

Hb Q-H 病的生化遗传研究¹⁾

黄淑贞 盛敏 仇效坤 曾溢滔

(上海市儿童医院医学遗传研究室)

易顺成 王长奇 周选明 文海萍

(江西萍乡矿务局职工医院)

本文报道在江西萍乡发现的我国第一个 Hb Q-H 病家系的研究结果,并对 Hb Q 的化学结构和 Hb Q-H 病的遗传学进行讨论分析。

材料和方法

在当地取家系各成员的静脉血,用 ACD 保养液抗凝,迅即运来上海,3 天内完成血红蛋白理化性质测定^[1]。然后将家系成员 II₂ 的溶血液制成珠蛋白干粉,进行血红蛋白化学结构分析。

1. 用 8M 尿素的 CM-22 纤维素柱层析分离珠蛋白异常肽链^[7]。

2. 异常肽链经 TPCK-胰蛋白酶消化后作指纹图谱分析(高压电泳-纸层析双向分离)^[2],分离出异常肽。

3. 异常肽经 5.7N 盐酸水解后用氨基酸自动分析仪作氨基酸组成测定。

4. 异常肽用微量双偶合法作氨基酸顺序测定^[6]。

结 果

(一) 家系分析及血红蛋白理化性质测定

1. 本家系 3 代共 13 名成员(图 1),经血红蛋白电泳检查,发现 5 名成员具有慢速异常血红蛋白,其中 3 名成员(II₂, II₃, II₄)还同时具有快速异常血红蛋白,但无 Hb^A 和 Hb A₂ (图 2),这种快速异常血红蛋白在 pH 6.5 的条件下仍向阳极泳动(图 3)。这 3 名患者均具有不同程度的溶血性贫血和肝脾肿大等临床症状。

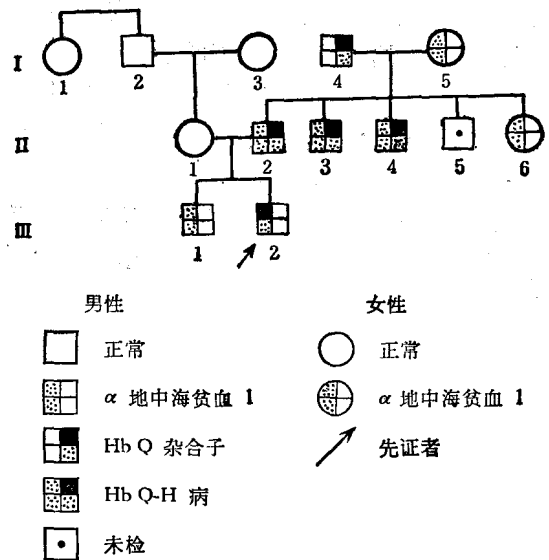


图 1 家系分析

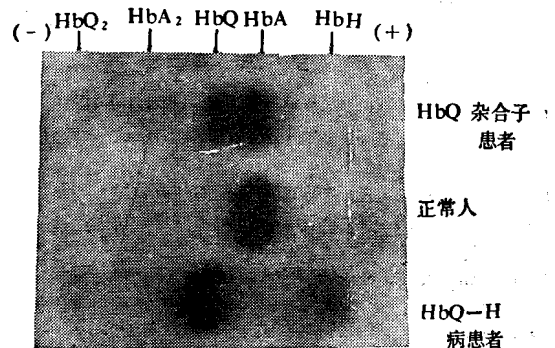


图 2 溶血液的淀粉胶电泳 TEB 缓冲液 pH 8.6

Huang Shuzhen et al.: Study on Biochemistry Genetics of Hb Q-H Disease

1) 周霞娣、陈美珏、顾兰琴、冯际平参加部分工作。

表1 HbQ-H 病家系各成员的血液学和血红蛋白资料

家系成员	性别	年龄	血红蛋白 (克%)	红细胞 (万/毫 米 ³)	网织细胞 (%)	红细胞形态	H包涵体	亨氏小体生成率 (%)	异丙醇试验	酸洗脱	碱性电泳 (淀粉胶, 醋纤)	血红蛋白组成(%)					
												H	A	F	Q	A ₂	Q ₂
I ₄	男	59	10.5	336	1.3	正常	-	17	+	-	A+Q+A ₂ +Q ₂	65.9	1.0	30.6	1.9	0.6	
I ₁	女	56	10.5	405	0.6	偶见靶形细胞	-	34	+	-	未见异常 Hb 区带	97.7	0.9		1.4		
II ₁	女	29	13.0	440	0.8	正常	-	11	-	偶见	未见异常 Hb 区带	96.5	1.3		2.2		
II ₂	男	31	6.0	210	5.5	靶形细胞 细胞大小不匀	阳性	92	+++	偶见	H+Q+Q ₂	17.3	1.0	81.0		0.7	
II ₃	男	28	10.0	340	3.0	靶形细胞 细胞大小不匀	阳性	98	+++	偶见	H+Q+Q ₂	24.0	0.8	72.9		2.3	
II ₄	男	24	10.5	360	2.1	靶形细胞 细胞大小不匀	阳性	97	+++	偶见	H+Q+Q ₂	9.3	1.0	88.9		0.8	
II ₅	女	17	14.0	475	0.7	细胞大小不匀	-	38	++	-	未见异常 Hb 区带						
III ₁	男	4	12.0	330	0.9	大小不匀中心 浅染	-	48	+	-	未见异常 Hb 区带	97.1	0.6		2.3		
III ₂	男	1½	11.0	310	1.2	正常	-	19	±	-	A+Q+A ₂ +Q ₂	66.0	1.0	30.1	2.0	0.9	

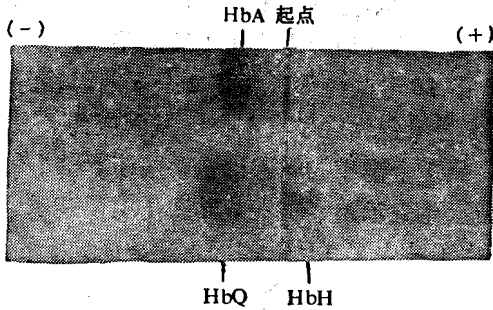


图3 溶血液的淀粉胶电泳磷酸缓冲液 pH 6.5

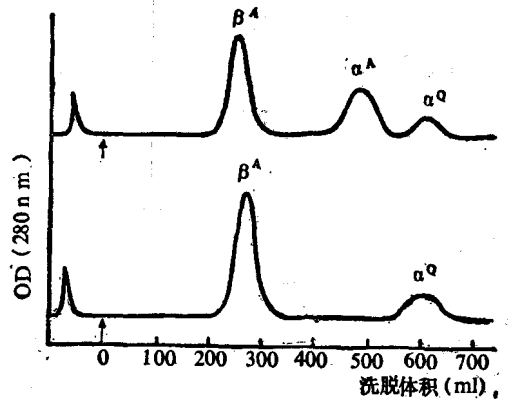


图4 患者珠蛋白 CM-22 纤维素柱层析分离
上 HbQ 杂合子患者珠蛋白解离图
下 HbQ-H 病患者珠蛋白解离图

2. 家系中 9 名成员的血液学及血红蛋白理化性质测定结果见表 1。

从表 1 看出, 具有快速异常 Hb 的 3 名患者 (II₂, II₃, II₄) 出现红细胞大小不一, 网织红细胞数增高和有 H 包涵体等血液学异常, 其红细胞 Heinz 小体生成试验显著升高, 而且血红蛋白的异丙醇沉淀试验呈强阳性, 说明其异常血红蛋白存在不稳定性。

(二) 血红蛋白的化学结构分析

1. 慢速异常血红蛋白携带者的珠蛋白在 CM-22 纤维素柱层析中, 能分离出异常的 α^X 链 (α^X), 它比正常的 α^A 慢洗脱下来; 同时含有慢速和快速异常血红蛋白的患者的珠蛋白, 在柱

层析中也能分离出异常的 α^X 链, 但无正常的 α^A 链 (图 4)。

2. α^X 链的指纹图谱分析表明, 正常的 α^A T9 消失, 而在其左方出现了一个 α^X T9 (图 5)。

3. α^X T9 的氨基酸组成分析见表 2。

从表 2 看出, 在这个异常肽上, 门冬氨酸 (Asp) 的含量降低, 而组氨酸 (His) 的含量升高。

4. α^X T9 肽的氨基酸顺序测定结果如下。

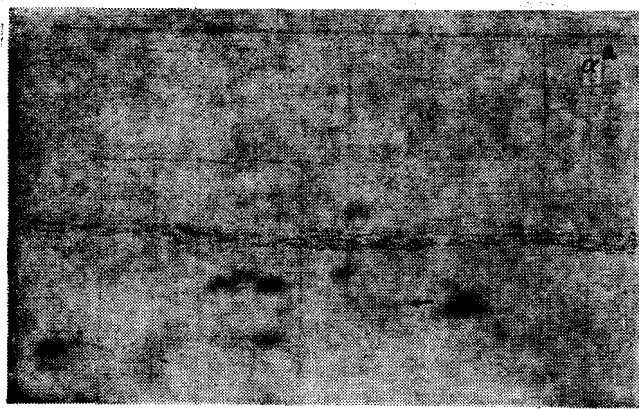


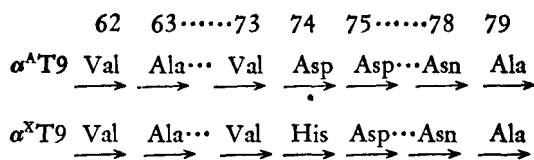
图5 α^Q 肽链的胰蛋白酶消化液的指纹图谱
箭头所示 $\alpha^Q T9$ 向左移位

表2 $\alpha^Q T9$ 肽氨基酸组成

氨基酸残基	克分子比值	
	$\alpha^Q T9$ 观察值	理论值
Asp ¹⁾	5.41	6
Thr	0.91	1
Ser	1.92	2
Pro	0.85	1
Ala ²⁾	7.74	7
Val ²⁾	2.47	3
Met	0.78	1
Leu ²⁾	3.40	4
His	3.83	3
Lys	1.07	1

1) 在水解过程中,部分 Met 被氧化,其吸收峰与 Asp 重叠,因而使 Asp 的测定值升高。

2) 由于 $\alpha^Q T9$ 肽较长,使氨基酸组成测定结果误差较大。



可见该异常血红蛋白是 α 链 N 端第 74 位的 Asp 被 His 替代。

讨 论

本文的血红蛋白化学结构分析证明,患者

的慢速异常血红蛋白在 α 链 N 端第 74 位的门冬氨酸被组氨酸替代,这种异常血红蛋白称为 HbQ-Thailand, 首先由 Lorkin 等^[9]发现,东南亚地区比较多见,在我国也有报道^[3,5]。

本家系的 Π_2 , Π_3 和 Π_4 3 名成员还存在快速异常血红蛋白,根据这种异常血红蛋白在 pH 6.5 条件下电泳仍向阳极迁移,以及具有 Heinz 小体生成率显著升高和异丙醇沉淀试验呈强阳性等不稳定特性,可以鉴定为 HbQ-H 病。

值得注意的是,这 3 名患者只有 HbQ、HbH 和 HbQ₂, 而没有正常的 HbA 和 HbA₂, 在珠蛋白链的柱层析分离中也找不到正常的 α^A 链(图 4)。已知每个体细胞的 α 珠蛋白基因共 4 个(2 对), 在每条 16 号染色体上 2 个 α 基因呈连锁关系。由于这 3 名患者没有合成正常的 α^A 链,说明他们除了有 1 个 α 基因突变为 α^Q 基因外,其余 3 个 α 基因都消失了。这 3 名患者的母亲是 α 地中海贫血 1 病人,由此推测他们接受了母亲的 α 地中海贫血 1 缺陷基因,结果其中 1 条 16 号染色体缺失了 2 个 α 基因,而另 1 条 16 号染色体除了有 1 个 α 基因变为 α^Q 基因外,另 1 个连锁的 α 基因也缺失了。他们的基因型因此表示为 $\alpha^Q/--$, 其遗传关系表示于图 1。由于缺失了 3 个 α 基因,只合成少量的 α^Q 链,多余的 β 链便聚合成四聚体 (β_4), 即 HbH, 产生 HbQ-H 病。这类 HbQ-H 病国外曾有报道,并且已经用限制性内切酶作基因图谱分析证实了这种遗传关系^[8]。

参 考 文 献

- [1] 黄淑贞等: 1980, 上海医学, 3:468—471。
- [2] 曾溢滔等: 1980, 同上, 3:552—553。
- [3] 曾溢滔等: 1983, 生物化学与生物物理学报, 15:423—432。
- [4] 曾溢滔等: 1979, 上海医学, 2:1—3。
- [5] Blackwell, R. Q. et al.: 1970, *Biochim. Biophys. Acta*, 200: 70—75。
- [6] Chang, J. Y. et al.: 1979, *FEBS Letters*, 93:205—214。
- [7] Clegg, J. B. et al.: 1979, *J. Mol. Biol.*, 19:91—108。
- [8] Lie-Injo, et al.: 1979, *Blood*, 54:1407—1416。
- [9] Lorkin, P. A. et al.: 1970, *Bris. J. Haemat.*, 19: 117—125。