

Обсуждена возможность использования цитохрома P-4501A1 в качестве элемента тест-систем для поиска препаратов, обладающих профилактическим действием в отношении химически индуцибельных форм раковых заболеваний. Высказана гипотеза, что для этого необходимо сопоставление эффективности влияния предполагаемых антиканцерогенных веществ на детоксицирующую и биоактивирующую функцию цитохрома P-4501A1.

**HUMAN CYTOCHROME P-4501A1 AS A MODEL FOR SCREENING OF AGENTS
POTENTLY ANTICANCEROGEN ACTIVITY**

N. A. BOVDEY, P. A. KISSELEV, D. SCHWARZ, S. N. KISSELEVA, I. ROOTS

**ОСОБЕННОСТИ ПСЕВДОПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ ФЛАВОНОЛОВ
РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ГЕМОГЛОБИНА**

Е. В. БОНДАРИЮК, В. В. СЕНЧУК

*Белорусский государственный университет,
220050, Минск, пр. Скорины, 4, Sentshouk@bsu.by*

Специфические пероксидазы участвуют в биотрансформации природных флавонолов и в реализации их биологической активности, хотя детальные механизмы этих реакций не ясны. Еще меньше известно об окислении флавонолов псевдопероксидазами, к которым принадлежит гемоглобин в виде ряда форм (metHb, HbO₂, Hb). Нами изучено псевдопероксидазное окисление важнейших природных флавонолов (кверцетин, физетин, морин и рутин) при участии различных форм гемоглобина с целью выяснения взаимосвязей между структурой флавонолов и эффективностью их окисления, а также для установления особенностей каталитических свойств гемоглобина в сравнении с аналогичными свойствами истинных пероксидаз. Используются методы стационарной ферментативной кинетики, UV-VIS-спектрофотометрический анализ продуктов реакции и состояния различных форм гемоглобина (metHb, HbO₂, Hb).

Установлено, что исследованные формы гемоглобина способны окислять рутин, морин, физетин и кверцетин с использованием H₂O₂. Определена стехиометрия псевдопероксидазного окисления флавонолов. Эффективность окисления флавонолов зависит от наличия в структуре объемного углеводного заместителя и подвижного атома водорода при C₃, уменьшаясь в ряду: кверцетин > физетин > морин >> рутин. По уровню псевдопероксидазной активности в отношении флавонолов гемоглобины располагаются в последовательности: metHb > HbO₂ > Hb. Окисление флавонолов ингибируется иодидом, аскорбатом, азидом натрия. Показано, что флавонолы с катехольным кольцом В и с незамещенным гидроксилем при C₃ способны эффективно восстанавливать metHb и дезактивировать оксоферрильную форму. Итоги работы показывают, что различные формы гемоглобина могут вносить специфический вклад в биотрансформацию флавонолов *in vivo*. Флавонолы способны эффективно регулировать состояние гемоглобина. Результаты анализируются в отношении взаимосвязей между структурой и функциональными свойствами как флавонолов, так и различных форм гемоглобина, а также в сравнении с истинными пероксидазами.

**CATALYTIC PARAMETERS OF PSEUDOPEROXIDASE OXIDATION OF
FLAVONOLES BY HAEMOGLOBIN**

E. V. BONDARUK, V. V. SENTCHOUK

**ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ
NADPH-ЦИТОХРОМ Р450 РЕДУКТАЗЫ И ЕЕ МУТАНТА Lys56Gln**

Т. А. БОНИНА, А. А. ГИЛЕП, С. А. УСАНОВ

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
220141, Минск, ул. Купревича, 5/2, bonina@iboch.bas-net.by*

Флавопротеид — NADPH-цитохром P450 редуктаза является мембран-связанным белком, локализованным в эндоплазматическом ретикулуме, где участвует в реакциях переноса электронов с NADPH на цитохром P450 и другие микросомальные белки. Молекула P450 редуктазы состоит из гидрофобного N-концевого мембран-связанного домена, который служит для закрепления белка в мембране и необходим для непосредственного взаимодействия с цито-

хромом P450, и С-концевого гидрофильного домена, связанных так называемой линкерной последовательностью — Lys⁴⁷—Lys⁵⁶, локализованной на границе мембранного бислоя и цитозоля. Наиболее охарактеризованным является гидрофильный домен P450 редуктазы, в то время как вопрос о роли и локализации в мембране отдельных аминокислотных остатков гидрофобного домена с примыкающей линкерной последовательностью остается открытым. Линкерная область имеет специфические сайты гидролиза трипсином и протеиназой из *St. aureus*. В настоящей работе методом сайт-направленного мутагенеза и ограниченного протеолиза указанными ферментами определена локализация специфических сайтов по отношению к мембране. Показано, что участок полипептидной цепи Lys⁴⁶—Lys⁴⁷—Lys⁴⁸, который становится доступным ограниченному трипсинолизу, используя высокоочищенный препарат мутанта Lys56Gln, недоступен ферменту при использовании мембран-связанного мутантного флавопротеида, что указывает на то, что этот фрагмент полипептидной цепи либо локализован непосредственно на поверхности мембраны, либо погружен в мембрану эндоплазматического ретикулума. В то же время Glu⁵³ доступен протеолитической атаке протеазой из *St. aureus* у мембран-связанного флавопротеида и, по-видимому, экспонирован в цитозоль. Данные, полученные в результате проведения сравнительной характеристики каталитических свойств транскрибированных форм мутанта Lys56Gln и P450 редуктазы дикого типа, свидетельствуют о непосредственном участии N-концевого участка (AK 1-46) во взаимодействии с цитохромом P450.

PROTEOLYTICAL MODIFICATION OF WILD TYPE AND MUTANT Lys56Gln OF NADPH-CYTOCHROME P450 REDUCTASE

T. A. BONINA, A. A. GILEP., S. A. USANOV

ФЕНОМЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ПОЛУКЛАССИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КОЛЛАПСА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ ПЕРЕХОДОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ

Е. В. БОРИСОВ

Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
220141, Минск, ул. Купревича, 5/2, evb@iboch.bas-net.by

Конечное время жизни энергетического уровня приводит к его уширению. Если молекулярная динамика приводит к скачкообразным изменениям его положения, то начальное уширение уровней затем переходит в их слияние и сужение.

На основе подхода подобного методу [1] предложены следующие феноменологические уравнения, описывающие в колеблющейся системе координат колебательную динамику, некогерентные переходы от одной системы уровней к другой и взаимодействие внешним электромагнитным полем:

$$\left(\frac{\partial}{\partial t} p(t)_A\right)_{vib} + p_A(-\omega_0 + \omega_A)I - f_{AB}p_A + f_{BA}p_B = qP_A EI,$$

$$\left(\frac{\partial}{\partial t} p(t)_B\right)_{vib} + p_B(-\omega_0 + \omega_B)I - f_{BA}p_B + f_{AB}p_A = qP_B EI.$$

Их решение для некоторых условных параметров представлено в графическом виде. Откуда видно, как по мере увеличения скорости обмена, полосы вначале уширяются, а затем сливаются в одну полосу, сужающуюся с ростом частоты переходов.

Литература

[1]. Carrington A., McLechlan A. D. *Introduction to Magnetic Resonance*, Harper&Row, Publishers, N. Y., Evanston and London, 1967.

A PHENOMENOLOGICAL SEMI-CLASSICAL MODEL THE VIBRATIONAL TRANSFER ENERGY LEVELS COLLAPSE AS A RESULT OF MOLECULAR TRANSFORMATIONS

E. V. BORISOV

