

Кинетическая модель фотоиндуцированных процессов в биологических системах. Реакция эпимеризации глюкозы

О. В. Ялтыченко, Е. Ю. Канаровский

*Институт прикладной физики АН Молдовы,
ул. Академией, 5, г. Кишинев, MD-2028, Республика Молдова, e-mail: oialt@mail.ru*

С целью описания имеющихся экспериментальных данных по фотоиндуцированной реакции эпимеризации глюкозы в рамках формальной химической кинетики представлена минимальная модель. Реакция эпимеризации имеет выход продуктов реакции в виде эпимеров глюкозы: аллоза, галактоза и манноза. Для моделирования кинетики реакции эпимеризации за основу взята классическая схема ферментативной реакции. Влияние лазерного излучения рассматривается как дополнительный вклад в активацию промежуточного комплекса. Для сформулированной кинетической модели проведены численный расчёт и анализ данных. Результаты моделируемой реакции эпимеризации по относительным концентрациям эпимеров глюкозы в процентном соотношении соответствуют наблюдаемым в эксперименте.

Ключевые слова: лазерное излучение, химическая кинетика, реакция эпимеризации D-глюкозы, белок Конканавалин А, α - и β -аномеры глюкозы.

УДК 544.526.5+577.15+577.114

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие теоретические и экспериментальные исследования фотоиндуцированных процессов в органических функциональных и биологических материалах занимают важное место в фотобиологии, ферментативной и химической кинетике, биофизике и медицине в связи с возрастающим разнообразием и доступностью данных материалов [1]. Более того, на стыке молекулярной биологии и физико-органической химии возникла ещё одна важная задача – создание сравнительно простых моделей для описания сложных каталитических процессов с участием белков, учитывающих их взаимодействия со средой окружения и внешними полями и выявляющих механизмы протекающих реакций [2]. Такого рода модельные исследования позволяют определить наиболее значимые факторы, влияющие на скорости протекания реакций и способы управления исследуемыми реакциями.

Анализ общих закономерностей и выявление отличительных особенностей для процессов в сложных каталитических системах в рамках модельного подхода, создание ряда альтернативных моделей с использованием различных аналитических методов и численного моделирования на стыке физики, химии и биологии являются актуальной задачей.

Наука о ферментативном катализе включает в себя такие важные аспекты, как биохимическое описание механизмов реакций и применение методов формальной химической кинетики для обнаружения общих закономерностей их протекания в стационарном и нестационарном режи-

мах. Ферменты, как биокатализаторы, обладают рядом важных свойств, которые отличают их от обычных гомогенных и гетерогенных органических катализаторов. Это их высокая каталитическая активность и высокая избирательность по отношению к субстрату. Выполняющие роль биокатализаторов белки представляют собой высокомолекулярные соединения, состоящие из аминокислот, соединённых пептидными связями. Некоторые из аминокислотных остатков несут отрицательный заряд, тогда как другие заряжены положительно, одни боковые группы гидрофобны, тогда как другие полярны и гидрофильны. Белки отличаются не только многообразием варьирования аминокислот, но и различными уровнями структурной организации. Активный центр фермента имеет полость для связывания субстрата, которая является в большинстве случаев ещё и гидрофобной областью. Поверхностные слои белковой глобулы, особенно область активного центра, характеризуются повышенной микровязкостью, а подвижность органических молекул, связанных с активным центром, происходит в основном за счёт гидрофобных взаимодействий. Известно, что гидрофобные взаимодействия при сшивании углеводородных молекул или их фрагментов существенно не ограничивают их подвижность. Также известно, что для осуществления каталитической активности белки содержат небелковый компонент, часто это ионы металлов, выполняющие роль кофакторов.

Последние несколько десятилетий ознаменовались чрезвычайно активными прикладными и фундаментальными исследованиями в области науки о ферментах как физической химии

биокатализа. О перспективах такого бурного развития ещё в 1959 году очень образно высказался известный американский биохимик Р. Ламри: «...Итак, эта область ещё не вышла из поры младенчества, но дитя шагает быстро и наговорило уже целые тома...» [2].

Фотоиндуцированная реакция эпимеризации глюкозы, которая была экспериментально реализована в [3], представляет отдельный интерес, так как до этого наиболее изученной являлась темновая реакция эпимеризации неиммобилизованной D-глюкозы в слабых растворах оснований. Согласно эксперименту [3] фотоиндуцированная реакция эпимеризации D-глюкозы была осуществлена в водном растворе белка Конканавалина А с ацетатным буфером в присутствии соли хлорида эрбия и под воздействием гелий-неонового лазера с длиной волны 633 нм.

Отметим одну важную особенность рассматриваемой реакции эпимеризации – в обычных условиях без облучения лазером и в отсутствие соли хлорида эрбия белок Конканавалин А (Con A) обратимо связывает глюкозу и не проявляет признаков ферментативной активности. И только в присутствии как хлорида эрбия (в качестве кофермента), так и лазерного облучения (в качестве активатора), связываемая Con A глюкоза преобразовывается в эпимеры. Именно сочетание описанных в эксперименте условий позволяет нам воспользоваться стандартной схемой ферментативного катализа для моделирования.

МОДЕЛЬ ДЛЯ ФОРМАЛЬНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ РЕАКЦИИ ЭПИМЕРИЗАЦИИ ГЛЮКОЗЫ

Построение теоретической модели для процесса фотоиндуцированной эпимеризации глюкозы на Конканавалине А (Con A) в присутствии соли хлорида эрбия ErCl_3 выполняется на языке химической кинетики. При этом используются качественные соображения, которые на основе данных эксперимента [3] позволяют сформулировать минимальную модель и применить стандартные приближения на разных стадиях ферментативного катализа.

В общем случае можно выделить следующие стадии ферментативного катализа:

1. Диффузионная стадия, предшествующая образованию субстрат-ферментного (ES) комплекса и зависящая от концентрации субстрата.

2. Стадия комплементарного связывания субстрата с активным центром фермента. Субстрат связывается с активным центром фермента в нескольких местах, тем самым обеспечиваются высокая избирательность связывания и пространственная ориентация субстрата, необходимые

для его последующего преобразования. В результате молекула субстрата приобретает напряжённую (растянутую) конфигурацию. Образование ES-комплекса – наиболее быстрая стадия.

3. Следующая стадия – активация ES-комплекса. Происходит ослабление химических связей в молекуле субстрата, их разрыв, образование новых связей благодаря взаимодействию с каталитическими группами фермента (функциональными группами аминокислотных остатков). Это обычно наиболее медленная стадия.

4. На завершающей стадии имеет место отделение продуктов реакции от активного центра с последующей их диффузией в окружающую среду.

Перейдем к детальному анализу поставленной задачи. Сначала кратко опишем существенные для формулировки модели свойства реагирующих веществ – белка Конканавалина А и глюкозы.

Лектины, к классу которых относится белок Конканавалин А, являются высокоспецифичными в отношении связывания углеводов (глюкозы, маннозы и других её эпимеров и производных) [2, 4–6]. Аффинная хроматография на иммобилизованных лектинах широко применяется для очистки растворимых и мембранных гликопротеинов [6]. Лектины способны проявлять митогенную и иммуномодулирующую активность. Это свойство лектинов широко используется в экспериментальной биологии и медицине [4]. Также лектины способствуют инициации защитных реакций, обеспечивающих устойчивость организмов растений и животных к стрессам. Лектин Con A широко применяют в иммунологии как T-клеточный митоген, также он способен оказывать агглютинирующее влияние на лимфоциты.

Конканавалин А при нейтральном и щелочном pH является тетрамером. Для него имеет место близкая координация ионов Ca^{2+} и Mn^{2+} в активном центре каждой из его четырёх белковых субъединиц, связывающих молекулу углевода. Трёхмерная структура лектина Con A и его система ковалентных и нековалентных связей были представлены в работе [7], а система связей катионов металлов в активном центре Con A была исследована в [5, 8]. Подробные рентгеноструктурные исследования комплекса лектина из гороха с углеводом и его сравнение с аналогичным комплексом для Con A выполнены в [9, 10]. При этом для Con A характерна специфичность на связывание именно α -D-глюкозы и α -D-маннозы и их производных. Лектин Con A связывает на каждый из своих активных центров по одной молекуле глюкозы из раствора. При этом связывание каждой

молекулы глюкозы высвобождает 2 молекулы воды [2, 4].

В водном растворе D-глюкоза существует в циклическом виде как равновесная смесь двух форм, представленных на рис. 1. В равновесном состоянии присутствуют 36–38% α -формы и 64–62% β -формы. Промежуточная альдегидная форма содержится в ничтожно малой концентрации. Преобладание β -формы следует из-за её большей термодинамической стабильности. Учёт процесса мутаротации β -формы глюкозы в α -форму позволяет объяснить некоторое превышение общего суммарного выхода эпимеров в конце реакции по отношению к общему количеству α -формы D-глюкозы, имеющемуся в начале реакции.

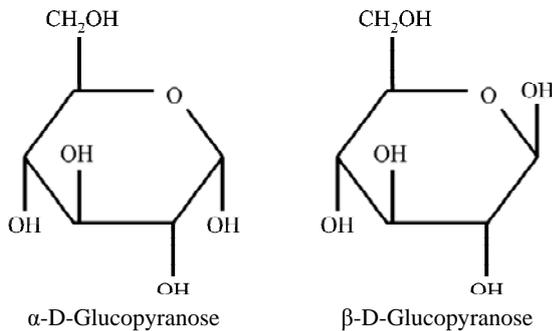


Рис. 1. Проекция Хеурса для α - и β -аномеров D-глюкозы, отличающиеся положением гидроксильной группы у атома углерода C1.

Эпимеры глюкозы (манноза, аллоза и галактоза) отличаются от неё изменением конфигурации гидроксильных групп соответственно у C2-, C3-, C4-атомов углерода молекулы D-глюкозы с экваториального расположения на аксиальное (нумерация атомов углерода на проекциях Фишера, представленных на рис. 2, выполняется сверху вниз). Для этого требуется разная энергия активации, то есть константы скорости образования эпимеров глюкозы следует считать различными.

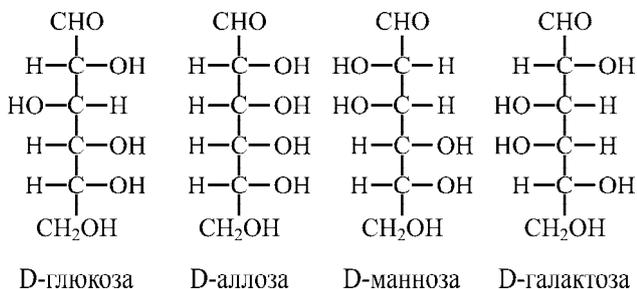


Рис. 2. Схемы Фишера для глюкозы и её эпимеров.

Исходя из изложенного выше и данных эксперимента [3] можно предложить следующий механизм реакции эпимеризации D-глюкозы. Фоточувствительный к излучению гелий-неонового лазера (633 нм) гидратированный комплекс хлорида эрбия вместе с белком Con A и глюко-

зой находится в водном растворе, приготовленном с ацетатным буфером. Излучение гелий-неонового лазера поглощается хлоридом эрбия с последующей безызлучательной передачей энергии на активный центр макромолекулы Con A, на котором находится иммобилизованная глюкоза, запуская реакцию её эпимеризации. В результате этой реакции образуются эпимеры глюкозы: манноза, аллоза и галактоза – с суммарным выходом 40% [3].

Чтобы составить систему кинетических уравнений для модели, которая бы учитывала основные особенности реакции, осуществлённой экспериментально в [3], выполним более детальный анализ процесса эпимеризации, соотнося его с вышеуказанными стадиями ферментативного катализа.

В рассматриваемом случае считаем, что стадия 1 достаточно быстрая (не лимитирующая), так как имеет место значительный избыток субстрата над ферментом, то есть в непосредственной близости от фермента всегда имеется субстрат.

На стадии 2 глюкоза размещается в полости активного центра белка, так что оказывается нековалентно связанной с белком по своим атомам углерода C3, C4, C5, C6 благодаря кулоновским и ван-дер-ваальсовским силам во внутренней полости активного центра. Оставшиеся атомы глюкозы C1 и C2 не связываются с белком.

Отдельно следует отметить ту роль, которую играют катионы металлов и их комплексы в активации ES-комплекса. Эти катионы не только выполняют функцию стабилизаторов молекулы субстрата, активного центра фермента и конформации белковой молекулы фермента, но и необходимы для каталитической активности Con A, облегчая присоединение к нему субстрата и протекание химической реакции. Деметаллизованный Con A не обладает способностью присоединять углеводы [6]. В данном случае речь идет о катионах Ca²⁺ и Mn²⁺, входящих в состав активных центров Con A и выполняющих роль кофакторов, и катионе Er³⁺, который находится в растворе и выполняет функцию фотосенсибилизирующего агента. Отметим также, что ErCl₃ является кислотой Льюиса и, следовательно, проявляет себя в качестве кофермента. Таким образом, предполагается, что гидратированный комплекс ErCl₃, находясь в зоне формирования ES-комплекса, входит в его состав. Белок Con A при pH=5 остаётся в целом электронейтральным, также электронейтрален и комплекс ErCl₃, что не препятствует их сближению. На достаточно близком расстоянии от поверхности белка (порядка 5–10 Å) подвижный гидра-

тированный комплекс в составе катиона Er^{3+} , шести молекул воды и трех анионов Cl^- начинает вступать в ван-дер-ваальсовские и кулоновские взаимодействия как с активным центром, включающим Ca^{2+} и Mn^{2+} , так и с участком связывания α -аномера D-глюкозы. Будучи подвижным, гидратированный комплекс ErCl_3 способен занять оптимальное положение между входом в полость активного центра белка и местом выхода на поверхность белка полярных аминокислотных остатков, окружающих катионы активного центра, дополнительно минимизируя энергию ES-комплекса. Таким образом, помимо своей основной функции – фотосенсибилизирующего агента, ErCl_3 будет давать дополнительный вклад в стабилизацию ES-комплекса в целом.

Стадия 3 завершается активацией образовавшегося ES-комплекса. При этом образовавшиеся на стадии 2 переходные комплексы белок-глюкоза высокоэнергетичны (состояние с энергией активации E_a соответствует положению 1 на рис. 3), затем они стабилизируются за счёт низкочастотных колебаний самого белка и взаимодействий молекул белка и глюкозы с полярным окружением. На рис. 3 схематически представлен потенциальный профиль данной реакции для одного активного центра, через E_a обозначена энергия активации без катализатора, E_a' и E_a'' – энергии активации для образовавшегося промежуточного активированного соединения и его распада на свободные фермент (Con A) и продукт (эпимер) соответственно.

Тем самым происходит конформационная перестройка в области активного центра белка и перераспределение электронной плотности в окружении иммобилизованной молекулы глюкозы. Стабилизированный активированный комплекс (положение 2 на рис. 3) энергетически более выгоден и соответствует новой конформации белка в области активного центра, вызванной электрон-конформационными взаимодействиями [11].

На завершающей стадии 4 реакции глюкоза из состояния, связанного в субстрат-ферментном комплексе, преобразуется в продукт-ферментный с последующим быстрым распадом на свободный фермент и свободный продукт, преодолевая существенно пониженный барьер E_a'' (как показано на рис. 3). В нашем случае имеются три различных продукт-ферментных комплекса (каждый из них, конечно, описывается своей координатой реакции, соответствующей эпимеризации глюкозы на одном из центров – C2, C3 или C4, но качественное описание при этом не меняется). При этом каждый из каналов образования продукт-ферментного комплекса нами рассматривается как независимый. Скорости

обратных реакций для продуктов в данной модели считаются пренебрежимо малыми и не учитываются.

Дополнительная энергия для активации фермент-субстратного комплекса безызлучательно передаётся с фоточувствительного центра (гидратированная соль хлорида эрбия) на ближайший из активных центров фермента. Предполагается, что перенос энергии осуществляется по механизму Фёрстера. Существенным для реализации такого переноса энергии является то, что ниже значений энергии в $15\,840\text{ см}^{-1}$, соответствующей кванту энергии He-Ne лазера, у переходных металлов (таких как ион Mn^{2+}) могут быть задействованы $d-d$ переходы. Возбуждение, полученное активным центром, передается на лиганды иона Mn^{2+} , а через колебания лигандов – на связи глюкозы в полости активного центра Con A. При этом возбуждаются колебания по координате реакции (состояние 2 на рис. 3), тем самым способствуя преодолению барьера E_a'' с последующим выходом эпимеров.

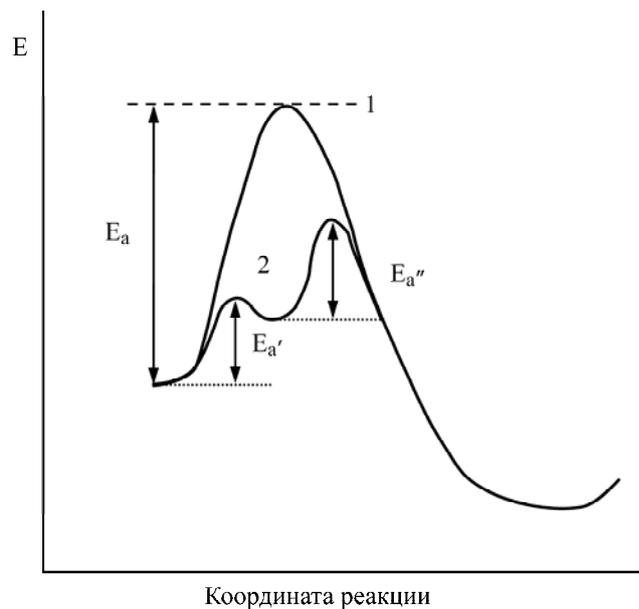


Рис. 3. Схематическое изображение потенциального профиля реакции эпимеризации глюкозы с образованием и последующей стабилизацией активированного фермент-субстратного комплекса на одном из активных центров белка Con A.

Далее за основу берём классическую модель ферментативной кинетики:

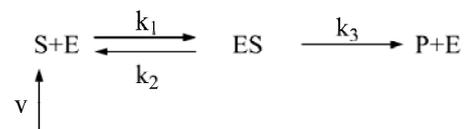


Рис. 4. Общая схема ферментативной реакции.

В этой модели: v – скорость подачи субстрата в раствор, а S , E , ES и P соответственно – субстрат, свободный фермент, фермент-субстратный комплекс и продукт реакции. Данная кинетическая схема предполагает, что константа

скорости обратной реакцией $P+E \rightarrow ES$ пренебрежимо мала.

Предлагаемая модель не учитывает аллостерический эффект, так как он в основном связан с тетрамерной структурой белка, а в рассматриваемом случае Конканавалин А находится в димерной форме, так как среда является кислой [6]. Именно в условиях кислой среды проводился и эксперимент в [3], где использовался ацетатный буфер с $\text{pH}=5$. При этом, как следует из детального анализа в [7, 9, 10], макромолекуле Con A в димерной форме соответствует максимальное расстояние между активными центрами. Таким образом, можно считать, что активные центры не оказывают влияния друг на друга и реакции на каждом из них идут независимо.

Запишем уравнения для величин S , E , ES и P_i , описывающие протекание во времени процесса эпимеризации глюкозы (под S , E , ES и P здесь понимаются концентрации вышеуказанных веществ, а индекс i у P нумерует эписмеры глюкозы):

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= \nu + k_2 ES - k_1 S \cdot E, \\ \frac{dE}{dt} &= k_2 ES - k_1 S \cdot E + k_3 ES, \\ \frac{dES}{dt} &= -k_2 ES + k_1 S \cdot E - k_3 ES, \\ \frac{dP_i}{dt} &= k_3^i ES. \end{aligned} \quad (1)$$

Реализованная согласно схеме на рис. 4 система уравнений (1) является полной и адекватно описывает исследуемый процесс во времени. Отметим, что первые три уравнения в (1) можно решать как отдельную систему, так как переменные P_i не входят в них.

Из уравнений (1) следует, что $\frac{d(E+ES)}{dt} = 0$.

Следовательно, обозначив $E+ES = \text{const} = E_0$, можно выразить концентрацию свободного фермента и записать упрощенную систему в виде

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= \nu + k_2 ES - k_1 S(E_0 - ES), \\ \frac{dES}{dt} &= -ES(k_2 + k_3) + k_1 S(E_0 - ES). \end{aligned} \quad (2)$$

Отметим, что выражение (2) можно упростить, выделив медленную и быструю переменную, так как в моделируемой системе концентрация субстрата много больше, чем концентрация фермента $E_0 \ll S_0$. Для этого следует перейти к новым переменным:

$$x = \frac{S}{S_0}, \quad y = \frac{ES}{E_0}, \quad (3)$$

где под S_0 и E_0 подразумеваются концентрации субстрата и свободного фермента в начальный момент времени соответственно.

Упрощенная система уравнений (2) с учётом $\frac{E_0}{S_0} \ll 1$ и $S \approx S_0$ имеет вид

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= -k_1 x E_0 (1-y) + \frac{k_2 E_0 y}{S_0} + \frac{\nu}{S_0}, \\ \frac{E_0}{S_0} \frac{dy}{dt} &= k_1 x E_0 (1-y) - \frac{(k_2 + k_3) E_0 y}{S_0}. \end{aligned} \quad (4)$$

Далее можно разделить систему уравнений (4) на медленную (первое уравнение) и быструю (второе уравнение) системы. Затем, используя условие квазистационарности, получить кинетическое уравнение для каждой из них отдельно. При этом решение системы нетрудно представить аналитически, однако в данном случае мы не будем делать дальнейших упрощений и решим исходную систему уравнений (1) численно. В численном расчёте используется константа Михаэлиса-Ментен $K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$,

которая для случая ферментативной реакции с глюкозой в качестве субстрата может быть оценена из литературы [12] как величина порядка 0,1. Более того, из экспериментальных данных [3] может быть получена оценка $k_3 = \frac{2}{3} k_2$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для численного решения системы кинетических уравнений модели сделаем некоторые важные уточнения, вытекающие из специфики поставленной задачи и экспериментальных данных:

1 – скорость подачи субстрата в раствор ν была взята равной 0.

2 – как было указано выше, D-глюкоза в растворе представляет равновесную смесь α - и β -аномеров в соотношении 36–38% и 64–62% соответственно. Причём из них только α -форма существенна в реакции эпимеризации на Конканавалине А в силу специфики этого лектина [6]. Поэтому в качестве субстрата рассматривается только α -D-глюкоза (α -D-манноза не рассматривается в качестве конкурентного субстрата в силу малости её концентрации на всём протяжении реакции). Если учесть тот факт, что в растворе вследствие расхода α -аномеров D-глюкозы в связи с преобразованием её в эписмеры будет происходить мутаротация β -аномеров в α -аномеры из-за смещения равновесия между этими формами, то некоторое количество β -D-глюкозы будет превращено в α -D-глюкозу за время течения реакции эпимеризации. Исходя из этого соображения для численного расчёта в системе уравнений (1) количество α -D-глюкозы взято равным 40% от

общего объёма D-глюкозы, что соответствует суммарному выходу эпимеров, указанному в [3]. Отметим, что пополнение субстрата (α -D-глюкозы) за счет β -D-глюкозы можно было учесть не только оценочно, исходя из данных эксперимента [3], но и аналитически, дополнив систему уравнений (1) еще одним уравнением для скорости подачи субстрата v . При этом следует полагать, что величина v равна произведению концентрации β -D-глюкозы на константу скорости мутаротации β -аномеров в α -аномеры. Для эпимеров глюкозы мутаротация не учитывалась, так как они имеют заметно меньшие скорости этого процесса и начальные концентрации для них равны нулю.

3 – отношение начальной концентрации свободного фермента (Con A) к начальной концентрации субстрата (α -D-глюкоза) взято из [3] и составляет 1:100, а начальная концентрация глюкозы взята для модельного расчёта равная 4000.

Таким образом, в теоретической части работы был выполнен подробный анализ реакции эпимеризации, на основе которого в итоге получена модельная система кинетических уравнений. На рис. 5 представлены результаты численного расчёта, выполненного для системы кинетических уравнений (1) с соответствующими начальными условиями и константами скоростей, оценёнными согласно известным экспериментальным данным, как было отмечено выше.

Кинетические кривые на рис. 5 для наглядности взяты в разных масштабах: 1, 3, 4 и 5 – в масштабе 1 к 20, а кривая 2 – 1 к 1.

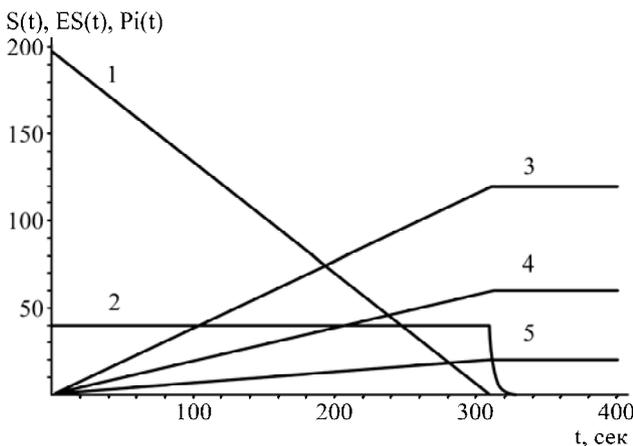


Рис. 5. Кинетические кривые для концентраций глюкозы (1), промежуточного активированного комплекса (2), эпимеров глюкозы: аллозы (3), галактозы (4), маннозы (5).

Анализируя полученные кинетические кривые, можно сделать следующие выводы.

За время порядка 300 секунд концентрация α -D-глюкозы становится практически равной 0, и суммарный выход эпимеров составляет 40% от

общего количества D-глюкозы, при этом для концентраций её эпимеров (аллозы, галактозы и маннозы) имеем соответственно 60, 30 и 10% от их суммарного выхода. Результаты расчёта находятся в согласии с данными эксперимента [3].

Важно также обратить внимание на поведение зависимости во времени концентрации промежуточного комплекса. Образование и активация ES-комплекса происходят на временах порядка микросекунд, так что его концентрация принимает значение, соответствующее практически полному связыванию с субстратом всех ферментов в растворе (данный временной масштаб на рис. 5 не позволяет наглядно отобразить столь быстрый рост кривой 2). Затем концентрация активного промежуточного комплекса остаётся практически неизменной. Это соответствует постоянным скоростям эпимеризации в каждом из каналов реакции, в итоге давая указанный суммарный выход эпимеров. Таким образом, процесс эпимеризации идет квазистационарно почти на всём указанном временном интервале. Выход концентраций эпимеров на насыщение происходит практически одновременно и достаточно быстро, при этом концентрация промежуточного комплекса соответственно уменьшается до нуля. В свою очередь это связано с полным израсходованием субстрата (α -D-глюкозы) в растворе за рассматриваемый промежуток времени.

ВЫВОДЫ

Предложена достаточно простая кинетическая модель, описывающая фотоиндуцированную реакцию эпимеризации глюкозы в поле лазерного излучения с участием гликопротеина Конканавалина А и соли хлорида эрбия. Как показал выполненный в работе детальный анализ имеющихся экспериментальных данных, моделирование реакции эпимеризации может с успехом быть выполнено по классическим схемам ферментативного катализа. Сформулированная модель является, по сути, минимальной моделью, так как в ней задействовано минимальное количество возможных параметров. При этом результаты численных расчётов, полученные в рамках представленной модели, согласуются с данными эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hiroyuki Tamura, Rocco Martinazzo, Matthias Ruckebauer and Irene Burghardt. Quantum Dynamics of Ultrafast Charge Transfer at an Oligothiophene-fullerene heterojunction. *J Chem Phys.* 2012, **137**, 22A540.
2. Березин И.В., Мартинек К. *Физическая химия ферментативного катализа*. М.: Высшая школа, 1977. 280 с.

3. Chudnovskii V.M., Yusupov V.I., Kurika A.V., Glazunov V.P. Photoinduced Enzymatic Glucose Epimerization. *Biophysics*. 2003, **48**(3), 402–403.
4. Игнатов В.В. Углеодоузнающие белки. *СОЖ*, 1997, (2), 14–21.
5. Степаненко Б.Н. *Химия и биохимия углеводов (полисахариды): Учеб. пособие для вузов*. М.: Высшая школа, 1978. 256 с.
6. Овчинников Ю.А. *Биоорганическая химия*. М.: Просвещение, 1987. 816 с.
7. Gerald M. Edelman, Bruce A. Cunningham, George N. Reeke, jr., Joseph W. Becker, Myron J. Waxdal and John I. Wang. The Covalent and Three-dimensional Structure of Concanavalin A. *PNAS*. 1972, **69**(9), 2580–2584.
8. Magnuson J.A., Alter G.M., Appel D.M., Christie D.J., Munske G.R. and Pandolfino E.R. Metal Ion Binding to Concanavalin A. *J Biosci*. 1983, **5**(1), 9–17.
9. Лобсанов Ю.Д., Плетнев В.З. Структура углевод-содержащего комплекса лектина гороха при разрешении 1,8 Å. *Биоорганическая химия*. 1993, **19**(1), 122–125.
10. Лобсанов Ю.Д., Плетнев В.З., Мокульский М.А. Рентгеноструктурные исследования комплекса лектина из гороха с углеводом при разрешении 2,4 Å. II. Металл- и углеводсвязывающий центры. Модель взаимодействия лектина с углеводом. *Биоорганическая химия*. 1990, **16**(12), 1599–1606.
11. Волькенштейн М.В. *Молекулярная биофизика*. М.: Наука, 1975. 616 с.
12. Han Seung Lee, Juan Hong. Kinetics of Glucose Isomerization to Fructose by Immobilized Glucose Isomerase: Anomeric Reactivity of D-glucose in Kinetic Model. *J Biotechnol*. 2000, **84**, 145–153.

Поступила 20.11.12

После доработки 16.07.13

Summary

In the frame of the formal chemical kinetics for the description of the available experimental data on photo-induced epimerization reaction of the glucose a minimal model is formulated. The epimerization reaction has a yield of the reaction products in the form of glucose epimers: allose, galactose and mannose. Modeling of the kinetics of epimerization reaction is based on the classical scheme of the enzymatic reaction. The effect of laser radiation is considered as an additional contribution to the activation of the intermediate complex. On the basis of the kinetic model the numerical calculation and data analysis are carried out. The results of the simulated epimerization reaction for the relative concentrations of glucose epimers in the percentage terms are in line with those observed in the experiment.

Keywords: laser radiation, chemical kinetics, D-glucose epimerization reaction, protein Concanavalin A, α - and β -anomers of glucose.