

# КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО γ-ГЛОБУЛИНА В ПРИСУТСТВИИ КАТИОНОВ ЦИНКА

Чекнёв С.Б., Бабаева Е.Е., Воробьёва У.А., Денисова Е.А.

НИИ эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва, Россия

**Резюме.** С использованием дифференциальной спектрофотометрии в ультрафиолете оценивали конформационные изменения человеческого сывороточного γ-глобулина при взаимодействии с катионами цинка в растворе. Показано, что надфизиологические концентрации цинка вызывают снижение компактности упаковки молекулы белка, ее разворачивание во внемолекулярное пространство и образование надмолекулярных агрегатов γ-глобулина. В меньших, чем физиологические, концентрациях катионы цинка встраиваются во внутренние компартменты белковой глобулы, формируют внутримолекулярные координационные связи и компактизируют молекулу белка. При этом образования агрегатов γ-глобулина в растворе не происходит. Обсуждается роль двухвалентных катионов металлов в установлении определенных конформаций белков γ-глобулиновой фракции и в регуляции тем самым их эффекторных функций, реализуемых на уровне межмолекулярных и межклеточных взаимодействий.

**Ключевые слова:** γ-глобулин, цинк, изменения конформации.

*Cheknev S.B., Babaeva E.E., Vorobieva U.A., Denisova E.A.*

## CONFORMATION CHANGES OF HUMAN SERUM γ-GLOBULIN IN THE PRESENCE OF ZINC IONS

**Abstract.** Conformational changes of human serum γ-globulin during interaction with the zinc ions were studied in a solution. It has been shown that the presence of zinc in over its physiological concentrations led to increase in optical density across the whole spectrum of γ-globulin ultraviolet absorption. On the contrary, hypochromia in the spectrum was registered after interaction of the protein with zinc used in subphysiological concentrations. Possible role of divalent metal cations in changes in conformation of the blood serum γ-globulins, and thereby in regulation of their effector functions was discussed. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 4, pp 375-380)

## Введение

Хорошо известно, что входящие в состав металлоферментов и металлопротеинов катионы не только являются ключевыми элементами активных центров, но и вовлекаются в структурные сайты связывания, стабилизирующие молекулы в их нативной конформации [1, 17, 21].

Следовательно, присоединение или донорствование металла, происходящее в ходе межмолекулярных взаимодействий, может существенно влиять на компактность упаковки полипептидных цепей, что, в свою очередь, должно определенно сказываться на эффекторных свойствах содержащих металл или обменивающихся металлом биомакромолекул [6, 11, 15, 16].

Нашими предшествующими исследованиями обоснованы представления о двухфазовом характере взаимодействия γ-глобулина сыворотки крови человека с катионами меди: определены диапазоны концентраций катионов, вызывающих гиперхромиию и гипохромиию в спектре поглощения белка [8, 9]. Анализ полученных данных свидетельствует о взаимодействии

### Адрес для переписки:

Чекнёв Сергей Борисович,  
123098, г.Москва, ул. Гамалеи, дом 18,  
НИИЭМ им.Н.Ф.Гамалеи РАМН.  
Тел. (095)190-43-88, факс (095)193-61-83,  
e-mail: cheknev@riem.ru

металла с  $\gamma$ -глобулином по внешним (в случае гиперхромии) и внутренним (в случае гипохромии) сайтам связывания. Соответственно, конформационные изменения молекулы белка проявляются разворачиванием структур биополимера в периглобулярное пространство с интенсивным образованием надмолекулярных форм (агрегатов)  $\gamma$ -глобулина [7-9] либо, наоборот, компактизацией молекулы, обусловленной внутриглобулярным комплексообразованием, сопровождающимся погружением части связавших медь аминокислотных или сахарных остатков в междоменные компартменты шарнирной области  $\gamma$ -глобулина [8, 9].

В данной работе изучали взаимодействие  $\gamma$ -глобулина сыворотки крови человека с катионами цинка – кофактора более чем 300 ферментов [22], структурного компонента многих металлопротеинов [1, 22], фактора регуляции межмолекулярных взаимодействий [11, 12, 15, 16], определяющего биологическую активность содержащих его белков [12, 17, 18, 22], наконец – играющего важную роль в обеспечении специализированных клеточных функций [12, 14, 22, 26] и непосредственно участвующего в протекании основных иммунных реакций [13, 22, 25]. По прочности связей, образуемых с некоторыми лигандами, катионы цинка не уступают катионам меди, наиболее активным в ряду двухвалентных металлов [1, 24].

## Материалы и методы

Использовали препарат человеческого сывороточного  $\gamma$ -глобулина (Serva) в 0.15 М растворе NaCl (рН 7.14-7.2) в концентрациях белка 50, 100, 150 и 200 мкг/мл. Освобожденные от крупных ассоциатов белка пропусканием через мембранные фильтры с диаметром пор 0.45 мкм (Millipore) образцы инкубировали в течение 1 часа при 37°С с хлоридом цинка, примененным в концентрациях цинка от 0.1 до 12.0 мкг/мл. Постановку реакции осуществляли в конических мерных полистироновых 10 мл пробирках (Costar); объем каждой пробы составлял 5.0 мл. В качестве контроля использовали образцы  $\gamma$ -глобулина, инкубированные с водным сульфатом цинка, и пробы, не содержавшие солей цинка. Контрольные эксперименты проводили с применением тех же концентраций белка и катионов, что и в опытах с хлоридом цинка.

Реакцию учитывали спектрофотометрией в ультрафиолете в диапазоне длин волн от 190 до 320 нм, с шагом 10 нм, в полуавтоматическом режиме с использованием дифференцирующего спектрофотометра PU 8730 UV/VIS (Philips). Расчет молярных отношений осуществляли на основании концентраций  $\gamma$ -глобулина, определенных по поглощению при длине волны 280 нм (коэффициент экстинкции 0.7).

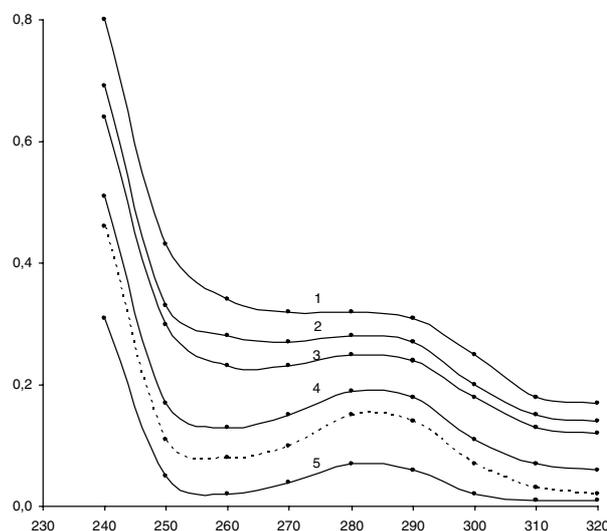
Одновременно отслеживали агрегатообразование в растворе белка. Реакцию учитывали визуально и дифференцировали как: отсутствие помутнения раствора, наличие и интенсивность опалесценции, наличие и мутность взвеси.

Кислотность раствора контролировали с помощью электронного рН-метра-иономера Эксперт-001 (Эконикс-Эксперт).

## Результаты

Присутствие в растворе катионов цинка вызывает очевидные изменения спектра поглощения  $\gamma$ -глобулина (рис.1). Использование цинка в диапазоне концентраций от 12.0 мкг/мл (на порядок превышающей содержание катионов в нормальной сыворотке крови) до 1.0 мкг/мл (соответствующей физиологической) приводит к нарастанию оптической плотности раствора белка. Снижение концентрации цинка до 0.5 мкг/мл вызывает гипохромию спектра поглощения, выраженную в длинноволновой области (рис.1). В условиях дальнейшего уменьшения содержания катионов металла спектр поглощения  $\gamma$ -глобулина возвращается к исходному состоянию.

Сопоставление дифференциальных спектров, полученных отнесением показателей поглощения  $\gamma$ -глобулина в присутствии цинка к оптической плотности раствора нативного белка, позволяет установить, что



**Рис.1.** Спектры поглощения в ультрафиолете человеческого сывороточного  $\gamma$ -глобулина (100 мкг/мл) в присутствии катионов цинка (сплошные линии) в сравнении со спектром поглощения нативного белка (штриховая линия) в диапазоне длин волн 240-320 нм. Представлены выборочно.

Здесь и на рис.2 и 3 по оси абсцисс: длина волны, нм. По оси ординат: оптическая плотность, ед.

Концентрации цинка: 1 – 12.0; 2 – 6.0; 3 – 3.0; 4 – 1.0; 5 – 0.5 мкг/мл. Спектр поглощения нативного  $\gamma$ -глобулина приведен по совокупности наблюдений.

наиболее выраженный прирост поглощения регистрируется в диапазоне длин волн 250-270 нм (рис.2). На эту же область спектра приходится проявления гипохромии. Максимальные значения параметров обеих функций отмечены при длине волны 260 нм (рис.2).

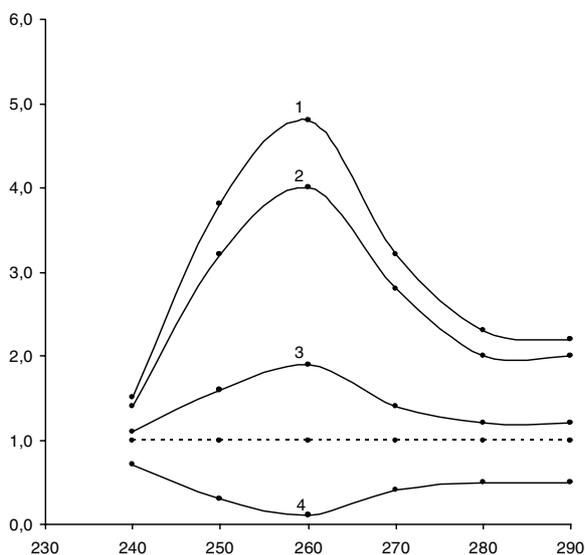
Разностные ультрафиолетовые спектры обнаруживают, что коротковолновая полоса поглощения  $\gamma$ -глобулина тоже претерпевает значимые изменения как при использовании надфизиологических концентраций цинка, так и в диапазоне концентраций металла, близких или меньших, чем физиологические (рис.3). Нарастание оптической плотности в растворе белка характеризуется пиками поглощения при 210 и 240 нм. При этом уже 3.0 мкг/мл цинка вызывают гипохромию спектра, выраженную при длине волны 220 нм, которая нарастает в присутствии 1.0 мкг/мл катионов и достигает своего максимума в образцах, содержащих 0.5 мкг/мл цинка (рис.3).

Использование различных концентраций  $\gamma$ -глобулина, а также контрольные опыты с сульфатом цинка обнаруживают те же закономерности в изменениях спектра поглощения белка, за исключением вариаций, связанных собственно с концентрацией  $\gamma$ -глобулина и несколько большей или меньшей активностью отдельных концентраций катионов. Смещение

пиков дифференциальных и разностных ультрафиолетовых спектров не отмечено.

Присутствие в растворе  $\gamma$ -глобулина 1.0-12.0 мкг/мл цинка вызывает образование надмолекулярных агрегатов белка. Оно несколько более выражено при использовании хлорида (табл.1), чем сульфата цинка (табл.2), и проявляется наличием опалесценции или взвеси в растворе. Интенсивность опалесценции и мутность раствора, содержащего взвешенные агрегаты  $\gamma$ -глобулина, нарастают с увеличением концентрации катионов цинка (табл.1 и 2). В дозах, меньших чем 1.0 мкг/мл металла, образования в растворе белка агрегатов  $\gamma$ -глобулина не прослеживается.

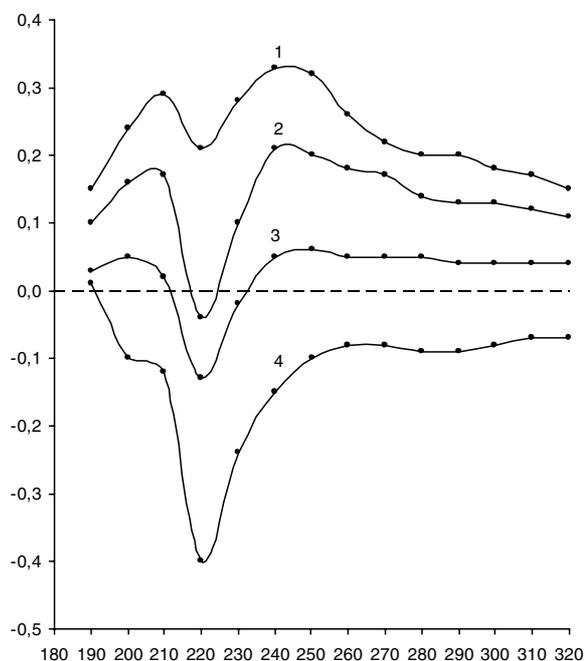
В исследованном диапазоне концентраций цинка (в молярном выражении от  $1.5 \times 10^{-6}$  до  $1.8 \times 10^{-4}$  М) кислотность образцов, содержащих цинк, варьирует в пределах от 7.18 до 7.2 при использовании максимальной концентрации хлорида и от 7.22 до 7.24 – сульфата цинка, т.е. смещается по сравнению с контрольным  $\gamma$ -глобулином менее чем на 0.1 единицы рН. При этом нарастание ионной силы в растворе по сравнению с примененным 0.15 М NaCl составляет 0.73% в случае хлорида и 1.18% – сульфата цинка. Следовательно, ни кислотность образцов, ни ионная сила раствора не могут оказывать существенно влияния на регистрируемые показатели.



**Рис.2.** Дифференциальные ультрафиолетовые спектры, полученные отнесением значений поглощения  $\gamma$ -глобулина в присутствии катионов цинка к оптической плотности раствора нативного белка в диапазоне длин волн 240-290 нм. Представлены выборочно.

По оси ординат: отношение показателей оптической плотности.

Концентрации цинка: 1 – 6.0; 2 – 3.0; 3 – 1.0; 4 – 0.5 мкг/мл. Штриховая линия – показатели нативного  $\gamma$ -глобулина.



**Рис.3.** Разностные ультрафиолетовые спектры  $\gamma$ -глобулина в присутствии катионов цинка и нативного  $\gamma$ -глобулина в диапазоне длин волн 190-320 нм. Представлены выборочно.

По оси ординат: изменение оптической плотности, ед. Концентрации цинка: 1 – 12.0; 2 – 3.0; 3 – 1.0; 4 – 0.5 мкг/мл.

Произведенные на основании спектрофотометрического определения содержания  $\gamma$ -глобулина в реакционной смеси расчеты показывают, что в данной работе взаимодействие цинка с белком воспроизведено в присутствии от 2 до почти 600 ионов  $Zn^{2+}$  на молекулу  $\gamma$ -глобулина, т.е. в условиях молярного избытка металла. Соответствующее нормальной сыворотке крови человека эквимольное отношение катионов  $Zn^{2+}$  и  $\gamma$ -глобулина в реакции не применяли, поскольку спектральные изменения в растворе белка прекращались при использовании цинка в концентрации 0.1 мкг/мл, т.е. когда на молекулу  $\gamma$ -глобулина приходилось, согласно произведенным расчетам, от 2 до 4 ионов металла. Наиболее выраженные проявления гипохромии в спектре поглощения белка отмечены при исследовании образцов, содержащих 10-20 катионов  $Zn^{2+}$  на молекулу  $\gamma$ -глобулина.

## Обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о том, что присутствие в растворе  $\gamma$ -глобулина катионов цинка вызывает существенную конформационную перестройку молекулы белка. В диапазоне молярных отношений, превышающих 20 ионов металла на молекулу  $\gamma$ -глобулина, цинк взаимодействует, по-видимому, с лигандами, расположенными на поверхности молекулы белка (боковыми группами аминокислот, остатками моно- и олигосахаридов, специализированными сайтами связывания металла), что приводит к снижению компактности упаковки белковой глобулы и ее разворачиванию во внемолекулярное пространство. В результате в водную фазу высвобождается часть аминокислот и углеводов, локализованных в междоменной области  $\gamma$ -глобулина.

Высказанное предположение подтверждается зарегистрированной гипохромией спектра поглощения белка (возникновением разностных ультрафиолетовых спектров со сдвигом в область коротких волн), рассматриваемой в физической химии биологических систем как результат перемещения гидрофобных хромофоров из гидрофобной среды в белковой матрице в водную или солевую среду. Речь может идти, прежде всего, о неполярных остатках фенилаланина, входящих в упорядоченную часть шарнирной области молекулы  $\gamma$ -глобулина и высвобождаемых из междоменного пространства, т.к. на их полосу поглощения (около 260 нм) приходится обнаруженный нами сдвиг в дифференциальном спектре  $\gamma$ -глобулина (рис.2). Аналогичные изменения наблюдали при взаимодействии белка с катионами меди, когда, однако, эффект разворачивания молекулы в периглобулярное пространство оказывался значительно выраженнее [8, 9].

Как и в опытах с медью, экспонирование во внемолекулярное окружение гидрофобных фрагментов  $\gamma$ -глобулина, вследствие повышения вероятности межмолекулярных гидрофобных взаимодействий и формирования надмолекулярных структур, приводит в присутствии цинка к агрегатообразованию в растворе белка, определяемому нами в качестве металлзависимого процесса [7]. В отличие от эффектов меди [7], катионы цинка не вызывали выпадения осадка агломератов белка в растворе. Формирование агрегатов  $\gamma$ -глобулина проявлялось различной интенсивности опалесценцией или, с повышением концентрации катионов металла, наличием хорошо видимой и дифференцируемой по мутности раствора взвеси (табл.1 и 2).

Особенности разностных ультрафиолетовых спектров позволяют говорить о том, что, наряду с гидрофобными силами, в межмолекулярные взаимодействия, ведущие в присутствии молярного избытка металла к образованию надмолекулярных агрегатов белка, могут вовлекаться и иные типы связей. Действительно, отмеченная батохромия спектра поглощения  $\gamma$ -глобулина, проявляющаяся смещением полосы поглощения нативного белка с 210-220 нм в область 230-250 нм (рис.3), трактуется как следствие появления заряда на аминокислотных остатках, взаимодействующих с металлом [3] и образования металлокомплексов [5].

Кроме того, одновременно с неполярными остатками аминокислот в процессе агрегатообразования могут участвовать высвобождаемые из междоменного пространства полианионные углеводные цепочки, способные, в силу своей природы, эффективно хелатировать металл и участвовать в формировании контактов с положительно заряженными группами соседних молекул [6].

Не исключено при этом, что сам цинк, за счет известного сродства к тиоловым группам [1, 13], взаимодействует с серосодержащими лигандами полипептидных цепей, стабилизирует остатки аминокислот с сульфгидрильными группами [1], координируется ими и выступает, как и медь, в качестве мостика между соседними молекулами  $\gamma$ -глобулина [4]. Так можно объяснить приобретение антителами, за счет связывания цинка константным регионом молекулы, конформаций, способных к димеризации [20]. Через  $Zn$ -связывающие домены происходит образование димеров апопротеинов, сокращающее число принимаемых последними конформаций и повышающее их устойчивость к протеолизу [10]. Через цинковые мостики димеризуются молекулы стафилококкового энтеротоксина D [22]. Наконец, важную роль сульфгидрильных групп отмечают в процессе стабилизации катионами  $Zn^{2+}$  модельных пептидов, обретающих в результате встраивания металла устойчивость к денатурации в стандартных условиях [21].

Обнаруженная нами в присутствии от 2 до 20 катионов цинка на молекулу белка гипохромия спектра поглощения  $\gamma$ -глобулина с пиком при 220 нм (рис.3), охватывающая и область поглощения хромофоров ароматических аминокислот (рис.1), указывает, как и при взаимодействии с медью, на рост компактности молекулы белка [8, 9]. Он происходит вследствие встраивания металла во внутренние компартменты белковой глобулы, формирования внутримолекулярных координационных связей и их последующей или одновременной реаранжировки в окружении аминокислотных остатков и углеводов шарнирной области молекулы [4, 5].

В сравнении с эффектами меди [8, 9], компактизация белка при взаимодействии с катионами цинка выглядит намного выраженнее, что может свидетельствовать о существенной разнице в характеристиках связывания цинка и меди сайтами, локализованными внутри и на поверхности белковой глобулы. Похоже, что поверхностные лиганды предпочтительнее связывают медь, в то время как внутренние – цинк. Однако, комплексность исследуемых взаимодействий не позволяет трактовать полученные результаты с позиций специфичности или селективности связывания конкретных катионов определенными доменами молекулы. Ответы на возникающие вопросы требуют специальных, более глубоких исследований, а сопоставление эффектов меди и цинка на уровне собственно связывания, а не взаимодействия, с  $\gamma$ -глобулином выходит за рамки настоящей публикации.

При этом понятно, что обнаруженные конформационные изменения белков  $\gamma$ -глобулиновой фракции при взаимодействии с катионами цинка будут существенно влиять на их биологические свойства как с точки зрения активности антител, так и имея в виду многочисленные эффекторные функции, проявляющиеся в ходе клеточных иммунных реакций. Связывание цинка антителами рассматривают как необходимое условие осуществления полноценного иммунного ответа [20]. В присутствии цинка усиливается связывание IgG с гистидин-богатым гликопротеином (ГБГ) плазмы [15], в то время как взаимодействие последнего с C1q компонентом системы комплемента ослабляется [15, 16]. Эффект селективен, т.к. усиление связывания с ГБГ отмечено только для IgG, содержащего легкие  $\kappa$ , но не  $\lambda$  цепи [16]. Это действие цинка, как и усиление металлом связывания гистидин-пролин-богатого гликопротеина с гепарином [11], наиболее выражено при использовании физиологических концентраций катионов [11, 15, 16].

С другой стороны, поскольку содержание свободного цинка в плазме оценивается на уровне 0.2-1.0 нМ [11, 16], а только вариабельные участки антител образуют более 10 сайтов координации металла [24], связывание цинка белками  $\gamma$ -глобулиновой фракции

может обуславливать возникновение ощутимого дефицита этих катионов в периклеточном пространстве.

Роль цинка в иммуногенезе многопланова и разнообразна [22]. Он определяет биологическую активность тимулина [12, 18], контролирует ранние стадии созревания Т-лимфоцитов [22], выступает фактором регуляции апоптоза лимфоцитов и тимоцитов [19, 22]. Цинк индуцирует бласттрансформацию лимфоцитов [26], пролиферацию тимоцитов [27], выработку интерлейкина (IL)-1 и IL-6, фактора некроза опухоли- $\alpha$  и интерферона- $\gamma$  [22], повышает экспрессию рецепторов IL-2, усиливает выработку IL-2 и IL-8 [2, 26], действие IL-1 $\alpha$  и IL1 $\beta$  [12], в т.ч. выступая кофактором взаимодействия последних со специфическими рецепторами [27].

Катионы цинка потребны для нормального протекания фагоцитоза [14] и реакций естественной цитотоксичности (ЕЦТ) [13, 23]. Они вовлечены в мембранные процессы, определяют сборку ансамбля микротрубочек, повышают инфлюкс кальция, т.е. участвуют в событиях начальных стадий взаимодействия лимфоцита с клеткой-мишенью (КМ), требующих интеграции цитоскелета и поляризации мембраны эффектора, и собственно запуске цитолиза [25]. Они необходимы для распознавания молекул МНС-I на КМ киллер-ингибирующим рецептором р58 эффекторов ЕЦТ [22]. Дефицит цинка, в числе более общих эффектов, вызывает количественную и функциональную недостаточность Т-звена иммунитета [2, 23], снижение антителообразования [23], выработки иммуноактивных цитокинов [2, 18], ЕЦТ [23, 25].

Полученные в настоящем исследовании данные обнаруживают способность белков  $\gamma$ -глобулиновой фракции вступать во взаимодействие с катионами цинка и выражено изменять конформационную упаковку молекулы в зависимости от содержания металла в периглобулярном пространстве, а значит – с большей вероятностью связывать катионы по внешним или внутренним координирующим сайтам. С учетом изложенного выше, результаты обоснованно свидетельствуют о возможности изменения в этих условиях вектора транспорта и обмена металла в микроокружении и, в силу этого обстоятельства, – существенной трансформации спектра клеточных реакций и синтетических процессов, зависящих от поступления и наличия в примембранном пространстве катионов цинка.

## Список литературы

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.

2. Ковальчук Л.В., Сусликов В.Л., Карзакова Л.М., Соколова Е.В. Иммуная реактивность организма в условиях естественного дефицита цинка // Иммунология. – 2004. – Т.25, №6. – С.336-339.
3. Кульберг А.Я., Оганян Р.Р., Шибнев В.А. Утилизация радикалов кислорода синтетическими пролин-богатыми олигопептидами // Биохимия. – 1992. – Т.57, №11. – С.1744-1749.
4. Кульберг А.Я., Родникова А.А. Посттрансляционная модификация  $\gamma$ -глобулина гепарином // Иммунология. – 1998. – №3. – С.17-19.
5. Кульберг А.Я., Беркун Ю.Б. Модификация IgG с помощью дезинтегрин – синтетического аналога сайта молекулы фибронектина для клеточных адгезинов // Иммунология. – 1999. – №3. – С.21-24.
6. Чекнёв С.Б., Бабаева Е.Е. Эффекторные свойства ассоциированных с  $\gamma$ -глобулином фракций, содержащих углеводные компоненты // Мед. иммунология. – 2004. – Т.6, №3-5. – С.186-189.
7. Чекнёв С.Б., Бабаева Е.Е., Жаркова М.С., Порошина А.А., Воробьева У.А. Образование надмолекулярных агрегатов  $\gamma$ -глобулина как металлозависимый процесс // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 2005. – Т.139, №2. – С.185-187.
8. Чекнёв С.Б., Бабаева Е.Е., Жаркова М.С., Воробьева У.А., Порошина А.А. Конформационные изменения  $\gamma$ -глобулина при взаимодействии с катионами меди // Иммунология. – 2005. – Т.26, №3. – С.146-150.
9. Чекнёв С.Б., Бабаева Е.Е., Жаркова М.С. Двухфазовый характер взаимодействия  $\gamma$ -глобулина с катионами меди // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 2005.
10. Berg J.M. Zinc-fingers and other metal-binding domains. Elements for interactions between macromolecules // J. Biol. Chemistry. – 1990. – V.265, N12. – P.6513-6516.
11. Borza D.-B., Morgan W.T. Histidine-proline-rich glycoprotein as a plasma pH sensor. Modulation of its interaction with glycosaminoglycans by pH and metals // Ibid. – 1998. – V.273, N10. – P.5493-5499.
12. Coto J.A., Hadden E.M., Sauro M., Zorn N., Hadden J.W. Interleukin 1 regulates secretion of zinc-thymulin by human thymic epithelial cells and its action on T-lymphocyte proliferation and nuclear protein kinase C // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – V.89, N16. – P.7752-7756.
13. Ferry F., Donner M. In vitro modulation of murine natural cytotoxicity by zinc // Scand. J. Immunol. – 1984. – V.19, N5. – P.435-445.
14. Flynn A. Control of in vitro lymphocyte proliferation by copper, magnesium and zinc deficiency // J. Nutrition. – 1984. – V.114, N11. – P.2034-2042.
15. Gorgani N.N., Parish C.R., Easterbrook Smith S.B., Altin J.G. Histidine-rich glycoprotein binds to human IgG and C1q and inhibits the formation of insoluble immune complexes // Biochemistry. – 1997. – V.36, N22. – P.6653-6662.
16. Gorgani N.N., Parish C.R., Altin J.G. Differential binding of histidine-rich glycoprotein (HRG) to human IgG subclasses and IgG molecules containing  $\kappa$  and  $\lambda$  light chains // J. Biol. Chemistry. 1999. V.274, N42. – P.29633-29640.
17. Handel T.M., Williams S.A., DeGrado W.F. Metal ion-dependent modulation of the dynamics of a designed protein // Science. – 1993. – V.261, N5123. – P.879-885.
18. Mucchegiani E., Provinciali M., Di Stefano G., Nobilini A., Caramia G., Santarelli L., Tibaldi A., Fabris N. Role of the low zinc bioavailability on cellular immune effectiveness in cystic fibrosis // Clin. Immunol. Immunopathol. – 1995. – V.75, N3. – P.214-224.
19. Provinciali M., Di Stefano G., Fabris N. Dose-dependent opposite effect of zinc on apoptosis in mouse thymocytes // Int. J. Immunopharmacol. – 1995. – V.17, N9. – P.735-744.
20. Radulescu R.T. Antibody constant region: potential to bind metal and nucleic acid // Med. Hypotheses. – 1995. – V.44, N2. – P.139-145.
21. Regan L., Clarke N.D. A tetrahedral zinc(II)-binding site introduced into a designed protein // Biochemistry. – 1990. – V.29, N49. – P.10878-10883.
22. Rink L., Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production // J. Nutrition. – 2000. – V.130, suppl.5. – P.1407S-1411S.
23. Ripa S., Ripa R. Zinc and immune function // Minerva Med. – 1995. – V.86, N7-8. – P.315-318.
24. Roberts V.A., Iverson B.L., Iverson S.A., Benkovic S.J., Lerner R.A., Getzoff E.D., Tainer J.A. Antibody remodeling: a general solution to the design of a metal-coordination site in an antibody binding pocket // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – V.87. – P.6654-6658.
25. Ventura M.T., Crollo R., Lasaracina E. *In vitro* zinc correction of natural killer (NK) activity in the elderly // Clin. exp. Immunol. – 1986. – V.64. – P.223-224.
26. Warner G.L., Lawrence D.A. The effect of metals on IL-2-related lymphocyte proliferation // Int. J. Immunopharmacol. – 1988. – V.10, N5. – P.629-637.
27. Winchurch R.A. Activation of thymocyte responses to interleukin-1 by zinc // Clin. Immunol. Immunopathol. – 1988. – V.47. – P.174-180.

поступила в редакцию 25.03.2005  
отправлена на доработку 23.05.2005  
принята к печати 01.06.2005