

8. Oruch R., Pryme I.F., Holmsen H. Effects of psychotropic drugs on the thrombin-induced liberation of arachidonate in human platelets. *Saudi Med. J.*, 2008, vol. 29, pp. 1397-1407.
9. Walenga R.W., Opas E.E., Feinstein M.B. Differential effects of calmodulin antagonists on phospholipases A₂ and C in thrombin-stimulated platelets. *J. Biol. Chem.*, 1981, vol., 256, pp. 12523-12528.
10. Kuhn H., Banthiya S., van Leyen K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015, vol. 1851, pp. 308-330.
11. Chung T.-W., Moon S.-K., Chang Y.-C., Ko J.-H., Lee Y.-C., Cho G., Kim S.-H., Kim J.-G., Kim C.-H. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. *J. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.*, 2004, vol. 18, pp. 1670-1681.
12. Wenzel S.E., Kamada A.K. Zileuton – the first 5-lipoxygenase inhibitor for the treatment of asthma. *Ann. Pharmacother.*, 1996, vol. 30, pp. 858-864.
13. Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Крутецкая Н.И., Бутов С.Н., Антонов В.Г. Арp 2/3-комплекс участвует в действии глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca²⁺ в макрофагах. *Биофизика*, 2014, т. 59, вып. 5, с. 907-912. [Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Naumova A.A., Krutetskaya N.I., Butov S.N., Antonov V.G. Arp 2/3-complex is involved in the effect of glutoxim and molixan on intracellular Ca²⁺ concentration in macrophages. *Biophysica*, 2014, vol. 59, pp. 907-912 (in Rus.)]
14. Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R.Y. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.*, 1985, vol. 260, pp. 3440-3450.
15. Xie Q., Zhang Y., Zhai C., Bonanno J.A. Calcium influx factor from cytochrome P-450 metabolism and secretion-like coupling mechanisms for capacitative calcium entry in corneal endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 16559-16566.

СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ УЧАСТКОВ СВЯЗЫВАНИЯ АЗИДА НАТРИЯ С ДВУХДОМЕННОЙ ЛАККАЗОЙ *STREPTOMYCES LIVIDANS* AC-1709

Тищенко С.В.¹, Габдулхаков А.Г.¹, Трубицина Л. И.², Лисов А. В.², Леонтьевский А.А.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук
ул. Институтская, 4, г. Пуццоно, 142290, РФ

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН
проспект Науки, 5, г. Пуццоно, 142290, РФ
e-mail:sveta@vega.protres.ru

Аннотация. Лакказа (ЕС 1.10.3.2) – фермент, принадлежащий к семейству «голубых» оксидоредуктаз, содержащих в активном центре четыре атома меди, организованные в металлоцентры T1 и T2/T3. T2/T3 медь-содержащий центр включает T2 центр с одним атомом меди и T3 центр с двумя атомами меди. Лакказа катализирует окисление широкого спектра фенольных и нефенольных субстратов. Конечным акцептором электронов является кислород, который восстанавливается до воды. Лакказы обнаружены у грибов, бактерий, растений и насекомых. Лакказы эукариот состоят из трёх доменов, в бактериях, кроме трёхдоменных, встречаются двухдоменные (малые) лакказы. Двухдоменные лакказы обладают высокой термостабильностью, устойчивостью к высоким значениям pH и различным ингибиторам. Известно, что азид натрия является сильным ингибитором трёхдоменных лакказ, структурными методами показана его локализация в районе T2/T3-центра. Двухдоменные лакказы слабо ингибируются даже высокими концентрациями азид натрия, а их активность в среде со щелочным значением pH в присутствии азид натрия даже повышается. Место связывания азид натрия с двухдоменными лакказами не было определено.

В данной работе впервые обнаружено предположительное место связывания азид натрия с малой лакказой *Streptomyces sp. (lividans)* Ac-1709. Азид обнаружен на расстоянии около 5 Å от субстрат-связывающего кармана T1-центра. В данной работе предложено объяснение низкой чувствительности двухдоменных лакказ к азиду натрия.

Ключевые слова: двухдоменные лакказы, азид натрия, пространственная структура, медь-содержащие центры.

STRUCTURAL INVESTIGATIONS OF BINDING SITES OF SODIUM AZIDE WITH TWO-DOMAIN
LACCASE *STREPTOMYCES LIVIDANS* AC-1709

Tishchenko S.V.¹, Gabdulkhakov A.G.¹, Trubitsina L.I.², Lisov A.V.², Leontievsky A.A.²

¹Institute of Protein Research, RAS

Institutskaya st., 4, Pushchino, 142290, Russia

²G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, RAS,
Nauki av., 5, Pushchino, 142290, Russia

Abstract. Laccase (EC 1.10.3.2) belongs to the family of "blue" oxidoreductases containing in the active center four copper atoms organized in metal centers T1 and T2/T3. The T2/T3 center includes a T2 center with one copper atom and a T3 center with two copper atoms. Laccase catalyzes oxidation of a wide range of phenolic and non-phenolic substrates. The final electron acceptor is oxygen, which is reduced to water. Laccases are found in fungi, bacteria, plants and insects. Eukaryotic laccases consist of three domains, in bacteria, besides three-domain laccases there are two-domain (small) laccases. Two-domain laccases have high thermal stability, are active in the alkaline pH range and in the presence of different inhibitors of three-domain laccases. It is known that sodium azide is a strong inhibitor of three-domain laccase; structural methods show that it is located in the T2/T3-center of laccase. Two-domain laccases are poorly inhibited even by high concentrations of sodium azide, and their activity in the alkaline pH in the presence of sodium azide even increases. The site of binding of sodium azide with two-domain laccase was not determined. In this study, for the first time we have found a presumptive binding site of azide with small laccase *Streptomyces sp. (lividans)* Ac-1709. Azide is found at a distance of about 5 Å from the substrate-binding pocket of the T1-center. In this paper we suggest an explanation of low sensitivity of two-domain laccase to sodium azide.

Key words: two-domain laccases, sodium azide, crystal structure, copper-containing centers.

Лакказы обладают высокой окислительной способностью, что позволяет их довольно широко использовать в биотехнологической индустрии. Двухдоменные лакказы (2D) - относительно новая подгруппа лакказ бактериального происхождения, в отличие от трёхдоменных (3D), они формируют функциональный тример.

2D лакказа *Streptomyces lividans* Ac-1709 идентична по аминокислотной последовательности ранее известной лакказе *S. coelicolor* – SLAC (PDB код 3CG8). Домен I 2D лакказ схож с доменом I 3D лакказ, а домен II больше похож на домен II нитритредуктаз [1]. Известно, что ингибирующий эффект азид натрия в 3D лакказах основан на его связывании с T2/T3-медным кластером [2], что препятствует передаче электрона от T1-центра на T2/T3- кластер и ингибирует активность ферментов [2; 3]. Хотя при кислых значениях pH активность 2D лакказ ингибируется азидом натрия, но это происходит при концентрациях ингибитора в сотни миллимолей, в то время как активность 3D лакказ подавляется азидом уже при микромолярных концентрациях. Отсутствие активности трёхдоменных лакказ при щелочных значениях pH приписывается действию гидроксил ионов, которые, связываясь с T2/T3 медьсодержащим центром фермента, блокируют перенос электронов [3]. Ингибиторы лакказ, азид и фторид натрия, предположительно, также связываются с T2/T3 центром, предотвращая восстановление воды [4]. Механизм этого явления совершенно не изучен, структурные данные о комплексах 2D лакказ с ингибиторами отсутствуют.

В данной работе представлены 3 структуры лакказы *S. lividans* Ac-1709 (PDB код 4GYB, PDB код 4HF9 и PDB код 4HFA) включающие 2 структуры, полученные с кристаллов, вымоченных в растворе, содержащем азид натрия. Найден предположительный участок связывания азид на двухдоменных лаказах, расположенный вблизи T1-центра.

Получение лакказы *S.lividans* (SLSI). Штамм бактерии *S.lividans* Ac-1709 для получения геномной ДНК получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов (<http://vkm.ru>).

Для амплификации фрагмента ДНК *SLSI* с помощью ПЦР использовались следующие олигодезоксирибонуклеотиды: прямой: 5'-ATGGACAGGCGAGGCTTCAA-3', обратный: 5'-TCAGTGCTCGTGTTCTGTG-3'. ПЦР-продукт был очищен на агарозном геле и лигирован в вектор pAL-TA (Евроген) с использованием T4-ДНК лигазы. Лигазная смесь была трансформирована в компетентные клетки *Escherichia coli* DH10B. Идентификация и отбор трансформантов *E. coli* со вставкой осуществлялись на основе «син-белой селекции» с использованием антибиотиков в качестве индикаторов наличия плазмиды, а также изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ) и X-Gal в качестве индикаторов наличия вставки в плазмиде. Нуклеотидная последовательность гена *SLSI* подтверждалась секвенированием.

Для экспрессии гена *SLSI* использовали олигодезоксирибонуклеотиды: прямой: 5'-AGTGGATCCATGGACAGGCGAGGCTTCAA-3', курсивом выделен сайт для BamHI и обратный 5'-TCAAAGCTTTCAGTGCTCGTGTTCTGTG-3', курсивом выделен сайт для HindIII. ПЦР-фрагмент был клонирован в плазмиду pQE (Qiagen). Компетентные клетки *E. coli* M15(Rep4) трансформированы плазмидой pQE-30, несущей ген *SLSI*. Клетки выращивали в среде LB при 37°C с перемешиванием 150 об/мин до оптической плотности $A_{600} = 0.5$. Суперпродукция лакказы индуцировалась добавлением 1 mM ИПТГ. Одновременно с ИПТГ добавляли CuSO_4 до конечной концентрации 0,25 mM и инкубировали клетки час при постоянном перемешивании и температуре 37°C и 5 часов без перемешивания при той же температуре. Клетки суспендировали в буфере 20 mM Na-фосфатный буфер, pH 7.4, 500 mM NaCl, 1 mM имидазола (буфер А) и разрушали ультразвуком. Поскольку рекомбинантный белок содержал на N-конце шесть остатков гистидина, мы использовали металл-аффинную хроматографию. Удаление неспецифически связавшихся с носителем белков проводили буфером А с концентрацией имидазола 10 mM. Элюцию лакказы проводили буфером А с концентрацией имидазола 500 mM. Далее проводили гель-фильтрацию на колонке 26/60 HiLoad Superdex 200 в буфере 20 mM Na-ацетат, pH 5,0, 100 mM NaCl.

Определение влияния азидата натрия на активность лакказы.

Влияние азидата натрия в концентрациях 1, 10 и 100 мМ на активность *SLSI* определяли по изменению скорости окисления ферментом 1 мМ субстрата: 2,2'-азинобис(3-этилбензотиазолин сульфоновая кислота) (АБТС) или 2,6-диметоксифенола. Все измерения проводили в 50 мМ буфере 0,05 М борная кислота, 0,05 М ортофосфорная кислота, 0,05 М уксусная кислота. Изменение скорости окисления АБТС под действием ингибитора наблюдали при кислых значениях pH, 2,6-диметоксифенола – при щелочных значениях pH.

Кристаллизация и структурный анализ.

Фракции, содержащие белок, объединяли, концентрировали и диализовали в буфер 50 мМ H_3BO_3 -NaOH, pH 9,0, 100 мМ NaCl и концентрировали на центрифужном концентраторе с отсечкой 10 кДа до концентрации 15 мг/мл. Для кристаллизации белка был использован метод диффузии паров в его модификации «висящая капля». Кристаллы получены в условиях No. 46 Crystal Screen 2 (Hampton Research).

Для получения кристаллов смешивали 2 мкл раствора белка с 1 мкл раствора No. 46 Crystal Screen 2 (0,1 М NaCl, 0,1 М бисин pH 9,0, 20%(v/v) ММЕPEG 550). В качестве противораствора использовали 0,1 М NaCl, 0,1 М бисин pH 9,0, 30%(v/v) ММЕPEG 550. Кристаллизация велась при температуре 24°C. Через 2-3 дня появлялись кристаллы, которые достигали до максимального размера (70x70 мкм) в течение недели. Перед съёмкой кристаллов в жидком азоте при 100К, они перенесены в криоразтвор -0,1 М NaCl, 0,1 М бисин pH 9,0, 37%(v/v) ММЕPEG 550.

Сбор данных с кристаллов был произведен на синхротроне BESSY II, линия BL14.1 (Берлин, Германия) с использованием CCD детектора RAYONIX MX-225. Кристаллы лакказы без азидата натрия отражали рентгеновские лучи с пределом разрешения 2,4 Å. Пространственная группа - $P4_332$, параметры ячейки, - $a=b=c=177.54$ Å, $\alpha=\beta=\gamma=90.0^\circ$. Интегрирование и шкалирование дифракционных данных проведено в программном комплексе XDS [5]. Структура решена молекулярным замещением в программе Phaser [6]. В качестве стартовой модели использовали структуру лакказы *S. coelicolor* (PDB код 3KW8). Уточнение модели проводилось в программе Refmac [7] из программного комплекса CCP4, ручная правка в программе COOT [8], финальное уточнение было сделано в программе Phenix 1.8-2 [9].

Для получения комплекса лакказы с азидом было проведено вымачивание кристаллов в криоразтворе, содержащем 10 мМ NaN_3 , в течение 90 и 180 минут. Данные структуры также решены методом молекулярного замещения с использованием программы PHASER. Уточнение модели проводилось в программе Refmac, ручная правка в программе COOT, финальное уточнение было сделано в программе Phenix 1.8-2.

Результаты и их обсуждение. Известно, что азид натрия в концентрациях 0,1 мМ – 1 мМ полностью ингибирует активность 3D лакказ грибов [10]. Степень ингибирования 2D лакказ азидом гораздо ниже. Так, остаточная активность лакказы SilA составляет 40% при концентрации азидата натрия 10 мМ [11]. Наши результаты по ингибированию лакказы *S. lividans* азидом натрия практически такие же (см. табл.1). При кислых значениях pH *SLSI* в присутствии 1 мМ азидата натрия обладает остаточной активностью 81,4 %, а при щелочных – не ингибируется вообще (даже при концентрации азидата натрия 100 мМ), наблюдается даже небольшой рост активности. Такие особенности характерны и для других 2D лакказ [12].

Таблица 1 – Влияние азидата натрия на активность лакказы *SLSI*

Азид натрия (концентрация)	Кислые значения pH (4,0), остаточная активность (%)	Щелочные значения pH (8,0), остаточная активность (%)
1 мМ	81,4	100
10 мМ	39,2	109,7
100 мМ	5,35	109

Предполагается, что отрицательно заряженный ион азидата достигает T2/T3 центра трёхдоменных лакказ и располагается между двумя ионами меди T3 центра, препятствуя реакции восстановления кислорода до воды. Каналы, ведущие к T2/T3 центру у 2D лакказ, уже каналов 3D лакказ [13] и имеют другой заряд [12], что, по всей видимости, затрудняет прохождение ионов азидата в T2/T3 центр (в особенности при щелочных значениях pH) и способствует высокой устойчивости к ингибитору.

Для того чтобы выяснить причины необычной устойчивости 2D лакказ к азидату натрия, мы закристаллизовали лакказу *S. lividans* (см. рис.1) и определили 3 структуры (PDB код 4GYB, PDB код 4HF9, PDB код 4HFA). Две последние структуры определены с использованием дифракционных данных, снятых с кристаллов *SLSI*, вымоченных в растворе азидата натрия в течение 90 и 180 минут, соответственно. Поскольку кристаллы лакказы получены в щелочных условиях, вымачивание кристаллов проводилось также в буфере с щелочным значением pH. Предел разрешения кристаллов снижался с 2,4 Å до 2,6 Å (90 минут вымачивания) и 2,7 Å (180 минут вымачивания).



Рисунок 1 – Фото кристаллов лакказы *S. lividans*

Сравнительный структурный анализ показал, что ион азида не связывается с T2/T3-центром, а локализован на расстоянии 5,5 Å от иона меди T1-центра лакказы между двумя тирозинами (см. рис. 2) в районе субстрат-связывающего кармана.

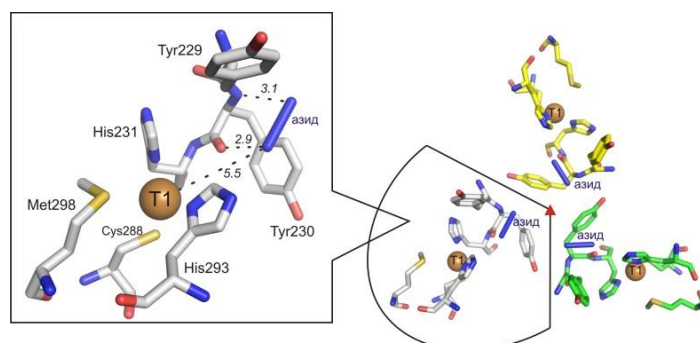


Рисунок 2 – Локализация азид натрия относительно T1 центра в тримере. Стрелкой показана ось третьего порядка. Азид показан палочкой голубого цвета, ионы меди – сферами золотистого цвета. На врезке слева указаны межатомные расстояния и нумерация аминокислотных остатков (Å)

Такое расположение азид при щелочных значениях pH может свидетельствовать о другом типе его взаимодействия с двухдоменными лакказами, и о его возможном влиянии на связывание с субстратом. В настоящее время ведётся работа по улучшению качества кристаллов, а также планируется вымачивание кристаллов в криорастворе с кислым значением pH.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 15-04-03002-а) и Программы Президиума МКБ РАН.

Список литературы /References:

1. Skálová T., Dohnálek J., Østergaard L.H., Østergaard P.R., Kolenko P., Dušková J., Štěpánková A., Hašek J. The structure of the small laccase from *Streptomyces coelicolor* reveals a link between laccases and nitrite reductases. *J. Mol. Biol.*, 2009, vol. 385, pp.1165-1178.
2. Bento I., Martins L.O., Lopes G.G., Carrondo M.A., Lindley P.F. Dioxygen reduction by multi-copper oxidases; a structural perspective. *Dalton Trans.*, 2005, vol. 21, pp. 3507-3513.
3. Xu F. Effects of redox potential and hydroxide inhibition on the pH activity profile of fungal laccases. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, no. 2, pp. 924-928.
4. Solomon E.I., Sundaram U.M., Machonkin T.E. Multicopper oxidases and oxygenases. *Chem. Rev.*, 1996, vol.96, no.7, pp.2563-2605.
5. Kabsch W. Integration, Scaling, Space-Group Assignment and Post-Refinement. *Acta Crystallogr. Sect.D: Biol. Crystallogr.*, 2010, vol. 66, no. 2, pp. 133-144.
6. McCoy A.J., Grosse-Kunstleve R.W., Adams P.D., Winn M.D., Storoni L.C., Read R.J. Phaser crystallographic software. *J. Appl. Crystallogr.*, 2007, vol. 40, pp. 658-674.
7. Murshudov G.N., Skubak P., Lebedev A.A., Pannu N.S., Steiner R.A., Nicholls R.A., Winn M.D., Long F., Vagin A.A. REFMAC5 for the refinement of macromolecular crystal structures. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.*, 2011, vol. 67, pp. 355-367.
8. Emsley P., Lohkamp B, Scott W. G., Cowtan K. Features and Development of Coot. *Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr.*, 2010, vol. 66, no.4, pp. 486-501.
9. Afonine P.V., Grosse-Kunstleve R.W., Echols N., Headd J.J., Moriarty N.W., Mustyakimov M., Terwilliger T.C., Urzhumtsev A., Zwart P.H.; Adams, P.D. Towards automated crystallographic structure refinement with phenix.refine. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.*, 2012, vol. 68, pp.352-367.

10. Johannes C., Majcherczyk A. Laccase activity tests and laccase inhibitors. *J. Biotechnol.* 2000, vol. 78, pp. 193-199.
11. Molina-Guijarro J.M., Pérez J., Muñoz-Dorado J., Guillén F., Moya R., Hernández M., Arias M.E. Detoxification of azo dyes by a novel pH-versatile, salt-resistant laccase from *Streptomyces ipomoea*. *Internat. Microbiol.*, 2009, vol. 12, pp. 13-21.
12. Trubitsina L.I., Tishchenko S.V., Gabdulkhakov A.G, Lisov A.V., Zakharova M.V., Leontievsky A.A. Structural and functional characterization of two-domain laccase from *Streptomyces viridochromogenes*. *Biochimie*, 2015, vol. 112, pp.151-159.
13. Габдулхаков А.Г., Костарева О.С., Коляденко И.А., Михайлина А.О., Трубицина Л.И., Тищенко С.В. Встраивание ионов меди в Т2/Т3 центры двухдоменных лакказ. *Молекулярная биология*, 2018, vol.52, no. 1, в печати.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ pH СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ ГЕМОГЛОБИНА И ЕГО ПРОСТЕТИЧЕСКОЙ ГРУППЫ

Тхор Е.С., Цораев Г.В., Максимов Е.Г., Силичева М.А., Паршина Е.Ю.
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
ул. Ленинские горы, 1, г. Москва, 119234, РФ
e-thor@mail.ru

Аннотация. В работе исследовано влияние концентрации протона (pH 6,8, 7,4, 8,0) на структуру белковой части оксигемоглобина. Методом комбинационного рассеяния показано, что переход в окисленное состояние стабилизирует структуру порфиринового кольца, в этих условиях pH среды инкубации не оказывает влияния на конформацию гемопорфирина и его способность переносить кислород. Обнаружено снижение ζ -потенциала молекул гемоглобина при повышении pH среды инкубации, при этом размер молекулы остается неизменным. Выявлено возрастание интенсивности и времени жизни флуоресценции триптофановых остатков с увеличением pH среды, что свидетельствует о наличии локальных конформационных перестроек, вызывающих изменение микроокружения триптофана белковой части гемоглобина. В связи с этим в данной работе выявлена взаимосвязь белковой части и гемопорфирина оксигемоглобина крови человека при изменении pH среды инкубации.

Ключевые слова: гемоглобин, pH, Комбинационное рассеяние, ζ -потенциал, триптофановая флуоресценция, гемопорфирин, эффект Бора.

RESEARCH INFLUENCE OF PH ON THE STRUCTURE OF HEMOGLOBIN AND ITS PROSTETIC GROUP

Tkhor E.S., Tsoraev G.V., Maksimov E.G., Silicheva M.A., Parshina E.Yu.
Lomonosov Moscow State University
Leninskie gory st., 1, Moscow, 119234, Russia
e-thor@mail.ru

Abstract. The influence of the proton concentration (pH 6.8, 7.4, 8.0) on the structure of the protein part of oxyhemoglobin was investigated in the work. Raman scattering showed that the transition to the oxidized state stabilizes the structure of the porphyrin ring, under these conditions the pH of the incubation environ does not affect the conformation of hemoporphyrin and its ability to transfer oxygen. A decrease in the ζ -potential of hemoglobin molecules was observed with increasing pH of the incubation environ, while the size of the molecule remains unchanged. An increase in the intensity and lifetime of fluorescence of tryptophan residues with an increase in the pH of the environ has been revealed, which indicates the presence of local conformational rearrangements that cause a change in the microenvironment of tryptophan in the protein part of hemoglobin. In this regard, in this paper, the relationship between the protein part and hemoporphyrin of human oxyhemoglobin in the pH of the incubation environ.

Key words: hemoglobin, pH, Raman scattering, ζ -potential, tryptophan fluorescence, hemoporphyrin, Bohr effect.

Эффективность переноса кислорода гемоглобином зависит от ряда факторов, таких как pH крови, уровень содержания в крови оксида азота II (NO), 2,3-дифосфолицерата и других. В исследованиях конформационных превращений молекулы гемоглобина в настоящее время делается акцент на биолого-медицинскую диагностику патологий сердечнососудистой системы [1, 2]. Многие патологии вызывают изменения pH крови и, как следствие, изменение кислород-переносящих свойств гемоглобина [3-5]. Известно, что закисление среды вызывает протонирование свободных карбоксильных групп, изменение конформации глобина и уменьшение аффинности гемоглобина к кислороду, так называемый эффект Бора [6, 7]. Способность гемоглобина переносить кислород зависит от конформации гемопорфирина. Однако механизмы влияния белковой части молекулы на состояние простетической группы при различных заболеваниях изучены недостаточно. В данной работе мы выбрали модельное воздействие на гемоглобин, изменение концентрации протона в среде, которое наблюдается также и при ряде патологических процессов в организме. Использование гемоглобина в полностью окисленном состоянии позволяет стабилизировать структуру простетической группы и проследить, какие изменения наблюдаются в белковой части молекулы. Таким образом, целью работы было изучить изменения белковой части оксигемоглобина при различных значения pH среды.