



УДК 616.097+613.006.04+577.083

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ  
БЕЛКОВОГО КОМПОНЕНТА  
РАКОВО-ЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА МЕТОДАМИ  
КР, КД И УФ-СПЕКТРОСКОПИИ

Одиноков С. Е., Набиуллин А. А., Глазунов В. П.,  
Курица А. В., Павленко А. Ф., Озодов Ю. С.,

**Геворкян Б. З.** \*

*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ  
Академии наук СССР, Владивосток;*

*\* Институт экспериментальной диагностики и терапии опухолей  
Всероссийского онкологического научного центра  
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Для выяснения природы и локализации иммунохимических детерминант раково-эмбрионального антигена (РЭА) исследована пространственная структура нативного РЭА и его дегликозилированного производного методами КР, КД и дифференциальной УФ-спектроскопии.

Обнаружен конформационный переход белкового компонента РЭА в интервале температур 55–75° С, который приводит к необратимым изменениям его третичной структуры, тогда как вторичная структура гликопротеина восстанавливается после охлаждения раствора до 20° С. Результаты спектральных исследований пространственной организации белкового компонента РЭА сопоставлены с данными об иммунохимической активности нативного, температурно-денатурированного и дегликозилированного РЭА, полученными иммуноферментным методом. Сделан вывод о том, что некоторые иммунохимические детерминанты РЭА являются топографическими и принадлежат его белковому компоненту.

Вопрос о локализации антигенных детерминант на молекуле раково-эмбрионального антигена (РЭА), представляющего собой гликопротеин с молекулярной массой ~200 кДа, поднимался в литературе неоднократно [1–8]. Некоторые авторы связывают детерминанты с белковой [2–4], другие — с углеводной частью молекулы РЭА [5, 6]. На основную роль белкового компонента в формировании антигенных детерминант РЭА указывают, на наш взгляд, результаты работы [7], в которой с помощью ингибитора N-гликозилирования гликопротеинов был получен из клеток карциномы человека негликозилированный пептид РЭА (~80 кДа). Исследование его реакций с моноклональными антителами показало, что основные антигенные детерминанты РЭА находятся на белковом компоненте. Важность белкового компонента РЭА в его антигенной специфичности подтверждают результаты работы [8], в которой показано, что разрыв дисульфидных связей в молекуле РЭА приводит к потере ~90% его активности в радиоиммуноанализе. Последующее восстановление разрушенных дисульфидных связей приводит к увеличению активности до 50% по сравнению с нативным препаратом РЭА. Последнее, возможно, связано с различиями в пространственной структуре белкового компонента репарированного и нативного РЭА и косвенно указывает на важность пространственной структуры белкового компонента РЭА в формировании антигенных детерминант.

Хотя становится все более очевидной главенствующая роль белкового компонента в формировании антигенных детерминант, в известной нам литературе не приведено данных о прямом сопоставлении пространственной структуры и специфичности взаимодействия молекулы РЭА. Остается неизученной пространственная структура белкового компонента РЭА.

Принятые сокращения: РЭА — раково-эмбриональный антиген; ТПДС — дифференциальные спектры тепловой пертурбации.

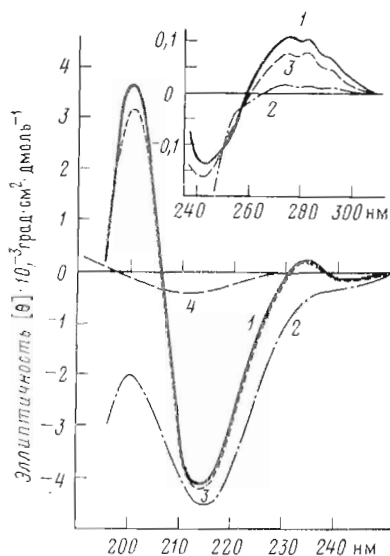


Рис. 1

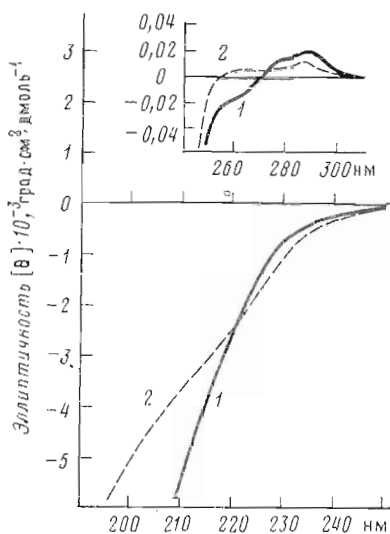


Рис. 2

Рис. 1. Спектры КД раствора РЭА в буфере 0,05 М трис-НСl+0,15 М NaCl, рН 7,2, при 20 (1), 65 (2) и 20° С после прогрева до 80° С (3). Спектр КД водного раствора N-ацетилглюкозамина (4)

Рис. 2. Спектры КД растворов РЭА в 6 М гуанидингидрохлориде, рН 5,0 (1), и дегликозилированного РЭА в 5% муравьиной кислоте, рН 2,1 (2)

Нами предварительно сообщались результаты исследования вторичной и третичной структуры РЭА из аденокарциномы кишечника человека методами кругового дихроизма (КД), комбинационного рассеяния света (КР) и дифференциальной УФ-спектроскопии [9]. Настоящая работа посвящена дальнейшему исследованию в этом направлении.

**Круговой дихроизм.** В пептидной области (190–240 нм) спектр КД водного раствора РЭА имеет положительную при 200 нм и отрицательную при 215 нм полосы, характерные для β-структурированных белков (рис. 1). Менее интенсивная положительная полоса с максимумом при 234 нм обусловлена вкладом остатков тирозина и триптофана в пептидную область спектра РЭА [10]. В области переходов ароматических аминокислотных остатков (240–300 нм, рис. 1) наблюдается широкая положительная полоса с субмаксимумами при 291, 283 и 275 нм, обусловленными эффектами Коттона остатков тирозина и триптофана, и отрицательная полоса с максимумом при 242 нм. Наличие последней в спектрах КД белков относят к переходам дисульфидных связей [10].

Пептидная область спектров КД белков несет информацию об их вторичной структуре [11]. Как было отмечено ранее при исследовании спектров КД субфракций РЭА [12], в этой области возможен вклад амидного хромофора N-ацетиламиносахаров. Поскольку в состав исследуемого РЭА входит до 16% N-ацетилглюкозамина [13], мы оценили вклад этого хромофора в спектр КД молекулы РЭА. На рис. 1 представлен спектр КД водного раствора N-ацетилглюкозамина в расчете на его весовое содержание в РЭА. Если учесть, что N-ацетилглюкозаминная кислота, содержание которой в исследуемом РЭА составляет ~3%, имеет в этой области положительную полосу [14], то при анализе спектра КД молекулы РЭА можно пренебречь вкладом всего углеводного компонента.

В табл. 1 приведены результаты расчета вторичной структуры белкового компонента РЭА из спектра КД, проведенного по методу Болотиной и др. [11].

Нагревание раствора РЭА от 20 до 80° С, как свидетельствуют спектры КД (рис. 1), приводит к конформационному переходу, обратимому в отношении вторичной структуры в указанном интервале температур. Для

Вторичная структура белкового компонента РЭА, %

Метод	$\alpha$ -Спираль	$\beta$ -Структура *		$\beta$ -Изгиб	Неупорядоченная форма
		$\uparrow\uparrow$	$\uparrow\downarrow$		
КД	10	24	6	20	40
КР	7	23	18	10	42 **

\* Приведено содержание параллельной ( $\uparrow\uparrow$ ) и антипараллельной ( $\uparrow\downarrow$ )  $\beta$ -структуры.

\*\* Для сравнения данных КР и КД мы отнесли к неупорядоченной форме долю искаженной спирали (18%), рассчитанную по спектру КР.

третичной структуры полная обратимость перехода, судя по КД-спектрам в ароматической области, наблюдается лишь при 20–55° С. Дальнейшее нагревание раствора РЭА от 55 до 80° С приводит к необратимому изменению третичной структуры молекулы РЭА, поскольку спектр КД раствора белка, прогретого до 80° С и охлажденного затем до 20° С, восстанавливается не полностью (рис. 1, вставка).

Ранее нами было показано, что обработка РЭА безводным HF приводит к удалению большинства углеводных цепей без разрушения пептидного скелета [13]. Спектр КД РЭА, дегликозилированного безводным HF (рис. 2), близок к спектру водного раствора РЭА в 6 М гуанидингидрохлориде. Последнее свидетельствует о переходе пространственной структуры антигена в неупорядоченную форму в его дегликозилированном производном.

*Лазерное комбинационное рассеяние.* Спектры КР водного раствора, лиофилизированного и дегликозилированного РЭА в области 1750–1200  $\text{см}^{-1}$ , представлены на рис. 3. В спектрах КР нативного РЭА в водном растворе и в виде лиофилизованного порошка практически все полосы относятся к белковому компоненту. Относительно слабые полосы отдельных моносахаридов не мешают анализу полос Амид I и Амид III белкового компонента РЭА. Это видно из сравнения со спектром КР водного раствора N-ацетилглюкозамина, наибольшего по содержанию из N-ацетиламиносахаров в препарате РЭА (рис. 3).

В спектре КР водного раствора РЭА колебание Амид I проявляется в виде трех интенсивных полос с максимумами 1684, 1674 и 1664  $\text{см}^{-1}$  и слабой полосы при 1650  $\text{см}^{-1}$ . Для оценки вторичной структуры белкового компонента РЭА по полосам Амид I в КР-спектрах в данной работе использован метод реперных спектров. При анализе формы полосы Амид I учитывали шесть типов структур:  $\alpha$ -спираль, искаженная спираль, параллельная и антипараллельная  $\beta$ -структуры,  $\beta$ -изгибы и неупорядоченная структура. Реперные спектры перечисленных структур взяты из работы [15]. Анализ полосы Амид I водного раствора РЭА (табл. 1) свидетельствует о сложной структурной организации белкового компонента РЭА: Это подтверждает и спектр КР в области Амид III, содержащий пять полос с частотами 1286, 1273, 1267, 1246 и 1234  $\text{см}^{-1}$  [16].

Полученные данные расчета вторичной структуры белкового компонента РЭА по КД- и КР-спектрам (табл. 1) хорошо согласуются между собой. Некоторые различия в оценке вторичной структуры по спектрам КД и КР могут быть обусловлены различными подходами к получению реперных КД- и КР-спектров, а также разницей в концентрациях РЭА (2 и 50 мг/мл соответственно). Увеличение концентрации РЭА может приводить к изменению его конформации, приближая ее к конформации в кристалле. Сравнение спектров КР водного раствора и лиофилизованного препарата (рис. 3) показывает, что в высушенном состоянии структура РЭА становится более упорядоченной. Интенсивная полоса 1664  $\text{см}^{-1}$  в спектре водного раствора, обусловленная неупорядоченной структурой, исчезает в спектре КР порошка. Параллельно наблюдаются изменения спек-

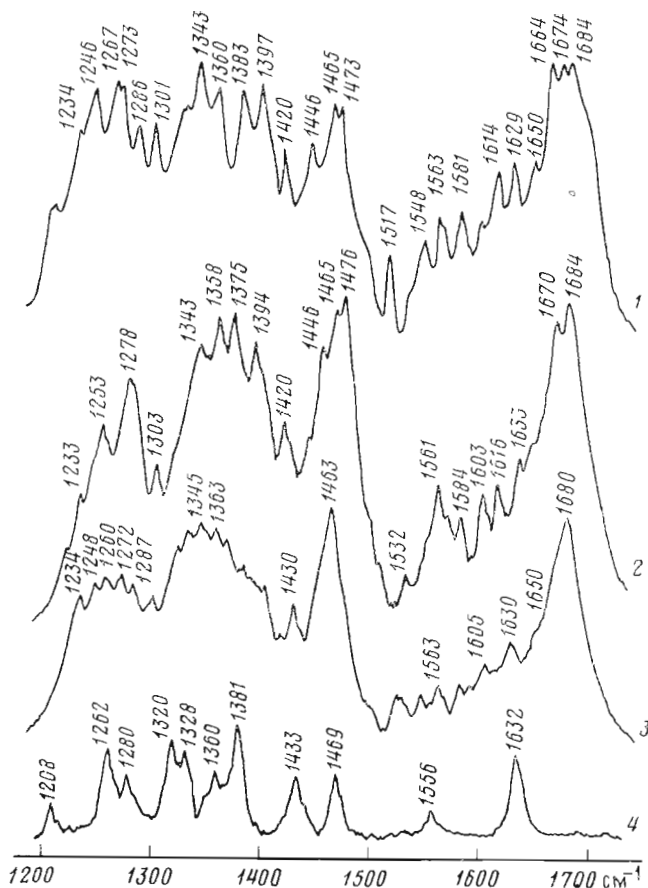


Рис. 3. Спектры КР водного раствора РЭА (50 мг/мл) (1), лиофилизованного РЭА (2), лиофилизованного дегликозилированного РЭА (3) и водного раствора N-ацетилглюкозамина (4)

ра КР в области колебаний Амид III: для лиофилизованного образца наблюдаются лишь три полосы с частотами 1278, 1253 и 1233  $\text{см}^{-1}$ .

Сравнение спектров КР лиофилизованных нативного и дегликозилированного препаратов РЭА (рис. 3) показывает, что при дегликозилировании безводным HF конформация белкового компонента существенно изменяется. Это выражается, в частности, в исчезновении полосы 1670  $\text{см}^{-1}$ , обусловленной  $\beta$ -структурой, и изменениях вида спектра в области колебаний Амид III. Этот результат соответствует данным КД-измерений, согласно которым при дегликозилировании спектр КД в пептидной области приближается к спектру неупорядоченной формы (рис. 2).

*Дифференциальная УФ-спектроскопия.* Для исследования элементов третичной структуры молекулы РЭА в водном растворе был использован метод тепловой пертурбации [17]. На рис. 4 приведены дифференциальные спектры тепловой пертурбации (ТПДС) раствора РЭА. В спектре присутствуют отрицательные полосы при 288 и 295 нм, типичные для остатков соответственно тирозина и триптофана, а также наблюдается отрицательная полоса при 304 нм, которую относят к специфически возмущенным остаткам триптофана [17]. ТПДС растворов модельных N-ацетатов этиловых эфиров тирозина и триптофана в 6 М гуанидингидрохлориде, хорошо моделирующие спектр РЭА, были использованы нами при расчете доступности остатков тирозина и триптофана в молекуле РЭА. Было установлено, что в нормальных условиях (рН 7,2 и  $\Delta t = 5-25^\circ\text{C}$ ) воде доступны 3 остатка триптофана и 16 остатков тирозина. Эти данные дополняются пертурбацией 20% раствором этиленгликоля (табл. 2). Использование этиленгликоля в качестве пертурбанта в концентрациях от

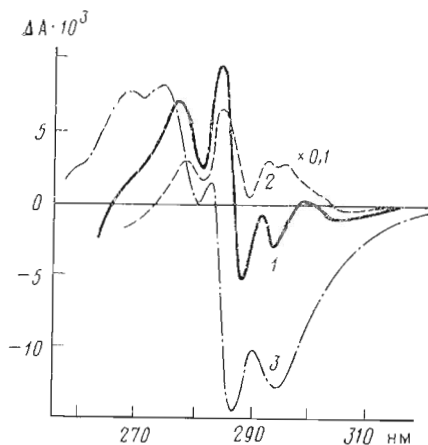


Рис. 4

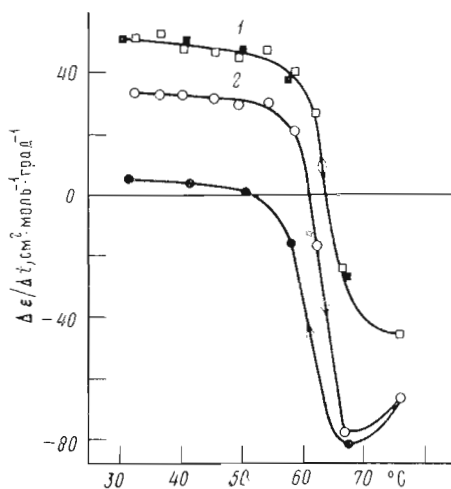


Рис. 5

Рис. 4. Корректированные спектры тепловой пертурбации раствора РЭА в буфере 0,05 М трис-НСl+0,15 М NaCl, рН 7,2, при  $\Delta t$  5–25° (1), 20–65° С (2) и в 6 М гуанидингидрохлориде, рН 5,0,  $\Delta t$  5–25° С (3). Для спектра 2 шкала ординат уменьшена в 10 раз

Рис. 5. Температурные зависимости амплитуды полос остатков тирозина (1) и триптофана (2) в спектрах тепловой пертурбации РЭА (0,05 М трис-НСl, 0,15 М NaCl, рН 7,2). Светлые точки – нагревание, темные – охлаждение. Поглощение регистрировали при 288 (1) и 295 нм (2)

5 до 20% (об.) не вызывает структурных изменений в молекуле РЭА, что следует из линейной зависимости амплитуды дифференциальных спектров от концентрации этиленгликоля. Интенсивность полос в ТПДС резко возрастает для раствора РЭА в 6 М гуанидингидрохлориде, рН 5,0 (рис. 4), поскольку денатурация и разворачивание молекулы РЭА приводит к увеличению доступности воде ароматических остатков тирозина и триптофана (табл. 2).

Исследование тепловой денатурации РЭА методом ТПДС в интервале температур 25–75° С подтверждает данные КД-спектров, что в области температур 55–60° С при рН 7,2 наблюдается конформационный переход, который проявляется в быстром падении интенсивности полос триптофана при 295 нм и тирозина при 288 нм (рис. 5). Нагревание раствора РЭА до 55° С приводит к полностью обратимому конформационному переходу. При дальнейшем нагревании раствора РЭА до 75° С и охлаждении его до исходной температуры ход прямой и обратной зависимостей (рис. 5) совпадает лишь для тирозина. Для остатков триптофана, как свидетельству-

Таблица 2

Число экспонированных остатков триптофана и тирозина молекулы РЭА, определенное по УФ-спектрам

Число остатков		Условия	Метод определения
Тгр	Туг		
3	16	0,05 М трис-НСl + 0,15 М NaCl, рН 7,2	ТПДС
13	35	0,6 М гуанидингидрохлорид, рН 5,0	ТПДС
2,4	14	0,01 М фосфатный буфер + 0,15 М NaCl, рН 7,2	Пертурбация 20% этиленгликолем
13	43	6 М гуанидингидрохлорид + NaOH, рН 11,0	По вторым производным УФ-спектров*

\* См. «Экспериментальную часть».

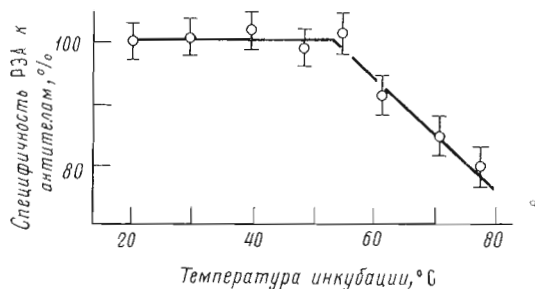


Рис. 6. Зависимость иммунохимической активности препарата РЭА от температуры предварительной инкубации раствора

ют ТПДС (рис. 5), ситуация иная — после прогревания раствора РЭА до 75° С и охлаждения до 25° С доступным воде остается лишь один остаток триптофана.

Исследования тепловой денатурации РЭА методами КД и ТПДС показывают, что в интервале температур 20–80° С в растворе происходят обратимые изменения во вторичной структуре белкового компонента РЭА, тогда как изменения окружения ароматических остатков не являются полностью обратимыми. Это указывает на иной характер сборки пространственной структуры РЭА после тепловой денатурации.

Если часть антигенных детерминант РЭА формируется на уровне третичной структуры белкового компонента, то температура предварительной инкубации раствора РЭА должна сказываться на его иммунохимической активности. Действительно, прогревание РЭА до 55° С (критическая точка в ТПДС) не вызывает существенных изменений в способности молекул РЭА связываться с антителами (рис. 6). Однако дальнейшее увеличение температуры инкубации до 75° С, когда происходят необратимые изменения третичной структуры, приводит к потере активности РЭА на 20–25%.

Дополнительным подтверждением того, что антигенные детерминанты РЭА формируются на уровне третичной структуры, служит следующее. У дегликозилированного РЭА, для которого основной конформацией пептидного остова является неупорядоченная форма, способность связываться с антителами падает до 1% по сравнению с нативным РЭА. С другой стороны, нативный негликозилированный пептид РЭА, исследованный в работе [7], сохраняет основные антигенные детерминанты.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что пептидная часть РЭА не имеет заметного преобладания определенного типа вторичной структуры, а часть антигенных детерминант связана с ее третичной структурой.

### Экспериментальная часть

Получение препарата РЭА и его дегликозилированного производного, определение аминокислотного и моносахаридного состава описаны ранее [13].

Спектры КД водного раствора РЭА (2 мг/мл, 0,05 М трис-НСl+0,15 М NaCl, рН 7,2) регистрировали на дихрографе III (Jobin-Yvon, Франция) в кюветках толщиной 0,05 и 1 см. Интенсивность КД считали как эллиптичность на один аминокислотный остаток (молекулярный вес которого принят равным 110), учитывая, что белковый компонент РЭА составляет 40% [7].

Спектры КР измеряли на Microprobe Mole-77 (Jobin-Yvon, Франция), снабженном ЭВМ Nikolett 1180, в режиме обратного рассеяния. Раствором РЭА в воде (~50 мг/мл) заполняли сферическую кювету (диаметром ~3 мм), изготовленную из тонкостенного капилляра. Лазерный луч фокусировали в центр сферы, рассеянный свет собирали тем же дальнфокусным объективом с 50-кратным увеличением. Спектр возбуждали линией 5145 Å Ar<sup>+</sup>-лазера с мощностью на образце 20 мВт при спектральной

ширине щели 3 см<sup>-1</sup>. Проводили 16 накоплений спектров, сглаживали кривую и вычитали флуоресцентный фон с помощью фурье-фильтрации. Для получения спектра белка производили вычитание спектра воды из спектра водного раствора белка по интенсивной полосе валентного колебания воды ~3400 см<sup>-1</sup>. Относительное содержание различных типов вторичных структур по контуру полосы Амид I в спектрах КР рассчитывали на ЭВМ Nova 3 (США) путем линейной комбинации соответствующих реперных спектров.

УФ-спектры регистрировали на спектрофотометре Cary 219 в кварцевых кюветах толщиной 1 см; ширина щели 1 и 2 нм. Содержание ароматических аминокислотных остатков определяли по вторым производным УФ-спектров белков в растворе 6 М гуанидингидрохлорида согласно [18]. УФ-спектры пертурбации 20% (об.) раствором этиленгликоля раствора РЭА в 0,01 М фосфатном буфере +0,15 М NaCl (рН 7,2) регистрировали в тандеме из четырех кварцевых кювет толщиной 1 см.

Дифференциальные УФ-спектры тепловой пертурбации водных растворов РЭА ( $c=5 \cdot 10^{-6}$  М, 0,05 М трис-HCl+0,15 М NaCl, рН 7,2) регистрировали в термостатируемых кюветах толщиной 1 см с притертыми тефлоновыми пробками в интервале температур 5–25° С. Кюветы термостатировали с точностью  $\pm 0,5^\circ$  С. Для расчета количества пертурбируемых водой остатков триптофана и тирозина в молекуле РЭА полученные ТПДС корректировали на изменение объема раствора белка и его концентрации из-за разности температур в кюветах измерения и сравнения. В качестве стандартов использовали растворы N-ацетатов этиловых эфиров тирозина и триптофана (Serva) в 6 М гуанидингидрохлориде.

Специфичность взаимодействия прогретого и дегликозилированного РЭА с антителами определяли иммуоферментным методом на полистирольных планшетах (Costar, США). Иммуноглобулин G из кроличьей антисыворотки против РЭА (IgG анти-РЭА) выделяли так, как описано в работе [19]. Конъюгат IgG анти-РЭА с пероксидазой из хрена (Союзреактив) получали по методу [20]. В лунки планшета вносили по 0,2 мл раствора (20 мкг/мл) IgG анти-РЭА в 0,1 М карбонатном буфере +0,15 М NaCl, рН 9,6, и инкубировали в течение ночи при 4° С. На следующий день планшет отмывали 6 раз 0,01 М фосфатным буфером +0,15 М NaCl, рН 7,4, содержащим 0,05% твин-2. Затем вносили по 0,2 мл 4% раствора бычьего сывороточного альбумина в фосфатном буфере и инкубировали 2 ч при 20° С. Раствор РЭА (0,968 мг/мл) в 0,01 М трис-HCl + 0,15 М NaCl, рН 7,2, разлитый по 250 мкл в три реакционных сосуда, нагревали в термостате от 20 до 80° С. Примерно через каждые 10° С отбирали микрошприцем по 20 мкл раствора и разбавляли буфером. Для построения калибровочной зависимости в промытые лунки вносили по 0,2 мл раствора РЭА в разведениях от 0 до 200 нг/мл. В остальные лунки наносили растворы прогретого и дегликозилированного РЭА (100 нг/мл) и инкубировали 2 ч при 20° С. Планшет отмывали и во все лунки вносили по 0,2 мл раствора конъюгата, разведенного фосфатным буфером 1:800, и инкубировали 3 ч при 20° С. После отмывки добавляли по 0,2 мл субстрата (0,04% о-фенилендиамин + 0,01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в 0,1 М фосфатно-цитратном буфере, рН 5,0). Ферментативную реакцию проводили в течение 1 ч 20° С. Специфичность взаимодействия дегликозилированного и прогретого РЭА с антителами определяли из калибровочной зависимости поглощения при 492 нм от концентрации РЭА, принимая за 100% специфичность нативного РЭА при 20° С. Поглощение измеряли на спектрофотометре Specol-21 (Karl Zeiss Jena, ГДР).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Rogers G. T. *Biochim. et biophys. acta*, 1983, v. 695, № 2, p. 227–249.
2. Hammarström S., Engval E., Johansson B. G., Svensson S., Sundblad G., Goldstein I. J. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1975, v. 72, № 4, p. 1525–1532.
3. Matsuoka Y., Tsuru E., Sawada H. *Immunochemistry*, 1975, v. 12, № 3, p. 774–782.
4. Pritchard D. G., Todd C. W., Egan M. L. *Methods Cancer Res.*, 1978, v. 14, p. 55–85.
5. Ткачева Г. А. *Мед. радиология*, 1983, № 8, с. 69–74.
6. Banjo C., Gold P., Gehrke C. W., Freedman S. O., Krupay J. *Int. J. Cancer*, 1974, v. 13, № 1, p. 151–158.

7. Kuroki M., Kuroki Mo., Ichiki S., Matsuoka Y. *Mol. Immunol.*, 1984, v. 21, № 8, p. 743-746.
8. Thomas P., Westwood J. H., Foster A. B. *Biochem. Soc. Trans.*, 1974, v. 2, № 7, p. 1248-1249.
9. Глазунов В. П., Набиуллин А. А., Одиноков С. Е., Курика А. В., Павленко А. Ф., Оводов Ю. С. V Всес. конф. по спектроскопии биополимеров. Тез. докл. Харь-ков, 1984, с. 52.
10. Sears D. W., Beychok S. In: *Phys. Principles and Techn. in Prot. Chem.* / Ed. Leach S. J. N. Y.-L.: Acad. Press, 1973, part C, p. 446-593.
11. Вологина Н. А., Чехов В. О., Лугаускас В. Ю., Птицын О. Б. *Молекулярн. биоло-гия*, 1981, т. 15, № 1, с. 167-175.
12. Rogers G. T., Searle F., Wass M. *Immunochemistry*, 1975, v. 12, № 3, p. 839-842.
13. Павленко А. Ф., Курика А. В., Белогорцева Н. И., Набиуллин А. А., Оводов Ю. С. *Биоорган. химия*, 1985, т. 11, № 5, с. 646-650.
14. Melton L. P., Morris E. R., Rees D. A., Thom D. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 1978, № 1, p. 10-17.
15. Williams R. W., Dunker A. K. *J. Mol. Biol.*, 1981, v. 152, № 2, p. 783-813.
16. Spiro T. G., Gabeer B. P. *Ann. Rev. Biol.*, 1977, v. 46, p. 553-572.
17. Bello J. *Biochemistry*, 1970, v. 9, № 18, p. 3562-3568.
18. Ichikawa T., Terada H. *Chem. Pharm. Bull.*, 1981, v. 29, № 2, p. 438-444.
19. Руководство по количественному иммуноэлектрофорезу. Методы и примене-ние / Ред. Аксельсен Н., Крелль И., Бееке Б. М.: Мир, 1977, с. 201-203.
20. Wilson M. B., Nakane P. K. In: *Immunofluorescence and related staining techni-ques* / Eds Knapp W., Holubar K., Wich G. Amsterdam: Elsevier / North-Holland Biochemical Press, 1978, p. 215-220.

Поступила в редакцию

5.III.1985

После доработки

6.V.1985

## CIRCULAR DICHROISM, RAMAN AND UV-SPECTROSCOPIC STUDIES ON SPATIAL STRUCTURE OF THE PROTEIN COMPONENT OF CARCINO-EMBRYONIC ANTIGEN

ODINOKOV S. E., NABIULLIN A. A., GLAZUNOV V. P., KURIKA A. V.,  
PAVLENKO A. F., OVCODOV Yu. S., GEVORKYAN B. Z. \*

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Scientific Center of the Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok;*

*\*Institute of Cancer Experimental Diagnostics and Therapy, All-Union Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

The spatial structure features of intact and deglycosylated carcino-embryonic antigen (CEA) have been studied by circular dichroism. Raman and UV-spectroscopy methods in order to elucidate a pattern and localization of CEA immunodominants. The temperature-induced changes in the spatial structure of the protein moiety were compared with data on the CEA immunochemical activity estimated by EIA procedure. A conformational transition was found within the 55-75° range that produced irreversible alterations in the tertiary structure, while the secondary structure could be restored after lowering the temperature to 20° C. Spectral studies of intact and deglycosylated CEA demonstrated that immunochemical activity, at least partly, was associated with the tertiary structure of the CEA protein portion.