

Roman Gondko

HEMOGLOBINY BAKTERII

Niniejsza praca prezentuje wyniki badań dotyczące hemoglobiny bakterii *Vitreoscilla*. Jest to pierwsza bakteryjna hemoglobina o poznanej sekwencji i właściwościach fizykochemicznych. Hemoglobina ta posiada największą homologię (24%) z leghemoglobiną łubinu, której właściwości również omówiono. W środowisku mikroaerofilnym hemoglobina chroni bakterie wiążąc tlen (rezerwuár) bądź pośrednicząc w jego ułatwionej dyfuzji.

ROZPOWSZECHNIENIE BIAŁEK ODDECHOWYCH

Do barwników oddechowych zaliczamy białka zarówno transportujące, jak i magazynujące tlen, a tym samym spełniające istotną rolę w oddychaniu (metabolizmie) organizmów aerobowych. Białka oddechowe obejmują związki nader różnorodne tak pod względem chemicznym, jak i biologicznym. Ich wspólną wyróżniającą cechą, najważniejszą z biologicznego punktu widzenia, jest zdolność do odwracalnego wiązania tlenu. Ogólną charakterystykę tych białek przedstawiono w tab. 1.

Wszystkie białka oddechowe są metaloproteinami. Z wymienionych w hemoerytrynach - Fe, a w hemocyjaninach - Cu, są bezpośrednio połączone z białkiem. W pozostałych zdolność wiązania tlenu posiada żelazo grupy prostetycznej (hemu). Grupa ta lub metal sprawiają, że wymienione białka (tab. 1) mają czerwoną, niebieską (hemocyjanina) lub zieloną (chlorokruoryna) barwę. Dlatego też nazwano je również barwnikami oddechowymi.

U kręgowców jedynym białkiem oddechowym obecnym we krwi jest hemoglobina, a w mięśniach - mioglobina. Kręgowce mają hemoglo-

T a b e l a 1

Ogólne właściwości białek oddechowych

Białko	Występowanie	Lokalizacja	Aktywne centrum (kofaktor)	Względna masa cząsteczkowa	Liczba miejsc wiążących
Hemoglobiny tetrameryczne (Hb)	Strunowce (Kregowce)	wewnątrzkomórkowe	hem	65 000	4
Hemoglobiny polimeryczne (erytrokruryny-Er)	Pierwotniaki, Pierścienice, Mięczaki, Stawonogi	wewnątrzkomórkowe zewnątrzkomórkowe tkanki	hem	10 ⁶	70
Hemoglobiny monomeryczne (mioglobina-Mb) i dimeryczne	Kregowce, Bezkręgowce, Owady	tkanki (mięśnie)	hem	17 000-35 000	1-2
Chlorokruoryny	Wieloszczety	zewnątrzkomórkowe	chlorhem (chlorokruorohem)	2,8-3,1 x 10 ⁵	70-120
Hemoerytryny (Hr) Miohemoerytryny	Niezmogowce, Sikwiaki, Ramienionogi	wewnątrzkomórkowa tkanki (mięśnie)	2Fe (II)	110 000	8
Hemocyaniny (Hc)	Mięczaki Stawonogi	zewnątrzkomórkowa	2Cu (II)	5 x 10 ⁶ 450 000	100 6
Hemoglobiny roślinne (leghemoglobiny - Lg)	rośliny motylkowe i niektóre niemotylkowe	bakteroid	hem	16 000	1
Hemoglobiny drożdży		wewnątrzkomórkowe	hem + flavina	50 000	1
Hemoglobiny bakteryjne	Rhizobium Vitreoscilla	wewnątrzkomórkowa wewnątrzkomórkowa	hem hem	30 000 27 000	2 2

binę zagęszczoną i zamkniętą w jądrzastych lub bezjądrzastych erytrocytach. Wśród bezkręgowców najbardziej rozpowszechnionymi białkami oddechowymi są hemoglobiny i hemocyjaniny. Przy tym hemoglobina bywa zagęszczona w erytrocytach lub rozpuszczona w tkance naczyniowej. Dlatego hemoglobiny bezkręgowców podzielono na komórkowe (intracellularne) i pozakomórkowe (ekstracellularne). Hemocyjaniny są zawsze rozpuszczone w płynnej tkance [1, 2, 17, 18].

U wielu bezkręgowców obok barwnika krwi, hemolimfy czy płynu celomy, obecny jest w tkankach dodatkowych barwnik oddechowy. W większości przypadków występuje on w mięśniach nadając im charakterystyczną brązową bądź czerwoną barwę. Barwnikiem tym jest hemoproteina lub mioglobina i bardzo rzadko miohemoerytryna. Natomiast współtowarzyszający barwnik naczyniowy bywa różny (hemoglobina, erytrokruoryna, hemoerytryna, hemocyjanina).

Fizjologiczna rola barwnika tkankowego jest równie ważna jak krążącego naczyniowego. Świadczy o tym chociażby fakt jego obecności w tkankach zwierząt, których krew czy hemolimfa nie zawiera białek oddechowych. Wiele bezkręgowców nie posiada też układu naczyniowego czy oddechowego, a równocześnie w ich tkance nerwowej czy mięśniowej znajduje się barwnik. Białka te mogą być zlokalizowane także w innych tkankach (organach), których zapotrzebowanie na tlen jest bardzo duże. W takich przypadkach w tkance występuje hemoproteina, stąd też ich ogólna nazwa - hemoglobiny tkankowe [1, 9].

Prawie wszystkie strunowce posiadają wewnątrzkomórkową tetrameryczną hemoglobinę (68 KD). Do nielicznych wyjątków nie posiadających we krwi hemoglobiny należy lancetnik, forma larwalna minoga oraz niektóre gatunki ryb antarktycznych z rodziny *Chaenichthyidae*.

W przeciwieństwie do strunowców białek oddechowych nie wykryto dotychczas u wielu bezkręgowców (tab. 1). W kolejności: pierwotniaki, gąbki, jamochłony, mszywioly, ramienionogi, szkarłupie nie mają białek oddechowych. Zwierzęta te charakteryzuje niski metabolizm, małe rozmiary ciała, a w miejscach ich bytowania spotykamy korzystne dla nich stężenie tlenu. Tylko w nielicznych przypadkach wśród pierwotniaków i szkarłupni spotykamy zwierzęta mające hemoglobinę (np. *Paramecium caudatum*, *Cucumaria minia*).

Obecność niektórych barwników ograniczona jest do niewielkiej liczby grup. I tak zielona chlorokruoryna występuje w dwóch rodzinach: *Sabellidae* i *Serpulidae*. Hemoerytryny znaleziono wśród przedstawicieli *Priapulida*, *Sipunculida* i w jednej rodzinie pierścienic - *Magelonidae*. Hemocyjaniny występują u niektórych mięczaków i strunowców [17, 18]. U bezkręgowców zdarzają się gatunki, u których występują równocześnie dwa, a nawet trzy różne chemicznie białka oddechowe. Należy zaznaczyć, że występowanie białek oddechowych u bezkręgowców nie jest zbyt częste.

Dotychczas najlepiej poznanymi białkami oddechowymi pod względem strukturalnym i funkcjonalnym są hemoproteiny kręgowców. Budowa przestrzenna tetramerycznych hemoglobin kręgowców, a dokładniej ich podjednostek i mioglobiny jest prawie identyczna [7, 14].

Bardziej zróżnicowane pod względem budowy i funkcji okazały się białka oddechowe bezkręgowców [1, 2, 8, 9, 18].

Obok podstawowej funkcji transportera tlenu niektóre białka oddechowe charakteryzują się dodatkowymi właściwościami. Między innymi wykazują różne aktywności enzymatyczne, uczestnicząc np. w utlenianiu siarki czy redukcji H_2O_2 . Stanowią rezerwuár tlenu (białka), a tym samym determinują pojemność tlenową tkanek. Hemoproteiny w organizmie stanowią również zapas hemu i żelaza. Białka oddechowe odpowiedzialne są za ubarwienie (kolor), a czasami także wykazują właściwości fotorecepcyjne. Biorą udział w wiązaniu tlenu w nieenzymatycznej reakcji hydroksylacji kolagenu. Mogą regulować też zanurzenie zwierząt w wodzie [9, 32]. Te dodatkowe funkcje nie wydają się spełniać tak znamiennej fizjologicznej roli, jaką jest ich uczestnictwo w transporcie tlenu.

Zaskakującym faktem było wykrycie hemoglobin w świecie roślin. Jest to jeszcze jeden (obok chlorofilu) z niepowtarzalnych dowodów jedności żywej materii. Rola hemoglobin roślinnych tylko po części została wyjaśniona. Nadal sporo pytań dotyczących ich struktury i właściwości pozostaje bez odpowiedzi [1, 15]. Nieoczekiwanym także odkryciem było stwierdzenie hemoglobiny w wolno żyjących kulturach tlenowych bakterii *Rhizobium* i *Vitreoscilla* [3, 28]. Natomiast hemoglobina wykryta w drożdżach okazała się białkiem złożonym o m.c. 50 kD, w której obok hemu występuje flawina [19]. Obecność hemoglobiny w organizmach jednokomórkowych takich

jak bakterie, pierwotniaki czy drożdże, a w szczególności ich funkcje, pozostaje nadal nie wyjaśniona.

Ostatnio w kręgu szczególnego zainteresowania badaczy znajdują się hemoglobiny roślinne zwane leghemoglobinami (Lg), pośrednio uczestniczące w procesie redukcji azotu atmosferycznego [3, 4, 6, 15, 16, 22].

Leghemoglobiny występują głównie w brodawkach korzeniowych u przedstawicieli co najmniej 6 rodzin motylkowatych i powstają w wyniku symbiozy roślin z bakteriami tylko rodzaju *Rhizobium*. Ciekawe, że białko globinowe kodują geny roślinne, a za syntezę hemu odpowiada drugi z symbiontów. Leghemoglobinę wykryto też w brodawkach korzeniowych *Parasponia*, *Leucaena* i *Dalea* niemotylkowatych roślin z *Ulmaceae* (Wiązowate), wiążących azot na drodze symbiozy z *Rhizobium*. Białko wiążące tlen podobne do leghemoglobiny występuje również w brodawkach korzeniowych utworzonych przez promieniowce *Frankia* z roślinami 15 rodzajów innych niż motylkowe [15].

Leghemoglobinie przypisywano pierwotnie udział w transporcie elektronów. Dziś wiemy, że białko to przyłączając tlen pełni znamioną rolę w przyswajaniu azotu atmosferycznego. Przeniesienie tej formy przyswajania azotu na rośliny niemotylkowe będzie ogromnym sukcesem bioinżynierii przekraczającym znaczne rozmiary zielonej rewolucji. Stąd też powód szeroko zakrojonych badań ustalających obecność i właściwości hemoglobin w organizmach jednokomórkowych, a w szczególności u bakterii. Ostatnio, dużym zainteresowaniem cieszy się hemoglobina wolno żyjących bakterii *Vitreoscilla*, natomiast mniej mamy danych o hemoglobinie wolno żyjących *Rhizobium*.

Jak dotychczas, tylko hemoglobina *Vitreoscilla* jest jedyną hemoglobiną bakteryjną o rozszyfrowanej sekwencji i scharakteryzowanych ogólnych właściwościach fizykochemicznych. W dalszej części pracy białku temu poświęcono szczególną uwagę.

FIZYKOCHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI BacHb

Nie podlega obecnie dyskusji fakt, że hemoglobina wolno żyjących bakterii *Vitreoscilla* (BacHb, VitHb) nie jest białkiem bło-

nowym ani terminalną oksydazą, jak to do niedawna sądzono. Ten czerwony barwnik odkryto w komórkach *Vitreoscilla* dość dawno i nie utożsamiano go z hemoglobina lecz terminalną oksydazą. W jego świeżych preparatach wykrywano bowiem nietypowe dla oksyhemoglobiny trójwartościowe żelazo. Dalszą trudnością we właściwej identyfikacji tego białka, jak się później okazało, było duże podobieństwo z widmem absorpcyjnym cytochromu c. Dopiero, gdy w komórkach *Vitreoscilla* zidentyfikowano związany z błoną cytochrom c, drugą hemoproteinę poddano szczegółowym badaniom. Stwierdzono, że ilość hemu w komórkach *Vitreoscilla* jest uzależniona od warunków ich wzrostu, i czynnika limitującego stężenie tlenu w medium. W miarę wzrostu i podziału komórek (tj. zużycia tlenu) obserwowano w bakteriach ponad 50-krotny przyrost hemu. Tak duży przyrost oksydazy błonowej bez naruszenia integralności membrany, byłby mało prawdopodobny. W tym względzie *eksperymentum crucis* okazała się reakcja fotooksydacji. W zachodzącym procesie rekombinacji z tlenem nie obserwowano utlenienia żelaza hemowego. Taki wynik ma miejsce tylko w przypadku hemoprotein przenoszących tlen, nigdy jednak w przypadku oksydaz (np. oksydazy cytochromu c) [31, 32].

Hemoglobina *Vitreoscilla* (VitHb) o masie cząsteczkowej 27 000 Da jest homodimerem. Każda podjednostka posiada grupę hemową i masę 13 000 Da określoną elektroforetycznie, a 15 775 Da ustaloną na podstawie składu aminokwasowego. Podobną wielkością (tj. 30 000 Da) charakteryzuje się hemoglobina wolno żyjących bakterii *Rhizobium* [2, 3, 24].

Maksimum pochłaniania tego białka w zakresie widzialnym przypada na długości: 419; 535 i 570 nm. Metodą spektroskopii w podczerwieni (IR) wykryto wiązanie tlenu przez VitHb przy 1134 cm^{-1} . Wiązanie CO w IR charakteryzowało się maksimum przy 1964 cm^{-1} nieco różniąc się od głównego maksimum HbCO (1951 cm^{-1}) i MbCO (1946 cm^{-1}). Na podstawie przebiegu wiązania cyjanków do utlenionego białka (żelaza) uznano, że hemy zachowały się w tym przypadku jak niezależne miejsca wiążące, gdy tymczasem wiązanie CO miało charakter kooperatywny.

Okazało się, że podjednostki Hb-*Vitreoscilla* znacznie różnią się wartością potencjału redox. Jedna z podjednostek (hem) ma niski potencjał połówkowy wynoszący -122 mV, natomiast druga wy-

soki, bo +118 mV. Taka różnica 240 mV jest niespotykana wśród hemoprotein i świadczy o kooperatywnych właściwościach hemów [25]. Ważniejsze właściwości tej hemoglobiny zebrano w tab. 2.

T a b e l a 2

Właściwości VitHb [32]

Względna masa cząsteczkowa	32 783
Masa podjednostki na podstawie składu	15 775
Grupa prostetyczna: protohem IX	
Potencjał redox	
podjednostka (hem) o wysokim potencjale	+118 mV
podjednostka (hem) o niskim potencjale	-122 mV
Wiązanie ligandów	
forma utleniona-2 mole cyjanków/mol Hb	n = 1
forma zredukowana-2 mole CO/mol Hb	n = 2
Maksima absorpcji form(nm)	
utlenionej	403, 500, 625
zredukowanej	432, 555
CO	419, 535, 566
utlenowanej	414, 543, 576
składnik D	418, 548, 576

Podczas miareczkowania VitHb(II) obserwowano tworzenie w stosunku stechiometrycznym składnika D-, tetrameru o masie 50 000 Da. Być może ta forma hemoglobiny jest prekursorem hemoglobin tetramerycznych ssaków czy form polimerycznych Hb bezkręgowców. Wprawdzie zakwestionowano tę jego rolę, ponieważ tworzy się on tylko w niskich temperaturach [26].

ROLA UNIERUCHOMIONYCH BIAŁEK ODDECHOWYCH

Właściwości funkcjonalne i fizjologiczne znaczenie krążących białek oddechowych są poznane dość dobrze [2, 14], natomiast rola i znaczenie unieruchomionych barwników oddechowych u roślin i organizmów jednokomórkowych pozostaje nadal przedmiotem spornych dyskusji. Sugerowano, że unieruchomione barwniki biorą udział

nie tylko w wiązaniu tlenu, ale spełniają szereg dodatkowych funkcji. I tak leghemoglobina posiada aktywność pseudoperoksydazy i oksydazy kwasu indolooctowego [20, 21]. Mioglobina i VitHb mają właściwości reduktazy hydroksyloaminy [5, 32]. Mamy też przekonujące dowody o udziale Lg i Mb w ułatwionej dyfuzji [33, 34]. Wiele kontrowersji powstało wokół leghemoglobiny. Hemoproteina ta o masie 16 000 Da pośrednio uczestniczy w przyswajaniu azotu atmosferycznego. Białko to wiążąc się z tlenem utrzymuje jego stężenie w środowisku na niskim poziomie i tym samym nie dochodzi do inhibicji nitrogenazy - głównego enzymu w procesie przyswajania azotu. Równocześnie ilość związanego tlenu z leghemoglobiną (LgO_2) jest wystarczająca dla *Rhizobium*, a zatem namnażanie bakteroidu nie jest osłabione. Mimo że stężenie hemu w bakteroidzie jest bardzo niskie - 10 nM, to leghemoglobina w procesie ułatwionej dyfuzji tlenu zabezpiecza przebieg fazy fosforylacji w *Rhizobium* z dużą wydajnością. Ułatwiona dyfuzja ma znaczenie tylko wówczas, jeżeli stężenie LgO_2 przekroczy znacznie zawartość wolnego tlenu w brodawkach, co w tym przypadku ma miejsce. Stężenie leghemoglobiny w brodawkach korzeniowych jest skorelowane ze zdolnością wiązania azotu i wszystkie symbionty z *Rhizobium* wymagają obecności Lg [15, 32, 34]. Nie wiadomo jednak czy leghemoglobina nie bierze bezpośredniego udziału w wiązaniu azotu.

Porównując stałe szybkości wiązania tlenu przez hemoglobiny roślinne z innymi hemoproteinami (tab. 3) widać, że Lg soi i Hb

Tabela 3

Reakcja hemoglobin z tlenem [32]

Hemoglobina	$k_1 \times 10^{-6}$ ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_{-1} (s^{-1})	$K_d \times 10^6$ (M)
Lg soi	116	5,55	0,047
Hb <i>Parasponia</i> (niemotylkowe)	165	14,8	0,089
<i>Lucina</i> (symbiont mięczaka)	155	55	0,36
HbI- <i>Glycera</i> (robak)	190	2800	14,7
Mb-konia	14	11	0,77
Hb <i>Candida</i> (drożdże)	850	17	0,020
Hb <i>Vitreoscilla</i>	78	5600	72

Parasponii mają bardzo wysokie powinowactwo tlenowe, co wynika z szybkiej reakcji asocjacji i bardzo niskiej wartości stałej dysocjacji. Odsłonięta wnęka hemowa jest jedynym wytłumaczeniem tej wysokiej wartości stałej asocjacji.

Vitreoscilla stercoraria, bakterie rodziny *Beggiatoa*, są bezwzględnymi tlenowcami i wymagają do swojego wzrostu określonych aminokwasów, są natomiast niezdolne do utylizacji większości cukrów. *Vitreoscilla* sp. szczep C1, hodowany w fermentatorze z napowietrzaniem o różnym poziomie tlenu, charakteryzował się wyższą aktywnością syntazy kwasu δ -aminolewulinowego (ALAS) i zawartością hemu, kiedy stężenie tlenu w środowisku było niższe (tab. 4).

T a b e l a 4

Wpływ tlenu na syntezę hemu u *Vitreoscilla* [32]

Warunki hodowli (% - O ₂)	Aktywność ALAS (μ mol/h/mg białka)	Zawartość hemu (μ mol/g mokrej masy)
20 h - 75	0,01	5
10 h - 50	0,11	11
10 h - 25	0,20	13
12 h - 10	0,27	24
22 h - 10	0,23	48
32 h - 10	0,07	53

Ten wzrost zawartości hemu był skorelowany ze zwiększoną zawartością hemoglobiny w komórkach [32].

Podobne wyniki uzyskano w przypadku *Rhizobium japonicum*. Komórki tych bakterii inkubowane w mikroaerofilnych warunkach zawierały 10-krotnie więcej hemu i podobnie podwyższoną aktywność dwóch pierwszych wymienionych enzymów szlaku hemowego [32]. W warunkach anareobowych bakteroidy (symbiontanty) łatwiej syntetyzowały protoporfirynę od wolno żyjących bakterii, co jest dowodem na utlenianie koproporfirynogenu przez NADP. Stanowiło to równocześnie argument, że grupę prostetyczną leghemoglobiny-hem, syntetyzują bakterie. Ciekawe, że hemoglobinę wykryto tylko w komórkach *Rhizobium* hodowanych w warunkach tlenowych, natomiast w hodowli beztlenowej była nieobecna [32]. Wynik ten pozostaje w sprzeczności z danymi, jakie uzyskano w przypadku *Vitreoscilla*

i znacznie komplikuje zrozumienie roli hemoglobin bakteryjnych. Uwzględniając nawet fakt, że w hodowli areobowej stężenie Hb w komórkach *Rhizobium* stanowi zaledwie 1/20 stężenia Hb *Vitreoscilla*.

Bakterie gatunku *Vitreoscilla* bytują w środowisku ubogim w tlen, tj. w bezodpływowych stawach, rozkładających się jarzynach, starym nawozie bydlęcym. Jednym z mechanizmów adaptacji do warunków ograniczonego poboru tlenu może być wzrost zawartości terminalnej oksydazy w membranie komórkowej. Przystosowanie takie nie może tu mieć jednak miejsca, bowiem błony bakteryjne są wręcz nasycone białkami. W większości błon zwierzęcych stosunek białko : lipid wynosi 1:1. Wewnętrzne membrany mielinowe charakteryzują się stosunkiem 1:5. Tymczasem enzymatycznie aktywne błony, w tym błony bakteryjne, mitochondrialne, lamelle chloroplastów mają wysoką zawartość białka do lipidów, tj. 3:1 [23]. Tak więc dodatkowy przyrost oksydazy końcowej mógłby spowodować destabilizację membrany bakteryjnej, natomiast cytoplazma komórkowa może być wysycona białkami oddechowymi bez naruszenia jej funkcji. Na przykład stężenie Hb w cytoplazmie erytrocytów ssaków wynosi 84%, a Lg stanowi do 20% rozpuszczalnych białek brodawek roślin motylkowych.

Słodkowodny ślimak *Planorbis corneus* posiadający w hemolimfie polimeryczną hemoglobinę może przebywać do 20 min w warunkach beztlenowych. Czerwone larwy *Chironomus* sp., jedne z nielicznych owadów, których hemolimfa zawiera hemoglobinę, bytują w mule w warunkach wręcz anareobowych. Powyższe przykłady świadczą dobitnie, że nie tylko mioglobina, ale także hemoglobina funkcjonuje jako rezerwuuar tlenu. Można zatem przypuszczać, że zwiększające się stężenie hemoglobiny u *Vitreoscilla* w warunkach ograniczonego dostępu do tlenu stanowi tym samym zabezpieczenie komórek w tlen. Jednakże ilość hemoglobiny u *Vitreoscilla* nie jest wystarczająca do pierwszoplanowej roli magazynu tlenu. Maksymalne stężenie hemu w komórkach *Vitreoscilla* wynosi około 50 μ M, jest więc nieporównanie mniejsze od np. 3 mM Lg w brodawkach korzeniowych, a jej ilość zapewnia oddychanie w warunkach beztlenowych przez zaledwie kilka sekund [32]. Pytanie, jaką rolę pełni hemoglobina bakteryjna, nadal pozostaje bez odpowiedzi.

Hipotezę o powierzchniowej lokalizacji hemoglobiny w *Rhizobium* pomiędzy membraną plazmatyczną i ścianą komórkową tłumaczyłoby

rolę BacHb. Z jednej strony bowiem białko oddechowe znajdowałoby się najbliżej środowiska zawierającego tlen, z drugiej byłoby w pobliżu terminalnej oksydazy usytuowanej w wewnętrznej błonie. Umieszczenie hemoglobiny pomiędzy błonami w postaci cienkiej warstwy stwarza idealne warunki do procesu ułatwionej dyfuzji tlenu. Bezpośrednich dowodów eksperymentalnych przemawiających za tą hipotezą jeszcze nie znaleziono. Uwalnianie Hb *Vitreoscilla* przez traktowanie lizozymem z dodatkiem EDTA po lizie osmotycznej pośrednio świadczy za powyższą koncepcją.

Rozważmy jeszcze, czy proces wiązania tlenu desygnuje BacHb do spełnienia przypisanej roli. Porównując stałe dysocjacji, to K_d VitHb jest większa od wartości K_d leghemoglobiny o trzy rzędy (tab. 3), gdy tymczasem stałe asocjacji (tworzenia) są takie same. Tym samym BacHb może funkcjonować jako pułapka tlenu ze znacznie wyższą wydajnością. Niezwykle wysoka stała dysocjacji może ułatwić szybki przepływ tlenu do enzymów łańcucha oddechowego. Ponadto mogłoby tworzyć się większe ciśnienie tlenu korzystne dla bezwzględnych tlenowców.

Dla zapewnienia podstawowej funkcji hemoglobiny niezbędne są dwa enzymy. Jednym z nich jest reduktaza katalizująca redukcję żelaza, jak to czyni klasyczna reduktaza methemoglobinowa erytrocytów [12]. Rzeczywiście potwierdzono bardzo niską aktywność reduktazową w przypadku oczyszczonej VitHb. Podobną aktywność posiada oczyszczona reduktaza MetHb erytrocytów zawierająca w swym składzie FAD. Aktywność ta uległa spotęgowaniu po dodaniu do mieszaniny reakcyjnej cytochromu b-5.

MetHb-reduktaza hemoglobiny Vit oraz flawoproteina z dużą wydajnością katalizuje redukcję Met VitHb w surowym ekstrakcie. Tym samym nasuwa się przypuszczenie o obecności w nie oczyszczonym ekstrakcie komórkowym dodatkowego składnika oddziałującego na przebieg powyższej reakcji.

Drugim niezbędnym enzymem jest peroksydaza, która rozkłada (utlenia) nadtlenuk wodoru powstały w trakcie autooksydacji zredukowanej hemoglobiny. Nadtlenuk wodoru powstaje wolno w obecności reduktazy i dla *Beggiatoa* pozbawionych tej aktywności jest to bardzo istotne. W warunkach tlenowych, jak wiadomo, nadtlenuk wodoru powoduje zatrucie komórek [23].

BUDOWA PIERWSZORZĘDOWA VitHb

Najdokładniej przebadana została ewolucja hemoglobin, a w szczególności Hb kręgowców. Niezbitych dowodów wspólnego pochodzenia hemoglobin roślinnych i zwierzęcych dostarczyła analiza struktury i sekwencji [27]. Zatem poznanie sekwencji hemoglobin bakterii mogłoby mieć pierwszoplanowe znaczenie w wyświetleniu ewolucji hemoglobin. Dla porównania w tab. 5 zestawiono sekwencję 146 reszt VitHb z pierwszorzędową strukturą niektórych hemoglobin. W zestawieniu tym jest uderzające podobieństwo sekwencji VitHb do sekwencji LgI żubinu złotego (LLg). Stwierdzamy tu 35 reszt wspólnych w 153 aminokwasach Lg, co stanowi 24% identyczności. Oprócz tego podobnych jest jeszcze 20 reszt: Glu/Asp, Ser/Thr,

T a b e l a 5

Sekwencje Hb *Vitreoscilla* (VHb) i niektórych Hb oraz leghemoglobiny (LLg) [27]

Reszta (R)	Helix (H)	Hemoglobina					
		HHb α	HHb β	SWMb	GHb	LLg	VHb
1			V			G	
2	NA1	V	H	V	G	A	
3	NA2	L	L	L	L	L	
4	A1	S	T	S	S	T	
5	A2	P	P	E	A	E	
6	A3	A	E	G	A	S	
7	A4	D	E	E	Q	Q	
8	A5	K	K	W	R	A	
9	A6	T	S	Q	Q	A	M*
10	A7	N	A	L	V	L	L
11	A8	V	V	V	I	V	D
12	A9	K	T	L	A	K	Q
13	A10	A	A	H	A	S	Q
14	A11	A	L	V	T	S	T
15	A12	W	W	W	W	W	I
16	A13	G	G	A	K	E	N
17	A14	K	K	K	D	E	I
18	A15	V	V	V	I	F	I

Tabela 5 cd.

Reszta (R)	Helix (H)	Hemoglobina					VHb
		HHb α	HHb β	SWMb	GHb	LLg	
19	A16	G		E	A	N	K
20	AB1	A		A	G	A	A*
21					N		
22					D		
23	B1	H	N	D	N	N	T
24	B2	A	V	V	G	I	V
25	B3	G	D	A	A	P	P*
26	B4	E	E	G	G	K	
27	B5	Y	V	H	V	H	
28	B6	G	G	G	G	T	
29	B7	A	G	Q	K	H	V
30	B8	E	E	D	D	R	L
31	B9	A	A	I	C	F	K
32	B10	L	L	L	L	F	E
33	B11	E	G	I	I	I	H
34	B12	R	R	R	K	L	G
35	B13	M	L	L	H	V	V*+
36	B14	F	L	F	L	L	T+
37	B15	L	V	K	S	E	I
38	B16	S	V	S	A	I	T
39	C1	F	Y	H	H	A	T
40	C2	P	P	P	P	P	T
41	C3	T	W	E	E	A	F
42	C4	T	T	T	M	A	Y+
43	C5	K	Q	L	A	K	K*
44	C6	T	R	E	A	D	N
45	C7	Y	F	K	V	L	L*
46	CD1	F	F	F	F	F	F*+
47	CD2	P	E	D	G	S	A
48	CD3	H	S	R			K
49	CD4	F	F	F	F	F	H+
50	CD5		G	K	S	L	P
51	CD6	D	D	H	G	K	E
52	CD7	L	L	L		G	V

Tabela 5 cd.

Reszta (R)	Helix (H)	Hemoglobina					
		HHb α	HHb β	SWMb	GHb	LLg	VHb
53	CD8	S	S	K			R
54	D1		T	T		T	
55	D2		P	E		S	P
56	D3		D	A	A	E	L
57	D4		A	E	S	V	F
58	D5		V	M		P	D
59	D6	H	M	K		Q	M
60	D7	G	G	A		N	G
61	E1	S	N	S	D	N	R
62	E2	A	P	E	P	P	Q
63	E3	Q	K	D	A	E	E*
64	E4	V	V	L	V	L	S+
65	E5	K	K	K	A	Q	L
66	E6	G	A	K	D	A	E
67	E7	H	H	H	L	H	Q
68	E8	G	G	G	G	A	P
69	E9	K	K	V	A	G	K
70	E10	K	K	T	K	K	A
71	E11	V	V	V	V	V	L+
72	E12	A	L	L	L	F	A
73	E13	D	G	T	A	K	M
74	E14	A	A	A	E	L	T
75	E15	L	F	L	I	V	V*+
76	E16	T	S	G	G	Y	L
77	E17	N	D	A	V	E	A
78	E18	A	G	I	A	A	A*+
79	E19	V	L	L	V	A	A*+
80	E20	A	A	K	S	I	Q
81	EF1	H	H	K	H	Q	N
82		V	L		L	L	I
83						E	E*
84						V	
85					G	T	
86	EF2	D	D	K	D	G	N

Tabela 5 cd.

Reszta (R)	Helix (H)	Hemoglobina					
		HHb α	HHb β	SWMb	GHb	LLg	VHb
87					E	V	L
88	EF3			G	G	V	P
89	EF4	D	N	H	K	A	A*
90	EF5	M	L	H	M	S	I
91	EF6	P	K	E	V	D	L
92	EF7	N	G	A	A	A	P
93	EF8	A	T	E	E	T	A
94	F1	L	F	L	M	L	V+
95	F2	S	A	K	K	K	K*
96	F3	A	T	P	A	N	K
97	F4	L	L	L	V	L	I+
98	F5	S	S	A	G	G	A
99	F6	D	E	Q	V	S	V
100	F7	L	L	S	R	V	K
101	F8	H	H	H	H	H	H*
102	F9	A	C	A	K	V	C
103	F10	H	D	T	G	S	Q
104	FG1	K	K	K	Y	K	A
105	FG2	L	L	H	G	G	G*
106					D		
107					K		
108	FG3	R	H	K	H		
109	FG4	V	V	I	I	V	V*+
110	G1	D	D	P	K	A	A*
111	G2	P	P	I	G	D	A
112	G3	V	E	K	E	A	A*
113	G4	N	N	Y	Y	H	H*
114	G5	F	F	L	F	F	Y+
115	G6	K	R	E	E	P	P*
116	G7	L	L	F	P	V	I
117	G8	L	L	I	L	V	V*+
118	G9	S	G	S	G	K	G
119	G10	H	N	E	A	E	Q
120	G11	C	V	A	S	A	E+?

Tabela 5 cd.

Reszta (R)	Helix (H)	Hemoglobina					
		HHb α	HHb β	SWMb	GHb	LLg	VHb
121	G12	L	L	I	L	I	L+
122	G13	L	V	I	L	L	L*
123	G13	V	C	H	S	K	G
124	G15	T	V	V	A	T	A
125	G16	L	L	L	M	I	I*+
126	G17	A	A	H	E	K	K*
127	G18	A	H	S	H	E	E*
128	G19	H	H	R	R	V	V*
129	GH1	L	F	H	I	V	L
130	GH2	P	G	P	G	G	G*
131	GH3	A	K	G	G	A	D
132	GH4	E	E	N	K	K	A
133	GH5	F	F	F	M	W	A
134	H1	T	T	G	D	S	T
135	H2	P	P	A	A	E	D
136	H3	A	P	D	A	E	D
137	H4	V	V	A	A	L	I
138	H5	H	Q	O	K	N	L
139	H6	A	A	G	D	S	D
140	H7	S	A	A	A	A	A*
141	H8	L	Y	M	W	W	W*
142	H9	D	Q	N	A	T	G
143	H10	K	K	K	A	I	K
144	H11	F	V	A	A	A	A*+
145	H12	L	V	L	Y	Y	Y*+
146	H13	A	A	E	A	D	G
147	H14	S	G	L	D	E	V
148	H15	V	V	F	I	L	I+
149	H16	S	A	R	S	A	A*
150	H17	T	N	K	G	I	D
151	H18	V	A	D	A	V	V*
152	H19	L	L	I	L	I	F+
153	H20	T	A	A	I	K	I
154	H21	S	H	A	S	K	Q

Tabela 5 cd.

Reszta (R)	Helix (H)	Hemoglobina					
		HHb α	HHb β	SWMb	GHb	LLg	VHb
155	H22	K	K	K	G	E	V
156	H23	Y	Y	Y	L	M	E
157	H24	R	H	K	E	D	A
158	H25			E	S	D	D*
159				L		A	L
160	HC1			G		A	Y
161	HC2			Y			A
162	HC3			Q			Q
163	HC4			G			A
164							V
165							E

R - aminokwas w kolejności od N-końca, H - położenie w heliks mioglobiny, HHb α , HHb β - człowiek, SWMb - mioglobina wieloryba, GHb - Hb *Glycera*, LLg - leghemoglobina łubinu.

* Konserwatywne hydrofobowe reszty.

Leu/Val/Ile, Phe/Tyr. Tak duża homologia między tymi dwoma białkami sugeruje istnienie strukturalnego i funkcjonalnego podobieństwa. Liczby identycznych reszt pomiędzy globinami przedstawiono w tab. 6.

Tabela 6

Liczba identycznych reszt [27]

Hemoglobina	Hb α	Hb β	Mb-wieloryba	Hb-Glycera	Lg-łubinu
Hb α					
Hb β	60				
Mb-wieloryba	38	33			
Hb-Glycera	30	29	32		
Lg-łubinu	23	23	26	23	
VitHb	16	16	14	20	34

Stwierdzona homologia (25%) jest prawie taka sama jak pomiędzy sekwencją Mb wieloryba olbrotowca i łańcuchami ludzkiej Hb (tab. 6).

Powszechnie przyjęto, że α -łańcuch Hb kręgowców, to wynik duplikacji genu mioglobiny wywodzącego się z hemoglobinowego genu bezkręgowców. Uważa się też, że gen leghemoglobiny przetransportowany został do roślin z zewnątrz (Eukaryota). Obecność leghemoglobin w co najmniej 6 różnych rodzinach motylkowych, a także w roślinach niemotylkowych i duża homologia w sekwencji z hemoglobinami kręgowców przemawiałyby za tym, że jednak geny leghemoglobiny są w roślinach od chwili rozdziału roślin i zwierząt, tj. miliarda lat temu i pochodzą od wspólnego genetycznego przodka.

Hemoglobiny wykryto także w organizmach jednokomórkowych, np. w drożdżach i *Paramecium*. Próby skorelowania obecności hemoglobiny w drożdżach z ich metabolizmem są nie zadowalające. Zarówno oddychanie komórkowe, jak i stan utlenienia cytochromów w mitochondriach przy niskim stężeniu tlenu nie były powiązane z obecnością bądź nieobecnością w nich hemoglobiny [19]. Ponadto obecność kilku różnych hemoglobin w tym samym organizmie (*Paramecium*) przemawia za tym, że gen hemoglobiny był obecny u prymitywnych Eukaryota. Tymczasem wykrycie Hb u *Vitreoscilla* sugeruje, że gen ten pojawił się przed Eukaryota, ewoluując z Procaryota.

Ostatnio głoszony jest pogląd, że globiny wywodzą się z cytochromów typu b [32]. Oparto go na podobieństwie sekwencji globin kręgowców i bezkręgowców z sekwencjami cytochromów b-5 i b-2 oraz oksydazy siarkowej kurcząt. Dla obu tych klas białek postulowany jest wspólny ligand dystalny, lecz proksymalna histydyna w cytochromach zostaje zastąpiona inną. Tym tłumaczy się fakt odwrócenia hemów w globinach i cytochromach [16]. W rozważaniach powyższych nie uwzględniono jednak obecności hemoglobin bakteryjnych w *Rhizobium* i *Vitreoscilla*. Można by przyjąć, że geny hemoglobiny do bakterii przeniesione zostały z roślin lub zwierząt. Nadal też, podstawowe założenie, że globiny pochodzą z cytochromu bakteryjnego typu b pozostaje w mocy. Jakkolwiek z drugiej strony obecność dwóch intronów w genach Lg soi, dokładnie w tych samych miejscach co w genach hemoglobin zwierząt, stanowi argument przeciwko wspólnemu Procaryotycznemu pochodzeniu wyższych hemoglobin.

Dane o pierwszorzędowej strukturze Hb bakterii przemawiają za tym, że porównywanie sekwencji białek tak różnych grup jak *Eucaryota* i *Procaryota* nie bardzo ma sens. Dane te nie mogą być też użyte do konstrukcji drzewa filogenetycznego globin. Kiedy dwa homologiczne białka osiągną granice zmian, zakreśloną przez strukturalno-funkcjonalne zależności, to wsteczne i równoległe mutacje są tak częste, iż różnice w sekwencji nie odzwierciedlają liczby mutacji. Tym samym nie ma możliwości zidentyfikowania bakteryjnego prekursora hemoglobin Eucaryota.

W świetle powyższego można przyjąć dwie drogi rozwoju hemoglobin. Jedną z nich to poddanie organizmów anareobowych ekspozycji na tlen. Druga możliwość to taka, że organizmy areobowe rozwijały się przypadkowo w środowisku ubogim w tlen. W pierwszym przypadku organizm wymagał ochrony przed tlenem i syntetyzował protohemoglobinę, która wiążąc tlen utrzymywała niskie jego stężenie w komórce. Ten mechanizm mógłby być efektywny tylko wówczas, kiedy ekspozycja na tlen była rzadka, ciśnienie tlenu niskie, a stężenie komórkowej Hb duże. W drugim bardziej prawdopodobnym zdarzeniu, białko ewoluowało do funkcji magazynu tlenu, pozwalając organizmom rozwijać się lepiej w warunkach ubogich w tlen.

PROGNOZA

Za sprawą potrzeb człowieka świat roślin czeka po "zielonej" jeszcze jedna tym razem "czerwona" rewolucja. Od dawna marzy się ludzkości rozszerzenie poza świat mikroorganizmów zdolności asymilacji azotu atmosferycznego na jednoliścienne i dwuliścienne rośliny uprawne. Tym samym nie byłaby potrzebna kosztowna i szkodliwa produkcja nawozów azotowych.

Symbioza - *Rhizobium*: (roślina motylkowa) jest procesem wielce złożonym i obejmującym wiele etapów. Bakterie brodawkowe zakażają korzenie roślin motylkowych tworząc brodawki korzeniowe, w których występuje redukcja azotu atmosferycznego. Symbiotyczne wiązanie azotu to proces złożony i nadal niewiele wiadomo o naturze rozpoznania specyficznego rośliny przez *Rhizobium*, zakażenia

tej rośliny, mechanizmie infekcji oraz kontroli genetycznej tego procesu.

W obecności bakteryjnego enzymu nitrogenazy następuje w bakteroidzie redukcja gazowego azotu do amoniaku. Enzym ten katalizuje jeszcze kilka innych reakcji redukcyjnych, a testem służącym do wykrycia nitrogenazy jest przekształcenie acetylenu w etylen [6, 15].

Nitrogenaza otrzymana z ponad 30 różnych mikroorganizmów, niezależnie od źródła, okazała się prawie identyczna. Białko to jest złożonym kompleksem. Jedna z podjednostek zawiera molibden (2-atomy), siarkę (30 atomów), żelazo (32 atomy) i składa się z dwóch łańcuchów polipeptydowych α i β połączonych w tetramer $\alpha_2\beta_2$. Druga podjednostka zawiera żelazo (4 atomy) i siarkę (4 atomy) będąc tetramerem typu α_4 . Tetrameryczne białko (-MoFe) zawiera żelazowo-molibdenowy kofaktor FeMoCO, uważany za miejsce redukcji azotu. Nitrogenaza ma bardzo złożoną strukturę i jest niezwykle trudnym obiektem badawczym ze względu na wyjątkową wrażliwość nawet na śladowe ilości tlenu. W warunkach tlenowych ulega szybkiej inaktywacji tracąc aktywność redukcyjną.

Redukcja azotu jest niezwykle energochłonna. Na jedną cząsteczkę azotu przekształconego w amoniak zostaje zużytych 12-15 cząsteczek ATP. Obok dużego zapotrzebowania energetycznego najważniejszym ograniczeniem asymilacji azotu jest konieczność ochrony nitrogenazy przed inaktywacją przez tlen. W tym względzie mikroorganizmy wiążące azot problem ten rozwiązały różnorodnie.

Przed wszystkim posiadają one białko w postaci leghemoglobiny, chroniące przed dopływem tlenu lub specjalne izolujące struktury wewnątrzkomórkowe albo błony nieprzepuszczalne dla tlenu, lub białka zużywające tlen do innych procesów metabolicznych (Hb?). Może też nastąpić czasowe oddzielenie azotu od działania oksygenaz, jak ma to miejsce u bakterii fotosyntetycznych oraz kompartmentyzacja nitrogenazy w heterocystach i brodawkach [3, 6, 15].

Poważniejszym osiągnięciem biologów w tej dziedzinie było przeniesienie w 1971 r. zespołu genów-nif (nitrogen fixation) z gatunku *Klebsiella pneumoniae* względnego beztlenowca do gatunku bakterii tlenowych, np. *Escherichia coli*. Tu geny te nie ulegają ekspresji, ale są replikowane, co pozwoliło na zbadanie ich stru-

ktury. Zespół nif przeniesiono m. in. do *E. coli* (1972), *Klebsiella aerogenes* (1974), *Agrobacterium tumefaciens* (1979), *Erwinia herbicola* (1980). Stwierdzono metodami inżynierii genetycznej, że zespół nif składa się z 17 genów ułożonych w 8 operonach obejmujących 23 kb. Część z tych genów koduje nitrogenazę, część pełni rolę regulacyjną, a funkcja niektórych nie została poznana [6, 15]. Regulacja ekspresji genów nif jest skomplikowana. Oddziałują na nią amoniak i inne związki azotowe (aminokwasy). Tlen także hamuje transkrypcję genów. Zespół nif *Rhizobium* ma podobną strukturę do zespołu obecnego u wolno żyjących bakterii *Klebsiella pneumoniae*. Plazmidy zawierają geny warunkujące powstanie brodawek na korzeniach roślin. Brodawki te są tkanką, w której znajdują się bakterie. Komórki brodawek syntetyzują leghemoglobinę odgrywającą jedną z ważnych ról w ochronie nitrogenazy przed tlenem. Ekspresja genów nif i aktywność nitrogenazy zachodzi tylko w warunkach beztlenowych.

W ostatnich latach nasilono badania zmierzające do przeniesienia regionu nif do genomu roślin zbożowych. W przypadku sukcesu rośliny stałyby się niezależne od dostarczonego z zewnątrz azotu. Mechanizmy kontroli wyrażania się genu w jądrach *Eucaryota* bardzo różnią się od *Procaryota*. Zagadnienie to jest niesłychanie złożone. Wydaje się, że wraz z próbą przeniesienia genów nif winno się przenieść gen leghemoglobiny. Przyswajające azot zielone rośliny muszą produkować czerwony barwnik - leghemoglobinę. Synteza tego białka to przykład symbiozy na poziomie molekularnym. Roślina syntetyzuje białko-globinę, bakteria odpowiedzialna jest za syntezę grupy prostetycznej. Synteza hemu w wolno żyjących bakteriach *Rhizobium* zachodzi już wcześniej, bowiem jest on niezbędny do utworzenia hemoglobiny bakteryjnej. W tym kontekście należałoby jak najszybciej podjąć badania hemoglobiny *Rhizobium*. Z chwilą utworzenia bakteroidu może mieć miejsce przełączenie syntezy hemoglobiny na korzyść leghemoglobiny. Takie przełączenie spotykamy w rozwoju osobniczym człowieka, kiedy zahamowana zostaje do śladowych ilości synteza HbF na rzecz HbA [10, 11].

Przeniesienie genu leghemoglobiny bądź hemoglobiny (bakteryjnej) wraz z genem nitrogenazy wydaje się być jedynym racjonalnym postępowaniem w kreowaniu nowych gatunków roślin wiążących azot atmosferyczny.

LITERATURA

- [1] Adamska M., Gondko R. (1986), "Kosmos", 3, 417-424.
- [2] Adamska M., Gondko R. (1987), Przegląd Zool., 31, 271-291.
- [3] Appleby D. A. (1969), Biochim. Biophys. Acta, 172, 88-105.
- [4] Appleby D. A. (1984), Ann. Rev. Plant Physiol., 35, 443-478.
- [5] Colter J. S., Quastel J. H. (1950), Arch. Biochem., 27, 368-389.
- [6] Fikus M. (1989), Biotechnologia, Warszawa.
- [7] Gondko R. (1965), Post. Biochem., 11, 169-178.
- [8] Gondko R., Alikhan M. A., Leyko W. (1976), Acta Univ. Lodz., s. II, 19, 279-331.
- [9] Gondko R., Adamska M. (1990), Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. Biophys. 7, 51-71.
- [10] Hryniewicz J., Gondko R. (1981), Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. Biophys., 1, 101-119.
- [11] Hryniewicz J., Gondko R. (1986), Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. Biophys., 4, 3-27.
- [12] Hultquist D. E. (1978), Methods in Enzymol., part C, 52, 463.
- [13] Korłt A. A., Burnas J. E., Trinic M. J., Appleby C. A. (1985), FEBS Lett., 180, 55-58.
- [14] Leyko W., Buczek L. (1960), Post. Biochem., 6, 393-407.
- [15] Lorkiewicz Z. (1988), Problemy biotechnologii, Wrocław, Warszawa, Kraków, Gdańsk, Łódź, 239-268.
- [16] Mathews F. S. (1980), Biochim. Biophys. Acta, 622, 375-379.
- [17] Mazur J., Gondko R. (1988), Zagadnienia Biofiz. Współ., 13, 81-110.
- [18] Michalak W., Gondko R. (1988), Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. Biophys., 6, 145-175.
- [19] Oshino R., Oshino N., Chance B. (1973), Eur. J. Biochem., 35, 23-33.
- [20] Pertilla U. (1981), FEBS Lett., 128, 100-102.
- [21] Sievers G., Ronnenberg M. (1978), Biochim. Biophys. Acta, 533, 293-301.

- [22] Smith M. H., George P., Pree J. R. (1962), Arch. Biochem. Biophys., 99, 313-318.
- [23] Stryer L., (1988), Biochemistry W. H. Freeman Comp., New York.
- [24] Tyree B., Webster D. A. (1978), J. Biol. Chem., 253, 6988-6991.
- [25] Tyree B., Webster D. A. (1978), J. Biol. Chem., 253, 7635-7637.
- [26] Tyree B., Webster D. A. (1979), J. Biol. Chem., 254, 176-179.
- [27] Wakabayashi S., Matsubara H., Webster D. A. (1986), "Nature", 322, 481-483.
- [28] Webster D. A., Hackett D. P. (1966), J. Biol. Chem., 241, 3308-3315.
- [29] Webster D. A., Lin C. Y. (1974), J. Biol. Chem., 249, 4257-4260.
- [30] Webster D. A. (1975), J. Biol. Chem., 250, 4955-4958.
- [31] Webster D. A., Orii Y. (1985), J. Biol. Chem., 260, 15 526-15 529.
- [32] Webster D. A. (1987), Advances in Inorganic Biochemistry, vol. 7, "Heme Proteins", 246-265, eds Eichorn G. L., Marz. lli L. G., Elsevier, New York.
- [33] Wittenberg J. B. (1966), J. Biol. Chem., 241, 104-114.
- [34] Wittenberg J. B., Bergersen F. J., Appleby C. A., Turner G. L. (1974), J. Biol. Chem., 249, 4057-4066.

Katedra Biofizyki
Uniwersytetu Łódzkiego

Roman Gondko

THE BACTERIAL HEMOGLOBIN

The aim of this paper is to summarize the publications concerning the bacterial hemoglobin (*Vitreoscilla*). This is the first bacterial hemoglobin to be sequenced and physicochemical properties are determined. It showed the

maximum sequence homology (24%) with lupin leghemoglobin (Lg) which properties also have been presented.

Bacterial hemoglobin may function to enable the organism to survive in oxygen-limited environments by acting as an oxygen storage-trap or to facilitate oxygen diffusion.