

Из рис. 4 (б) также видно, что при освещении частично разрушается и конъюгированный Хл еб Однако, фоторазрушение хлорина еб происходит более чем в 3 раза медленнее, чем фотосенсибилизируемая им деструкция триптофанов САЧ.

Литература

1. В. А. Лапина, С. Б. Бушук, Т. А. Павич, А. В. Воробей. ЖПС, – 2016, – Т.82, –№3, – с. 347–353.

МИГРАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА И ОКСИДА УГЛЕРОДА ЧЕРЕЗ КСЕНОНОВЫЕ САЙТЫ В ИЗОЛИРОВАННЫХ ЦЕПЯХ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА

Лепешкевич С.В.¹, Гилевич С.Н.², Пархоц М.В.¹, Джагаров Б.М.¹

¹ *Институт физики им. Б.И. Степанова, Минск, Беларусь*

² *Институт биоорганической химии, Минск, Беларусь*

Экспериментально доказано существование каналов миграции молекулярного кислорода (O_2) через ксеноновые сайты в изолированных α и β цепях гемоглобина человека. Для этого был использован метод лазерной наносекундной абсорбционной спектроскопией с применением кювет высокого давления, содержащих наряду с водным раствором белка одну атмосферу воздуха и вплоть до 25 атмосфер инертного газа. Использование кювет высокого давления позволило ввести атомы ксенона внутрь белка и связать их в ксеноновых сайтах. В свою очередь, привлечение техники лазерной кинетической спектроскопии [1, 2] позволило проследить влияние встраивания атомов ксенона на процесс повторного связывания молекулы O_2 с белком после фотодиссоциации.

Показано, что встраивание атомов ксенона приводит к уменьшению эффективности выхода молекулы O_2 из изолированных α цепей гемоглобина в 1.30 раза. Эффективность выхода молекулы O_2 для β цепей не изменяется. В пределах экспериментальной погрешности, не происходит изменения бимолекулярной константы скорости ассоциации молекулы O_2 с изолированными цепями гемоглобина. Показано, что встраивание атомов ксенона приводит к уменьшению характеристического времени наиболее медленной компоненты геминальной рекомбинации молекулы O_2 с изолированными цепями. Наблюдаемое уменьшение характеристического времени обусловлено уменьшением внутрибелкового простран-

ства доступного для миграции молекулы O_2 после встраивания атомов ксенона.

Для адекватного объяснения наблюдаемых изменений эмпирических параметров повторного связывания молекулы O_2 с белком, нами была предложена кинетическая модель, описывающая миграцию молекулы O_2 внутри белка по двум альтернативным каналам с последующим повторным связыванием (рисунок). В рамках данной модели было показано, что константа скорости вхождения молекулы O_2 из растворителя внутрь белка в область первичного сайта связывания (область гемового кармана) (k_{SB} , см рисунок) превышает на один порядок константу скорости вхождения молекулы O_2 в область вторичных сайтов (ксенон-связывающих областей белка) (k_{SC} , см. рисунок), что подтверждает гипотезу об основном канале входа молекулы O_2 внутрь белка через His(E7) калитку.

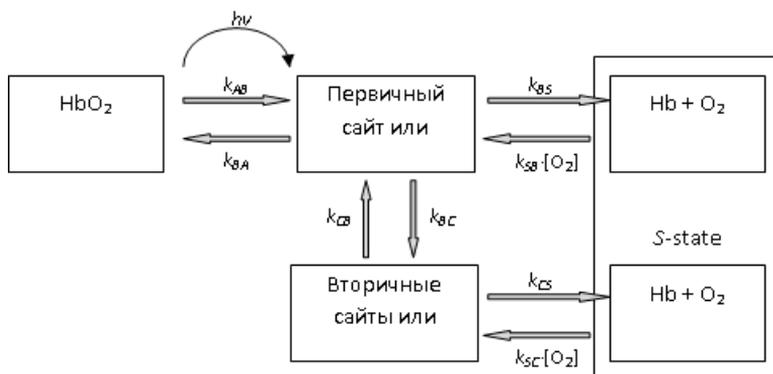


Рисунок. Кинетическая модель, описывающая миграцию двухатомного лиганда внутри белка по двум альтернативным каналам с последующим повторным связыванием.

Кроме того, рассчитана доля молекул O_2 выходящих наружу белка через вторичные сайты в изолированных α и β цепях гемоглобина. Показано, что в α цепях через ксеноновые сайты выходит одна треть молекул O_2 . Используя литературные данные [3] для эффективности геминальной рекомбинации оксида углерода (CO) с изолированными α и β цепями гемоглобина в отсутствие и при введении 9 атмосфер ксенона, нами была рассчитана доля молекул CO выходящих из белка через вторичные сайты. Как и в случае с молекулой O_2 , одна треть молекул CO выходит из изолированных α цепей через ксеноновые сайты. Существенная доля молекул лиганда (O_2 или CO) выходящих из α субъединиц через ксеноно-

вые сайты говорит об эквивалентности каналов выхода как из области гемового кармана, так и из ксенон-связывающих областей внутри белка. В отличие от α цепей, молекула O_2 , посещая ксенон-связывающие области в β цепях, не покидает матрицу белка. Кроме того, была рассчитана эффективность выхода молекул O_2 из белка через ксеноновые сайты. Найдено, что эффективности выхода молекулы O_2 через ксенон-связывающие области в α и β цепях гемоглобина составляют $(5.6 \pm 1.1) \cdot 10^{-2}$ и $(1.0 \pm 2.0) \cdot 10^{-2}$, соответственно.

Таким образом, экспериментально доказано существование каналов миграции двухатомных лигандов через ксеноновые сайты в изолированных α и β цепях гемоглобина. Каналы миграции в α и β цепях различаются. α цепь, в отличие от β цепи, обладает более чем одним каналом выхода из белка и, соответственно, более сложной структурой взаимосвязанных полостей, что была ранее теоретически предсказана методом молекулярной динамики [4]. В случае встраивания атомов ксенона в белок происходит затруднение миграции лиганда в белке, что отражается на экспериментально измеряемых параметрах повторного связывания молекулы лиганда изолированными цепями гемоглобина. В частности, закупорка каналов миграции атомами ксенона уменьшает эффективность выхода молекулы O_2 из α цепей после фотодиссоциации.

Авторы благодарят Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований (№ Ф13-016) за финансовую поддержку.

Литература

1. Lepeshkevich S. V. Molecular oxygen binding with α and β subunits within the R quaternary state of human hemoglobin in solutions and porous sol-gel matrices. / S. V. Lepeshkevich, M. V. Parkhats, I. I. Stepuro, B. M. Dzhagarov // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – V. 1794. – P.1823-1830.
2. Lepeshkevich S. V. Photosensitized singlet oxygen luminescence from the protein matrix of Zn-substituted myoglobin. / S. V. Lepeshkevich, M. V. Parkhats, A. S. Stasheuski, V. V. Britikov, E. S. Jarnikova, S. A. Usanov, B. M. Dzhagarov // *J. Phys. Chem. A* – 2014. – V. 118. – P.1864-1878.
3. Birukou I. Modulating distal cavities in the α and β subunits of human HbA reveals the primary ligand migration pathway. / I. Birukou, D. H. Maillett, A. Birukova, J. S. Olson // *Biochemistry* – 2011. – V. 50. – P.7361-7374.
4. Lepeshkevich S. V. The kinetics of molecular oxygen migration in the isolated α chains of human hemoglobin as revealed by molecular dynam-

ics simulations and laser kinetic spectroscopy. / S. V. Lepeshkevich, S. A. Biziuk, A. M. Lemeza, B. M. Dzhagarov // Biochim. Biophys. Acta – 2011. – V. 1814. – P.1279-1288.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ВНУТРИ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАНООБЪЕКТОВ

Лепешкевич С.В., Пархоц М.В., Жарникова Е.С., Джагаров Б.М.

Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) играет принципиально важную роль во многих химических, биофизических и биохимических системах. Данная активная форма кислорода является основным агентом в разрушении опухолевых тканей при фотодинамической терапии онкологических заболеваний. В последние годы большое число работ направлено на определение квантовых выходов образования синглетного кислорода в системах, содержащих наночастицы различных типов. Известно, что характеристики синглетного кислорода существенным образом зависят от диэлектрических свойств окружающей среды. Тем не менее, до сих пор не решен вопрос, каким образом изменяются люминесцентные характеристики синглетного кислорода внутри, а также на поверхности и вблизи наносистем.

В данной работе представлены результаты исследований фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода внутри биологических нанобъектов – Zn-замещенных гембелков. Нативные гембелки имеют в своем составе гем - Fe-протопорфирин IX, не способный генерировать синглетный кислород ввиду малого времени жизни возбужденных $\pi\pi^*$ -состояний. Замена Fe-протопорфирина IX на Zn-протопорфирин IX позволяет получить биологический нанобъект, в котором фотосенсибилизатор (ФС) находится внутри белковой матрицы, при этом не нарушается нативная структура и конформационная подвижность белков.

Zn-замещенные гембелки были получены кислотнo-бутанонным методом [1]. Люминесценция синглетного кислорода регистрировалась на созданном в Институте физики НАН Беларуси высокочувствительном лазерном флуорометре для ближнего ИК-диапазона [2]. Возбуждение