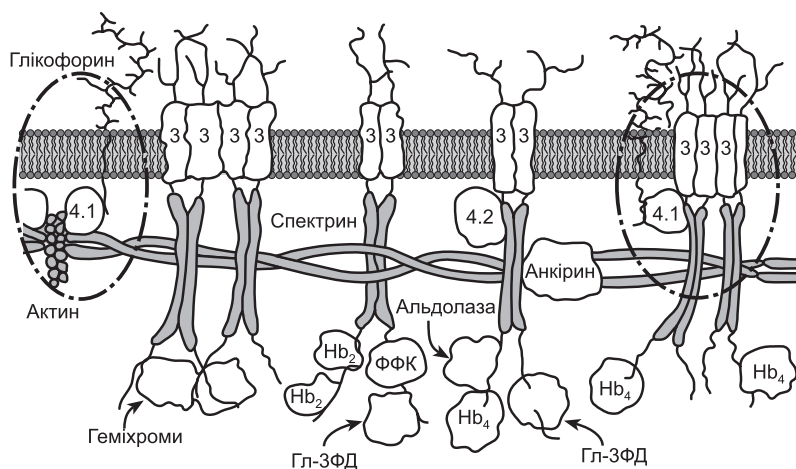


Рис. 3. Схематична репрезентація будови мембрани еритроцитів [57]: 3 – білок смуги 3; 4.1 – білок смуги 4.1; 4.2 – білок смуги 4.2; Hb₂ – димер гемоглобіну; Hb₄ – тетрамер гемоглобіну; Гл-3ФД – гліцераальдегід-3-фосфатдегідрогеназа; ФФК – фосфофруктокіназа

Fig. 3. A schematic representation of the human erythrocyte membrane [57]: 3 – protein of band 3; 4.1 – protein of band 4.1; 4.2 – protein of band 4.2; Hb₂ – the dimeric form of hemoglobin; Hb₄ – the tetrameric form of hemoglobin; Гл-3ФД – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ФФК – phosphofruktokinase

2. Типи глікозилювання та структура вуглеводної частини глікокон'югатів мембран еритроцитів

Вуглеводний компонент (глікан) приєднується або до NH₂-групи радикала аспарагіну, або до OH-групи радикалів серину, тирозину, треоніну, гідроксилізіну та гідроксипроліну у складі поліпептидних ланцюгів. У першому випадку відбувається N-глікозилювання, у другому – O-глікозилювання (рис. 4).

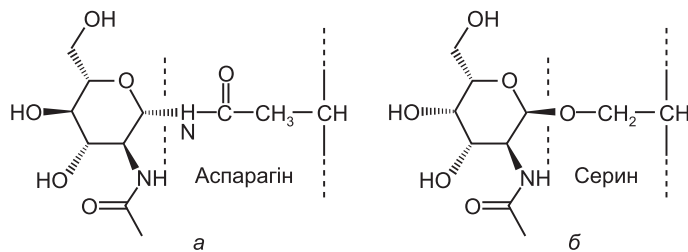


Рис. 4. Типи глікозилювання: а – N-глікозилювання; б – O-глікозилювання
Fig. 4. Types of glycosilation: a – N-glycosilation; б – O-glycosilation

N-глікозилювання відбувається котрансляційно: спочатку в ендоплазматичному ретикулумі, а потім в апараті Гольджі. У цьому процесі бере участь більше 200 ферментів – глюкозидаз, манозидаз, глікозилтрансфераз та ін. [4]. Залежно від внутрішньоклітинного набору й активності цих ферментів можуть утворюватися N-глікани трьох основних типів: високоманозний, комплексний і гібридний (рис. 5). Усі вони мають однакову корову частину – пентасахарид Man₃[GlcNAc]₂, що зв'язаний з радикалом аспарагіну у послідовності Asn-X-Ser. Варіабельна частина містить від 2 до 5 антен. До складу кожної антени входить від 2 до 4 моносахаридів. Іноді синтезуються полілактозамінні або полісіальовані N-глікани, тоді кількість моносахаридів у антені може бути значно більшою. Таке глікозилювання більш характерне для періоду ембріогенезу.

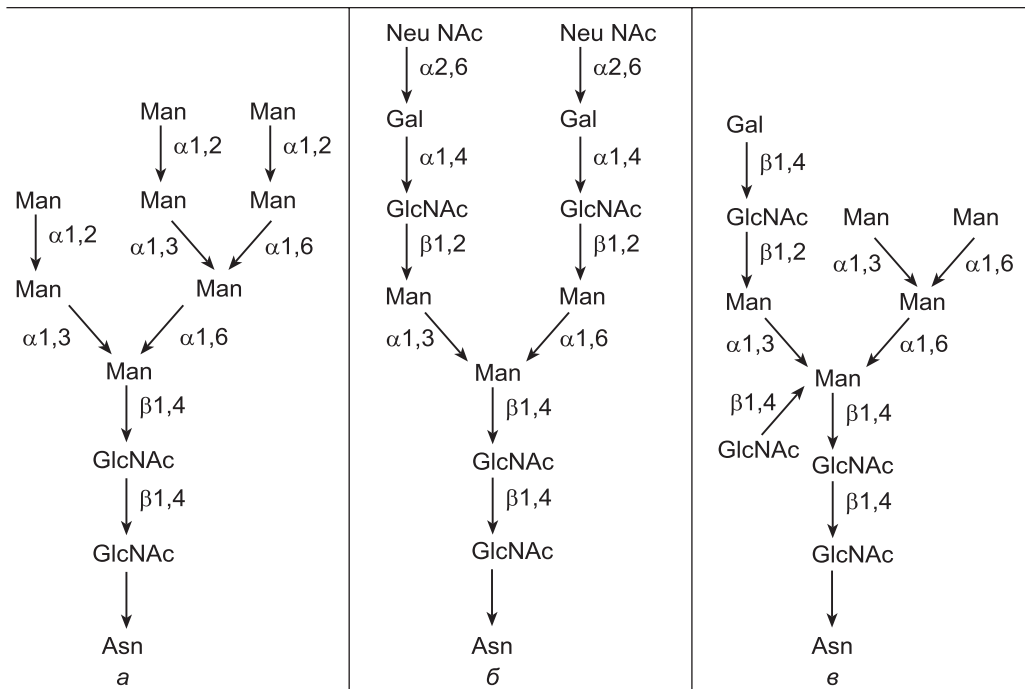


Рис. 5. Типи та структура N-гліканів: а – високоманозний тип; б – комплексний тип; в – гібридний тип (Man – маноза, Gal – галактоза, GlcNAc – N-ацетилглюкозамін, NeuNAc – N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота, Asn – аспарагін)

Fig. 5. Types and structures of N-linked glycoproteins: a – High-mannose type; б – hybrid type; в – complex type (Man – mannose, Gal – galactose, GlcNAc – N-acetylglucosamine, NeuNAc – N-acetyl neuraminic (sialic) acid, Asn – asparagine)

Встановлено структуру N-гліканів глікофорину А людини, яка представлена на рис. 6. N-глікан глікофорину А людини є двоантенним олігосахаридом комплексного типу з бісектним залишком. Характерною рисою будови вуглеводного компонента глікофоринів є присутність у їхньому складі сіалових кислот.

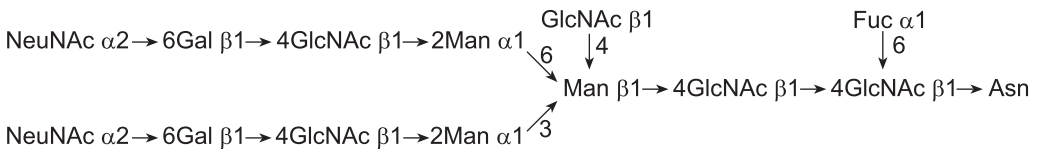


Рис. 6. N-глікозидний олігосахарид глікофорину А людини [50]

Fig. 6. N-glycosylated oligosaccharide in human glycoprotein A [50]

Вуглеводний компонент GPB побудований з 11 О-зв'язаних олігосахаридних ланцюгів, аналогічних за структурою до О-гліканів GPA, і становить близько 50% маси молекули. Позаклітинний N-кінцевий домен GPC побудований з 57 амінокислотних залишків і містить один сайт N-глікозилювання по Asn-8, декілька потенційних сайтів О-глікозилювання по Ser і Thr (близько 12 олігосахаридних ланцюгів), а також антигенну детермінанту Ge:3, розміщену в ділянці 48-го амінокислотного залишка.

Оскільки в GPD відсутні 21 амінокислотний залишок з N-кінця порівняно до GPC, він містить лише 6 О-зв'язаних олігосахаридних ланцюгів і не містить N-глікану. У структурах GPC і GPD встановлено ряд мутацій [69], внаслідок яких виникають нові антигенні детермінанти, відомі як Melanesian (Ge: -1), Yus (Ge: -2, 3, 4), Gerbich (Ge: -2, -3, 4) і Leach (Ge: -2, -3, -4) [28].

О-глікозилювання здійснюється посттрансляційно в апараті Гольджі шляхом приєднання до поліпептидного ланцюга одного з моносахаридів: глюкози (Glc), N-ацетилгалактозаміну (GalNAc), манози (Man), фукози (Fuc) або галактози (Gal).

На відміну від N-глікозилювання, єдиної специфічної амінокислотної послідовності для цього процесу не виявляють, але відомо, що сайти О-глікозилювання – це кластери залишків серину або треоніну близько проліну, що міститься на значній відстані від заряджених амінокислот. Не існує суворого порядку приєднання моносахаридів при синтезі О-гліканів, тому їхня різноманітність у складі глікопротеїнів людини значно більша, ніж у N-гліканів (табл. 1), а кількість варіабельних частин необмежена [37, 52].

Таблиця 1. Типи та структура корової частини О-гліканів (Gal – галактоза, GlcNAc – N-ацетилглюкозамін, GalNAc – N-ацетилгалактозамін)

Table 1. Types and structures of the crust part of O-glycans (Gal – galactose, GlcNAc – N-acetylglucosamine, GalNAc – N-acetylgalactosamine)

Тип корової частини	Структура корової частини
Кор 1	Gal β 1,3-GalNAc-
Кор 2	GlcNAc β 1,6-Gal β 1,3-GalNAc-
Кор 3	GlcNAc β 1,3-GalNAc-
Кор 4	GlcNAc β 1,6- GlcNAc β 1,3 -GalNAc-
Кор 5	GalNAc α 1,3- GalNAc-
Кор 6	GlcNAc β 1,6-GalNAc-
Кор 7	GalNAc α 1,6- GalNAc
Кор 8	Gal α 1,3-GalNAc-

Виявлені у глікофоринах численні О-глікозидні олігосахаридні ланцюги є вуглеводними структурами, зв'язаними з поліпептидним ланцюгом через N-ацетилгалактозамін зі серином або треоніном. Низка структур вуглеводних ланцюгів глікофоринів є частково або повністю охарактеризовані (рис. 7).

Найбільш розповсюдженим і характерним для глікофоринів О-глікозидним ланцюгом є тетрасахарид 1 (рис. 7), який містить два залишки сілової кислоти, а також трисахариди 2 і 3, у яких відсутній один із залишків сілової кислоти. У глікофорині А людини тетрасахарид 1 і лінійний трисахарид 3 є переважаючими структурами. Вважають, що виявлений у невеликих кількостях розгалужений трисахарид 2 може утворюватися внаслідок десіалювання тетрасахариду 1 під час процедури ізолювання. В глікофоринах людини ідентифіковано також два пентасахариди 4 і 5, які містять три залишки сілової кислоти.

Більшість О-зв'язаних олігосахаридів містять два залишки сілової кислоти, приєднані до галактози і N-ацетилгалактозаміну, відповідно. Мінорними є О-глікани, що містять дисіалозильні структури, а деколи й трисіалозильні послідовності [31].

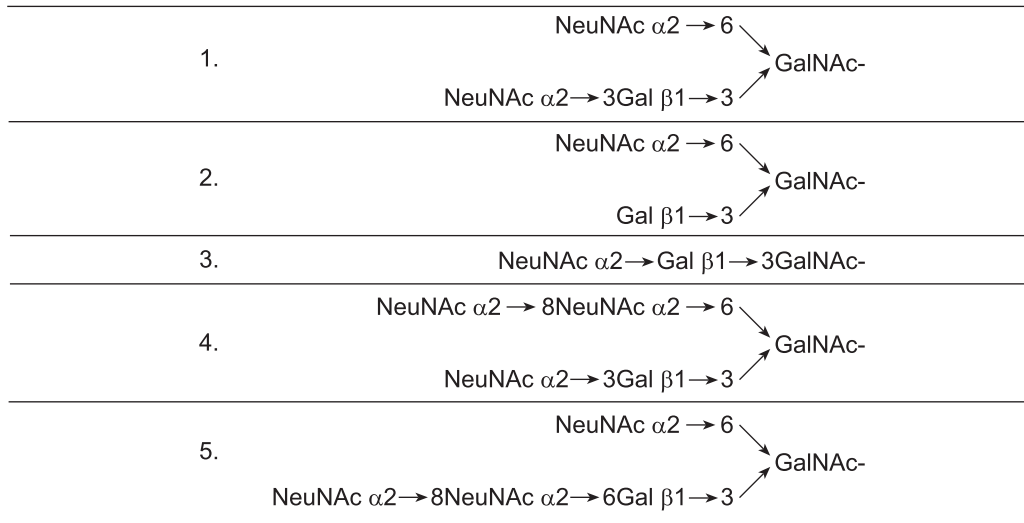


Рис.7. Приклади структури варіабельної частини O-глікозидних ланцюгів, знайдених у глікофоринах людини [37,52]

Fig. 7. The structurale samples of the variable part of O-glycolised chains found in human glycophorin [37,52]

Стан вуглеводного компонента глікофоринів є сигналом для розпізнавання старіючих еритроцитів, своєрідним фізіологічним регулятором часу життя еритроцита у кров'яному руслі [7]. Десіалювання вуглеводного компонента призводить до захоплення еритроцитів галактозоспецифічними лектинами в печінці і видалення їх із кров'яного русла [8]. Пошкоджені еритроцити впізнаються також рецепторами макрофагів, лігандом для яких є сіалоолігосахаридні ланцюги кластеризованого або агрегованого глікофору [17].

3. Застосування лектинів у дослідженні глікокон'югатів мембран еритроцитів людини

Після встановлення факту, що деякі лектини здатні вибірково аглютинувати еритроцити певної групи крові людини, почався широкомасштабний пошук подібних лектинів серед об'єктів тваринного та рослинного світу. Ці пошуки увінчалися відкриттям цілого ряду групспецифічних лектинів. Як виявилось, найширше в природі представлені анти-A специфічні лектини, тоді як лектинів, специфічних до H та B-антигену було знайдено небагато.

На початку 80-х років минулого століття всі лектини були об'єднані в групи залежно від їхньої здатності взаємодіяти з певними моносахаридами або їх α - і β -метилглікозидами [1]. Різні лектини однакової моносахаридної специфічності, зокрема D-галактозоспецифічні, мають значні розбіжності в афінності до глікопротеїнів. При вивченні їхньої вуглеводної специфічності найчастіше використовують олігосахаридні структурні одиниці, які зустрічаються у глікопротеїнах ссавців. Їх часто позначають латинськими літерами: A) D-GalNAc $\alpha(1 \rightarrow 3)$ D-Gal; B) D-Gal $\alpha(1 \rightarrow 3)$ D-Gal; E) D-Gal $\alpha(1 \rightarrow 4)$ D-Gal; F) D-GalNAc $\alpha(1 \rightarrow 3)$ D-GalNAc; T) D-GalNAc $\beta(1 \rightarrow 3)$ D-GalNAc; S) D-GalNAc $\beta(1 \rightarrow 4)$ D-Gal; I) D-GalNAc $\beta(1 \rightarrow 3)$ D-GlcNAc; II) D-GalNAc $\beta(1 \rightarrow 4)$ D-GlcNAc (табл.1).

Специфічність до антигену Н визначає термінальний залишок L-фукози. Специфічність до антигену А крові людини визначається термінальним залишком N-ацетиллактозаміну, який приєднаний до олігосахариду H-антигену $\alpha(1\rightarrow3)$ глікозидним зв'язком. Конфігурація глікозидного зв'язку має суттєве значення, оскільки його заміна на аналогічний β -глікозидний зв'язок приводить до втрати A-специфічності. В ході багаторічних досліджень Уоткінс, Морган і Кабат показали, що всі три антигени системи АВ0 (тобто А, В і Н), а також антигени системи Льюїс (Le^a і Le^b) мають у загальних рисах подібну будову (табл. 2). Усі вони є глікопротеїнами і (або) гліколіпідами, які містять численні олігосахаридні ланцюги. До складу цих ланцюгів входять 5 моносахаридів: D-галактоза, L-фукоза, N-ацетил-D-галактозамін, N-ацетилглюкозамін і сіалова кислота. Відмінності в серологічній специфічності антигенів А, В, Н та Le^a і Le^b залежать від термінальних моносахаридів і від типу зв'язку, якими вони приєднані (табл. 2) [48].

Таблиця 2. Основні підгрупи D-галактозоспецифічних лектинів [69]

Table 2. The main subgroups of D-galactosespecific lectins [69]

Назва групи	Вуглеводна детермінанта	Приклад лектину (Джерела виділення)
A-специфічні лектини	D-GalNAc $\alpha(1\rightarrow3)$ D-Gal	Griffonia simplicifolia A ₄ , Phaseolus limensis, Vicia villosa A ₄ , Helix pomatia
B-специфічні лектини	D-Gal $\alpha(1\rightarrow3)$ D-Gal	Griffonia simplicifolia B ₄ , Mispurnus fossilis, Ptilota plumose, Marasmius oreades
Tn-специфічні лектини	D-GalNAc $\alpha(1\rightarrow3)$ Ser (Thr)	Vicia villosa B ₄ , Salvia sclarea, Maclura pomifera, Helix pomatia
Форсман-антиген специфічні лектини (F-специфічні)	D-GalNAc $\alpha(1\rightarrow3)$ D-GalNAc	Dolichos biflorus, Wistaria floribunda, Caragana arborescens Glycine soja
T-специфічні лектини (Томлена-Фріденрайха антиген, T-антиген еритроцитарних мембран)	D-GalNAc $\beta(1\rightarrow3)$ D-GalNAc	Arachis hypogaea, Maclura pomifera, Sophora japonica, Vicia graminea
N-ацетиллактозамінспецифічні лектини або тип I і II специфічні лектини	D-GalNAc $\beta(1\rightarrow3)$ D-GlcNAc D-GalNAc $\beta(1\rightarrow4)$ D-GlcNAc	Ricinus communis (RCA-1), Datura stramonium, Erythrina cristagalli, Geodia cydonium

Глікофорин А містить невелику кількість незаміщених залишків GalNAc (Tn-рецептор), які виявляються зв'язуванням з лектином MLL (виділений з *Moluccella laevis*). Лектин краще взаємодіє з GPA на еритроцитах групи крові N, ніж M, що свідчить про більшу кількість Tn-рецепторів у складі GPA_N, ніж у GPA_M. Встановлено, що вища експресія негалактозильованих залишків GalNAc у GPA_N порівняно з GPA_M локалізується в N-кінцевій ділянці молекули між MN-групоспецифічними амінокислотними залишками 1 і 5 [49].

Манозоспецифічні лектини конканавалін А (ConA) та лектин сочевиці (LCA) значно сильніше взаємодіють зі складними розгалуженими гліканними структурами, тому їх можна без будь-яких застережень класифікувати як лектини складної олігосахаридної специфічності (табл. 3).

Таблиця 3. Властивості деяких лектинів, які використовуються для ідентифікації вуглеводних детермінант мембран еритроцитів [1]

Table 3. Peculiarities of some lectins used for the identification of erythrocyte membrane carbohydrate determinants [1]

Лектин	Джерело одержання	Молекулярна маса, кДа	Специфічність до моносахаридів	Специфічність до олігосахаридів
LCA	<i>Lens culinaris</i>	45,4	$\alpha\text{Man} > \alpha\text{Glc} > \alpha\text{GlcNAc}$	Розгалужені манозиди з фукозною детермінантою
RCA I	<i>Ricinus communis</i>	120	$\beta\text{Gal} > \beta\text{GalNAc}$	$\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{GlcNAc} > \text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{GlcNAc}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal} > \text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{GlcNAc} > \text{Gal}\beta(1\rightarrow6)\text{GlcNAc}$
Con A	<i>Canavalia ensiformis</i>	102	$\alpha\text{Man} > \alpha\text{Glc} > \alpha\text{GlcNAc}$	Розгалужені манозиди
WGA	<i>Triticum vulgaris</i>	36	$\beta\text{GlcNAc} \gg \alpha\text{NeuNAc}$	$\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{GlcNAc}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}$, $(\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{GlcNAc}\beta(1\rightarrow6)\text{GalNAc}$ та $\text{GlcNAc}\beta(1\rightarrow4)_2$ або 3. $\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{GlcNAc}\beta(1\rightarrow3)\text{Gal}$
MAA II	<i>Maackia Amurensis</i>	140	αNeuNAc	$\text{NeuAc}\alpha(2\rightarrow3)\text{Gal}\beta(1\rightarrow3)\text{NeuAc}\alpha(2\rightarrow6)\text{GalNAc}$ $\text{NeuAc}\alpha(2\rightarrow3)\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{Glc} > \text{NeuAc}\alpha(2\rightarrow6)\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{Glc}$
SNA-II	<i>Sambucus nigra</i>	51	$\text{GalNAc} > \beta\text{Gal}, \text{NeuNAc}$	$\text{GalNAc}\alpha(1\rightarrow3)\text{Gal}$ та $\text{GalNAc}\alpha(1\rightarrow6)\text{Gal} > \text{GalNAc}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}$

Молекулярна маса ConA 105 кДа, ізоелектрична точка – 5,5. Конканавалін А – це тетрамер, кожна зі субодиниць якого має молекулярну масу 27,5 кДа, складається із 237 амінокислотних залишків та має по одному центру зв'язування для Ca^{2+} , Mn^{2+} та вуглеводу, поліпептидний ланцюг не містить α -спіральних ділянок і на 57% утворений β -складчастою структурою [1]. Мінімумальною умовою для зв'язування лектину Канавалії мечовидної з рецептором є наявність D-мано- або D-глюкопіранозної конфігурації. Найбільш важливим цукром, який бере участь у зв'язуванні глікопротеїнів з ConA, є залишок α -манози, а основною умовою хорошого зв'язування є наявність трьох залишків α -манози, приєднаних один до одного з утворенням розгалуженої структури, яка прикріплюється до корової ділянки. Заміщення N-ацетилглюкозаміном α -манози в коровій ділянці N-гліканів значно знижує здатність зв'язуватись лектину ConA з розгалуженою α -манозною ланкою.

Лектин сочевиці складається з двох α - і двох β -ланцюгів. Молекулярна маса – 46 кДа. Цей лектин є металопротеїном, для прояву активності якого потрібні іони Ca^{2+} і Mn^{2+} . За даними деяких дослідників [1], LCA містить 1,5–3% вуглеводів (манози і N-ацетил-D-глюкозамін у молярному співвідношенні 1:0,7). Кожна субодиниця лектину має по одному центру зв'язування вуглеводів: α ,D-глюкози та α ,D-манози

і розгалужених манозних ланцюгів. Для лектину сочевиці при взаємодії зі складними вуглеводами дуже важливе значення має наявність α ,L-фукози, приєднаної до першого залишку N-ацетил-D-глюкозаміну в глікокон'югатах. Порівнюючи афінність LCA та ConA, слід відмітити, що перший має нижчу спорідненість до цукрів.

Сіалоспецифічний лектин зародків пшениці (WGA) є важливим біохімічним інструментом вивчення процесів сіалювання та десіалювання, що відіграють важливу роль у регуляції метаболізму глікокон'югатів, міжклітинній взаємодії та виявленні біологічної функції сіалогліканів і суті їхніх структурних змін за патологічних станів людини [1]. Аглютинін зародків пшениці складається із двох субодиниць, має два центри зв'язування вуглеводів. Молекулярна маса WGA 36 кДа, ізоелектрична точка 8,7. Лектин є специфічним до залишку N-ацетилглюкозаміну, більшою мірою до його ди- та трисахаридів. Молекула WGA може також зв'язуватись із залишками сіалової кислоти (N-ацетилнейраміновою кислотою). При довготривалій інкубації залишки N-ацетилглюкозаміну можуть витіснити залишки сіалової кислоти з активного центру лектину [1]. Залишок N-ацетил-D-глюкозаміну в молекулі олігосахариду не обов'язково мусить бути термінальним. WGA взаємодіє з корбогідратами, у яких даний залишок перебуває всередині ланцюга. У той же час галактозні залишки послаблюють взаємодію з WGA. Цікаво, що існує два незалежних способи зв'язування вуглеводів з WGA. Домінує спосіб, у якому поперечно зв'язуються сіалювані O-глікани між двома лектиновими субодиницями. Є мінорна модель, у якій окремий $\alpha(2\rightarrow6)$ -зв'язаний залишок сіалової кислоти зв'язується із залишком ароматичної амінокислоти в основному місці зв'язування вуглеводів.

Лектин рицини (RCA) – це димерний протеїн, з молекулярною масою 60–63 кДа, що складається з двох різних поліпептидних ланцюгів А і В, зв'язаних дисульфідним містком. Обидва ланцюги є глікозилізовані. Лектин краще взаємодіє з N-ацетил-D-галактозаміном, ніж із D-галактозою. N- та O-глікани зв'язуються з лектином рицини. Присутність сіалових кислот у структурі глікопротеїну послаблює взаємодію з даним лектином. RCA може взаємодіяти з гліколіпідами, які містять в своєму складі залишки лактози і галактози. Лектин RCA зв'язується зі складними N-гліканами з більшою спорідненістю, ніж з O-гліканами. N-глікани, що мають два кінцевих залишки галактози, краще реагують з лектином, ніж глікани, що містять галактозу лише на одному кінці ланцюга. На відміну від Con A, RCA добре зв'язується з N-гліканами, у яких залишки α -манози приєднані до ланцюга, що містить галактозу. Слід відзначити, що сіалювання N-гліканів не призводить до суттєвих змін у зв'язуванні.

Для взаємодії лектину кори бузини чорної (SNA-II) з глікопротеїном важливе значення має високий вміст у вуглеводному компоненті кінцевих залишків N-ацетил-D-галактозаміну. Даний лектин має мол. масу 51 кДа і включає субодиниці з мол. масою 30 кДа. Він містить у своєму складі 7,8% нейтральних цукрів (головним чином маноза та невелика кількість фукози і галактози), а також глюкозамін. SNA-II аглютинуює еритроцити людини в мінімальній концентрації: 62 мкг/мл.

У клінічній біохімії важливе місце займає аналіз білків крові за допомогою лектинів. Здебільшого вони є глікопротеїнами, яким характерна значна гетерогенність, зумовлена їхнім вуглеводним компонентом. Глікопротеїни можуть легко виявлятися за допомогою електрофорезу, де лектинами замінюють традиційно застосовувані антитіла. Позиція і виникнення смуг преципітації може надати цінну інформацію щодо молекулярної маси, ступеня гілкування і вуглеводної специфічності глікокон'югату. Лектиноблотинг у дослідженні глікопротеїнів має певні пере-

ваги порівняно з традиційними методами: чимало білків, які реагують з одним і тим самим лігандом, можна досліджувати одночасно; можна відділити макромолекули, які взаємодіють з певними лігандами, від тих, які з ними не взаємодіють; кількісно оцінити зв'язування лектину за інтенсивністю забарвлених смуг. Сьогодні лектино-блот-аналіз став важливим інструментом для виявлення, характеристики і кількісного визначення глікопротеїнів та їхніх вуглеводних залишків.

GLYCOPROTEINS OF ERYTHROCYTE MEMBRANES AND THE STRUCTURE OF THEIR CARBOHYDRATE DETERMINANTS

N. O. Sybirna, T. V. Buslyk

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

In this review modern data on key glycoproteins of erythrocyte membranes structure has been analysed. Lectine characteristics which are widely used for study into their oligosaccharide structures are given below.

Key words: glycoproteins, erythrocyte membranes, lectins.

ГЛІКОПРОТЕИНЫ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ И СТРОЕНИЕ ИХ УГЛЕВОДНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ

Н. А. Сибирная, Т. В. Буслик

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

В обзоре проанализированы современные данные о структуре основных гликопротеинов мембран эритроцитов. Приведены характеристики лектинов, которые широко используются в исследованиях структуры их олигосахаридных детерминант.

Ключевые слова: гликопротеины, мембраны эритроцитов, лектины.

-
1. *Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела.* Львів: ПП „Кварт”, 2005. 554 с.
 2. *Молчанова Т.П.* Основы молекулярной организации белков мембраны эритроцитов и их дефекты, приводящие к гемолитическим анемиям. **Гематология и трансфузиология**, 1989; 7: 32–41.
 3. *Николаева Т.Л., Оловникова Н.И.* Система Кидд и ее трансфузиологическое значение. **Гематология и трансфузиология**, 2006; 51(1): 33–35.
 4. *Себякин Ю.Л., Евстигнеева Р.М.* Гликоконъюгаты, углеводные цепи гликопротеинов: структура, биосинтез и функции в тканях животных. **Успехи биол. химии**, 1988; 28: 213–225.
 5. *Сторожок С.А., Соловьев С.В.* Структурные и функциональные особенности цитоскелета мембраны эритроцита. **Вопросы мед. химии**, 1992; 2: 14–17.
 6. *Хьюз Р.* **Гликопротеины**: Москва: Мир, 1985. 140 с.
 7. *Hadengue A.L., Del-Pino M., Simon A., Levenson J.* Erythrocyte disaggregation shear stress, sialic acid, and cellaging in humans. **Hypertension**, 1998; 32: 324–330.

8. *Aminoff D.* The role sialoglycoconjugates in the ageing and sequestration of red cells from circulation. **Blood Cells**, 1988; 14: 229–257.
9. *Anderson R.A., Lovrien R.F.* Glycophorin is linked by band 4.1 protein to the human erythrocyte membrane skeleton. **Nature**, 1984; 307(16): 655–658.
10. *Anderson R.A., Marchesi V.T.* Regulation of the association of membrane skeletal protein 4.1 with glycophorin by polyphosphoinositide. **Nature**, 1985; 318(21): 295–298.
11. *Anstee D.J., Mawby W.J., Parsons S.F., Tanner M.J.A.* Abnormal blood group Ss-active sialoglycoproteins in the membrane of Miltenberger class III, IV and V human erythrocytes. **Biochem. J**, 1979; 183: 193–203.
12. *Anstee D.J., Hemming N.J., Tanner M.J.* Functional factors in the red cell membrane: interactions between the membrane and its underlying skeleton. **Immunol. Invest**, 1995; 24 (1–2): 187–198.
13. *Anstee D.J., Cartron J.P.* Toward an understanding of the red cell surface. **Red cell immunohaematology towards its second century**. ESTM. Tel Aviv, 1999: 12–44.
14. *Arge P., Cartron J.P.* Molecular biology of Rh antigens. **Blood**, 1991; 78: 551–563.
15. *Bailly P., Cartron J.P., Wang D. et al.* Hereditary stomatocytosis and Rh deficient patients exhibit distinct molecular defects. **Blood**, 1992; 50: 1624–1626.
16. *Baranowski T., Lisowska E., Morawiecki A. et al.* Studies on blood group antigens M and N. III. Chemical composition of purified antigens. **Arch. Immunol. Ther. Exp**, 1959; 7: 15–27.
17. *Beppu M., Hayashi T., Hasegawa T., Kikugawa K.* Recognition of sialosaccharide chains of glycophorin on damaged erythrocytes by macrophage scavenger receptors. **Biochim. Biophys. Acta**, 1995; 1268(1): 9–19.
18. *Blanchard D., Dahr W., Hummel M. et al.* Glycophorin B and C from human erythrocyte membranes. Purification and sequence analysis. **J. Biol. Chem**, 1987; 262(12): 5808–5811.
19. *Blumenfeld O.O., Huang C.H.* Molecular genetics of the glycoporphingene family, the antigens for MNSs blood groups: multiple gene rearrangements and modulation of splice site usage result in extensive diversification. **Hum. Mutat**, 1995; 6(3): 199–209.
20. *Bruce L.J., Groves J.D., Okubo Y., Thilaganathan B., Tanner M.J.* Altered band 3 structure and function in glycophorin A- and B-deficient (MkMk) red blood cells. **Blood**, 1994; 84(3): 916–922.
21. *Bruce L.J., Pan R.-j., Cope D.L. et al.* Altered Structure and Anion Transport Properties of Band 3 (AE1, SLC4A1) in Human Red Cells Lacking Glycophorin A. **J. Biol. Chem**, 2004; 279(4): 2414–2420.
22. *Caldwell A.B.* Proteins of the turkey erythrocyte membrane. **Biochemistry**, 1976; 15(12): 2711–2718.
23. *Cartron J.P., Bailly P., Le van Kim C. et al.* Insights into the structure and function of membrane polypeptides carrying blood group antigens. **Vox Sanguinis**, 1998; 74: 29–64.
24. *Cartron J.P., Rahuel C.* Human erythrocyte glycophorins: protein and gene structure analyses. **Trans. Med. Rev**, 1992; 6(2): 63–92.
25. *Chasis J.A., Jensen R., Mohandas N.* Erythrocyte membrane rigidity induced by glycophorin A-ligand interaction. Evidence for a ligand- induced association between glycophorin A and skeletal proteins. **J. Clin. Invest**, 1995; 75: 1919–1926.
26. *Che A., Cherry R.J.* Loss of rotational mobility of band 3 proteins in human erythrocyte membranes induced by antibodies to glycophorin A. **Biophys. J**, 1995. 68 (5): 1881–1887.
27. *Claster S., White E., Woolworth V., Quntanilha A.* Degradation of erythrocyte glycophorin results in increased membrane bound haemoglobin. **Arch. Biochem. and Biophys**, 1991; 285 (1): 147–152.
28. *Colin Y.* Gerbich blood groups and minor glycophorins of human erythrocytes. **Transfus. Clin. Biol**, 1995; 2 (4): 259–268.
29. *Colin Y., Rahuel C., London J.* Isolation of cDNA clones for human erythrocyte glycophorin C. **J. Biol. Chem**, 1986; 261: 229–233.
30. *Dahr W., Beyreuther K., Kordowicz M.* N-terminal amino acid sequence of sialoglycoprotein D (glycophorin C) from human erythrocyte membrane. **Eur. J. Biochem**, 1982; 125: 57–62.

31. *Dahr W., Uhlenbruck G.* Structural properties of the human M and N blood group system antigen receptor sites. **Hoppe-Seyler's Z. Physiol.Chem**, 1978; 359: 835–843.
32. *DeLuca G.M., Donnell M.E., Carrigan D.J., Blackall D.P.* Plasmodium falciparum merozoite adhesion is mediated by sialic acid. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, 1996; 225(3): 726–732.
33. *Dill K., Hu S., Berman E., Pavia A., Lacombe J.M.* One and two-dimensional NMR studies of the N-terminal portion of glycophorin A at 11.7 tesla. **J. Protein Chem**, 1990; 9(2): 129–136.
34. *Dolan S.A., Proctor J.L., Ailing D.W. et al.* Glycophorin B as an EBA-175 independent Plasmodium falciparum receptor of human erythrocytes. **Mol. Biochem. Parasitol**, 1994; 64: 55–63.
35. *Dzandu J.K., Dehmercy E.* Phosphorylation of glycophorin A in membranes of intact human erythrocytes. **Biochem. and Biophys. Res. Commun**, 1985; 127 (3): 878–884.
36. *Fronlich O., Macey R.I., Edwards Moulds J. et al.* Urea transport deficiency in Jk(a b) erythrocytes. **Am. J. Physiol**, 1991; 260: 778–783.
37. *Fukuda M., Lauffenburger M., Sasaki H. et al.* Structures of novel sialylated O-linked oligosaccharides isolated from human erythrocyte glycophorins. **J. Biol. Chem**, 1987; 262 (25): 11952–11957.
38. *Fukuda M., Osawa T.* Isolation and characterization of a glycoprotein from human group O erythrocyte membrane. **J. Biol. Chem**, 1973; 248(14): 5100–5105.
39. *Furthmayr H., Tomita M., Marchesi V.T.* Fractionation of the major sialoglycopeptides of the human red cell membrane. **Biochem, Biophys. Res. Commun**, 1975; 65: 113–121.
40. *Gahmberg C.G., Hermonen J.* The human red cell sialoglycoprotein, glycophorin A: biosynthesis, glycosylation and interaction with external ligands. **Indian J. of Biochem. and Biophys**, 1988; 25(1–2): 133–136.
41. *Gahmberg C.G., Myllyla G., Leikola J. et al.* Absence of the major sialoglycoprotein in membrane of human En(a-) erythrocytes and increased glycosylation of band 3. **J. Biol. Chem**, 1976; 251(19): 6108–61016.
42. *Gahmberg C.G., Tolvanen M.* Why mammalian cell surface proteins are glycoproteins. **TIBS**, 1996; 21: 308–311.
43. *Hamaguchi H., Cleve H.* Solubilization and comparative analysis of mammalian erythrocyte membrane glycoproteins. **Biochem. and Biophys. Res. Commun**, 1972; 47 (2): 459–464.
44. *Hassoun H., Hanada T., Lutchman M. et al.* Complete deficiency of glycophorin A in red blood cells from mice with targeted inactivation of the band 3 (AE1) gene. **Blood**, 1998. 91(6): 2146–2151.
45. *Hemming N.J., Anstee D.J., Staricoff M.A. et al.* Identification of the membrane attachment sites for protein 4.1 in the human erythrocyte. **J. Biol. Chem**, 1995; 270(10): 5360–5366.
46. *High S., Tannet M.J.A.* Human erythrocyte membrane sialoglycoprotein b. The cDNA sequence suggest the absence of a cleaved N-terminal signal sequence. **Biochem. J**, 1987; 243: 277–280.
47. *Hyland C.A., Cherif Zahar B., Cowley N. et al.* A novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygote Rhnull blood donor of the regulator type. **Blood**, 1998; 91: 1458–1463.
48. *Huang C-H., Blumenfeld O.O.* Molecular basis of human major blood group antigens. **Blood Cell Biochemistry**, Plenum Press, 1995; 6: 153–188.
49. *Huang C-H., Reid M.E., Xie S.S., Blumenfeld O.O.* Human red blood cell Wright antigens: a genetic and evolutionary perspective on glycophorin A-band 3 interaction. **Blood**, 1996; 87(9): 3942–3947.
50. *Irimura T., Tsuji t, Tagami S., Yamamoto K., Osawa T.* Structure of complex type sugar chain of human glycophorin A. **Biochemistry**, 1981; 20: 560–566.
51. *Knowles D.W., Chasis J.A., Evans E.A., Mohandas N.* Cooperative action between band 3 and glycophorin A in human erythrocytes: immobilization of band 3 induced by antibodies to glycophorin A. **Biophys. J**, 1994; 66(5): 1726–1732.

52. *Krotkiewski H.* The structure of glycoporphins of animal erythrocytes. **Glycoconjugate J**, 1988; 5: P.35–48.
53. *Kudo S., Fukuda M.* Identification of a novel human glycoporphin, glycoporphin E, by isolation of genomic clones and complementary DNA clones utilizing polymerase chain reaction. **J. Biol. Chem**, 1990; 265: 1102–1110.
54. *Landsteiner K., Levine P.* A new agglutinable factor differentiating individual human bloods. **Proc. Soc. Exp. Biol**, 1927; 24: 600–602.
55. *Le-Van-Kim C., Filler V., Cartron J.P., Colin Y.* Glycoporphins C and D are generated by the use of alternative translation initiation sites. **Blood**, 1996; 88(6): 2364–2365.
56. *Lisowska E.* The role glycosylation in protein antigenic properties: a review. **Cell. Mol. Life Sci**, 2002; 59: 445–455.
57. *Low P.S.* Structure and function of the cytoplasmic domain of band 3: center of erythrocyte membrane-peripheral protein interactions. **Biochemica and Biophysica Acta**, 1986; 846: 145–167.
58. *Lu Y.Q., Liu I.F., Huang C.N. et al.* Elliptocytosis associated with an abnormal a glycoporphin. **Ann. Haematol**, 1992; 35(38): 106–110.
59. *Marchesi V.T., Tillack T.W., Jackson R.L. et al.* Chemical characterization and surface orientation of the major glycoprotein of the human erythrocyte membrane. **Proc. Natl. Sci. USA**, 1972; 69: 1445–1449.
60. *Neil D.A., Reid M.E.* The Rh blood group system: a review. **Blood**, 2000; 15(2): 375–387.
61. *Palek J., Jarolim P.* Clinical expression and laboratory detection of red blood cell membrane protein mutations. **Semin.Hematol**, 1993; 30: 249–283.
62. *Parsons S.F., Jones J., Anstee D.J. et al.* A novel form of congenial dyserythropoietic anemia associated with deficiency of erythroid CD44 and a unique blood group phenotype. **Blood**, 1994; 83: 680–688.
63. *Paul R.W., Lee P.W.K.* Glycoporphin is the reovirus receptor on human erythrocytes. **Virology**, 1987; 159(1): 94–101.
64. *Rearden A., Magnet A., Kudo S., Fukuda M.* Glycoporphin B and glycoporphin E genes arose from the glycoporphin A ancestral gene via two duplications during primate evolution. **J. Biol. Chem**, 1993; 268(3): 2260–2267.
65. *Redman C.M., Marsh W.L.* The Kell blood group system and the McLeod phenotype. **Semin. Hematol**, 1993; 30: 209–218.
66. *Schwartz M.A., Brown E.J., Fazeli B.* A 50 kDa integrin associated protein is required for integrin regulated calcium entry in endothelial cells. **J. Biol. Chem**, 1993; 268: 19931–19934.
67. *Tell M.J.* Lutheran antigens, lutheran regulatory genes and lutheran regulatory genes target. **Blood Cell Biochemistry**, 1995; 6: 281–297.
68. *Tomita M., Furthmayr H., Marchesi V.T.* Primary structure of human erythrocyte glycoporphin A. Isolation and characterization of peptides and complete amino acid sequence. **Biochemistry**, 1978; 17: 4756–4769.
69. *Wu A.M.* Carbohydrate structural units in glycoproteins and polysaccharides as important ligands for Gal and GalNAc reactive lectins. **J. Biomed. Sci**, 2003; 10: 676–688.

Одержано: 16.01.2009