

КООПЕРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

§ 7.1. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА МИОГЛОБИНА
И ГЕМОГЛОБИНА

В этой главе рассматриваются специфические свойства ферментов с *четвертичной структурой*, определяемые взаимодействием субъединиц в молекуле белка.

Миоглобин (Mb) и гемоглобин (Hb) — не ферменты. Их функция состоит в обратимом связывании молекулярного кислорода. Mb служит депо кислорода, запасая его для последующего потребления. Соответственно большие количества миоглобина содержатся в организмах китообразных, проводящих длительное время под водой. Hb — функциональный белок эритроцитов — переносит кислород от легких ко всем органам и тканям и участвует в обратном транспорте CO_2 .

Исследование Mb и Hb дает, однако, информацию, весьма ценную для понимания действия ферментов, для понимания природы ЭКВ. Связывание O_2 и других лигандов этими белками вполне сходно со связыванием субстрата ферментом. Молекулярный кислород проникает в полость молекулы Mb или Hb, но в отличие от субстрата не подвергается химическому превращению. Принято говорить о миоглобине и гемоглобине как о «почетных ферментах» [1], моделирующих ряд их свойств.

Mb и Hb — белки, сравнительно легко получаемые в кристаллической форме, удобные объекты структурных исследований. Как уже говорилось, оба белка детально изучены методом рентгеноструктурного анализа с разрешением до $2,8 \text{ \AA}$ как в оксигенированной (MbO_2 , HbO_8), так и в дезоксигенированной (Mb, Hb) формах (см. стр. 274). Наличие в этих белках протестической группы гема, обладающей специфическими электронными свойствами, позволяет эффективно пользоваться при изучении Mb и Hb методами спектроскопии, ЭПР, а также магнитной восприимчивостью, эффектом Мёссбауэра (см. стр. 423) и т. д.

Как уже сказано (см. стр. 231), молекула Hb состоит из четырех субъединиц, каждая из которых подобна, хотя и не тождественна, молекуле Mb. Соответственно Hb обладает кооперативными свойствами, определяемыми так называемым *гем-гем взаимодействием*. Напротив, Mb этих свойств лишен.

Присоединение O_2 и других лигандов к Mb и Hb происходит в группе гема. Лиганды насыщают шестую координационную валентность атома железа в геме. Образование этой химической связи вызывает ряд событий в молекуле белка.

Гем представляет собой ферропротопорфирин (см. рис. 2.15). Атом железа, находящийся в двухвалентном (Fe^{2+}), или ферро-состоянии, координационно связан с четырьмя атомами азота пиррольных групп плоского порфиринового кольца. Пятая координационная связь, направленная перпендикулярно к плоскости кольца, соединяет атом Fe с имидазолом гистидила, шестая валентность либо свободна, либо занята лигандом.

Hb и Mb в оксигенированной и в дезоксигенированной формах содержат феррогем. При окислении Hb и Mb образуются феррисоединения, содержащие трехвалентный (Fe^{3+}) атом железа.

Атом Fe, вообще говоря, парамагнитен. В табл. 7.1 приведены некоторые магнитные свойства Hb и его производных в различных состояниях.

Таблица 7.1

Магнитные свойства гемоглобина

Соединение	Валентность железа	Шестой лиганд	Магнитный момент, магнетоны Бора	Спин	Спектр ЭПР g -факторы ¹⁾
Дезоксигемоглобин (Hb)	2+	Нет	5,2—5,5	2	Нет
Оксигемоглобин (HbO_2)	2+	O_2	0	0	Нет
Карбоксигемоглобин ($Hb(CO)_4$)	2+	CO	0	0	Нет
Ферригемоглобин	3+	H ₂ O	5,6—5,8	5/2	$g_{\parallel}=2, g_{\perp}=6$
Метгемоглобин	3+				
Кислый метгемоглобин	3+				
Гидроксиферригемоглобин	3+	OH ⁻	4,5—4,7	1/2, 5/2	$g_{\parallel}=2, g_{\perp}=6$
Гидроксиметгемоглобин	3+				
Щелочной метгемоглобин	3+				
Фторид ферригемоглобина	3+		5,8—5,9	5/2	$g_{\parallel}=2, g_{\perp}=6$
Азид ферригемоглобина	3+		2,4—2,8	1/2	$g_x=1,72,$ $g_y=2,22,$ $g_z=2,80$
Цианид ферригемоглобина	3+		2,3—2,5	1/2	

¹⁾ g_{\parallel} — компонента g — фактора в направлении оси z , перпендикулярной к плоскости порфиринового кольца xy , g_{\perp} — компонента, лежащая в этой плоскости.

Мы видим, что феррогем может быть в высокоспиновом (Hb) и низкоспиновом (HbO₈, Hb(CO)₄) состояниях. Связывание лиганда ярко проявляется в спектре поглощения в видимой области (рис. 7.1). В табл. 7.2 приведены соответствующие данные.

Интерпретация магнитных и спектральных свойств гема основывается на квантовомеханическом анализе. Внешние электроны атома железа имеют конфигурацию 3d⁶ для Fe²⁺ и 3d⁵

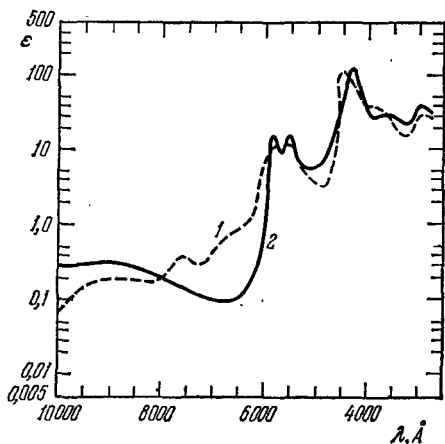


Рис. 7.1. Спектры поглощения Hb (1) и HbO₈ (2).

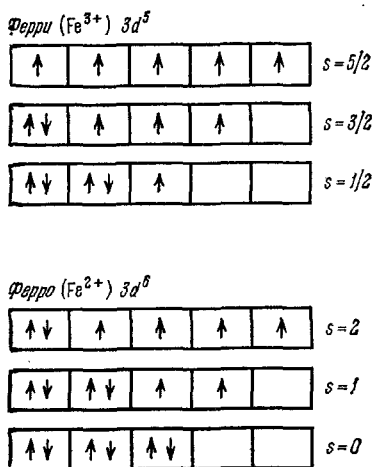


Рис. 7.2. Электронная структура Fe²⁺ и Fe³⁺.

для Fe³⁺ (рис. 7.2). Теоретические расчеты основаны на теории поля лигандов [5]. В приближении молекулярных орбит лиганды рассматриваются на равных правах с центральным ионом, и МО системы представляются линейными комбинациями орбиталей Fe и лигандов. Соответствующие вычисления для железопорфириновых комплексов проводились рядом авторов [6—8]. Расчеты дали распределение электронной плотности и набор энергетических уровней, однако полученную интерпретацию спектра пока нельзя считать однозначной (дальнейшие подробности см. в [29]).

Актуальной задачей квантовой химии следует считать рассмотрение напряженного гема с пятью координационными связями в Hb и Mb (см. [131]).

Во всех природных соединениях железа в нем содержится 2,2% изотопа Fe⁵⁷. Это дает возможность изучать Hb и Mb методом спектроскопии Мёссбауэра (см. [10]). Образец подвергается действию пучка монохроматических γ-лучей, испускаемых радиоактивным Fe⁵⁷ (получаемым из Co⁵⁷). Если сообщить

источнику небольшую скорость движения относительно поглотителя (т. е. исследуемого образца), то частота γ -кванта незначительно изменится вследствие эффекта Доплера. При некотором значении собственной частоты ядра Fe^{57} образца будут поглощаться γ -кванты резонансно, переходя из основного в возбужденное состояние. Резонансная частота ядра Fe^{57} в геме весьма чувствительна к воздействию соседних атомов и групп. Это позволяет получать с помощью эффекта Мёссбауэра ценную информацию об электронной структуре гема в различных его состояниях в Hb и Mb (см. [2, 11]).

Таблица 7.2

Спектры поглощения некоторых гем-соединений¹⁾

	α -полоса		β -полоса		γ -полоса (по лоса Core)	
	λ , Å	$\epsilon \cdot 10^{-3}$	λ , Å	$\epsilon \cdot 10^{-3}$	λ , Å	$\epsilon \cdot 10^{-3}$
Гем	5650	6,1			3900	39,6
СО-гем	5620	14,6	5300	11,9	4065	147
Hb	5550	13,5			4300	119
HbO ₂	5770	14,6	5420	13,8	4120	135
Hb(CO) ₄	5690	13,4	5390	13,4	4190	191
Mb	5550	12,0			4350	114
MbO ₂	5820	13,1	5440	12,7	4170	119
MbCO	5780	12,3	5410	14,1	4230	185

¹⁾ Данные для Hb и его производных [3] относятся к гемоглобину человека, для миоглобина и его производных [4] — к Mb кашалота.

Известны первичные структуры гемоглобина и миоглобина ряда видов животных, а также многих мутантных гемоглобинов человека (см. § 2.5). Расшифровка строения Mb и Hb и выявление конформационных изменений, возникающих при их оксигенации, имеют принципиальное значение. Именно для этих белков проблема связи между строением и свойствами изучена сегодня наиболее подробно.

Кривая насыщения Mb молекулярным кислородом $Y(p)$, где p — парциальное давление кислорода, лишена особенностей и подобна изотерме Лэнгмюра:

$$Y = \frac{Kp}{1 + Kp}. \quad (7,1)$$

Напротив, аналогичная кривая для Hb имеет S-образную форму и ее можно описать уравнением Хилла [12]

$$Y = \frac{Kp^n}{1 + Kp^n}. \quad (7,2)$$

где параметр $n \approx 2,8$. Обе кривые показаны на рис. 7.3 (стр. 45).

Физиологический смысл S-образности кривой $Y(p)$ для Hb состоит в падении сродства гемоглобина к кислороду по мере отщепления его молекул. Изменения парциального давления O_2 в тканях должны быть невелики. Если бы для гемоглобина была характерна гиперболическая кривая $Y(p)$, подобная кривой $Y(p)$ для миоглобина, то лишь малая доля переносимого O_2 отщеплялась бы в тканях. В результате организм задышался бы даже в атмосфере чистого кислорода. Эффективность дыхательного транспорта еще больше повышается 2,3-дифосфоглицератом (ДФГ) и вследствие эффекта Бора; первый фактор понижает сродство Hb к O_2 , а второй увеличивает его.

Эффект Бора, свойственный гемоглобину, но не миоглобину, состоит в том, что сродство Hb к O_2 зависит от pH среды. Оно минимально вблизи pH 6 и максимально вблизи pH 9. Иными словами, малые концентрации протонов облегчают присоединение O_2 и, наоборот, малые концентрации O_2 облегчают присоединение протонов. Повышая pH венозной крови и тем самым увеличивая ее способность поглощать бикарбонат, эффект Бора обеспечивает главный механизм обратного транспорта CO_2 из тканей к легким. Последующий механизм непосредственно зависит от взаимодействия Hb с CO_2 . Зависимость сродства к O_2 , выражаемого $\lg p_{1/2}$ ($p_{1/2}$ — парциальное давление, отвечающее полунасыщению Hb кислородом), от pH (т. е. эффект Бора), показана на рис. 7.4 [13].

Отличие коэффициента n от 1 в уравнении Хилла и соответствующая S-образность кривой отражают гем-гем-взаимодействие, т. е. взаимосвязь четырех субъединиц и, следовательно, кооперативность присоединения O_2 . Впервые эта проблема была рассмотрена Эдейром [14], предположившим, что связывание

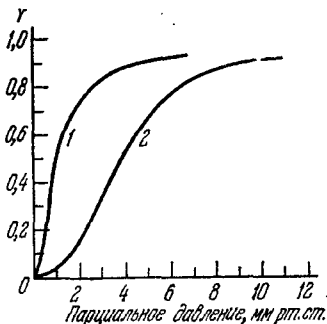


Рис. 7.3. Кривые насыщения молекулярным кислородом миоглобина (1) и гемоглобина (2).

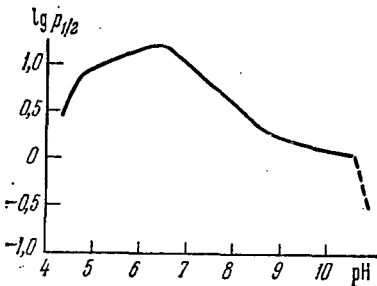
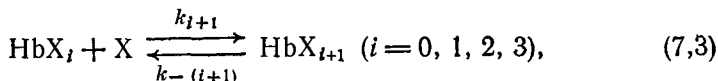


Рис. 7.4. Зависимость сродства Hb к O_2 от pH.

лиганда происходит в четыре стадии



причем каждая стадия характеризуется своей константой равновесия K_i .

Парциальное насыщение лигандом (X — его концентрация) описывается соотношением

$$\bar{Y} = \frac{K_1 X + 2K_1 K_2 X^2 + 3K_1 K_2 K_3 X^3 + 4K_1 K_2 K_3 K_4 X^4}{4(1 + K_1 X + K_1 K_2 X^2 + K_1 K_2 K_3 X^3 + K_1 K_2 K_3 K_4 X^4)}. \quad (7,4)$$

Другие более совершенные варианты выражения для \bar{Y} предложены Полингом [15], Уайманом [16], Рафтоном [17] Алленом, Гуте и Уайманом [18]. Гвидотти [19] учел при выводе выражения для \bar{Y} влияние диссоциации Hb и HbO₈ на димеры. Опыт дает уравнение Хилла, которое может совпасть с выражением типа (7,4) при надлежащих значениях констант.

Подробные обзоры физических и химических свойств гемоглобина и миоглобина можно найти в [20, 23, 132]. Приведем здесь некоторые термодинамические их характеристики (табл. 7.3 [20] и 7.4 [21]).

Таблица 7.3

Равновесие миоглобина с O₂ (рН 7, 20 °С)

Источник Mb	$p_{1/2}$, мм Hg	K , 10^{-6} моль ⁻¹	$\frac{\Delta \lg p_{1/2}}{\Delta \text{pH}}$	ΔH , ккал/моль
Лошадь	0,65	0,85	0,09	-20,6
Человек	0,72	0,77	0,03	-13,1

Таблица 7.4

Равновесие изолированных α - и β -цепей Hb и Hb с O₂, CO и этилизоцианидом (ЭИЦ) (рН 7, 20 °С)

	O ₂		CO		ЭИЦ	
	$10^{-5} K$, моль ⁻¹	ΔF , ккал/моль O ₂	$10^{-7} K$, моль ⁻¹	ΔF , ккал/моль CO	$10^{-4} K$, моль ⁻¹	ΔF , ккал/моль ЭИЦ
α -цепь	12	-8,2	30	-11,4	45	-7,65
β -цепь	14	-8,25	48	-11,7	42	-7,6
Hb	0,56	-6,4	1,4	-9,6	2	-5,8

Малость отношения $\Delta \lg p_{1/2} / \Delta \text{pH}$ свидетельствует об отсутствии эффекта Бора у Mb.

По оценкам Рафтона и др. [22] теплоты отдельных стадий реакций с O_2 (см. (7,3)) равны (Hb овцы) $\Delta H_1 = -15,7 \pm 0,8$, $\Delta H_2 = -11,4 \pm 2,5$, $\Delta H_3 = -7,8 \pm 3,3$ ккал/моль, $\Delta H_4 = -8,7 \pm 3,3$ ккал/моль. Для среднего значения имеем $\Delta H = = 1/4(\Delta H_1 + \Delta H_2 + \Delta H_3 + \Delta H_4) = -10,9 \pm 0,3$ ккал/моль.

События, происходящие в молекуле Hb при оксигенации, были раскрыты Перутцом в результате рентгенографического исследования [23] (см. также стр. 234). Молекула O_2 присоединяется к атому Fe гема. В оксигемоглобине атом железа расположен в плоскости порфиринового кольца, в его центре (с точностью до 0,05 Å). В высокоспиновом дезоксигемоглобине атом Fe отстоит от этой плоскости приблизительно на 0,8 Å в направлении имидазольного кольца Гис F 8. В таком состоянии координационное число Fe равно пяти. Оксигенация переводит Fe в низкоспиновое состояние и увеличивает число лигандов Fe на единицу. Эти изменения вызывают изменения контактов между порфириновым кольцом и плотно упакованными аминокислотными остатками глобина. Иными словами, в результате ЭКВ происходит перестройка белковых глобул.

С кольцом непосредственно контактируют 60 атомов глобина, находящихся на расстоянии ван-дер-ваальсовых контактов от кольца [24]. При введении даже наименьшего лиганда OH^- , имеющего радиус 1,5 Å, происходит конформационная перестройка в β -субъединицах дезоксигемоглобина. В этих субъединицах группа $\gamma\text{-CH}_3$ остатка Вал E 11 (67) оказывается на расстоянии 2,5 Å от OH^- , что меньше суммы ван-дер-ваальсовых радиусов. Следовательно, в β -глобулах Hb нет места даже для наименьшего лиганда и при оксигенации расстояние между кольцом и Вал E 11 (67) должно увеличиться примерно на 1 Å. Напротив, в α -субъединицах такого перемещения нет, так как ширина «кармана» достаточна для внедрения лигандов.

В оксигемоглобине С-концы всех четырех цепей имеют полную свободу вращения, а предпоследние остатки Тир — частичную свободу, в том смысле, что они проводят лишь малую долю времени в связанном положении между спиралями F и H. Напротив, в дезоксигемоглобине каждый из С-концов дважды закреплен солевыми мостиками: α -карбоксил остатка Арг H C 3(141) α_1 связан с α - NH_2 -группой Вал A 1(1) α_2 , а гуанидиновая группа Арг(141) — с Асп H 9(126) α_2 ; α -карбоксил Гис H C 3(146) β_1 с ϵ - NH_2 -группой Лиз C 5(40) α_2 , а его имидазол — с Асп F G 1(94) β_1 . Все четыре предпоследних Тир жестко закреплены в полостях между спиралями F и H ван-дер-ваальсовыми и водородными связями. Оксигенация Hb вызывает перемещение спирали F и разрыв солевых мостиков, вследствие

чего Тир Н С 2(140) выводится из «кармана» между спиралью F и H. При оксигенации ширина «карманов» для Тир Н С 2 уменьшается на 1,3 Å в α -цепях и на 2 Å в β -цепях. Эта перестройка схематически показана на рис. 7.5. Сказанное подтверждается данными, полученными при соответствующей химической модификации белка. Роль этих событий в гем-гем-взаимодействиях определяется прежде всего разрывом солевых мостиков между субъединицами.

Перестройки в отдельных глобулах и разрывы солевых мостиков изменяют четвертичную структуру. В контактах $\alpha_1\beta_1$ и $\alpha_2\beta_2$ происходят сдвиги на 1 Å, в $\alpha_1\beta_2$ и $\alpha_2\beta_1$ — на 7 Å! Роль

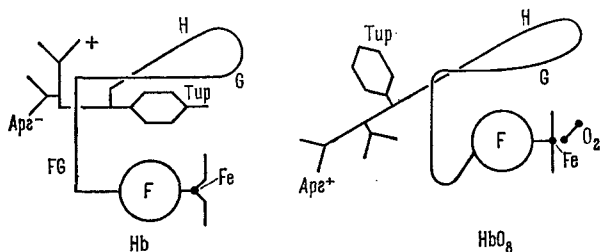


Рис. 7.5. Схема перемещения Тир Н С 2 (140) при оксигенации.

последних контактов для взаимодействий гем — гем особенно велика. Следует подчеркнуть, что почти все остатки в контакте $\alpha_1\beta_2$ инварианты для любых позвоночных животных; напротив, среди остатков, образующих контакт $\alpha_1\beta_1$, наблюдаются большие вариации. Мутантные замещения в контакте $\alpha_1\beta_2$ заметно уменьшают гем-гем-взаимодействие.

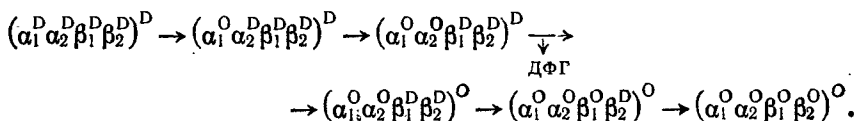
В контакте $\alpha_1\beta_2$ CD-область одной цепи входит в FG-область другой. При дезоксигенации это плотное сочленение нарушается. В оксигемоглобине выступ, образуемый боковой цепью Тре С 3(38) α , входит в выемку цепи Вал FG 5(98) β . В дезоксигемоглобине эта выемка занята боковой цепью Тре С 6(41) α , т. е. цепью, выступающей из следующего поворота спирали С. В то же время водородная связь, соединяющая Асп G 1(94) α с Асн G 4(102) β в оксигемоглобине заменяется водородной связью между Тир С 7(42) α и Асп G 1(99) β .

Таким образом, при оксигенации гемоглобина происходит ряд последовательных конформационных событий. Триггером этих событий служит перемещение атома Fe в плоскость порфиринового кольца и соответствующая передвижка проксимального Гис кольца на 0,75—0,95 Å. Это вызывает изменение третижной структуры, так как атом железа жестко связан с Гис F 8 и кольцо контактирует с 60 атомами глобина. Спираль F перемещается к центру молекулы и выталкивает Тир Н С 2(140) из

полости между спиралями F и H. Вытолкнутый Тир тянет за собой Арг НСЗ(141) и разрывает поэтому солевые мостики с противоположащей α -цепью. Ситуация в β -цепях иная. Прежде чем лиганд достигнет атома Fe, он должен «открыть» полость вблизи гема. Затем в результате образования связи с лигандом атом железа перемещается в плоскость кольца, спираль F сдвигается к центру молекулы и выталкивает Тир НС2(145) из его полости. Этот остаток тянет за собой Гис НСЗ(146) и разрывает солевой мостик с Асп F G 1(94).

Перуцт установил, что структура дезоксигемоглобина стабилизирована кофактором 2,3-дифосфоглицератом (ДФГ), образующим дополнительные солевые мостики между β -цепями. При оксигенации ДФГ удаляется из молекулы.

Какова же последовательность событий во всей четырехцепочечной молекуле Hb? Перуцт выдвигает хорошо аргументированную гипотезу, согласно которой присоединение O_2 к каждой из субъединиц переводит ее в окси-конформацию, но четвертичная структура остается дезокси-структурой пока не присоединены две молекулы O_2 . Иными словами, каждая субъединица может принимать одну из двух альтернативных конформаций, а четвертичная структура может быть «ошибочной». Оксигенация предположительно начинается с α -цепей, так как в них, в отличие от β -цепей, имеется достаточно места для внедрения лиганда. Общая схема процесса такова (O — оксиформа, D — дезоксиформа):



Наглядное изображение этой схемы дано на рис. 7.6. Сущность механизма сводится к тому, что вследствие специфической конструкции группа гема усиливает малое изменение атомного радиуса, испытываемое Fe при переходе от высокоспинового к низкоспиновому состоянию, и трансформирует это малое изменение в большое смещение Гис, связанного с гемом. Затем происходят уже описанные события.

Энергия взаимодействия субъединиц составляет примерно 12 ккал/моль, что хорошо согласуется с энергией шести солевых мостиков, образующих контакты $\alpha_1\alpha_2$, $\alpha_1\beta_2$ и $\alpha_2\beta_1$. Действительно, ферментативное отделение четырех C-концевых остатков лишает стабильности четвертичную структуру дезоксигемоглобина и ингибирует гем-гем взаимодействие. Энергия одного солевого мостика равна 1—2 ккал/моль.

Дезоксигемоглобин практически всегда тетрамерен, его расщепление на димеры может произойти лишь при очень низких

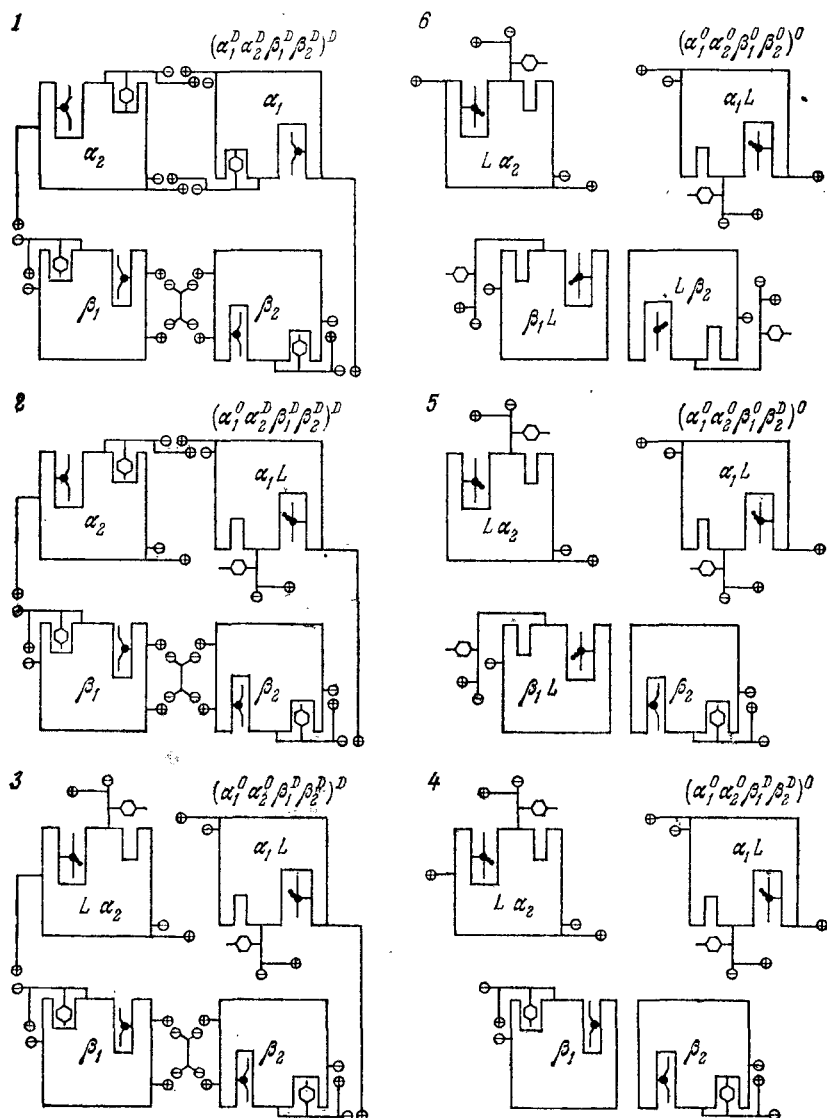


Рис. 7.6. Схема оксигенации гемоглобина по Перутцу.

1. Hb с интактными солевыми мостиками и с одной молекулой ДФГ, «зажатой» между двумя β -цепями. 2. HbO₂. 3. HbO₄. На стадиях 1-2 и 2-3 оксигенируются α -цепи. 4. HbO₄ с измененной конформацией; на стадиях 3-4 происходит конформационное превращение. 5. HbO₆. 6. HbO₈.

концентрациях. При этом должны разорваться солевые мостики и четвертичная структура примет форму, соответствующую оксигемоглобину. Все кооперативные эффекты, наблюдаемые при связывании лигандов, определяются тетрамерной дезокси-структурой. Впрочем, выдвинута и другая модель, согласно которой основной функциональной единицей, определяющей кооперативные свойства, служит димер [21]. В результате исследований

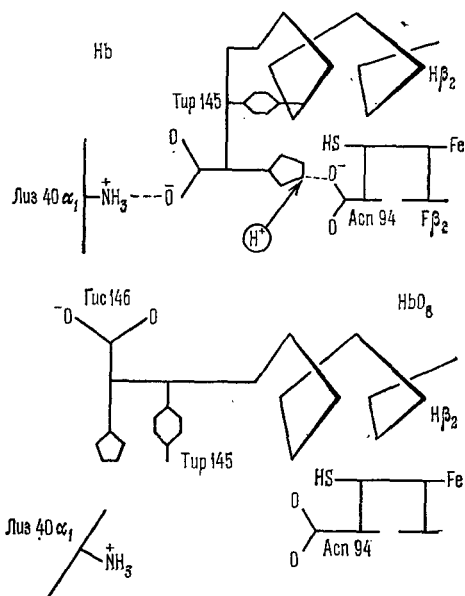


Рис. 7.7. Схема конформационных изменений в β_2 -цепи гемоглобина при оксигенации.

Перутца эффект Бора (см. стр. 425) получил молекулярное истолкование. Изменение структуры при переходах окси-Нб \rightleftharpoons дезокси-Нб изменяет окружение трех пар слабых оснований таким образом, что они стремятся присоединять протоны при отщеплении O_2 . В оксигемоглобине $\alpha\text{-NH}_2$ -группы Вал 1 α и имидазолы Гис 146 β свободны, но в дезоксиформе они сближаются с карбоксильными группами. Имидазол Гис 122 α сближается с гуанидином в оксигемоглобине, но с карбоксилем в дезоксигемоглобине. При дезоксигенации α_1 -цепь поворачивается относительно β_2 -цепи на $13,5^\circ$. Группа $\epsilon\text{-NH}_2$ Лиз С 5(40) α_1 смещается на 7 Å в область контакта $\alpha_1\beta_2$ и образует солевой мостик с С-конце-

вым карбоксилем β_2 . Солевой мостик фиксирует Тир 145 β_2 в полости между F β_2 и H β_2 и дает возможность образоваться мостику между имидазолом Гис 146 β_2 и карбоксилем Асп 94 β_2 . Это показано схематически на рис. 7.7. Гис 146 β_2 участвует в эффекте Бора вследствие изменения рК имидазола, вызванного изменением окружения.

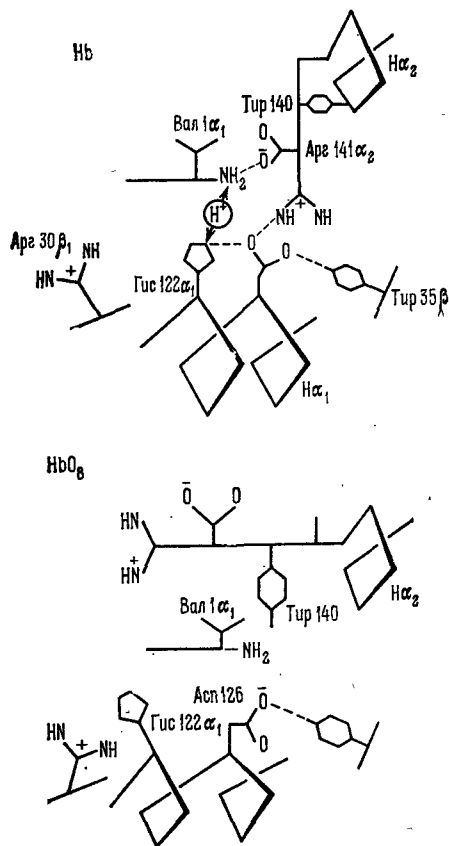


Рис. 7.8. Схема конформационных изменений в α -цепях гемоглобина при оксигенации.

рК α -NH₂-групп Вал 1 α имеют нормальные значения в оксигемоглобине, но возрастают в дезоксиформе вследствие связывания с α -карбоксилем другой α -цепи. В эффекте Бора участвуют также С-концевые Арг каждой α -цепи, образующие в дезоксигемоглобине два мостика с другой α -цепью (рис. 7.8).

Дальнейшие подробности можно найти в оригинальной статье Перутца [23], в которой рассмотрен также кислотный эффект Бора. Обсуждая эти конформационные явления, Перутц справедливо указывает, что белок — динамическая система. И третичная, и четвертичная структуры гемоглобина быстро и непрерывно осциллируют между окси- и дезокси-конформациями. В присутствии лиганда происходит не выключение дезокси-конформации, но сдвиг конформационного равновесия [23].

Рассмотренные Перутцом явления ярко выражают ЭКВ (см. стр. 408). Сдвиг электронной плотности в геме вызывает конформационную перестройку глобулы.

Атанасов изучал конформационные свойства миоглобина с помощью ряда физических методов. Он установил наличие конформеров у Mb и получил результаты, в целом согласующиеся с описанной моделью [25, 26] (см. также [27]).

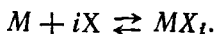
Для физического понимания взаимодействия гем — гем и связанных с ним событий, наряду с молекулярной картиной явления, необходимо общее феноменологическое рассмотрение. Оно проводится с помощью теории связанных функций, развитой Уайманом (см. ниже), и общей теории кооперативного кинетического поведения белков (см. § 7.5).

§ 7.2. ФЕНОМЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ РАВНОВЕСНЫХ СВОЙСТВ ГЕМОГЛОБИНА

Рассмотрим теорию связанных функций Уаймана [28]. Допустим, что макромолекула M имеет q центров, способных связывать лиганд X . Общая концентрация связанного лиганда равна

$$X = M_0 \sum_{i=0}^q i K_i x^i, \quad (7,5)$$

где M_0 — концентрация свободных макромолекул, x — активность лиганда и K_i — кажущаяся макроскопическая константа равновесия i -й реакции



Очевидно, что $K_0 = 1$. Полная концентрация макромолекул во всех их формах равна

$$M = M_0 \sum_{i=0}^q K_i x^i. \quad (7,6)$$

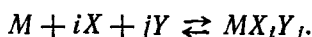
Количество лиганда, связанного молекул макромолекул M , равно

$$\bar{X} = X/M = \frac{\sum_i i K_i x^i}{\sum_i K_i x^i} = \frac{d \ln \sum_i K_i x^i}{d \ln x}. \quad (7,7)$$

Если связываются два различных лиганда, причем в молекуле имеется r центров для лиганда Y , то

$$M = M_0 \sum_{i=0}^q \sum_{j=0}^r K_{ij} x^i y^j, \quad (7,8)$$

где K_{ij} — константа равновесия для реакции



Функции насыщения равны

$$\bar{X} = \frac{\partial \ln \sum_i \sum_j K_{ij} x^i y^j}{\partial \ln x}, \quad \bar{Y} = \frac{\partial \ln \sum_i \sum_j K_{ij} x^i y^j}{\partial \ln y}. \quad (7,9)$$