

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ (254 НМ) НА РАЗМЕРЫ МОЛЕКУЛ КСИГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА

Небольсина А.А., Путинцева О.В., Артюхов В.Г.

*ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет,
Воронеж, Россия*

Гемоглобин как объект исследования является удобной моделью для изучения влияния различных агентов на белковые системы. Полностью идентифицированы первичная структура гемоглобина, взаимное расположение атомов в его молекуле. Принадлежность гемоглобина к классу олигомерных белков дает возможность определять способность молекулы к диссоциации и ассоциации, оценивать роль субъединичных контактов в проявлении функциональной активности макромолекулы в целом [2].

В настоящее время в хирургической, акушерско-гинекологической и терапевтической практике для лечения ряда заболеваний широко используется метод аутотрансфузии УФ-облученной крови (АУФОК). УФ-свет с длиной волны 254 нм обладает наиболее мощным бактерицидным действием и используются в практике АУФОК-терапии [1, 3]. Он воздействует на серосодержащие аминокислоты, вызывает их фотолиз, а также энергия его расходуется на фотосенсибилизированные химические реакции в других функционально важных группах белка. Лечебный эффект метода АУФОК связывают с усилением оксигенации крови, купированием гипоксических состояний, повышением бактерицидных и нормализацией реологических свойств УФ-облученной крови, а также стимуляцией факторов клеточного и гуморального иммунитета [1, 3].

В качестве объектов исследования использовались растворы оксигемоглобина человека ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) в 0,1 моль/л фосфатном буфере (рН 7,4), полученные из крови доноров в день взятия пробы.

Оксигемоглобин выделяли методом, описанным D.L. Drabkin [5] с модификациями Л.А. Блюменфельда [4]. В основе этого метода лежит явление осмотического гемолиза предварительно отмытых от белков плазмы эритроцитов раствором хлорида натрия (0,9 %). Мембраны эритроцитов осаждали центрифугированием в течение 15 минут при скорости 12000 об/мин на центрифуге MiniSpin (Германия). Очистку гембелка осуществляли методом гель-фильтрации на носителе сефадекс G-75с использованием автоматизированного хроматографа низкого давления АКТА start (GE Healthcare, Германия). УФ-облучение образцов оксиге-

моглобина человека проводили в объеме 2 мл при помощи облучателя BIO-link-BLX, 254 нм (Vilber Lourmaet, Франция).

Определение размеров молекул оксигемоглобина человека осуществляли на анализаторе частиц Zetasizer Nano ZSP (Malvern, Великобритания 2015) в лаборатории Центра коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета.

Нами были исследованы размеры нативных и модифицированных УФ-светом (254 нм) в дозах 755 и 2265 Дж/м² растворов оксигемоглобина человека с концентрацией $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

Таблица. Размеры молекул оксигемоглобина человека при воздействии на них УФ-излучения

Объект исследования	Размер, нм
Нативные молекулы гембелка	6,23±0,88
HbO ₂ + УФ-облучение, 755 Дж/м ²	4,52±0,33*
HbO ₂ + УФ-облучение, 2265 Дж/м ²	5,50±0,69

* Отличия от нативного оксигемоглобина статистически достоверны (P<0,05).

Анализ данных таблицы показывает, что в нативном состоянии величина размера молекул оксигемоглобина человека составила 6,23±0,88 нм. Воздействие УФ-излучения на гембелок в дозе 755 Дж/м² привело к статистически достоверному уменьшению размера молекул до 4,52±0,33 нм. Большая доза облучения (2265 Дж/м²) к статистически достоверным изменениям не приводит.

Изменение размеров молекул оксигемоглобина человека вследствие воздействия на них ультрафиолетового излучения (254 нм) свидетельствуют о вкладе сульфгидрильных групп в изменение структуры молекулы гембелка: происходит процесс компактизации оксигемоглобина человека при дозе облучения 755 Дж/м² и практически полное восстановление его размеров при облучении гембелка в дозе 2265 Дж/м².

Литература

1. Александрова Н.П. Применение инфузий УФО – крови при лечении синдрома гемореологических расстройств у хирургических больных / Н.П. Александрова, Е.Б. Петухов // Ультрафиолетовое облучение крови в медицине. – Владивосток, 1987. – С. 157–158.
2. Артюхов В.Г. Олигомерные белки: структурно-функциональные модификации и роль субъединичных контактов / В.Г. Артюхов, О.В.

- Башарина, Г.А. Вашанов, М.А. Наквасина, О.В. Путинцева. – Воронеж : Изд-во ВГУ, 1997. – 264 с.
3. Атясов Н.И. Эндогенная интоксикация при АУФОК–терапии в эксперименте / Н.И. Атясов, Е.В. Рязанцев, А.Н. Беляев // Анестезия и интенсивная терапия при травме. Гипоксия, эндотоксемия и методы их коррекции: Тез. докл. X Всерос. Пленума правления общества и федерации анестезиол. и реаниматол. – Нижний Новгород, 1995. – С. 124.
 4. Блюменфельд Л.А. Гемоглобин и обратимое присоединение кислорода / Л.А.Блюменфельд. – М. : Сов. наука, 1957.-140 с.
 5. Drabkin D. The chryystallographic and optical properties of the haemoglobin of man in comporison with those of other species // J. Biol. Chem. – 1946. – Vol. 164, № 2. – P. 703-723.

НОВАЯ ПАРАДИГМА СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ. I. КАК ОРГАНИЗОВАНЫ БЕЛКОВЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАШИНЫ

Некрасов А.Н., Анашкина А.А.

ИБХ РАН, Москва, Россия ИМБ РАН, Москва, Россия

Белки являются ключевым элементов в любых биологических системах, без их участия не протекает ни один процесс регуляции, не проходит ни одно преобразование молекул. Понимание принципов организации белков является обязательным условием осмысленного влияния на их функционирование, открывая путь для «управления» функционированием биологических систем. Сложившиеся в середине XX века представления о структурной организации белков не позволили создать методологию, позволяющую определять, какие именно изменения необходимо внести в первичную структуру белков, чтобы получить необходимые изменения в их пространственной организации и функционировании. И хотя еще в работе [1] была высказана мысль о том, что все характеристики белковых молекулярных машин «записаны» в их первичной структуре, до сих пор не удавалось выявить какую-либо организацию белка, анализируя только аминокислотные последовательности полипептидных цепей [2, 3]. Причиной такого состояния дел является существующая парадигма структурной организации белков, основанная на чисто химиче-