

**Исследование связывания зонда эозина с сывороточным альбумином человека
методами КР – спектроскопии**

**Полянский Дмитрий Валерьевич (физик), Власова Ирина Михайловна (ассистент,
кандидат физ. - мат. наук)**

МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

e-mail: vlasovairina1979@mail.ru

Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) света ближней инфракрасной области с фурье-преобразованием широко применяется в биологических и медицинских исследованиях компонентов крови. Сывороточный альбумин представляет собой глобулярный белок плазмы крови человека. Уникальная способность молекулы сывороточного альбумина человека связывать обширный круг органических и неорганических лигандов определяет одну из основных функций этого белка – транспорт физиологических метаболитов. Связывание лигандов с молекулой альбумина определяется наличием на белке специфических связывающих центров.

Как следует из полученных КР – спектрограмм, в связывании молекулярного зонда эозина участвуют только остатки полярных аминокислот: треонина, серина, лизина, аргинина, глутамина и глутаминовой кислоты. При значениях pH 3,5 – 8,0 в связывании эозина участвуют остатки лизина (через гидроксильную и через карбоксильную группы эозина), треонина (через гидроксильную группу эозина) и глутаминовой кислоты (через гидроксильную и через карбоксильную группы эозина). При значениях pH 3,5 – 7,0 в связывании эозина через его гидроксильную группу участвуют остатки серина. При значениях pH 3,5 – 6,0 в связывании эозина через его гидроксильную группу участвуют остатки аргинина. При значениях pH 3,5 – 5,0 в связывании эозина через его гидроксильную группу участвуют остатки глутамина. При значениях pH 3,5 – 4,0 в связывании эозина через его карбоксильную группу участвуют остатки треонина и серина. Наибольшее количество типов химических связей между эозином и аминокислотными остатками альбумина имеет место при pH раствора, меньших изоэлектрической точки альбумина (4,7).

Связывание лигандов с молекулой сывороточного альбумина определяется наличием на белке связывающих центров. К участкам связывания малых органических молекул, таких как эозин, относят центр I и II. Центр I находится в домене II альбумина, в него входят лизин (195, 199), треонин (125, 243), глутаминовая кислота (167, 244), глутамин (196), серин (202), аргинин (197). Центр II находится в домене III молекулы альбумина, в него входит тирозин (411) и прилежащие к нему лейцин (413) и валин (415, 418). Полученные при расшифровке спектров комбинационного рассеяния аминокислоты, участвующие в связывании эозина, входят в состав центра I.

Для оценки структурного конформационного состояния молекул белков в спектрах КР используются основные колебания полипептидной цепи Амид-I и Амид-III. При добавлении эозина в белковые растворы в области полосы Амид I зарегистрировано при всех значениях pH уменьшение пика в области 1645 – 1655 см⁻¹ и возрастание пика в области 1660 – 1670 см⁻¹. Также при добавлении эозина к белку в области полосы Амид III происходит уменьшение пика в области 1270 – 1280 см⁻¹ и увеличение пика в области 1240 – 1260 см⁻¹. Следовательно, при связывании эозина молекулами альбумина происходят их конформационные перестройки, выражающиеся в уменьшении доли α -спиральных участков и увеличении доли хаотической укладки цепи альбумина.

Таким образом, методом КР – спектроскопии изучен механизм связывания эозина с молекулами сывороточного альбумина человека. Показано присоединение эозина к связывающему центру I сывороточного альбумина человека.

* Авторы выражают глубокую признательность своему научному руководителю - профессору, доктору физ.-мат. наук Салецкому А.М. за оказанное внимание и помощь в выполнении работы.