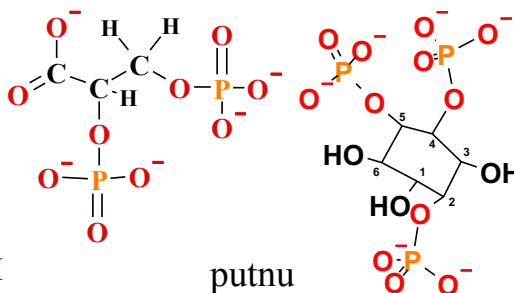


THE PROTEIN TOURIST#8-THE T-R, DEOXY-OXY TRANSITION IN HUMAN HEMOGLOBIN
2,3-Bisfosfoglicerāts⁵⁻=[BPG⁵⁻]=5 mM jūras līmeņa cilvēka homeostāze un inozitol fosfāts putnu eritrocītos

David Richardson, Celia Bonaventura, un Jane Richardson
 Protein Science vol. 3. Electronic supplement, Oct.1994

- Kin.1- Hb tetra mērs: deoksi pret oksi animēta transformācija
 - Kin.2- Hb T-R pāreja: alfa virkne un hēma aizslēgšanās
 - Kin.3- alfa1-beta2 alostēriska mijiedarbība un attiecības
 - Kin.4- Alfa1-alfa2 sāls tiltiņi; Cilvēka skābekļa
 - Kin.5-Beta2 sāls tiltiņi; **homeostāze** ir jūras līmenī
- kontrolēta koncentrācija arteriālā plazmā [O₂]=6•10⁻⁵M



Hemoglobīna funkcijas kā skābekļa-nesējam asinīs ir fundamentāla saistība ar līdzsvaru starp diviem hemoglobīna ceturtējās struktūras stāvokļiem, zināmus kā desorbēts "**deoksi**" vai "**T stāvoklis**" pret adsorbētu "**oksi**" vai "**R stāvokli**". Mēs lietosim animētas kinemage struktūras, kuras ilustrē šīs izmaiņas, un, kurās notiek transformācijas procesi, un, kā šādas izmaiņas rezultējas svarīgās funkcionālās īpašībās, tādas kā skābekļa adsorbēcija uz hēma no asiņu plazmas un desorbēcijas kopēja alostēriska kontrole ar koncentrācijām: pH un fosfāta saturošiem anjoniem. Hemoglobīnam ir **divi stāvokļi**, bet **T** pārvēršanās **R** stāvoklī ir pirmais izskaidrojamais hemoglobīna funkciju apraksts, kuram ir veltīts ProTour pētījums.

Hemoglobīna molekula (kuru mēs dažkārt saīsināsim kā "Hb") ir tetra mērs ar divām alfa un divām beta olbaltumvielu polimēru virknēm; cilvēkā tās satur 141 aminoskābi un 146, respektīvi. Tās ir atšķirīgas, bet homologiskas, un tām visām piemīt spirāļu salocītā terciārā struktūra zināma kā "globulāra". Šīs divas kinemage, **deoksi T stāvoklis** ir iekrāsoti zilā krāsā, kurā parasti attēlo venozās asinis, un skābekļa **O₂** adsorbēts **oksi R stāvoklis** sarkanā krāsā, ar alfa virknēm viegli bālākā krāsā par beta virknē.

Divas kristālu struktūras ilustrētas šeit ir cilvēka **deoksi** hemoglobīns, kurā ir **T-stāvokļa** ceturtējā struktūra bez liganda **O₂**-saistīšanas vietā, un cilvēka **karbo mono oksi** hemoglobīns, kurā ir **R-stāvokļa** ceturtējā struktūra ar ligandiem visās 4 **O₂**-saistīšanas vietās. Šīs divas bija pirmie iegūto struktūru pāri Hb molekulām un izpētītas ar diezgan augstu izšķiršanu, un bija priekšmeti detalizētai izpētei (Baldwin & Chothia). Proteīnu Datu Bankas (PDB) failus **3HHB** un **1HCO** nav nepieciešams pārkārtot tiešai salīdzināšanai, lai gan tie satur vienīgi nepieciešamo pusi-dimēru; pilnā tetra mēra koordinātes atrodas pieejamas Brookhavenas PDB (130.199.144.1) direktoriijā /user_group/biological_units, kā faili pdb3hbb.bio un pdb1hco.bio.

Kinemage 1 rāda daudzveidīgu skatu uz ceturtējās-struktūras izmaiņām tetra mērā cilvēka hemoglobīnam. Uzklīkšķiniet "ANIMATE" podziņai veidojas izmaiņas starp **T-stāvokli (deoksi)** un **R-stāvokli (oksi)**. Bez liganda **T-stāvoklis** ir parādīts zilā krāsā (zili gaišas alfa-virknes, ciāna beta, un debesu-zils hēms) un adsorbētais **R-stāvoklis** ir krāsoti rožainā (rožaini gaišs alfa, rožaina beta, un intensīvi rožains hēms), piedāvātās izmaiņu krāsas starp **deoksigenētām** un **oksigenētām** asinīm. Struktūra ir vienkāršota attēlojot vienīgi C alfa **mugurkaula** aminoskābju Cα treku. **View1** lūkojoties uz 2-perpendikulārajām asīm aptuveni alfa subvienības atrodas virsotnē un beta subvienības apakšā. Piezīme, ka hēmi ir diezgan tālu atstāts, tā kā to mijiedarbībai jābūt pastarpinātai ar olbaltumvielu. Desorbēto (**deoksi**) formu sauc **T saspringto (tense)** stāvokli, jo satur stabilizējošu iedarbību starp sub vienībām, kuras mēs redzēsim detaļās Kin. 4 un 5. Augstas-afinitātes **R-stāvoklī** konformācijas iedarbība, kura stiprina **skābekļa** saistīšanos un stabilizē tetra mēru, ir vājāka vai "**relaksēta**". Dažos organismos šī atšķirība ir tik spilgta, ka to Hb molekulas disociē **oksigenētā** formā-dimēros. **Oksigenēts** cilvēka Hb arī disociē ja atšķaidīs, kas rada problēmas bez šūnu hemoglobīna Hb aizvietotājiem, jo disociējot olbaltumvielām tās tiek ātri degradētas un izvadītas. H₂CO₃²⁻-HCO₃²⁻-COO⁻→**BPG⁵⁻** ir glicerāta dihidroksi skābes sāls **G⁻** divu **fosfātu 2,3-esteris** ar **homeostāzes** koncentrāciju [BPG⁵⁻]=5 mM un ir glikolīzes metabolīts eritrocītos, kurš regulē [O₂] koncentrācijas jutīga līdzsvara pārslēgšanos ieslēdz pāreju **oksi R→deoksi T** pazeminoties koncentrācijai zem, jo **BPG⁵⁻ 2,3 Bisfosfoglicerāts⁵⁻** iesprauca dobumā un desorbē skābekli 4 **O₂** novirza **R=>T**, piesaistot distāliem histidīniem protonus (**H⁺His63,58**)₄:

CA karbo anhidrāzes protolītiskā reaktivāte rada funkcionāli aktīvu bikarbonāta buferi. [9,14]

CA karbo anhidrāze liek liela ātruma protolīzē reaģēt CO₂ aqua ar divām ūdens molekulām:



endotermiski..... $\Delta\text{H}_{\text{Hess}} = 9.7576 \text{ kJ/mol}$ un **endoergiski**..... $\Delta\text{G}_{\text{Hess}} = 102 \text{ kJ/mol}$; [9]

$$\Delta\text{H}_{\text{Hess}} = \Delta\text{H}^\circ_{\text{H}_3\text{O}^+} + \Delta\text{H}^\circ_{\text{HCO}_3^-} - 2\Delta\text{H}^\circ_{\text{H}_2\text{O}} - \Delta\text{H}^\circ_{\text{CO}_2} = -285.81 - 689.93 - (2 \cdot -285.85 - 413.7976) = 9.7576 \dots \text{kJ/mol};$$

$$\Delta\text{G}_{\text{Hess}} = \Delta\text{G}^\circ_{\text{H}_3\text{O}^+} + \Delta\text{G}^\circ_{\text{HCO}_3^-} - 2\Delta\text{G}^\circ_{\text{H}_2\text{O}} - \Delta\text{G}^\circ_{\text{CO}_2} = -213,2746 - 544,9688 - (2 \cdot -237,191 - 385,98) = 102 \dots \text{kJ/mol};$$

$$CA \text{ vājas skābes līdzsvars } K_{eqCA} = \frac{[HCO_3^-]_{\text{aqua}} \cdot [H_3O^+]}{[CO_2]_{\text{aqua}} \cdot [H_2O]^2} = K_a / [H_2O]^2 = 10^{-(7,0512)} / 55,3457339^2 = 2,906 \cdot 10^{-11}$$

Eksotermiska $\Delta H_{sp} = -20,3 \dots \text{ kJ/mol}$ un endoerģiska **šķīdība** $[CO_{2\text{aqua}}] = 0,000754 \text{ M}$ izšķīdināšanai ir $\Delta G_{\text{skHess}} = 10,77 \dots \text{ kJ/mol}$ un protolīzes konstante ir $K_{eqCA} = 2,906 \cdot 10^{-11} < 1$: tā pēc pozitīvs endoerģisks brīvās enerģijas izmaiņas minimums:

$$G_{CA} = -R \cdot T \cdot \ln(K_{eqCA}) = -8,3144 \cdot 298,15 \cdot \ln(2,906 \cdot 10^{-11}) = 60 \dots \text{ kJ/mol.}$$

Endoerģiskas $CO_{2\text{gas}}$ šķīdības un $CO_{2\text{aq}}$ protolīzes Hesa brīvās enerģijas izmaiņa pozitīva $\Delta G_{\text{skHess}} 10,77 \text{ kJ/mol}$ un $\Delta G_{\text{protolīzesHess}} 102 \text{ kJ/mol}$, bet minimizējas sasniedzot līdzsvara maisījumu šķīdībai $G_{\text{sk}} = 8,38 \text{ kJ/mol}$ un protolīzei $\Delta G_{\text{min}} = G_{CA} 60 \text{ kJ/mol}$:

$CO_{2\text{aqua}} + 2H_2O$ protolīze ģenerē nepieciešamos koncentrāciju $H_3O^+ + HCO_3^-$ gradientus akumulējot brīvo enerģiju $G_{\text{skCO}_2} + G_{CA} = 8,38 \text{ kJ/mol} + 60 \text{ kJ/mol}$. Lietojot gradientu enerģiju

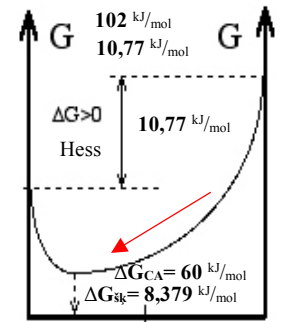
Brauna molekulārie dzinēji darbina neatgriezenisku homeostāzi ar $H_3O^+ + HCO_3^-$ transportu lejup pa gradientu cauri membrānu kanāliem izelpojot $CO_{2\text{gas}} + H_2O$ un $O_{2\text{aqua}} + H_2O$ osmozē pretēji gradientam cauri akvaporīniem ieelpojot gaisa skābekli O_2 .

Foto sintēzē pretēji ar CA reaktivitāti ieelpo $CO_{2\text{gas}} + H_2O$ cauri protonu $H^+ + HCO_3^-$ bikarbonāta kanāliem un izelpo osmozes veidā $O_{2\text{aqua}} + H_2O$ cauri akvaporīnu kanāliem.

Prigožina atraktora brīvās enerģijas izmaiņas minimuma ΔG_{min} sasniegšana

ir Lešateljē princips. Liela ātruma protolīzes atraktori atrodas līdzsvarā, kamēr homeostāze turpinās, jo ir ne līdzsvara stāvoklis. **Prigožins**: deklarē līdzsvara stāvoklis ir atraktors ne līdzsvara stāvokļiem: Nobela prēmija ķīmijā 1977. Gads. [4]

CA karbo anhidrāze veic neatgriezeniski izšķīdušā oglekļa dioksīda protolīzi ar divām ūdens molekulām dzesējot **Zemes biosfēru fotosintēzē**: $CO_{2\text{aqua}} + 2H_2O + \Delta G + Q \xrightarrow{CA} H_3O^+ + HCO_3^-$ palielinot šķīdības attiecību $K_{CO_{2\text{aqua}} + HCO_3^-} = [CO_{2\text{aqua}} + HCO_3^-] / [CO_2 \uparrow_{\text{air}}] = 0,023 \text{ M} / 0,000754 \text{ M} = 30,6 \dots$ reizes $CO_{2\text{gas}} + H_2O$ ieelpā. [14]



A+2B 50% C+D
 $CO_{2\text{aq}} + 2H_2O$ izejvielas
 produkti $HCO_3^- + H_3O^+$
 A 50% B
 $CO_2 \uparrow_{\text{gas}}$ Izejviela
 produkts $CO_{2\text{aqua}}$

$O_{2\text{aqua}}$ Hemoglobin shuttle exchange with protolysis generate HCO_3^- and H^+ gradients across membranes.

Hemoglobin in tissue desorbs oxidant oxygen $O_{2\text{aqua}}$ for exchange to generate HCO_3^- , H^+ . In lungs release HCO_3^- and H^+ due to adsorption of oxygen $O_{2\text{aqua}}$. [6] Exchange equilibrium affinity of hemoglobin to **oxygen** increases reaching mole fraction $[Hb_R(O_2)] = 0,96$ concentration $[O_{2\text{aqua}}] = 6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ in arterial blood and **deoxy** mole fraction lefts $[(H^+ BPG^5)Hb_T \dots \text{salt bridge} \dots (HCO_3^-)] = 0,04$. In tissue venous blood Bisphospho glycerate **BPG⁵⁻** squeezed in hemoglobin creates $0,37 = [(H^+ BPG^5)Hb_T \dots \text{salt bridge} \dots (HCO_3^-)]$ **deoxy** mole fraction and decreases oxy to $[Hb_R(O_2)] = 0,63$ mole fraction. In circulation organism consume $0,37 - 0,04 = 0,33$ oxygen mole fraction sustaining venous $[O_{2\text{aqua}}] = 0,426 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ concentration. Ratio $[HCO_3^-] / [CO_{2\text{aqua}}] = 0,0154 \text{ M} / 0,0076 \text{ M}$ stabilizing at pH=7.36 level as multi functional Attractor of Self-Organization. Actual seven components concentrations at saturated oxygen arterial blood and venous state:



$$K = [Hb_R(O_2)] \cdot [BPG^5] \cdot [H_3O^+] \cdot [HCO_3^-] / [(H^+ BPG^5)Hb_T \dots \text{salt bridge} \dots (HCO_3^-)] \cdot [H_2O] / [O_{2\text{aqua}}] = 2,43 \cdot 10^{-8};$$

$$\text{arterial state } K = 0,96 \cdot 0,005 \cdot 10^{-7,36} \cdot 0,0154 / 0,04 \cdot 55,3 / 6 \cdot 10^{-5} = 2,43 \cdot 10^{-8};$$

$$\text{venous state } K = 0,63 \cdot 0,005 \cdot 10^{-7,36} \cdot 0,0154 / 0,37 \cdot 55,3 / 0,426 \cdot 10^{-5} = 2,43 \cdot 10^{-8};$$

high land

$$\text{venous state } K = 0,48 \cdot 0,008 \cdot 10^{-7,36} \cdot 0,0154 / 0,52 \cdot 55,3 / 0,3692 \cdot 10^{-5} = 2,43 \cdot 10^{-8};$$

See level air Attractor $[O_2] = 20,95\%$ make in erythrocytes $[BPG^5] = 5 \text{ mM}$, but high land (see **Oxygen** in blood [6]) low air $[O_2]$ in erythrocytes have content of $[BPG^5] = 8 \text{ mM}$ and keep equilibrium at $K = 2,43 \cdot 10^{-8}$.

Stabilized multi functional Attractor pH=7.36 keep $[HCO_3^-] = 0,0154 \text{ M}$, $[CO_{2\text{aqua}}] = 0,0076 \text{ M}$ despite blood circulation cycle generate amounts of $[H^+] = 459 \cdot 6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ and $0,0275 \text{ M} = [HCO_3^-]$. Arterial concentrations $[O_2] = 6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $[Hb_R(O_2)] = 0,96$, $[(H^+)Hb_T \dots \text{salt bridge} \dots (HCO_3^-)] = 0,04$ and venous Homeostasis concentrations are $[O_2] = 0,426 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $[Hb_R(O_2)] = 0,63$, $[(H^+)Hb_T \dots \text{salt bridge} \dots (HCO_3^-)] = 0,37$. [6,14]

Animējiet **View₂** (izvēlnes panelī "Views" izvēlnē uz leju), kurā redzams apakšā zem kristalogrāfiskajām 2-perpendikulārajām asīm **N terminālie** Val1 Beta¹ un Val1 Beta₂ gali.

Dzeltenas krāsas krustiņi **x** ir jonu saitēm saistīti **fosfāti -OPO₃²⁻ deoksi**, bet nav **oksi Hb**. **Oksi Hb**, beta sub vienības satuvojas ciešāk kopā, izspiežot **fosfātus -OPO₃²⁻** (tos kā **2,3-BPG⁵⁻**), un ļauj **N** un **C**-termināliem mijiedarboties. **BPG** un citāds **inositol 4,5-fosfāts (putnu eritrocītos)** saistās daudz stiprāk **deoksi** ceturrtējā struktūrā; tāpēc tie neizbēgami novirza līdzsvaru uz **deoksi Hb**, un pazemina **O₂**

afinitāti. Tādi regulatori **fosfāta** $-OPO_3^{2-}$ grupas ļauj uzturēt $[O_2]$ koncentrāciju **asinīs** kontrolētu, nobīdot Hb O_2 -saistības līkni, kura darbojas stāvumā daudz pietiekamāk **plaušās**, līdz **deoksi venozo asiņu** Hb **audos**, kad skābeklis desorbējoties O_2 -uztur minimālo koncentrāciju $[O_2]=1,85 \cdot 10^{-5} M$ pirms **plaušām**.

Mijiedarbība starp alfa un beta sub vienībām ir kritiska sadarbībā ar **skābekļa** saistīšanu. Pirmajā tuvinājumā, Hb molekula sastāv no diviem "dimēriem" (Alfa1-Beta1 un Alfa2-Beta2), kuri rotē relatīvi viens pret otru kā nelokāmi ķermeņi **T-R** un **R-T** transformācijās. **View3** rāda aptuvenās asis apkārt kurām šie divi Alfa-Beta dimēri rotē. Animējiet ar ieslēgtām visām 4 sub vienībām, un tad izslēdziet ārā Alfa un Beta katrā no divām formām novērojiet rotāciju tikai vienam dimēram. Alfa1-Beta1 dimērā novēro relatīvi nelielus iekšējos pārkārtojumus, bet to kopīga rotācija ir ievērojama. Divu dimēru kopīgā rotēšana pārmaina to mijiedarbību vienam ar otru, visnozīmīgākā alostēriskajā ietekmes vietā starp Beta1 un Beta2 (kurus mēs vērojām **View2**) un svarīgajā Alfa1-Beta2 saskarē (skat. Kin. 3) kurā mutācijai ir lielākais efekts uz Hb alostēriskām īpašībām.

Pēc novērojumiem visos citos kinemage, atskatāmies uz šo vienu redzēto un dažas no šīm detaļām kopējā tetra mēra kustības kontekstā.

Kinemage 2 parāda atsevišķu alfa virkni hemoglobīnā, sākot ar sub vienības pārskatu. 6 garās un 2 īsās alfa-spirāles kopā astoņas veido β Hb sub vienības ("globulārajā") struktūrā ir atzīmētas no **A** līdz **H**, kuri ir tradicionāli nosaukumu shēmā. Piemēram, proksimālais histidīns (saistītais ar **Fe** ligands) ir bieži apzīmēts **His F9**, kopš tā ir **9.** aminoskābe spirāles **F** virknē (His**87** alfa virknē). Alfa spirāles līdzinās kā aptuveni-cilindram aptinušies **mugurkaula** treka $C\alpha$ atomi, centrā ar hēmu un tā centrālo **Fe** atomu saistīta hidrofoba kabata starp **E** un **F** spirālēm.

Ieslēdz podziņu "highlights" un izvēlnē **View2**, kurā ir ieskats tuvā hēma apkārtņē O_2 -saistīšanas vietai. Uzklīkšķiniet podziņai "animate" novēro stāvokļus **deoksi** un **oksi** formām. Kinemage divas alfa1 hēmu grupas bija viena otrai pieliktas klāt, dodot lokālu salīdzināšanu šai vietai. Hēms ir pilnīgi velvēts zilā **T-stāvokļa** (**deoksi**) formā, ar 5-koordināti, stipru izcēlumu **Fe** (dzeltenai lodei) no plaknes. Rožainā **R-stāvokļa** formā **CO** molekula ir saistīta no kreisās, **Fe**, tagad 6-koordināte, ir kustība hēma plaknē atpakaļ, kura kļuvusi plakana. Proksimālais His**87** (pa labi) piesaista **Fe** pie spirāles no proksimālās puses, padarot **Fe** pozīciju jūtīgu pret izmaiņām globīna struktūrā un otrādi. Atceries, ka šis kinemage parāda sub vienību visā desorbētā stāvoklī pretstatot visu adsorbētām Hb stāvoklim; kad **skābeklis** saistās tikai vienai sub vienībai, tad tās iekšējā struktūra izpaužas dažos, bet ne visās no šīm izmaiņām, atkarībā no apstākļiem.

View3 ir no leņķa, kas parāda piesaistīšanās vietu daudz skaidrāk. O_2 piesaistās tajā pašā vietā, kurā **C=O**, ar līdzīgu efektu uz struktūru; tomēr, **O=O** ārējais atoms novietots ar leņķi nevis taisni. Līdzsvars starp brīvo un saistīto O_2 ir ļoti ātrs, ar ieslēgšanās un izslēgšanās ātrumu, kas ir jūtīgs pret olbaltumvielas konformāciju. Abi **CO** un **NO** disociē no **Fe** atoma ļoti lēni, tāpēc šīs gāzes darbojas kā elpošanas indes. Alfa un beta virknes atšķiras kaut cik to ātrumos un relatīvā tieksmē pret O_2 un citiem ligandiem, ar hēma-kabatas priekšrocību atšķirībām, bet atšķirības starp tieksmi **relaksētai R** pret **T saspringto ceturtejo stāvokli** ir daudz lielāka.

Abas alfa un beta Hb virknes līdzinās mioglobīnam (vienas virknes O_2 -saistītājs muskuļos), abi vispārīgajā ceturtejā struktūrā un izmanto **Fe** atomu centrētu hēma grupā kā vieta, kur **skābeklis** ir atgriezeniski saistīts. Hēms ir ieskaits ar hidrofobu kabatu, kura ir nepieciešama tās prasībām saistīt atgriezeniski **skābekli** izvairoties no oksidēšanās vai citām nevēlamajām reakcijām. Izvēlies un ieslēdz "Hb hydrophobic" un novēro dažas no hidrofobajām sānu virknēm, kas veido hēma kabatu. Tās patiesībā iekļauj saistīšanās vietu tik noteikti, ka O_2 nevar iekļūt vai izkļūt bez olbaltumvielas daļu neliela veida izkustēšanās, tā kā tās dinamiskās īpašības ir neaizstājamas būt katrai O_2 saistīšanai vienmēr; šis ierobežotais process arī palielina specifiskumu liganda saistīšanai.

Pārslēgšanās starp **R** un **T stāvokli** pieprasa sub vienību mijiedarbību, kas nenotiek mioglobīnā, vai izolētā alfa jeb beta virknes mono mērā. Šie mono mēri saista O_2 pietiekoši cieši, kuri darbotos labi priekš O_2 uzlādēšanas plaušās, bet neatļautu izlādēt to piegādei audos. Tādēļ, centrālā hemoglobīna funkcijas kritiskā īpašības ir kā to sasniegt, lietojot un alosteriski kontrolējot sadarbību starp 4 saistīšanas vietām tetra mērā, kas uzregulē O_2 saistīšanu apmierinošai fizioloģijas nepieciešamībai.

Adsorbcijas-vietas piesaiste izmaiņām olbaltumvielas konformācijā ir ilustrēta **View5** (fokusēta uz **OH Tyr140**), kura rāda ligandu atkarīgas izmaiņas reģionā ārpus hēma sub vienību saskarsmē. Piekabināšana hēma **Fe** cauri proksimālo His rezultējas trešējās-struktūras izmaiņās, kas var tad pārnest tos efektus uz citām sub vienībām tetra mēra montāžā. Tas ļauj O_2 saistīšanai vienā sub vienībā pastarpināti ietekmēt tieksmi citām sub vienībām. Īsumā, alfa virknes iekšpusē **R/T** līdzsvars atspoguļojas izmaiņās **Fe** izgriešanās stāvoklī un pozīcijā, kā tas kustas iekšā vai ārā no hēma plaknes; proksimālā His izmaiņas distancē un leņķī relatīvi pret hēmu; **F** spirāles pārbīde; Tyr140 kustība un tā H-saites **mugurkaula** vājināšanās; un abu virkņu C-terminālu un Arg 141 kustība ievērojami sub vienību saskarē. Izmaiņas sub vienību saskarē (sakabināti ar izmaiņām pie **Fe**, kā mēs esam redzējuši) pārmaina līdzsvaru starp **deoksi** un **oksi** ceturtejo struktūru, un apgriezti izmaiņas ceturtejā

struktūrā pārmaina svarus starp diviem stāvokļiem iekšpusē dotajā sub vienībā. Katrs O_2 kas saista palielina tieksmi pārslēgties tetra mērā uz **oksi** stāvokli, un reiz tas pārslēdzas, O_2 tieksme visās vietās palielinās, jo vienai lokālai struktūras izmaiņai ir arī otrs notikums vai vieglāk veicams ir.

View6 atgriezamiem rādīt pilnīgu alfa1 sub vienību, bet centrēts priekš visa tetra mēra (**deoksi formai**), kā tas bija redzams **View1 Kinemage 1**. Ieslēdz "axes" redzam 2 perpendikulāras simetrijas asis tetra mērā.

Kinemage 3 rāda kritisko Alfa1-Beta2 saskaršanos, kurā sub vienības pārbīdās viena pret otru starp **deoksi T** un **oksi R** stāvokļiem. Sākumā ir pārskats. Kaut gan simetrija nav īsta, līdzīgo sub vienību daļas kontaktē viena ar otru: C spirāle, un "FG cilpa" starp spirālēm F un G. Animējot atkārtoti, redzam relatīvu šo divu sub vienību kustību, kura atgādina gandrīz stacionāru "eņģi" tuvu virsotnei un garāku "sprūdrata" kustību tuvu apakšai. **View2** uzsver sprūdrata kontaktu starp C spirāli Alfa1 un FG cilpu Beta2; His 97 Beta2 FG cilpa iztaisa garu lēcieni pretī Thr38 un Thr 41 Alfa1 C spirālē. **View3** uzsver eņģu kontaktu, kuras kustība ir galvenokārt rotācija bez lielām pārbīdēm, starp Alfa1 FG cilpu un Beta2 C spirāli. "Labels" palīdz identificēt daļas. Tā kā šī ir kompleksa kustība orķestrēta starp piemērotību diviem diezgan atšķirīgiem kontaktu izkārtojumiem divos stāvokļos, šī saskare ir kritiska Hb alosterijas darba veikšanā, un mutācijas virknēs šīnās saskares vietās pētījumos ir atrastas, kuras ir būtībā īpaši līdzīgas kooperativitātes un alosterijas ietekmēšanā.

Kinemage 4 rāda sāls tiltiņus starp Alfa1 un Alfa2, kuri stabilizē **deoksi** formu. **View1** ir pārskats tālāk patiesi 2 perpendikulārām asīm starp sub vienībām, parādot, ka tur mijiedarbībā ir divi ekvivalenti izkārtojumi, uz divu locījumu otro pusi. **View2** ir cieši klāt novērojama šo mijiedarbību veidošana un saraušana. Piezīme, ka Tyr140 -OH atrodas Val93 FG cilpā cieši pie karbonila **skābekļa**, un ka Lys127 no Alfa2 ir ar stipru sāls-tiltiņu klāt pie Alfa1 karboksil C-termināla **deoksi** formas un **oksi** formai H-saite ir vājāka, lai pieturētu virknes karbonila **skābekli**.

Kinemage 5 rāda sāls tiltiņus pie Beta2 C-termināla, kurā stabilizē **deoksi T** formu un dod lielu ieguldījumu **skābekļa** saistīšanās **pH** atkarībā, zināmu kā Bora Efektu. **View1** ir pārskats, līdzīgs Kin.3 pārskatam, bet šīnī reizē uzsver lādiņu mijiedarbību tuvojoties beta virknes C-terminālam. **View2** ir pietuvināti redzama veidošanās un pārtrūkšana šīm mijiedarbībām. Piezīme, ka Tyr145 -OH atrodas cieši pie Val93 karbonila **skābekļa** FG cilpā, kamēr β His146 kustas ievērojamu gabalu, saraujot sāls tiltiņu (lādēta H-saite) pie β Asp94 kas ir veidota **T stāvokli**. Kamēr His protonēšanās tuva fizioloģiskam **pH**, šī mijiedarbība ir diezgan **pH** jutīga. Pie zema **pH**, kad vairāk protonu ir vidē, His gredzena N ir vairāk protonēts un pozitīvs; tas stiprina šo H-saiti ar Asp94, tādējādi veicina **T stāvokli** un samazina O_2 afinitāti. Tur ir arī atbalsts Bora Efektam ar lādētām sānu virknēm tetra mēra centrālajā dobumā, kurā 4 ūdeņraža $4H^+$ un BPG^{5-} joni saistās un veicināti ar pārslēgšanos atpakaļ no **R stāvokļa plaušās**

$4O_2 + (H^+ His_{63,58})_4 \beta Val1(NH_4^+ PO_4^{2-})^+_2 Hb_T - G^- \leftrightarrow (His_{63,58})_2 \beta Val1(NH_4^+)_2 Hb_R(O_2)_4 + 4H^+ + BPG^{5-}$ audos uz **T stāvokli** ir **pH** atkarībā no protonu saistīšanās ar His(63,58). Tas ir bioloģiski svarīgi, jo tas veicina **skābekļa** desorbciju audos kur protonu $4H^+$ koncentrācija ir paaugstināta, piemēram, ar pienskābes producēšanu **muskuļos**.

Novērot dažas šīs kritiskās mijiedarbības sub vienībās hemoglobīna tetra mēra kontekstā,

uzklikšķiniet šeit: *{**Kinemage 1**, **View 5**, atķeksējām= {details} }*.izvēlamies **Animate**,

skatāmies **T-R** izmaiņu detaļas kontaktus alosteriskajā saskarsmē starp alfa1 un beta2.

Izvēlas **View6** novēro β His146 sāls tiltiņa veidošanos un pārtrūkšanu, kā aprakstīts Kin. 5.

Izvēlas **View7** novēro apakšā centrālo tetra mēra dobumu, šīnī reizē no alfa1-alfa2 gala.

Literatūra.

- [1] [David R. Lide. CRC Handbook of Chemistry and Physics .90th ed. Taylor and Francis Group LLC; 2010 .](#)
- [2] Prigogine I., Defey R. Chemical Thermodynamics. Longmans Green & co ©; 1954.
- [3] Prigogine I., Nicolis G. Self-Organization in Non-Equilibrium Systems. Wiley, 1977.
- [4] [Prigogine I. Time, Structure and Fluctuations. Lecture, The Nobel Praise in Chemistry; 1977.](#)
- [5] [Kuman M. New light on the attractors creating order out of the chaos. Int J Complement Alt Med.; 2018; 11\(6\); 337.;](#)
- [6] [Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 5th ed. New York: W.H. Freeman and company; 2008.](#)
- [7] [Xing W, Yin G, Zhang J. Rotating Electrode Method and Oxygen Reduction Electrocatalysts. Elsevier; 6 \(2014\) .](#)
- [8] [Alberty RA. Biochemical Thermodynamic's : Applications of Mathematics. John Wiley & Sons, Inc. 1-463, \(2006\).](#)
- [9] [Pinard MA, Mahon B, McKenna R. Probing the Surface of Human Carbonic Anhydrase for Clues towards the Design of Isoform Specific Inhibitors. BioMed Research International; 2015, 3 \(2015\).](#)
- [10] Kotz JC, Purcell KF. Chemistry and chemical reactivity. Saunders College Publishing; 1991.
- [11] [White VM. THE CARBON CYCLE, ISOTOPES, AND CLIMATE I and II. Lectures 37, 38; 2003 .](#)
- [12] [Hanania J, Pomerantz C, Stenhouse K, Toor J, Donev J. Carbon cycle. University of Calgary's 2020 .](#)
- [13] [Der wohltemperierte Planet. Der Spiegel. 2007 Nr.19:148-154. German .](#)
- [14] [Kaksis A. The Biosphere Self-Organization Attractors drive perfect order homeostasis reactions to link bioenergetic with functionally activate oxygen and carbon dioxide molecules. 7th International Conference on New Trends in Chemistry September 25-26, 2021.27-32.](#)

<http://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/search/index?text:3HHB>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=9606>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=9606&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>

1	10	20	30	40	50	60
61	70	80	90	100	110	120
121	130	140	150	160	170	180

```
1 VHLTPEEKSA VTALWGKVNV DEVGGEALGR LLVVYPWTQR FFESFGDLST PDAVMGNPKV
61 KAHGKVLGA FSDGLAHLDN LKGTfATLSE LHCDKLHVDP ENFRLLGNVL VCVLAHHFGK
121 EFTPPVQAAY QKVVAGVANA LAHKYH 146 D HHB
```

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/3HHB_D

```
1 VLSPADKTNV KAAWGKVGAAH AGEYGAEALE RMFLSFPTTK TYFPHFDLSH GSAQVKGHGK
61 KVADALTNAV AHVDDMPNAL SALSdLHAHK LRVDpVNFKL LSHCLLVTLA AHLPAEFTPA
121 VHASLDKFLA SVSTVLTSKY R 141 C HHB
```

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/3HHB_C

1	10	20	30	40	50	60
1	VHLTPEEKSA	VTALWGKVNV	DEVGGEALGR	LLVVYPWTQR	FFESFGDLST	PDAVMGNPKV
61	KAHGKVLGA	FSDGLAHLDN	LKGTfATLSE	LHCDKLHVDP	ENFRLLGNVL	VCVLAHHFGK
121	EFTPPVQAAY	QKVVAGVANA	LAHKYH	146	B	HHB

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/3HHB_B

```
1 VLSPADKTNV KAAWGKVGAAH AGEYGAEALE RMFLSFPTTK TYFPHFDLSH GSAQVKGHGK
61 KVADALTNAV AHVDDMPNAL SALSdLHAHK LRVDpVNFKL LSHCLLVTLA AHLPAEFTPA
121 VHASLDKFLA SVSTVLTSKY R 141 A HHB
```

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/3HHB_A

References, for further information: To the structures used here:

1. Baldwin (1980) "The crystal structure of human carbon mono oxy hemoglobin at 2.7A resolution", J. Mol. Biol. 136: 103. (file 1HCO)
2. Fermi, Perutz, Shaanan, & Fourme (1984) "The crystal structure of human deoxy hemoglobin at 1.74A resolution", J. Mol. Biol. 175: 159. (file 3HHB)

General treatments of Hb allostery:

1. Perutz (1970) "Stereochemistry of cooperative effects in hemoglobin", Nature 228: 726
2. Baldwin & Chothia (1979) "Hemoglobin. The structural changes related to ligand binding and its allosteric mechanism", J. Mol. Biol. 129: 175.
3. Dickerson & Geis (1983) "Hemoglobin: Structure, Function, and Pathology", Benjamin/Cummings Publ., Menlo Park, CA
4. Perutz (1989) "Mechanisms of cooperativity and allosteric regulation in proteins", Quarterly Rev. of Biophys. 22: 139-236
5. Ackers, Doyle, Myers, & Daugherty (1992) "Molecular code for cooperativity in hemoglobin", Science 255: 54
6. Perutz, Fermi, Poyart, Pagnier, & Kister (1993) "A novel allosteric mechanism in hemoglobin: Structure of bovine deoxy hemoglobin, absence of specific chloride binding sites, and origin of the chloride-linked Bohr Effect in bovine and human hemoglobin", J. Mol. Biol. 233: 536

Recent Hb structures in other quaternary states or intermediates:

1. Silva, Rogers, & Arnone (1992) "A third quaternary structure of human hemoglobin A at 1.7A resolution", J. Biol. Chem. 267: 17248
2. Smith, Lattman, & Carter (1991) "The mutation beta99 Asp-Tyr stabilizes Y - A new, composite quaternary state of human hemoglobin", Proteins: Struct., Funct., Genet. 10: 81
3. Liddington, Derewenda, Dodson, Hubbard, & Dodson (1992) "High resolution crystal structures and comparisons of T state deoxy hemoglobin and two liganded T-state hemoglobins: T(alpha-oxy)hemoglobin and T(met)Hemoglobin", J. Mol. Biol. 228: 551

@kinemage 1

Hemoglobin tetramer - deoxy (blue shades) vs oxy (pink shades) animation. **View2** looks down the central cavity, which is wider in the deoxy state, forming phosphate sites. **View3** shows the quaternary structure change as rigid rotations of Alpha-Beta dimmers (turn off alpha2 and beta2 in both forms). After looking at all the other kinemages, come back to this one and animate in **Views 5-7** with "details" turned on.

@kinemage 2

Human hemoglobin alpha1 subunit, deoxy (blue shades) vs oxy (pink shades) structures. Click on "animate" to switch between the two structures, and turn on "highlights" for any of the close ups.

View1 shows the overall alpha subunit, **Views 2** and **3** are close ups of the heme site, shows the hydrophobic heme pocket, **View5** moves out from the heme toward the interface with alpha 2 (alpha 2 not shown), and **View6** goes to our standard orientation centered as if in the tetramer: see **View1** of Kin.1.

References.

- [1] [David R. Lide. CRC Handbook of Chemistry and Physics .90th ed. Taylor and Francis Group LLC; 2010 .](#)
- [2] Prigogine I., Defey R. Chemical Thermodynamics. Longmans Green & co ©; 1954.
- [3] Prigogine I., Nicolis G. Self-Organization in Non-Equilibrium Systems. Wiley, 1977.
- [4] [Prigogine I. Time, Structure and Fluctuations. Lecture, The Nobel Praise in Chemistry; 1977.](#)
- [5] [Kuman M. New light on the attractors creating order out of the chaos. Int J Complement Alt Med.; 2018; 11\(6\); 337.;](#)
- [6] [Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 5th ed. New York: W.H. Freeman and company; 2008.](#)
- [7] [Xing W, Yin G, Zhang J. Rotating Electrode Method and Oxygen Reduction Electrocatalysts. Elsevier; 6 \(2014\) .](#)
- [8] [Alberty RA. Biochemical Thermodynamic's : Applications of Mathematics. John Wiley & Sons, Inc. 1-463, \(2006\).](#)
- [9] [Pinard MA, Mahon B, McKenna R. Probing the Surface of Human Carbonic Anhydrase for Clues towards the Design of Isoform Specific Inhibitors. BioMed Research International; 2015, 3 \(2015\).](#)
- [10] Kotz JC, Purcell KF. Chemistry and chemical reactivity. Saunders College Publishing; 1991.
- [11] [White VM. THE CARBON CYCLE, ISOTOPES, AND CLIMATE I and II. Lectures 37, 38; 2003 .](#)
- [12] [Hanania J, Pomerantz C, Stenhouse K, Toor J, Donev J. Carbon cycle. University of Calgary's 2020 .](#)
- [13] [Der wohltemperierte Planet. Der Spiegel. 2007 Nr.19:148-154. German .](#)
- [14] [Kaksis A. The Biosphere Self-Organization Attractors drive perfect order homeostasis reactions to link bioenergetic with functionally activate oxygen and carbon dioxide molecules. 7th International Conference on New Trends in Chemistry September 25-26, 2023.27-32.](#)