



МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра молекулярных процессов и  
экстремальных состояний вещества

# Влияние хлорида калия на поведение белка гемоглобина в водных растворах

Научный руководитель:  
д.ф.-м.н. профессор, Петрова Г.П.

Выполнил:  
студент 4 курса бакалавриата,  
Майков Э.В.

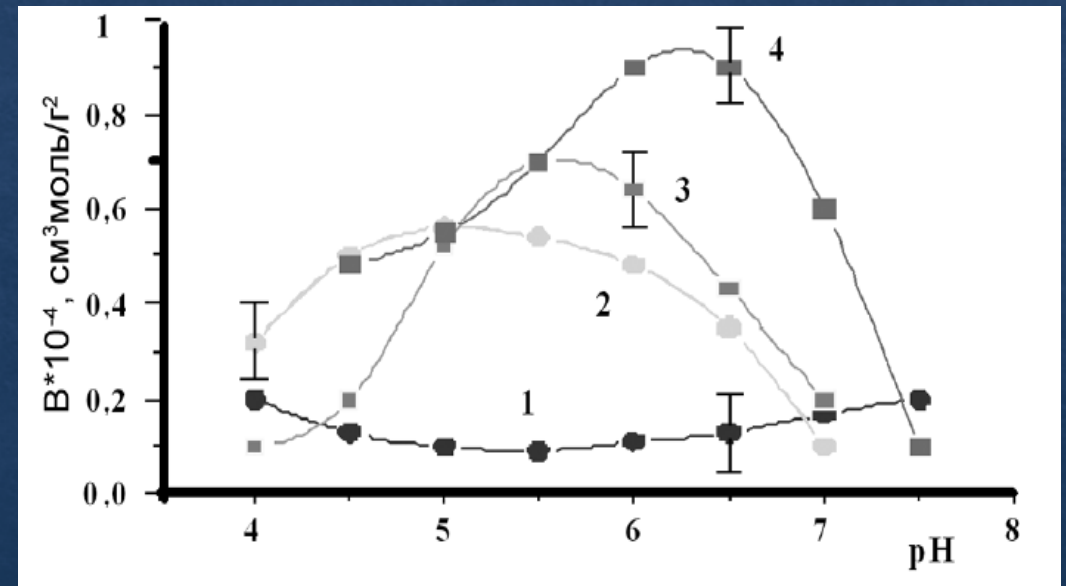
Москва, 2020

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Методом светорассеяния исследовать взаимодействие белка гемоглобина с ионами калия в водных растворах

# ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ В НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЯХ

В работе [1] методом статического светорассеяния были исследованы изменения молекулярных параметров яичного альбумина в чистых растворах и растворах, содержащих ионы натрия и цезия. Данные зависимости показывают (рис. 1), что при смене характера межмолекулярного взаимодействия в растворах с более тяжелыми металлами ( $R_{Cs^+} = 1,67 \text{ \AA}$ ), происходит переход к диполь-дипольному взаимодействию, появляются надмолекулярные структуры – дипольные белковые кластеры.



[1] Физический механизм токсического воздействия тяжелых металлов на белки и ферменты. Петрова Г.П., Петрусевич Ю.М., Гурова М.А., Сергеева И.А., Тихонова Т.Н., Федорова К.В., Чжан Сяолей.

Рис. 1. График коэффициента межмолекулярного взаимодействия от pH в растворах яичного альбумина, содержащих ионы натрия (1) и ионы цезия (2, 3, 4) при различных ионных силах.

# ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ В НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЯХ

В работе [2] исследовался процесс сорбции ионов  $K^+$  и  $Na^+$ , а также тяжелых ионов  $Rb^+$  и  $Cs^+$  на сывороточном альбумине и гемоглобине. Были проведены две серии экспериментов с попарно одинаковыми и различными концентрациями солей. Результат показал, что с гемоглобином и альбумином предпочитают связываться ионы, обладающие большим ионным радиусом, при этом наличие  $Na^+$  в водном белковом растворе увеличивает количество сорбированного  $K^+$  (рис. 2).

[2] Конкурентная сорбция  $K^+$  в присутствии  $Na^+$  бычьим сывороточным альбумином и гемоглобином В. Г. Ребров, Д. Г. Верхов и др.

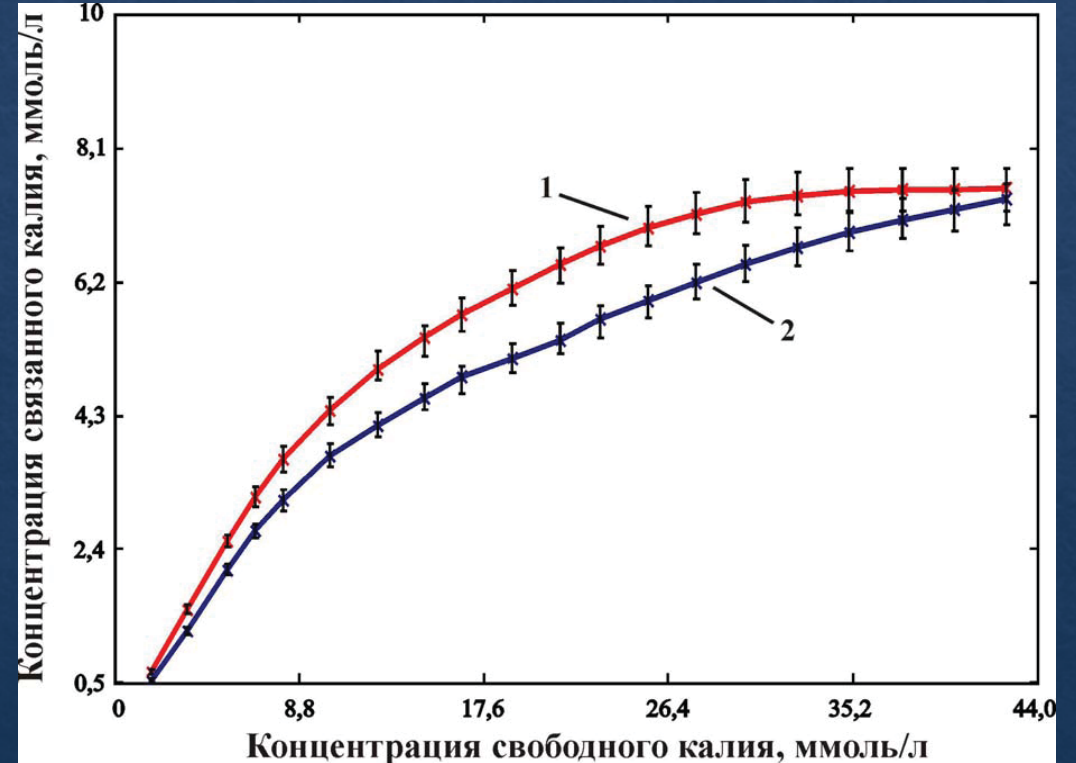


Рис. 2. Зависимость количества связанного  $K^+$  с гемоглобином от концентрации свободного  $K^+$  в растворе при максимальной (0.5 моль/л) (1) и минимальной концентрации  $Na^+$  (0.05 моль/л) (2)

# ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ В НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЯХ

В работе [3] методом динамического рассеяния и зондовой микроскопии были исследованы водные растворы основных белков сыворотки крови при наличии в них малых концентраций ионов калия или европия. На рисунке 3 видно, что радиус образованных нанокластеров растет с увеличением ионной силы раствора. После воздействия на раствор ультразвука (5 кГц) произошло разрушение нанокластеров – радиус частиц стал порядка 5 нм (зависимость 3).

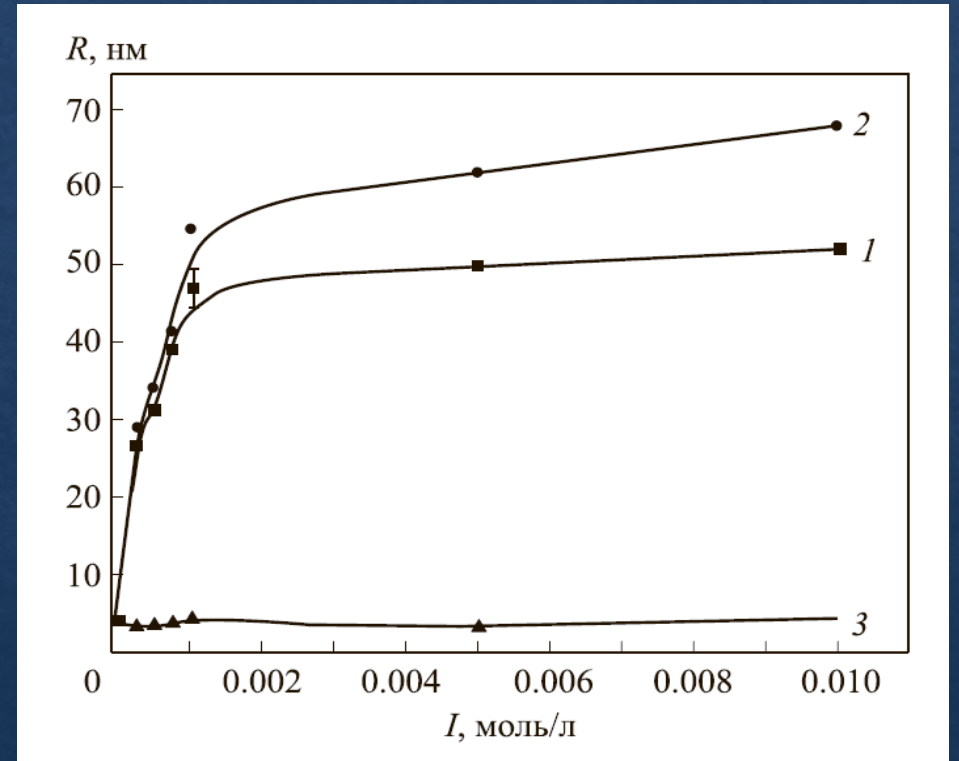


Рис. 3. График зависимости радиуса нанокластеров альбумина от ионной силы раствора. 1 – водный раствора альбумина с KCl, 2 – раствор альбумина с  $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ , 3 – раствор альбумина с KCl после воздействия на него ультразвуком.

[3] Физический механизм токсического воздействия тяжелых металлов на белки и ферменты. Петрова Г.П., Петрусевич Ю.М., Гурова М.А., Сергеева И.А., Тихонова Т.Н., Федорова К.В., Чжан Сяолей.

# ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ В НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЯХ

В работе [4] было обнаружено, что добавление цезия в водный раствор коллагена приводит к уменьшению коэффициента трансляционной диффузии. На рисунке 4 видно, что в области изоэлектрической точки белка (6.0 рН) максимум зависимости  $D_t$  переходит в минимум при добавлении соли свинца в различных концентрациях. Показанный минимум возрастает с ростом ионной силы при увеличении концентрации свинца.

[4] Влияние ионов тяжелых металлов на молекулярно-динамические характеристики молекул коллагена в водных растворах. Масленникова А.Д., Сергеева И.А., Петрова Г.П.

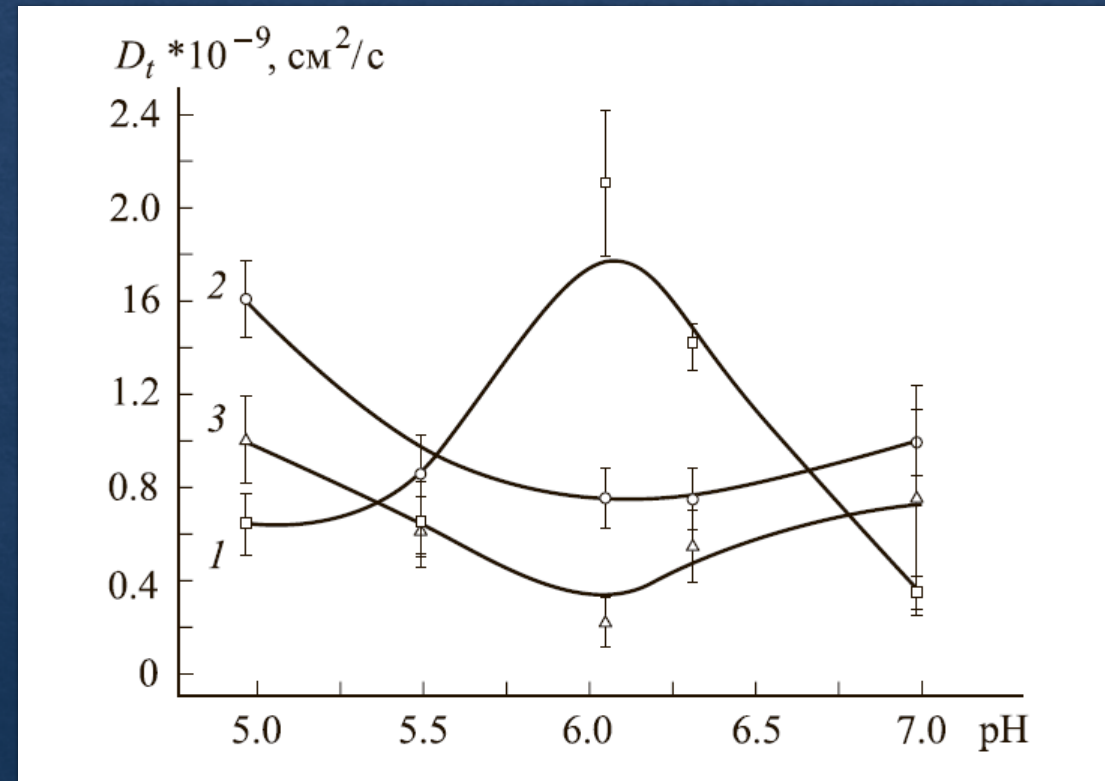


Рис. 4. pH-зависимость коэффициента трансляционной диффузии  $D_t$  коллагена (1 – чистый раствор, 2 – с добавлением соли свинца  $Pb(CH_3COO)_2$   $\mu_{Pb} = 10^{-3}$  моль/л, 3 – с добавлением соли свинца  $Pb(CH_3COO)_2$   $\mu_{Pb} = 10^{-3}$  моль/л и  $NaCl$ ,  $\mu_{Na} = 10^{-3}$  моль/л)

# ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ: ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ ГЕМОГЛОБИН



- ❖ Гидродинамический радиус молекулы 3.4 нм
- ❖ Общая концентрация гемоглобина в крови 130~185 г/л
- ❖ Молекулярная масса 64.5–68 кДа
- ❖ Изоэлектрическая точка pI  $6.8 \pm 0.1$
- ❖ Растворимость сухого гемоглобина в крови 20 г/л (вода)

Рис. 5. Человеческий гемоглобин  
фирмы “Sigma” H7379

## ХЛОРИД КАЛИЯ

- ❖ Содержание калия в организме - около 150 г
- ❖ Содержание калия в эритроцитах в норме составляет 78.5—112 ммоль/л.
- ❖ Молярная масса калия ~ 39.09 г/моль
- ❖ Растворимость 343 г/л (вода 20°C)
- ❖ Гидродинамический ионный радиус калия 1.33 Å



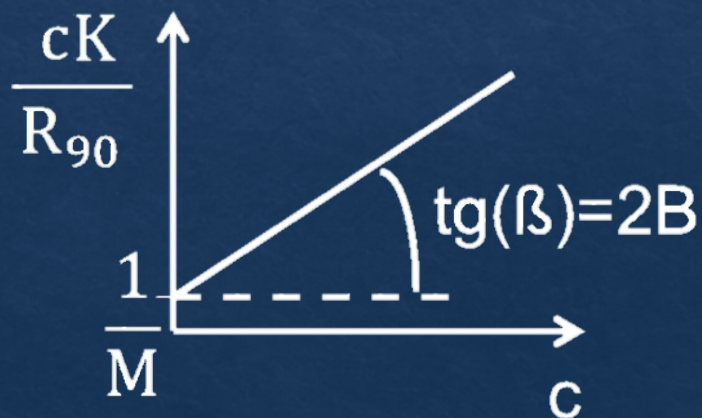
Рис. 6. Соль хлорида калия с  
содержанием от 99.9%

# ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МЕТОДА СТАТИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА

$$R_{90} = \frac{2\pi^2 c n_0^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2}{\lambda_0^4 N_A \frac{1}{RT} \frac{\partial \Pi}{\partial c}}, \text{ где } \Pi = \frac{cRT}{M} \text{ закон Вант-Гоффа}$$

$$\Pi = RT(Ac + Bc^2 + \dots)$$

$$\left. \begin{array}{l} \Pi = RT(Ac + Bc^2 + \dots) \\ R_{90} = \frac{2\pi^2 c n_0^2 \left(\frac{dn}{dc}\right)^2}{\lambda_0^4 N_A \frac{1}{RT} \frac{\partial \Pi}{\partial c}}, \text{ где } \Pi = \frac{cRT}{M} \text{ закон Вант-Гоффа} \end{array} \right\} \left(\frac{cK}{R_{90}}\right) = \frac{1}{M} + 2Bc + \dots$$



Экстраполируя прямую на ось ординат, получается значение первого вириального коэффициента  $A=1/M$ .

Из наклона графика находится значение коэффициента межмолекулярного взаимодействия  $B$ .



# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ АППАРАТУРА



Рис. 7. Спектрометр Photocor Complex

Измерения проводились на установке Photocor Complex со следующими параметрами

Технические характеристики	
Диапазон измерения	Размер частиц: от 0.5 нм до 10 мкм Коэффициент диффузии: $10^{-5}$ - $10^{-10}$ см <sup>2</sup> /с Молекулярный вес: $10^3$ - $10^{12}$ г/моль
Типичная погрешность измерения	±1%
Объем образца	От 50 мкл до 10 мл
Углы рассеяния	90°
Лазер	Диодный лазер, длина волны – 647 нм, мощность 25 мВт

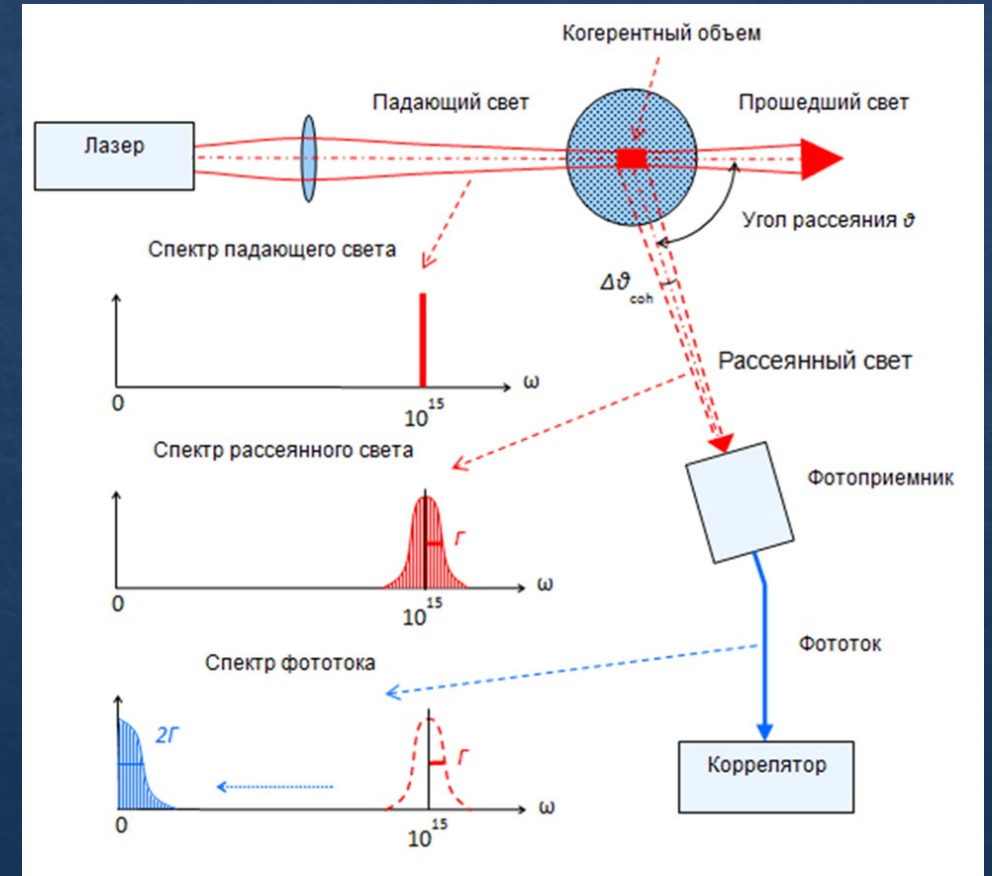


Рис. 8. Принципиальная схема работы спектрометра для измерения массы частицы и коэффициента межмолекулярного взаимодействия

# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

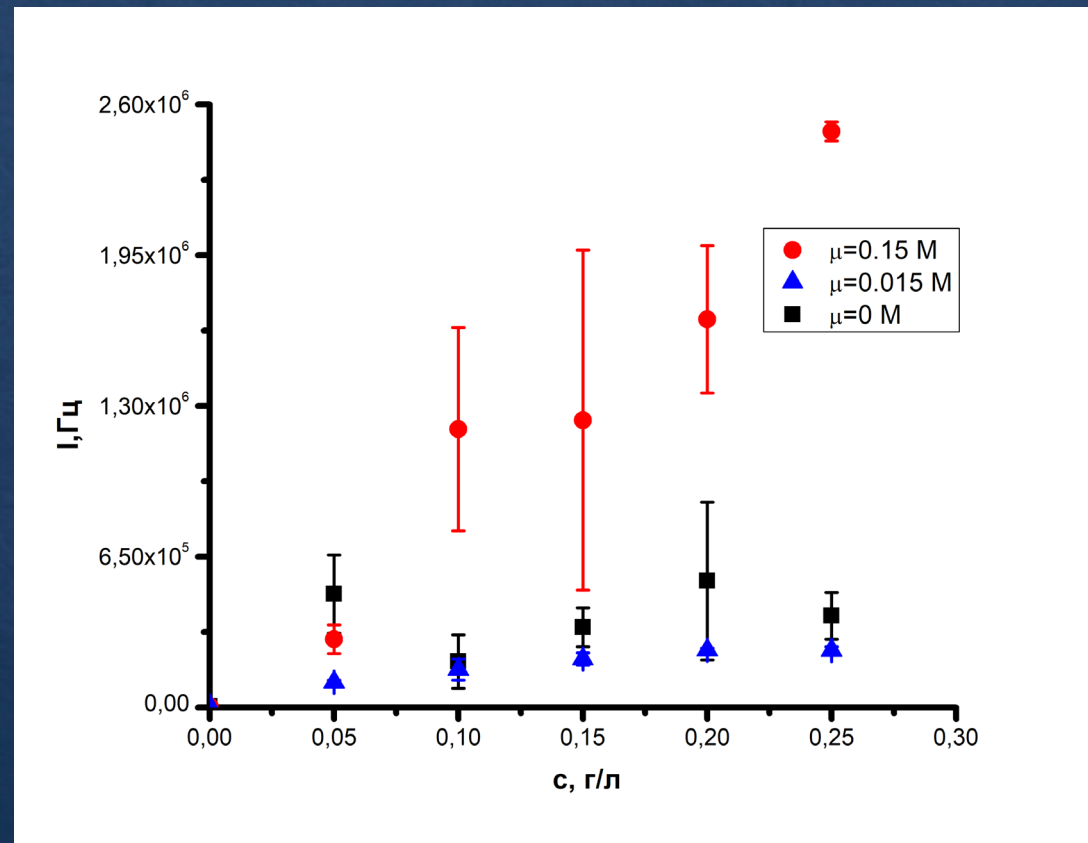
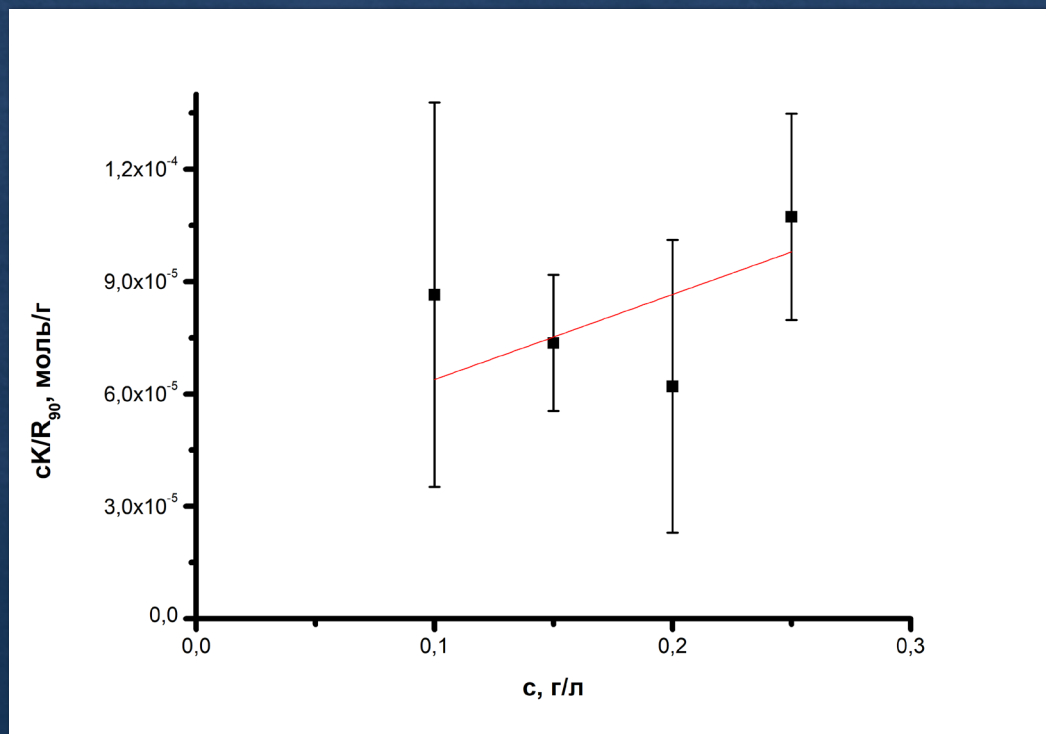


Рис. 9. График зависимости интенсивности рассеянного света от концентрации гемоглобина (образец I) для чистого раствора и при добавлении KCl в раствор гемоглобина.

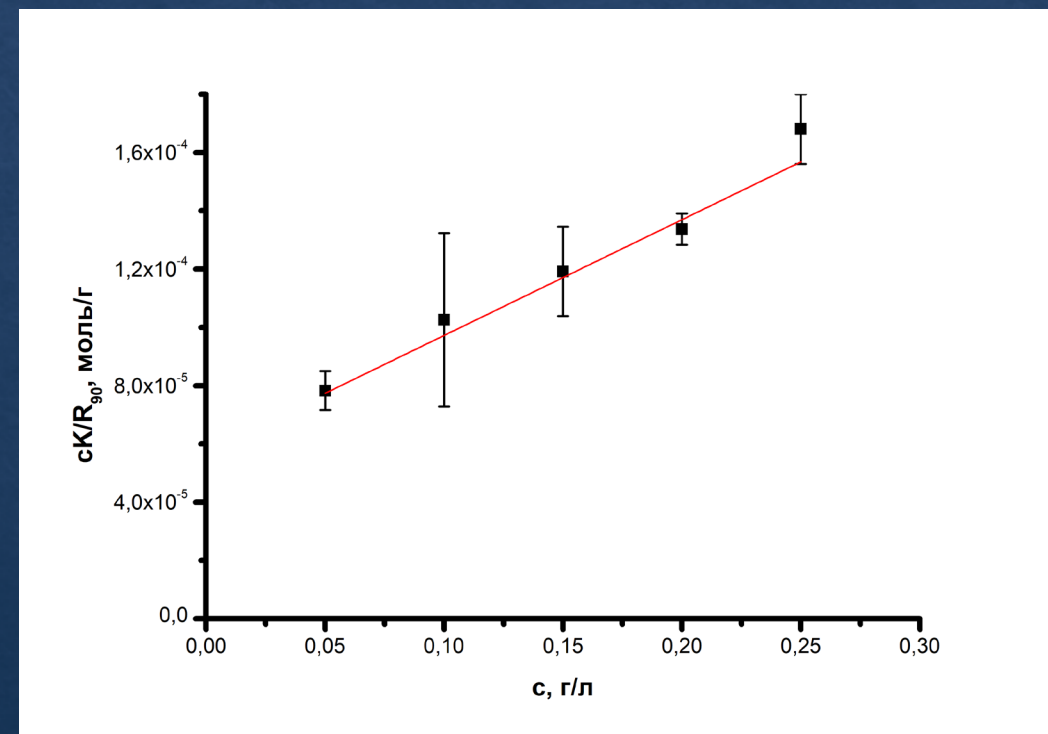
# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

$$\frac{1}{M} = (4.12 \pm 3.18) * 10^{-5}$$

$$\frac{1}{M} = (5.8 \pm 0.6) * 10^{-5}$$



а)



б)

Рис. 10. Графики зависимости  $sK/R_{90}$  от концентрации гемоглобина (образец I) а) для чистого водного раствора, б) для раствора содержащего KCl с  $\mu=0,015$  М.

# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

$$\frac{1}{M} = (1.7 \pm 0.6) * 10^{-5}$$

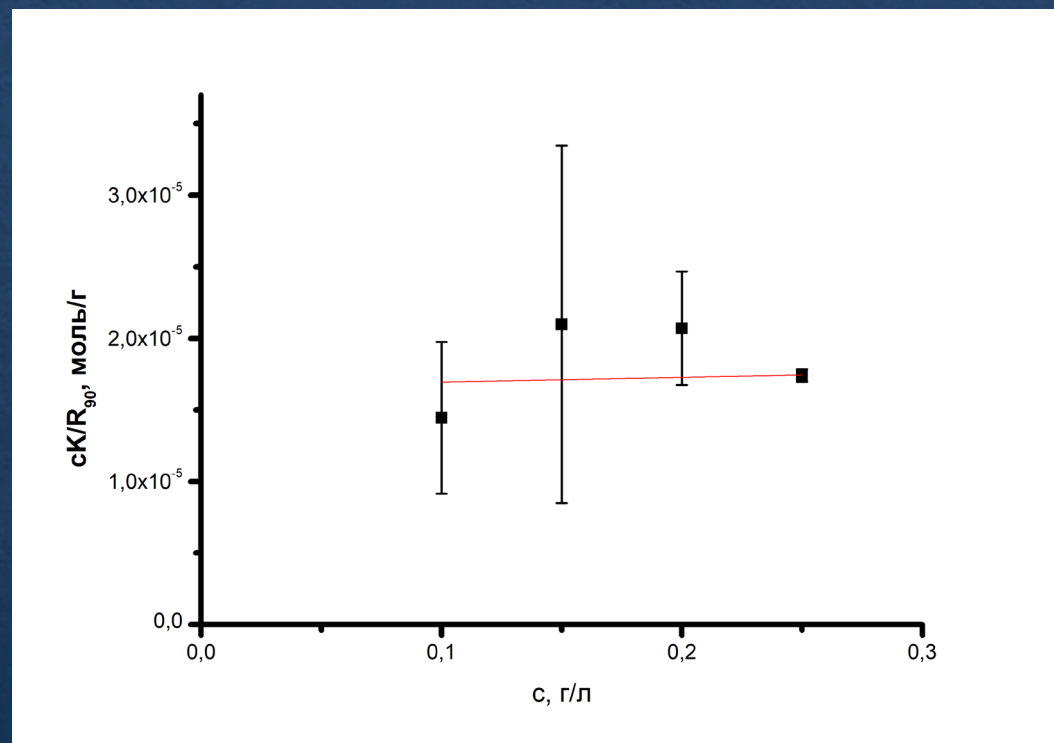
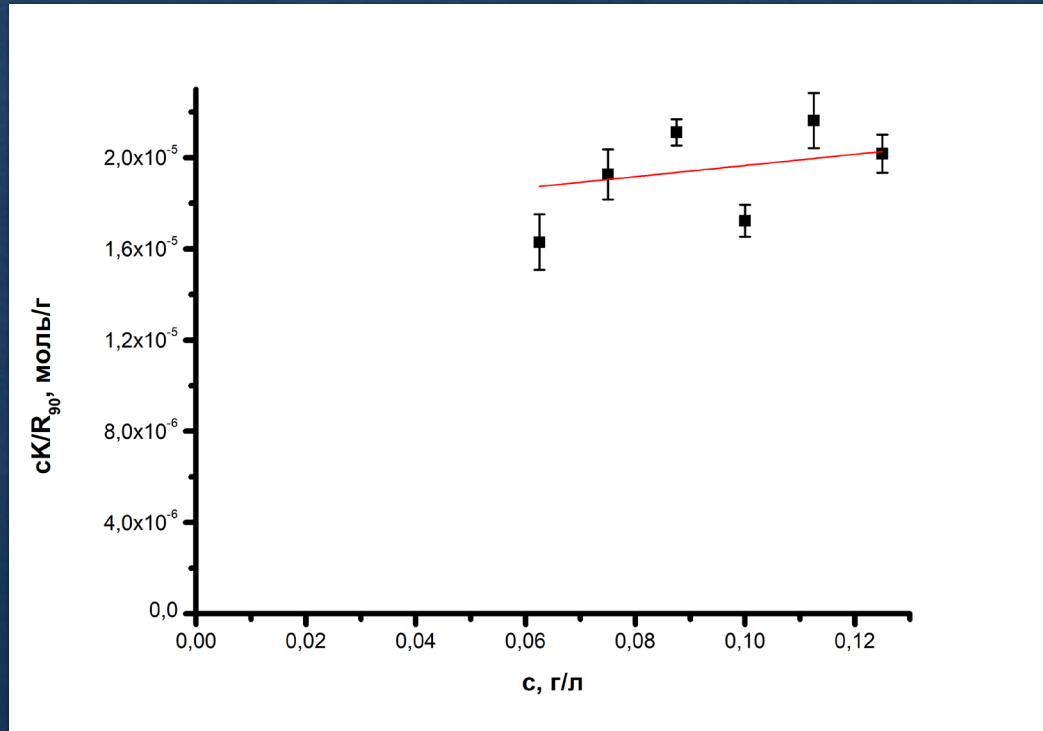


Рис. 11. Графики зависимости  $sK/R_{90}$  от концентрации гемоглобина (образец 1) в растворе содержащем KCl с  $\mu=0,15$  М

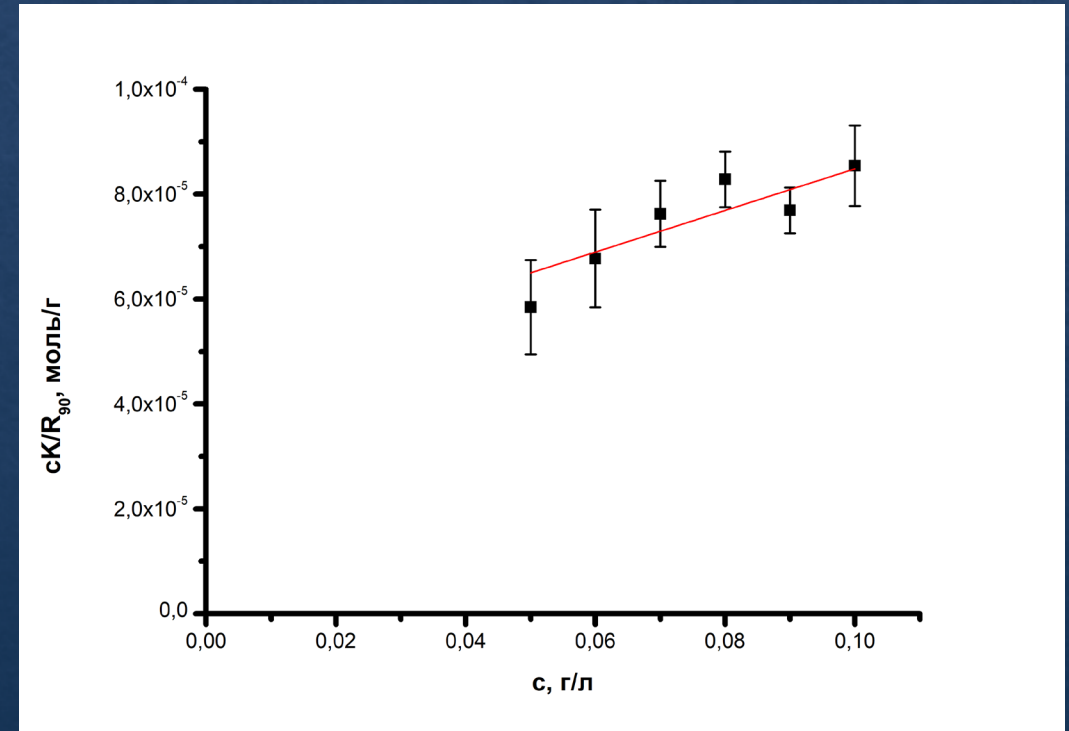
# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

$$\frac{1}{M} = (1.7 \pm 0.5) \cdot 10^{-5}$$



а)

$$\frac{1}{M} = (4.5 \pm 1.3) \cdot 10^{-5}$$



б)

Рис. 12. Графики зависимости  $sK/R_{90}$  от концентрации гемоглобина (образец II) а) для чистого водного раствора, б) для раствора, содержащего KCl с  $\mu=0,001$  М.

# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

$$\frac{1}{M} = (3 \pm 4.3) * 10^{-5}$$

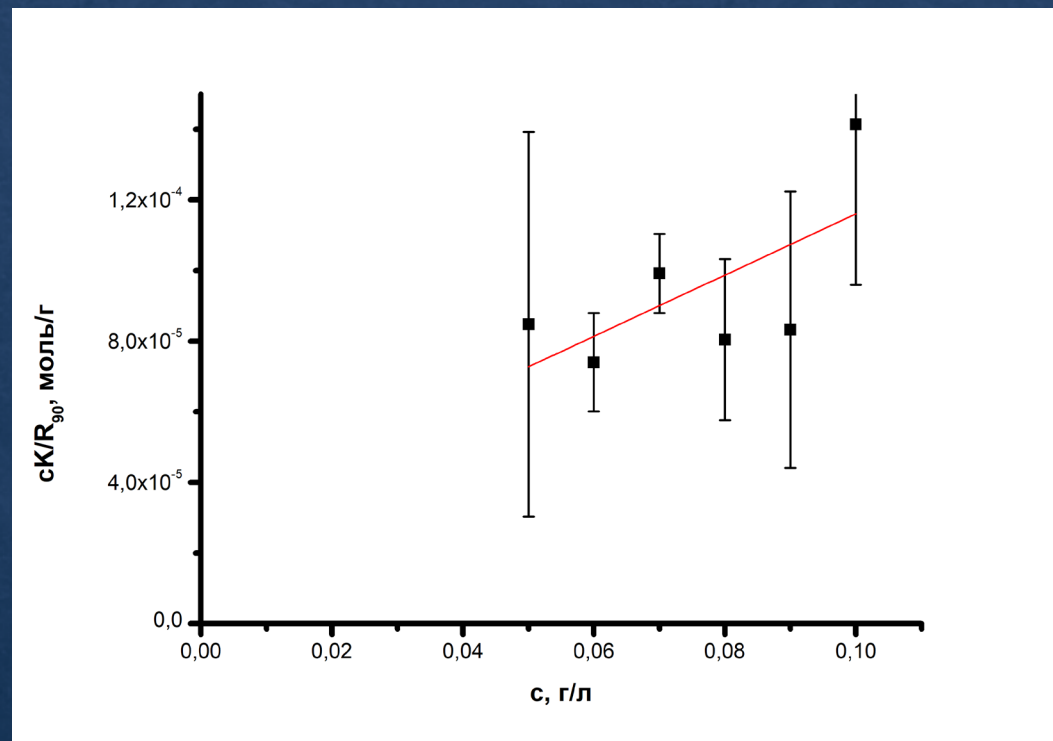


Рис. 13. Графики зависимости сК/R<sub>90</sub> от концентрации гемоглобина в растворе содержащем KCl (для образца II) с  $\mu=0,01$  М

# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

$\mu, \text{M}$	Масса рассеивающих частиц, кДа	Коэффициент взаимодействия частиц, моль*дм <sup>3</sup> /г <sup>2</sup>
0	$44.1 \pm 54$	$(11.4 \pm 8.7) * 10^{-5}$
0,015	$17.3 \pm 1.7$	$(19.8 \pm 1.7) * 10^{-5}$
0,15	$60.1 \pm 20.7$	$(1.6 \pm 1.15) * 10^{-5}$

Табл. 1. Таблица молекулярных параметров рассеивающих частиц при разных значениях ионной силы (образец I)

$\mu, \text{M}$	Масса рассеивающих частиц, кДа	Коэффициент взаимодействия частиц, моль*дм <sup>3</sup> /г <sup>2</sup>
0	$58.1 \pm 16.3$	$(1.2 \pm 2.5) * 10^{-5}$
0,001	$22.1 \pm 6.1$	$(19.8 \pm 7.7) * 10^{-5}$
0,01	$33.9 \pm 49.7$	$(43.3 \pm 30.8) * 10^{-5}$

Табл. 2. Таблица молекулярных параметров рассеивающих частиц при разных значениях ионной силы (образец II)

# ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

- ◇ Значение массы для второго образца гемоглобина в чистом водном растворе согласуется с данными, полученными ранее в других работах [5,6].
- ◇ Масса рассеивающих частиц в растворе при малой ионной силе становится меньше молекулярной массы белка II образца гемоглобина, примерно, в три раза. Это может объясняться изменением заряда на поверхности белка, что, в свою очередь, может вызвать разрушение его четвертичной структуры с уменьшением средней массы рассеивающих частиц.
- ◇ Значительный разброс величин, указанных на графиках, может объясняться тем, что система белок в изоэлектрической точке (экстремальная точка), окруженный атмосферой анионов и катионов -  $K^+$  и  $Cl^-$ , является очень неустойчивой, а это неизбежно должно сказаться на точности измерений.
- ◇ Величины второго вириального коэффициента увеличиваются с ростом ионной силы раствора, что свидетельствует о том, что ионы электролита оказывают заметное воздействие на белок гемоглобина.
- ◇ Ионы калия в организме находятся преимущественно внутри клеток-эритроцитов, поэтому важно изучить воздействие этого иона на гемоглобин, поскольку это представляет большой интерес.

[5] 14. Гемоглобины человека. Ю. А. Кривенцев, Р. А. Бисалиева, А. И. Носков. 41, б.м. : Вестник Агту, 2007 г., Т. 6.

[6] Биологическая химия. Збраский Б.И., Иванов И.И., Мардашев С.Р. Ленинград : Медицина, 1965 г.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!