

## ВЛИЯНИЕ КОНФОРМАЦИОННОЙ РЕЛАКСАЦИИ НА КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА $\alpha$ И $\beta$ СУБЪЕДИНИЦ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА

Лепешкевич С.В.<sup>1</sup>, Сазанович И.В.<sup>2</sup>, Пархоц М.В.<sup>1</sup>, Гилевич С.Н.<sup>3</sup>, Джагаров Б.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Центральная лазерная лаборатория, Лаборатория Резерфорда–Эплтона, Дидкот, Великобритания

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Для выяснения молекулярных механизмов кооперативной оксигенации гемоглобина человека изучены кинетики фотоиндуцированного повторного связывания молекулярного кислорода ( $O_2$ ) и сопутствующих конформационных изменений в  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицах данного белка. С этой целью созданы окси-цианомет валентные гибриды гемоглобина,  $\alpha_2(Fe^{2+}-O_2)\beta_2(Fe^{3+}-CN)$  и  $\alpha_2(Fe^{3+}-CN)\beta_2(Fe^{2+}-O_2)$ , в которых только один тип субъединиц ( $\alpha$  или  $\beta$ ) может связывать молекулярный кислород [1]. Кинетики процессов исследовались на основании измеренных время-разрешенных спектров наведенного поглощения в области полосы Core во временном диапазоне от 1 пс до 800 мкс после лазерного фотовозбуждения. Спектры наведенного поглощения измерены на установке УЛЬТРА, созданной в Центральной лазерной лаборатории, Лаборатория Резерфорда-Эплтона, Дидкот, Великобритания [2, 3]. В качестве источника оптического возбуждения использовались импульсы длительностью 100 фс на длине волны 543 нм с энергией 1 мкДж.

На основании полученных результатов предложена кинетическая модель, учитывающая повторное связывание  $O_2$  из внутренних областей белка, миграцию  $O_2$  между первичным и вторичными внутрибелковыми сайтами, а также релаксацию третичной структуры белка. Впервые установлена неэквивалентность  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц тетрамера гемоглобина человека как в связывании молекулярного кислорода из внутренних областей белка (геминальная рекомбинация), так и в сопутствующей конформационной релаксации указанных субъединиц. Обнаружено, что релаксация третичной структуры обеих субъединиц приводит к уменьшению констант скоростей геминальной рекомбинации  $O_2$  с индивидуальными  $\alpha$  и  $\beta$  субъединицами в составе гемоглобина, причем этот эффект более чем на порядок больше для  $\beta$  субъединиц по сравнению с  $\alpha$  субъединицами. Наблюдаемые изменения обусловлены уменьшением внутренней реакционной способности гема, которая, в свою очередь, регулируется геометрией комплекса гемовое железо – проксимальный гистидин.

Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание механизмов регуляции связывания молекулярного кислорода как с нативным гемоглобином человека, так и с разрабатываемыми искусственными системами доставки кислорода.

### Библиографические ссылки

1. Lepeshkevich S.V., Sazanovich I.V., Parkhats M.V. et al. Towards understanding non-equivalence of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits within human hemoglobin in conformational relaxation and molecular oxygen rebinding // Chem. Sci. 2021. Vol. 12. P. 7033–7047.
2. Greetham G.M., Burgos P., Cao Q. et al. ULTRA: A Unique Instrument for Time-Resolved Spectroscopy // Appl. Spectrosc. 2010. Vol. 64. P. 1311–1319.
3. Greetham G.M., Sole D., Clark I.P. et al. Time-resolved multiple probe spectroscopy // Rev. Sci. Instrum. 2012. Vol. 83. P. 103107-1–5.