

Исследование связывания NO с бычьим сывороточным альбумином методом электронного парамагнитного резонанса

Научный руководитель – Черкасова Ольга Павловна

Немова Евгения Федоровна

Выпускник (магистр)

Новосибирский государственный университет, Физический факультет, Новосибирск,
Россия

E-mail: endy@ngs.ru

Образование комплекса с NO является важным свойством альбуминов, определяющим возможность выполнения этими белками транспортных функций. Исследовать кинетику образования комплекса альбумин - NO в биологических системах прямыми спектроскопическими методами довольно трудно из-за сложной структуры белка и из-за низких концентраций оксида азота. Очень полезным для решения такой задачи мог бы оказаться метод «химического усиления», когда за реакцией следят не по образованию первичного продукта (в данном случае - комплекса альбумина с NO), а по появлению некоторых вторичных продуктов, позволяющих регистрировать их присутствие в достаточно малых концентрациях, например, обладающих гораздо более сильным поглощением или имеющих неспаренный электрон. Именно такую возможность дало применение рН-чувствительной спиновой ловушки 1,2,2,5,5-пентаметил-3-имидазолин-3-оксида (ПМИО) для регистрации локального закисления вблизи парамагнитных центров при образовании комплекса бычьего сывороточного альбумина с оксидом азота (II). Оксид азота окисляется присутствующим в растворе кислородом с образованием NO₂, и этот образовывшийся оксид обуславливает локальное закисление.

Спиновая ловушка 1,2,2,5,5-пентаметил-3-имидазолин-3-оксид, содержащая, кроме нитронной группы, осуществляющей спиновое улавливание, еще и аминный атом азота в имидазолиновом гетероцикле, является рН-чувствительной, так как в кислой среде аминный атом азота протонируется, и спиновый аддукт уже характеризуется другими константами сверхтонкого взаимодействия, измеряемыми по спектру ЭПР. В области рН от 2.5 до 6.5 наблюдаются оба аддукта - протонированный и непротонированный. По записанной независимо кривой титрования была измерена кислотность среды при взаимодействии альбумина с NO. Показано, что изменение кислотности среды коррелирует с образованием комплекса NO с альбумином: чем активнее идет образование этого комплекса, тем менее выражено локальное закисление среды.

Применение рН-чувствительной спиновой ловушки позволило впервые наблюдать влияние облучения пленочных препаратов бычьего сывороточного альбумина в терагерцовом диапазоне на эффективность образования комплекса альбумин - оксид азота. В частности, было показано, что взаимодействие облученного альбумина с NO вызывает более сильное локальное закисление, чем необлученного, что означает более эффективную конверсию NO → NO₂ в случае облученного белка и образование более прочного комплекса с NO в случае необлученного белка.

Таким образом, применение рН-чувствительной спиновой ловушки является полезным методом исследования взаимодействий с участием NO в биологических системах.