



УДК 577.323.5:539.261

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРОЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МЕТОДОМ РЕНТГЕНОВСКОГО МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ

I. СТРУКТУРА ИММУНОГЛОБУЛИНА $M_{\text{сер}}$ В РАСТВОРЕ

*Каюшина Р. Л., Изотова Т. Д., Могилевский Л. Ю.,
Шмакова Ф. В.*, Хургин Ю. И.**

Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова Академии наук СССР, Москва;

** Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва*

На основе данных малоуглового рентгеновского рассеяния растворами нативного моноклонального иммуноглобулина $M_{\text{сер}}$ (IgM) установлены геометрические параметры молекулы: радиус инерции $-R_g=115$ Å, максимальный размер $-L_{\text{max}}=380$ Å, толщина $-d=35-40$ Å, объем $-1,8 \cdot 10^6$ Å³. Предложена модель макромолекулы, рассчитанная в приближении однородной электронной плотности частицы, геометрические параметры которой согласуются с экспериментальными данными. Пять субъединиц молекулы IgM размещаются в экваториальной плоскости без существенного выхода из нее отдельных структурных элементов. Средняя электронная плотность модели имеет более низкие значения на периферии и в центре молекулы. Это в совокупности с отсутствием фиксированного угла между Fab-областями в пределах каждой субъединицы свидетельствует о повышенной подвижности элементов структуры на периферии макромолекулы IgM в растворе.

Иммуноглобулины M (IgM) представляют собой один из главных классов антител. Несмотря на то что физико-химические свойства IgM достаточно хорошо известны, их строение изучено мало по сравнению с другими классами иммуноглобулинов. В значительной мере это обусловлено сложностью внутримолекулярной организации IgM, большой молекулярной массой ($\sim 1 \cdot 10^6$), а также повышенной конформационной подвижностью макромолекулы, затрудняющей кристаллизацию (а следовательно, и рентгеноструктурный анализ молекулы) и изучение ее строения в растворе другими методами.

Согласно совокупности данных [1, 2], молекула IgM — звездообразная частица, состоящая из пяти идентичных субъединиц, каждая из которых имеет типичное для всех иммуноглобулинов полидоменное строение. Для ряда моноклональных препаратов IgM: IgM_{Е.О.} [3], IgM_{сер} [4] и IgM_{ГAL} [5] методом рентгеновского малоуглового рассеяния было показано, что в свободном состоянии в растворах молекулы являются плоскими сильно анизометричными частицами. Геометрические параметры различных молекул IgM различаются в пределах 5% (таблица), в то время как детальная структура кривых малоуглового рассеяния (положение и высота отдельных максимумов и минимумов) существенно различна для всех трех

Радиус инерции R_g , объем, максимальный размер L_{max} и толщина d молекул иммуноглобулина M (IgM_{Е.О.} [3], IgM_{ГAL} [5] и IgM_{сер}) по данным малоуглового рентгеновского рассеяния

Параметр	IgM _{Е.О.}	IgM _{ГAL}	IgM _{сер}	IgM _{сер} *
R_g , Å	121	120	115	115
$V \cdot 10^6$, Å ³	1,9	1,76	1,8	1,6
L_{max} , Å	350	370	380	360
d , Å	35	40	35-40	40

* Геометрические параметры «наилучшей» модели молекулы IgM_{сер}.

изученных IgM. Следовательно, при изучении индивидуальных препаратов моноклональных IgM для описания их строения в нативном и модифицированном состояниях необходим анализ полных кривых рассеяния.

В более ранних работах [3, 5] были предложены модели, которые описывали самые общие черты строения молекул IgM. Они не позволяли оценить распределение электронной плотности в макромолекуле, а также учесть имеющиеся данные о динамической структуре молекул IgM.

Лабильность молекулы IgM является ее неотъемлемым функциональным свойством. Так, было показано, что при взаимодействии с бактериальной клеткой, согласно электронно-микроскопическим данным [6], внешний вид молекулы в ряде случаев резко изменяется и на микрофотографиях она имеет вид «скобы». Имеются также указания на наличие конформационных перестроек в молекуле при изменении условий внешней среды (рН, температуры и др.) [1, 7–9]. Исходя из особенностей строения молекулы IgM, можно предположить, что эти структурные переходы могут носить сходный характер с антигензависимыми изменениями структуры.

Нами были исследованы растворы моноклонального белка IgM_{сер}, выделенного из крови больного макроглобулинемией Вальденштрема.

В настоящей работе приводятся результаты изучения растворов IgM_{сер} при 23°С (при этой температуре молекула обладает относительно стабильной структурой). Нами была поставлена задача получить наиболее адекватную модель молекулы IgM_{сер}, с тем чтобы на следующем этапе исследования из кривых малоуглового рассеяния установить характер изменения структуры макромолекулы при изменении условий внешней среды, в первую очередь при повышении температуры.

Интенсивность малоуглового рассеяния разбавленными растворами идентичных частиц пропорциональна усредненной по всем ориентациям интенсивности рассеяния отдельной частицей. Таким образом, из кривой малоуглового рассеяния $I(s)$, где $s=4\pi \sin \theta/\lambda$ (2θ — угол рассеяния, λ — длина волны), могут быть рассчитаны некоторые общие геометрические и весовые характеристики частицы — инварианты малоуглового рассеяния [10–13].

Непосредственно из зависимости $I(s)$ определяется один из основных инвариантов — радиус инерции R_g . Он характеризует протяженность частицы, R_g^2 равен среднему квадратичному расстоянию электронов от электронного центра тяжести тела. Величина R_g может быть вычислена по соотношению Гинье

$$\ln I(s) = \ln I(0) - kR_g^2 s^2,$$

справедливого при $s \rightarrow 0$. В соответствии с этим выражением по начальному участку кривой рассеяния (рис. 1а) ($s=0,013-0,020 \text{ \AA}^{-1}$) был рассчитан радиус инерции для IgM_{сер}: $R_g=115 \pm 4 \text{ \AA}$; эта величина представляет собой среднее значение из полученных для растворов малых концентраций ($\leq 5 \text{ мг/мл}$), содержащих минимальное количество агрегатов.

Объем молекулы определялся по соотношению

$$V=2\pi I(0)/Q,$$

где $Q = \int_0^\infty I(s) s^2 ds$ — так называемый инвариант Порода. В настоящей работе значение Q вычислялось по приближенной методике [14], согласно

которой $Q=1,25 Q_{\text{max}}^*$, где $Q_{\text{max}}^* = \int_0^{s_{\text{max}}} I(s) s^2 ds$, а s_{max} — угол рассеяния,

соответствующий верхней границе области первого максимума функции $I(s)s^2$. Интенсивность рассеяния при этом падает на 2–2,5 порядка. Для IgM_{сер} $V=(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^6 \text{ \AA}^3$.

Важная информация о размерах и форме молекулы может быть получена из функций распределения расстояний $p(r)$ и более чувствительной к форме молекулы функции $f(r)=p(r)/r$ [15, 16]. Связь между $p(r)$ и $I(s)$

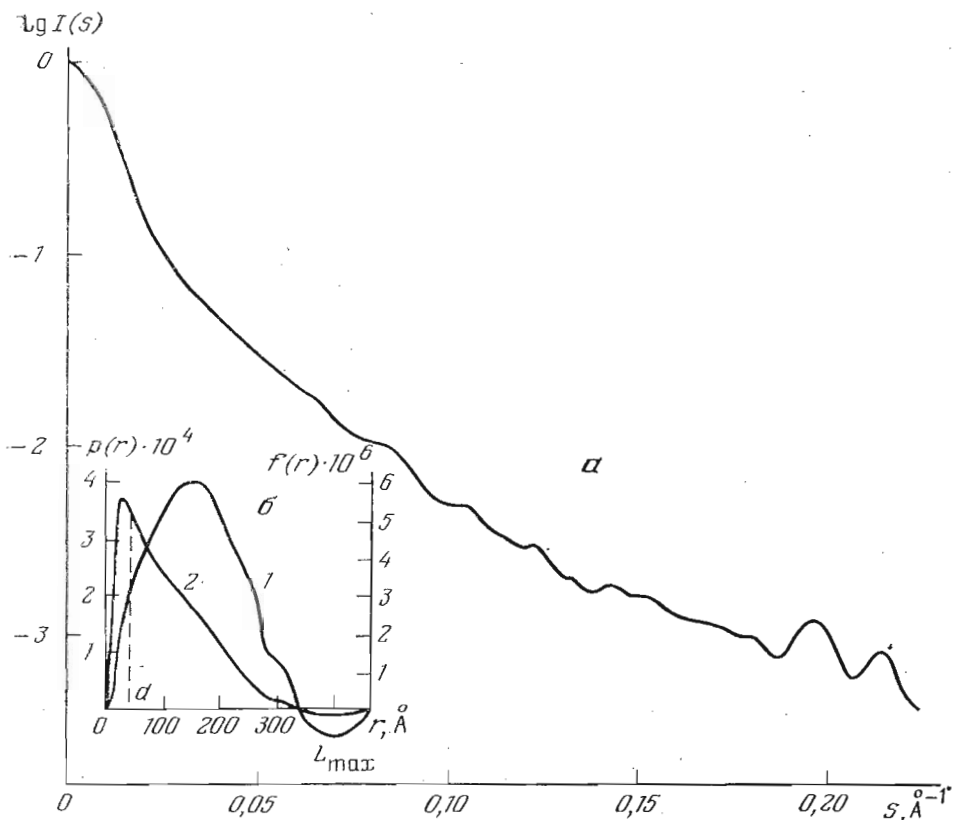


Рис. 1. Кривая малоуглового рентгеновского рассеяния $IgM_{сер}$ (а), и соответствующие ей функции распределения расстояний (б) — $p(r)$ (1) и $f(r)$ (2).

дается фурье-преобразованием: $p(r) = (1/2 \pi^2) \int_0^{\infty} I(s) sr \cdot \sin sr ds$, где r — расстояние между двумя элементарными объемами в частице.

Оказалось, что функции $p(r)$ и $f(r)$ для $IgM_{сер}$ обладают особенностями, характерными для плоских, ламеллярных частиц (рис. 1б). По положению минимума функции $p(r)$, которое практически не зависит от концентрации раствора [15], было определено максимальное расстояние в частице L_{max} , равное $380 \pm 20 \text{ \AA}$ (средняя величина для различных растворов с концентрациями от 5 до 10 мг/мл). По началу прямолинейного участка в ниспадающей ветви кривой $f(r)$ найдена толщина молекулы

$d = 35 - 40 \text{ \AA}$. Согласно соотношению $R_g = \int_0^{\infty} p(r)r^2 dr / 2 \int_0^{\infty} p(r) dr$, т. е. с учетом

всей кривой рассеяния, было рассчитано интегральное значение радиуса инерции, которое практически совпало со значением, полученным по аппроксимации Гинье.

Далее на основе результатов малоугловых исследований с привлечением дополнительных структурных и биохимических данных был предпринят поиск модели молекулы $IgM_{сер}$ в предположении об однородном распределении электронной плотности в частице. Для этой цели использовался метод сравнения расчетных кривых рассеяния моделями — $I_m(s)$ с экспериментальной кривой $I(s)$ (аналог метода проб и ошибок в рентгеноструктурном анализе). Мерой отклонения модельной структуры от истинной служил R_I -фактор, рассчитываемый по соотношению

$$R_I = \int_0^s s^4 [I_m(s) - I(s)]^2 ds / \int_0^s s^4 I^2(s) ds.$$

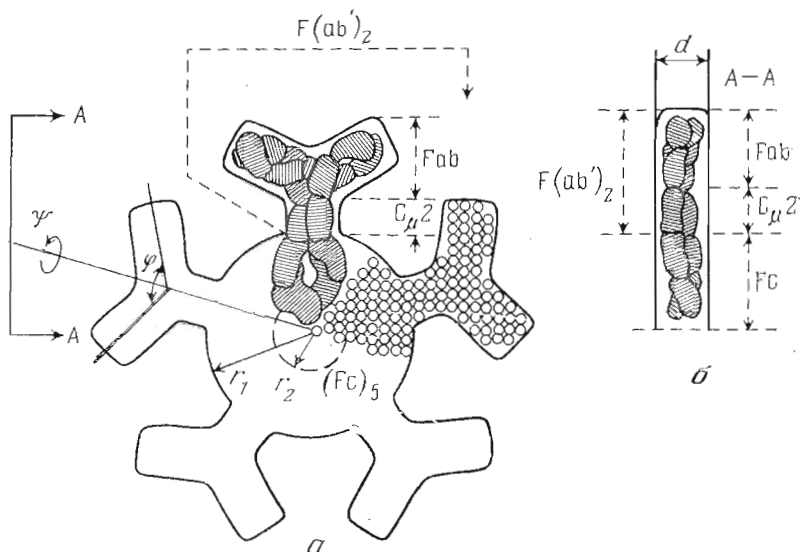


Рис. 2. Схематическое изображение модели молекулы $IgM_{сер}$: *a* — сечение в экваториальной плоскости, *б* — вид по стрелке *A*

При отборе моделей сопоставлялись также функции $p(r)$ и $f(r)$ и сравнивались геометрические параметры модели V , L_{max} и d (после нормировки к экспериментальному радиусу инерции $R_g=115 \text{ \AA}$) с полученными из эксперимента.

Аппроксимация молекулы с помощью тел простой формы позволила получить хорошее совпадение экспериментальных кривых рассеяния с рассчитанными только в сравнительно узком угловом интервале от $0,007$ до $0,07 \text{ \AA}^{-1}$ для плоских тел типа кругового цилиндра или эллипсоида вращения с отношением осей, близким к $1:10$. Поэтому для установления структуры молекулы $IgM_{сер}$ необходимо было провести конструирование более детальных моделей.

Схема исходной модели молекулы IgM представлена на рис. 2, там же указаны структурные параметры, которые варьировались в процессе поиска. Как уже говорилось, молекула содержит пять идентичных субъединиц. Было принято, что все они располагаются в экваториальной плоскости, т. е. модель обладает осью пятого порядка, перпендикулярной этой плоскости, и каждая субъединица имеет ось второго порядка, лежащую в плоскости молекулы. Выбор размеров и формы Fab -областей основывался на предположении о подобии их строения с Fab -фрагментами мономерного иммуноглобулина $G(IgG)$, структура которого известна из рентгеноструктурного анализа (см., например, [17, 18]). Исходные размеры отдельных доменов (в том числе и для $C_{\mu 2}$) также были выбраны на основе этих работ и составляли $20 \times 20 \times 40 \text{ \AA}$. Область $(Fc)_5$ задавалась сплюсненным прямым круговым цилиндром с радиусом $r_1=80 \text{ \AA}$ и толщиной $d=40 \text{ \AA}$, в ряде моделей задавалась полость в центре молекулы с радиусом r_2 от 20 до 50 \AA , также варьировалась толщина области $(Fc)_5$. Всего было рассмотрено около 50 моделей, в которых кроме вышеуказанных изменялись следующие параметры (см. рис. 2*a*): угол ϕ между Fab -фрагментами в субъединицах; угол поворота $F(ab')_2$ -фрагментов вокруг осей второго порядка субъединиц — ψ (степень выхода Fab -областей из экваториальной плоскости) и толщина всей молекулы и Fab -областей.

Теоретические кривые рассеяния моделями $I_m(s)$ вычислялись по методике приближенного расчета интенсивности рассеивающим телом путем его разбиения на определенное число одинаковых структурных элементов (в нашем случае ~ 3000 сфер, диаметр которых составлял 10 \AA), заполняющих объем по правилам плотнейшей упаковки, что позволяло передать особенности формы и взаимного расположения отдельных структурных областей.

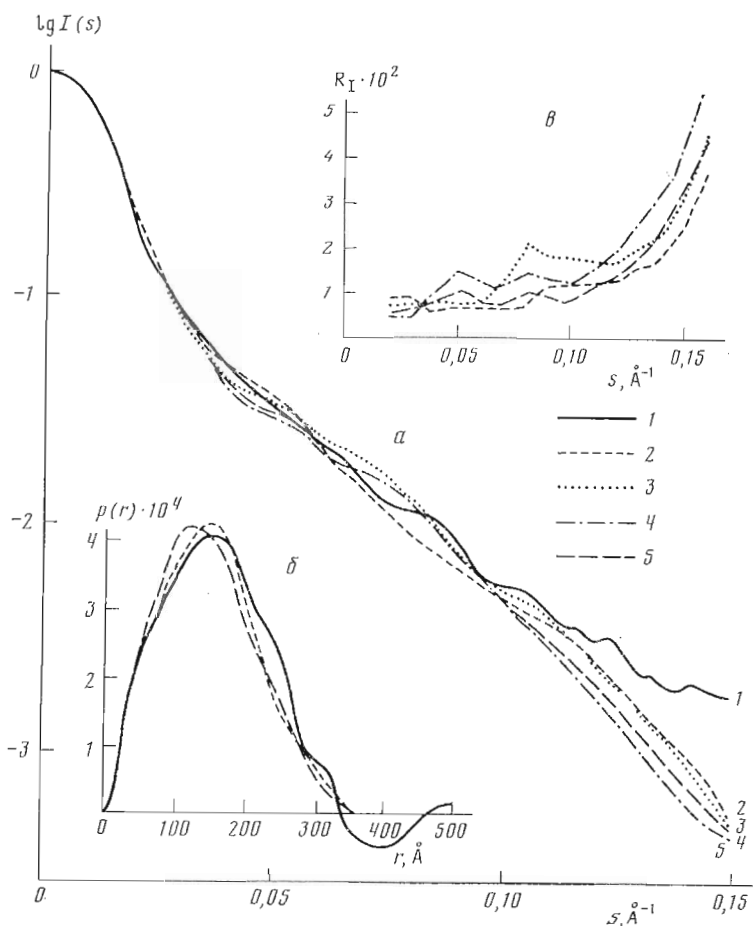


Рис. 3. *a* – сравнение кривой малоуглового рентгеновского рассеяния $I_{\text{гМсер}}(I)$ с расчетными кривыми для моделей с углами между Fab-областями в отдельных субъединицах $\varphi=0$ (2), 90 (3), 120° (4) и для модели с различными углами φ в отдельных субъединицах – $0, 90, 120, 90$ и 120° (5); *б* – соответствующие функции $p(r)$, *в* – зависимость $R_I(s)$ для тех же моделей

Ниже приводится несколько характерных этапов поиска модели молекулы IgM в предположении однородного распределения электронной плотности внутри частицы, определяются границы правомерности такого приближения и предлагается лучшая, т. е. наиболее вероятная, модель в рамках этого приближения.

В исходной модели (рис. 2) угол φ варьировался от 0 до 180° . Модельные кривые рассеяния $I_m(s)$ оказались весьма чувствительными к изменениям этого угла (рис. 3). Основное отличие состояло в положении и характере максимумов и минимумов (скорее, перегибов) кривых $I_m(s)$ в угловом интервале $s=0,02-0,11 \text{\AA}^{-1}$. Однако выбор оптимального значения φ оказался затруднительным, поскольку R_I -факторы имели близкие значения, а функции $p(r)$ незначительно отличались друг от друга. Можно предположить, что в растворе молекулы IgM могут иметь неодинаковые значения φ в отдельных субъединицах. Однако модели с разными дискретными наборами углов φ (например, $0, 90, 120, 90, 120^\circ$, рис. 3, 5) не дали принципиальных отличий от вариантов с $\varphi=\text{const}$. Вероятно также, что величины φ могут быть различны не только в субъединицах одной молекулы, но и в отдельных молекулах. На возможность такого объяснения указывает более гладкий характер экспериментальной кривой рассеяния по сравнению с любой расчетной при различных комбинациях φ .

Были рассмотрены модели с выходом $F(ab')_2$ -областей из плоскости молекулы. Существенный поворот приводил к ухудшению значений R_I -фактора и расхождению функций $p(r)$ (рис. 4, 2 для $\varphi=90^\circ$).

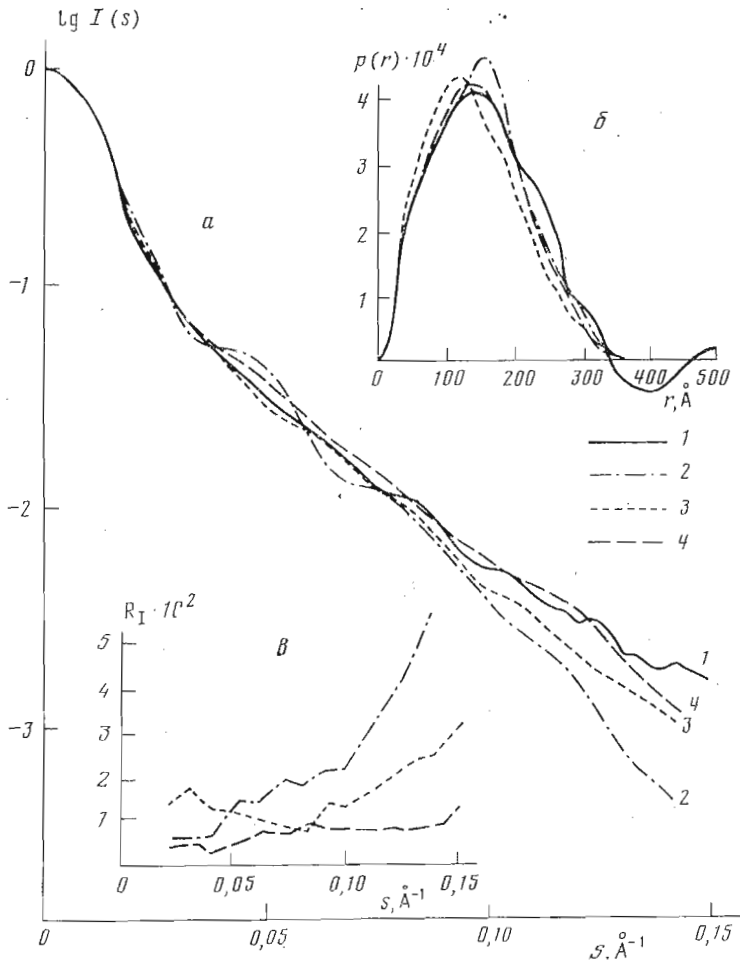


Рис. 4. а – сравнение кривой малоуглового рентгеновского рассеяния $\lg M_{\text{сер}}(I)$ с расчетными кривыми для моделей, в которых область $F(ab')_2$ повернута относительно экваториальной плоскости на угол $\psi=90^\circ$ (2); удалена часть (~50%) рассеивающих центров из Fab -областей (3); имеется полость в центре с радиусом $r_2=40 \text{\AA}$ (4). Соответствующие расчетным кривым зависимости $\rho(r)$ (δ), $R_1(s)$ (θ)

Искусственное снижение рассеяния периферическими областями модели за счет уменьшения числа рассеивающих центров (примерно на 50% в области расположения Fab -фрагментов) позволило сблизить расчетные и экспериментальные значения геометрических параметров при практическом сохранении величины R_1 -фактора (рис. 4, б). В реальной ситуации уменьшение электронной плотности на периферии молекулы может возникнуть из-за повышенной подвижности Fab -, а возможно, и $F(ab')_2$ -областей по сравнению с $(Fc)_2$, а также большей гидратации поверхности молекулы.

Введение полости в центре модели диаметром $\sim 80 \text{\AA}$ привело к снижению R_1 -фактора, причем в достаточно широком интервале углов рассеяния вплоть до $s=0,14 \text{\AA}^{-1}$. Функция распределения расстояний для этой модели наилучшим образом совпадает с экспериментальной (рис. 4).

Таким образом, лучшей из всех рассмотренных моделей является звездообразная структура, получающаяся размещением субъединиц в экваториальной плоскости без существенного выхода из нее отдельных структурных областей молекулы. Угол между Fab -областями может не иметь строго фиксированного значения. Средняя электронная плотность имеет более низкие значения на периферии и в центре молекулы (в модели имеется центральная цилиндрическая полость с диаметром $\sim 80 \text{\AA}$). Геометрические параметры модели удовлетворительно согласуются с экспериментальными значениями (см. таблицу).

Проведенные расчеты позволили оценить область рассеяния, в которой правомерно определение формы молекулы по данным малоуглового рассеяния в приближении однородного распределения электронной плотности внутри частицы. Ранее было показано, что граница этой области зависит от размеров неоднородностей, их расположения в частице и величины локальных отклонений электронной плотности от среднего значения [19] и, таким образом, индивидуальна в каждом конкретном случае. Для $IgM_{сер}$ эта область ограничивается углами $s = 0,12-0,14 \text{ \AA}^{-1}$, при больших значениях s интенсивности рассеяния однородными моделями становятся меньше экспериментальных, причем отклонение носит систематический характер. Следовательно, в нашем случае дальнейшее уточнение структуры возможно или при учете неоднородностей в молекуле, или путем привлечения других подходов, в частности метода прямого восстановления электронной плотности макромолекул в растворе по данным малоуглового рассеяния [20, 21].

Из полученных в настоящей работе данных видно, что различие между экспериментальными геометрическими параметрами молекулы $IgM_{сер}$ в растворе и параметрами модели не выходит за пределы различия соответствующих величин для исследованных моноклональных IgM (см. таблицу). Это, указывая на большую близость макроструктуры различных моноклональных IgM , позволяет говорить о применимости выводов, полученных на основе проведенных модельных расчетов, ко всем нативным молекулам IgM в растворе. В то же время нагревание раствора IgM до 58°C [9] и воздействие кислой среды [8] приводят к существенно более значительным ($\sim 20\%$) изменениям экспериментальных геометрических структурных параметров $IgM_{сер}$, что дает возможность в дальнейшем использовать структурные и методические выводы настоящей работы для изучения строения модифицированных молекул IgM .

Экспериментальная часть

Препарат $IgM_{сер}$ выделяли из плазмы крови больного макроглобулинемией Вальденштрема. Профильтрованную плазму разбавляли в 3 раза дистиллированной водой, осаждали сульфатом аммония, добавляя к одному объему разбавленной плазмы 1,08 объема насыщенного раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Выпавший осадок переосаждали еще 2 раза; осадок растворяли в небольшом объеме воды и диализовали сначала против воды для удаления избытка $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, затем против 0,01 М трис-НСl-буфера (рН 8,4), содержащего 0,3 М NaCl (5°C), концентрировали ультрафильтрацией через мембрану DIAFLO PM-10 (Amicon) и хроматографировали на колонке ($3 \times 100 \text{ см}$) с сефарозой 4В в том же буфере (20°C).

По данным иммуноэлектрофореза с антисывороткой против всех белков сыворотки крови человека, полученный препарат $IgM_{сер}$ не содержал посторонних белков. По данным седиментационного анализа (ультрацентрифуга Beckman, модель E, $\omega = 42\,042 \text{ об/мин}$), он содержал кроме основной массы белка 18S-мономеров $\sim 10\%$ высокомолекулярного материала с коэффициентом седиментации 24–26S. Для очистки от тяжелой фракции выделенный белок повторно хроматографировали на колонке с сефарозой 4В в 0,01 М трис-НСl-буфере, рН 8,2, с 0,05 М NaCl. Собирали фракции, соответствующие нисходящей части кривой элюирования. При этом содержание агрегатов уменьшалось до 3–6%. Для удаления NaCl и повышения растворимости белок переводили диализом в 0,01 М углекислый аммоний (рН 8,9). Из этого раствора готовились образцы различных концентраций (от 5 до 20 мг/мл). Концентрацию белка определяли спектрофотометрически при 280 нм, принимая $E_{1\text{см}}^{1\%} = 10$. Величину $E_{1\text{см}}^{1\%}$ определяли из навески сухого обеззоленного белка с учетом влажности (по Фишеру) и введением поправки на светорассеяние.

Кривые рентгеновского малоуглового рассеяния $I(s)$ измеряли на автоматических щелевых дифрактометрах. Источником рентгеновского излучения служили трубки БСВ-22 с медным анодом. Использовалось $\text{Cu } K_\alpha$ -излучение, $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$, монохроматизация достигалась применением

никелевого β -фильтра и амплитудного дискриминатора. Рентгеновские импульсы регистрировали с помощью сцинтилляционного счетчика. Начальную часть кривых рассеяния ($0,007 \text{ \AA}^{-1} \leq s \leq 0,07 \text{ \AA}^{-1}$) измеряли на гониометре типа Кратки. Ширина формирующей щели равнялась 40, приемной — 80 мкм. Измерения в области больших углов ($0,014 \text{ \AA}^{-1} \leq s \leq 0,35 \text{ \AA}^{-1}$) проводили на дифрактометре «Амур-1». Ширина пучка в плоскости приемника составляла 6 мин. В каждой точке углового диапазона регистрировалось не менее 5000 импульсов. Исследуемые растворы помещали в стеклянные тонкостенные капилляры диаметром 1 мм. Образцы термостатировали при 23° C .

Обработку экспериментальных данных проводили согласно работе [22]; она включала в себя усреднение и сглаживание кривых рассеяния для растворов белка и буфера, вычитание из рассеяния раствором рассеяния буфером, внесения коллимационной поправки на высоту щелей. Кроме этих стандартных процедур в обработку данных был включен этап вычитания из начальной части кривых рассеяния доли интенсивности, обусловленной наличием агрегатов в растворе ($\sim 3\text{--}5\%$) в области углов до $0,013 \text{ \AA}^{-1}$. Это выполнялось либо заменой экспериментальных значений $I(s)$ на этом участке вычисленными согласно радиусу инерции R_g , рассчитанному для мономеров по аппроксимации Гинье [10], либо восстановлением интенсивностей на искаженном участке $I(s)$ по всей кривой рассеяния согласно методике [23]. При сравнении оба метода давали близкие результаты. После этого рассчитывались единые кривые рассеяния для каждой серии опытов для всего углового диапазона, охватываемого измерениями на двух приборах. Сшивание кривых выполнялось по интервалу углов s от $0,02$ до $0,07 \text{ \AA}^{-1}$. Затем эти кривые нормировались на интенсивность рассеяния в нулевой угол $I(0)$ и использовались во всех дальнейших расчетах.

Авторы благодарны Л. А. Фейгину и Е. Д. Каверзневой за участие в обсуждении результатов работы и В. В. Барынину за проведение седиментационного контроля образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммуноглобулины / Ред. Литмен Г., Гуд Р. М.: Мир, 1981, с. 495.
2. Структура и функции антител / Ред. Глини Л., Стьюарт М. М.: Мир, 1983, с. 8–69, 148–196.
3. Wilhelm P., Pilz I., Palm W., Bauer K. Eur. J. Biochem., 1978, v. 84, № 2, p. 457–463.
4. Хургин Ю. И., Шмакова Ф. В., Каюшина Р. Л., Дембо А. Т., Рольбин Ю. А., Асадочиков В. Е., Дамашун Г., Дамашун Х., Плиец П. Биоорганическая химия, 1980, т. 6, № 2, с. 300–302.
5. Wilhelm P., Pilz I., Goral K., Palm W. Int. J. Biol. Macromol., 1980, v. 2, Febr., 13–16.
6. Beale D., Feinstein A. Quart. Rev. Biophys., 1976, v. 9, p. 135–180.
7. Holdvka D. A., Cathou R. E. Biochemistry, 1976, v. 15, № 15, p. 3373–3390.
8. Kaversneva E. D., Shmakova F. V., Khurgin Y. I., Kayushina R. L. In: Chem. of Peptides and Proteins / Eds. Voelter W., Wünsch E., Ovchinnikov Y., Ivanov V. N. Y.: Walter de Gruyter, 1982, v. 1, p. 480–483.
9. Kayushina R., Mogilevsky L., Isotova T., Shmakova F., Khurgin Y. Studia Biophysica, 1982, v. 87, № 2/3, p. 281–282.
10. Guinier A., Fournet G. Small-Angle Scattering of X-Rays. N. Y.: J. Wiley, 1955, p. 86.
11. Porod G. Kolloid Z., 1951, B. 124, S. 83; 1952, B. 125, S. 51.
12. Kratky O., Pilz I. Quart. Rev. Biophys., 1972, v. 5, № 4, p. 481–537.
13. Pilz I., Glatter O., Kratky O. Meth. in Enzymol., 1979, v. 4, p. 481–537.
14. Каюшина Р. Л., Рольбин Ю. А., Фейгин Л. А. Кристаллография, 1974, т. 19, вып. 6, с. 166–175.
15. Glatter O. J. Appl. Cryst., 1979, v. 12, № 2, p. 166–175.
16. Glatter O., Kratky O. Small-Angle X-Ray Scattering. L.— N. Y.: Acad. Press, 1982, p. 515.
17. Marquart M., Deisenhofer J. Immunology Today, 1982, v. 3, № 6, p. 160–166.
18. Marquart M., Deisenhofer J., Huber R., Palm W. J. Mol. Biol., 1980, v. 141, № 4, p. 369–392.
19. Каюшина Р. Л., Рольбин Ю. А., Фейгин Л. А. Кристаллография, 1974, т. 19, вып. 4, с. 724–728.
20. Свергун Д. И., Фейгин Л. А., Щедрин В. М. Докл. АН СССР, 1981, т. 261, № 4, с. 878–882.
21. Svergun D., Feigin L., Schedrin V. Acta crystallogr., 1982, A 38, part 6, p. 827–835.

22. *Свергун Д. И.* В кн.: Физика конденсированного состояния. Л.: ЛИЯФ, 1982, с. 151-197.
23. *Glatter O. J.* Appl. Cryst., 1977, v. 10, P. 5, p. 415-421.

Поступила в редакцию
8.I.1985

**A SMALL-ANGLE X-RAY SCATTERING STUDY OF IMMUNOGLOBULINS.
I. THE STRUCTURE OF THE IMMUNOGLOBULIN M_{cep} IN SOLUTION**

KAYUSHINA R. L., ISOTOVA T. D., MOGILEVSKI L. Yu.,
SHMAKOVA F. V.*, KHURGIN Yu. I.*

*A. V. Shubnikov Institute of Crystallography, *N. D. Zelinsky Institute
of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The data of small-angle X-ray scattering from monoclonal immunoglobulin M_{cep} (IgM) enabled the shape and geometrical parameters of the molecule in solution at 23° C to be established. The molecule is a flat, strongly anisometric particle with radius of gyration 115 Å, volume $1.8 \cdot 10^6$ Å³, maximum size 380 Å, thickness 35-40 Å. The most probable molecular model in the approximation of homogeneous electron density in the molecule was suggested, its geometry fitting the experimental parameters. The five IgM subunits are located in the equatorial plane, low-electronic-density regions are located in the centre and at the periphery of the macromolecule. In addition, the absence of fixed angle values between Fab-regions in each subunit is indicative of rather high structural mobility at the periphery of the IgM molecule.