

3. Hernandez M.S., Troncone L.R.P. Glycine as a neurotransmitter in the forebrain: a short review // *J. Neural. Transm.* – 2009. – V. 116. – P. 1551-1560.
4. Cohen P. The origins of protein phosphorylation // *Nat. Cell Biol.* – 2002. – V.4. – P. E127-130.
5. Bonifacic M., Armstrong D.A., Carmichael I., Asmus K.-D. β -Fragmentation and other involving aminyl radicals from amino acids. // *J. Phys. Chem. B.* – 2000. – V. 104. – P. 643-649.
6. Lisovskaya A.G., Shadyro O.I., Edimecheva I.P. A new mechanism for photo- and radiation-induced decomposition of sphingolipids // *Lipids* – 2011. – V. 46. – P. 271-276.
7. Hawkins C.L., Pattison D.I., Davies M.J. Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins // *Amino Acids* – 2003. – V. 25. – P. 259-274.

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ ГКР-АКТИВНЫХ СУБСТРАТОВ НА ИММОБИЛИЗАЦИЮ ЦИТОХРОМА b5 И ЦИТОХРОМ P450 РЕДУКТАЗЫ НА ПОВЕРХНОСТИ СЕРЕБРА

**Терехов С.Н.¹, Жавнерко Г.К.², Каратай Н.В.², Панарин А.Ю.¹,
Ходасевич И.А.¹, Шерешовец Н.Н.¹, Янцевич А.В.³, Усанов С.А.³**

¹ *Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь
terekhov@imaph.bas-net.by*

² *Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

³ *Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Цитохромы P450 (cyt P450) обнаружены у всех живых организмов. Представители данного семейства участвуют в метаболизме различных эндогенных соединений (стероидных гормонов, полиненасыщенных жирных кислот, витамина D и др.), а также деградации ксенобиотиков. Донором электронов для монооксигеназных цитохром P450-зависимых систем, локализованных в эндоплазматическом ретикулуме служит NADPH-зависимая цитохром P450 редуктаза (CPR). Цитохром b5 (cyt b5) – небольшой мембранный гемопротеин, в присутствии которого изменяется каталитическая активность ряда цитохромов P450, и, предположительно, выполняет функцию дополнительного переносчика электронов в монооксигеназных системах. Cyt b5 также способен восстанавливаться CPR. До настоящего времени детальный механизм активации cyt P450 в

присутствии *cyt b5* до конца не выяснен, чем и объясняется интерес к изучению комплексообразования между *cyt b5* и CPR.

В последние годы всё чаще для изучения процессов комплексообразования привлекается метод спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), который позволяет получать детальную информацию о структуре молекул и биополимеров при предельно низких концентрациях. Особое значение приобретают вопросы сохранения нативной структуры взаимодействующих с металлическими наночастицами биомолекул, которые, как правило, денатурируют на неорганической поверхности. Одним из решений проблемы является функционализация поверхности металла биосовместимым подслоем из бифункциональных тиолов (самоорганизованным монослоем – СОМ) на основе меркаптоалкановых кислот. В данной работе нами исследованы спектры ГКР белков CPR и *cyt b5* в зависимости от способа иммобилизации на посеребренной поверхности пористого кремния (Ag-PSi).

Наноструктурированные плёнки серебра на поверхности PSi формировались методом иммерсионного осаждения из водного раствора нитрата серебра. Исходные подложки PSi получали путём анодного травления кремния р-типа в смеси этилового спирта и плавиковой кислоты.

Иммобилизацию белков на наноструктурированные серебряные слои осуществляли двумя способами: путём ковалентного связывания с СОМ из тиогликолиевой или меркаптоундекановой кислот (TGA и MUA), а также за счёт электростатической адсорбции на поверхности подложки, предварительно модифицированной цистамином, этиловым эфиром цистеина (ЭЭЦ) или метиловым эфиром цистеина (МЭЦ).

Спектры комбинационного рассеяния образцов регистрировали на спектрометре Solar ТП, оснащённого CCD-камерой. Источником возбуждения служил He-Cd лазер Liconix ($\lambda_{\text{возб.}} = 441,6$ нм).

На рисунке 1 представлены спектры исследуемых белков в растворе (1), их спектры ГКР при иммобилизации на поверхности Ag-PSi посредством СОМ TGA (3) и осаждённых непосредственно на плёнку Ag (2).

Спектры ГКР обоих белков, адсорбированных на немодифицированной поверхности Ag, являются бесструктурными и полностью отличаются от спектров РКР в растворе. Это свидетельствует о сильном возмущении нативной структуры белков при взаимодействии с наноструктурированной металлической поверхностью.

Спектры ГКР белка CPR иммобилизованного на Ag-PSi посредством TGA и MUA (данные не приведены) совпадают со спектром РКР в растворе (спектры 1 и 3). Это говорит об отсутствии структурных возмущений молекул гемпорфирина при взаимодействии с монослоем кислот

TGA и MUA. В случае же иммобилизации cyt b5 на Ag-PSi посредством COM как TGA, так и MUA в спектре ГКР появляются линии, смещенные в низкочастотную сторону по отношению к спектру РКР раствора. Спектр РКР исходного cyt b5 (спектр 1) соответствует шестикоординированному низкоспиновому феррипорфиру, где атом железа находится в состоянии окисления $3+$ (Fe^{3+} , 6с LS). Анализ изменения структурно-чувствительных частот ν_4 , ν_3 , ν_2 и ν_{10} при переходе к спектру 3 свидетельствует о том, что при ковалентном связывании происходит восстановление железа с образованием ферропорфирина. При этом координационное и спиновое состояние железа, вероятно, сохраняется (Fe^{2+} , 6с LS). Действительно, согласно литературным данным [1] редокс-потенциал иммобилизованного посредством COM из меркаптоалкановых кислот цитохрома становится более положительным, чем в растворе, что приводит к стабилизации ферро-комплексов. Детальный механизм восстановления гемпорфирина пока не ясен, также как и источник донора электрона. В качестве его может выступать отрицательно заряженная карбоксильная группа, либо плёнка металла.

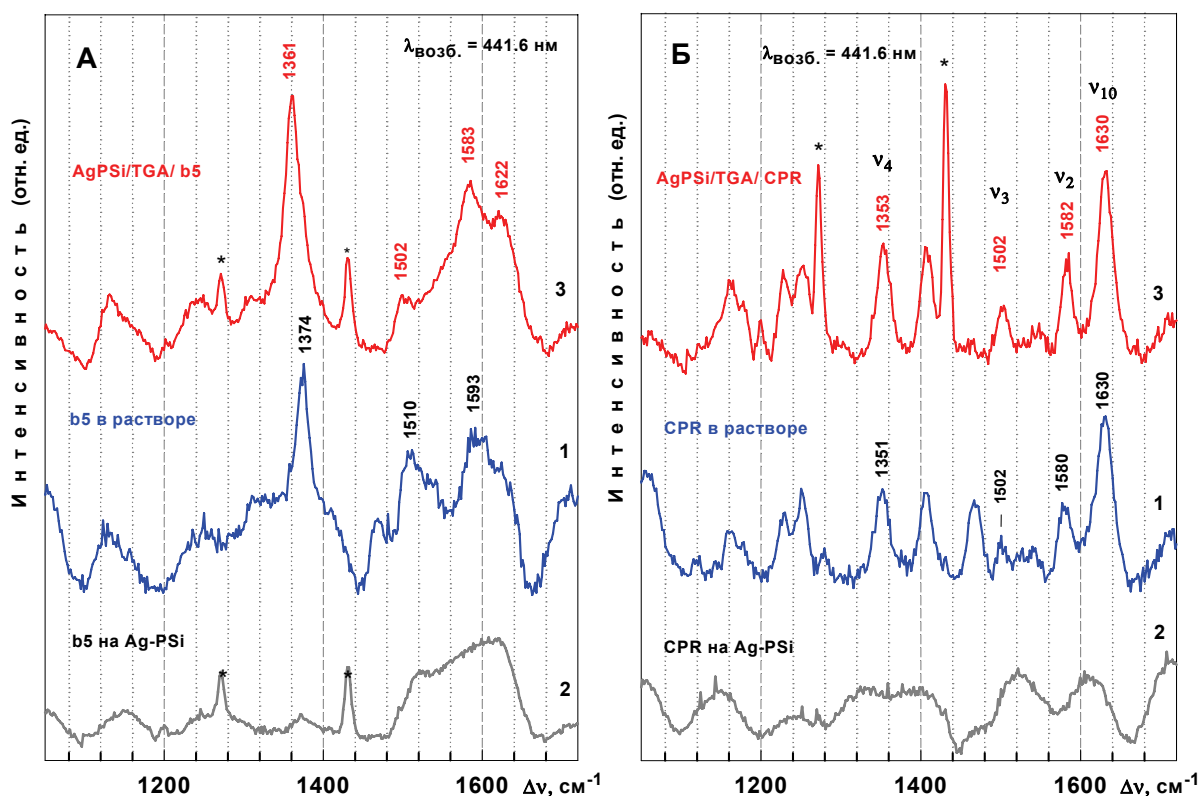


Рисунок 1 – Спектры белков cyt b5 (А) и CPR (панель Б): РКР в растворе - 1, ГКР на немодифицированной поверхности Ag-PSi – 2; ГКР на COM TGA – 3

При электростатической иммобилизации с помощью цистамина, ЭЭЦ и МЭЦ в спектрах ГКР b5 и CPR наблюдаются линии, принадлежащие как исходной, так и восстановленной формам белка. Их соотношение зависит от методики иммобилизации и типа функционализатора.

Таким образом, серебряные плёнки на поверхности PSi, функционализированные меркаптоалкановыми кислотами, являются «биосовместимыми» поверхностями, которые могут быть использованы для изучения белков методом спектроскопии ГКР.

Работа выполнена в рамках задания ГПНИ “Конвергенция 3.2.06”.

Литература

1. Todorovic S., Jung C., Hildebrandt P., Murgida D.H. Conformational transitions and redox potential shifts of cytochrome P450 induced by immobilization // J. Biol. Inorg. Chem. – 2006. Vol. 11, 119–127.

ИНФРАКРАСНЫЕ СПЕКТРЫ И АНТИВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗАЛЬДЕГИДА

**Толсторожев Г.Б.¹, Скорняков И.В.¹, Бельков М.В.¹,
Шадыро О.И.², Бринкевич С.Д.², Самович С.Н.²**

¹ *Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
gbt@imaph.bas-net.by

² *Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Производные бензальдегида (БА) проявляют радиопротекторную, антимицробную, антибактериальную, цитопротекторную, антимуtagenную, противовоспалительную активность. Многие из них эффективны как противовирусные средства в отношении герпеса простого [1].

Проблема создания на основе производных БА новых лекарственных препаратов диктует необходимость глубоких и всесторонних исследований физико-химических и медико-биологических свойств этих соединений. Комплексный подход исследования близких по структуре соединений класса фенолов с использованием методов ИК спектроскопии позволил установить существенную роль водородных связей в проявлении молекулами фармакологической активности [2]. Детальный анализ ИК спектров производных БА поможет расширить и углубить представления о способности этих соединений проявлять противовирусную актив-