

УДК 577.2.01:(57.052.2+577.322.23+577.322.54)

АНАЛИЗ МОДЕЛЕЙ КООПЕРАТИВНОГО СВЯЗЫВАНИЯ КИСЛОРОДА ГЕМОГЛОБИНОМ

© 2021 г. И.А. Лавриненко*, Г.А. Вашанов*, В.Ю. Сулин*, Ю.Д. Нечипуренко**

*Воронежский государственный университет, 394018, Воронеж, Университетская площадь, 1

**Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

E-mail: lavrinenko_ia@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 14.05.2021 г.

После доработки 26.07.2021 г.

Принята к публикации 27.07.2021 г.

Дан обзор наиболее известных моделей, описывающих связывание гемоглобина с кислородом. Предложен подход, позволяющий на основе формальных критериев находить оптимальные математические и физические модели кооперативного связывания кислорода гемоглобином. При помощи методов регрессионного и кластерного анализа на основе экспериментальных данных диссоциации оксигемоглобина проведено сравнение основных моделей оксигенации, несущих в своей основе степенную и экспоненциальную зависимости. Показано, что модели Эдера, Бернарда и Хилла, соответствующие степенным функциям, обладают преимуществом в описании связывания олигомерным белком лиганда по сравнению с моделями, соответствующими экспоненциальным функциям. Установлено, что последовательная четырехступенчатая модель Кошланда–Немети–Филмера, которая соответствует уравнению Эдера, наилучшим образом позволяет описать экспериментальные данные.

Ключевые слова: гемоглобин, аллостерический эффект, кооперативность, математическая модель кооперативного связывания, изотермы адсорбции, связывание белков с лигандами, регрессионный анализ, кластерный анализ.

DOI: 10.31857/S000630292106003X

Гемоглобин — одна из самых исследованных в молекулярной биологии макромолекул. Именно для гемоглобина было предложено А. Хиллом более ста лет назад знаменитое уравнение, которое описывает кооперативное связывание лигандов с белками [1, 2]. На примере этой молекулы Ж. Мона развил теорию аллостерических взаимодействий [3–6], лежащих в основе многих процессов регуляции биологической активности макромолекул. Под аллостерической регуляцией понимают такой тип регуляции, когда связывание одной молекулы лиганда в одном месте белка влияет на связывание другой молекулы в другом месте (в этом смысле аллостерические взаимодействия можно считать частным случаем более общих кооперативных эффектов, которые проявляются также и в виде «контактных» взаимодействий сближенных в пространстве центров связывания лиганда [7, 8]). До сих пор многие аспекты функционирования гемоглобина остаются неясными. Четыре его каталитически активные субъединицы способны связывать различные лиганды. Этот

гетеротетрамер может управлять базовыми функциями входящих в его состав мономеров за счет кооперативных эффектов (см., например, работы [9, 10]). Особый интерес в последнее время вызывают альтернативные и дополнительные функции гемоглобина [11]. Однако и само явление кооперативного связывания кислорода гемоглобином, которое является классическим примером аллостерических взаимодействий, нельзя считать изученным в должной степени, чтобы могли выбрать сейчас одну из многих теоретических моделей его описания. Согласованная работа субъединиц макромолекулы реализуется именно за счет их кооперативного взаимодействия. Высокая функциональная адаптивность гемоглобина к условиям среды организма достигается за счет тонкой подстройки его элементов, работающих как единое целое [12–14]. Формальное описание взаимодействия гемоглобина с лигандами не соответствует уравнению Михаэлиса–Ментен [15, 16]. Именно благодаря кооперативности возникают нелинейные эффекты, описание которых для такой системы проводится посредством самых разных подходов: концептуальных моделей взаимодействия «белок–лиганд», химических ре-

Сокращение: КДО — кривая диссоциации оксигемоглобина.

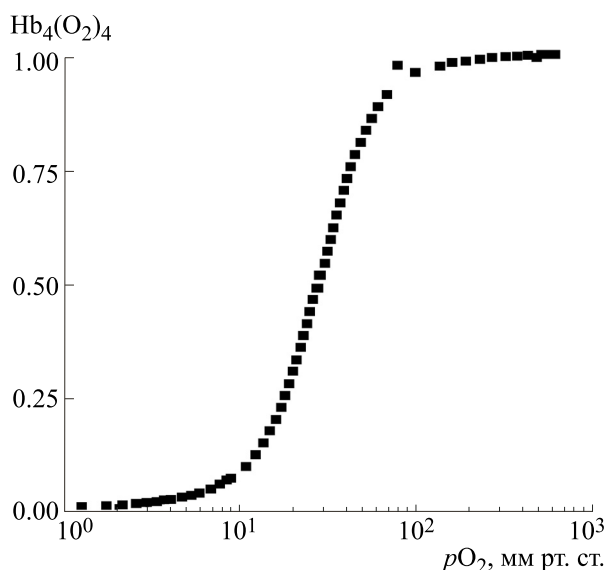


Рис. 1. Экспериментальные точки кривой диссоциации оксигемоглобина (по данным работы [24]). $\text{Hb}_4(\text{O}_2)_4$ — тетрамер молекулы оксигемоглобина, $p\text{O}_2$ — парциальное давление кислорода.

акций, а также регрессионных моделей. Заметим, что такие подходы в ряде случаев не имеют физического смысла [17–19]. Существует целый ряд различных описаний кооперативных эффектов в молекуле гемоглобина, однако связь между соответствующими моделями в настоящий момент не выявлена и критерии, позволяющие выбрать адекватную (или наилучшую) модель не развиты. Этот вопрос, на наш взгляд, требует специального изучения (см. работы [20, 21]).

Ранее в работе [22] были предложены критерии оценки регрессионных моделей связывания кислорода гемоглобином [23], здесь мы рассматриваем широкий класс моделей, описывающих связывание кислорода гемоглобином, и проводим систематизацию подходов, развитых в этой области.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объектов исследования были использованы модели связывания кислорода гемоглобином, анализ которых проводили численными методами на основе экспериментальных данных, опубликованных в работе [24], как одних из наиболее полных и точных известных результатов измерений представленной функциональной зависимости (рис. 1).

Для устранения случайных ошибок измерений эти данные были подвергнуты цифровой обработке с применением алгоритмов кусочно-полиномиального сглаживания (массив 1) [25] и с по-

мощью глобально аппроксимирующих полиномов (массив 2) [26].

Устойчивость решения задачи моделирования кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) оценивали по вышеприведенным массивам, а также по исходным данным (массив 3) [24].

Оптимизация параметров моделей проведена методом наименьших квадратов [27]. Оценка степени соответствия модели экспериментальным данным осуществлена через коэффициент детерминации [28]. Формальная классификация объектов-моделей реализована с помощью кластерного анализа [29].

Необходимые вычисления выполнены в процессоре электронных таблиц MS Excel с модулем Visual Basic for Applications (VBA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описание (обзор) моделей связывания кислорода гемоглобином. Отправной точкой в хронологии построения математических моделей взаимодействия гемоглобин-кислород стало уравнение Гюфнера (1890 г.) [30], описывающее процесс оксигенации как химическую реакцию первого порядка:



$$y = \frac{\text{HbO}_2}{\text{Hb} + \text{HbO}_2} = \frac{kp}{1 + kp} = \frac{p}{k^{-1} + p} = \frac{p}{p_{50} + p}, \quad (2)$$

где Hb — дезоксигемоглобин, O_2 — кислород, HbO_2 — оксигемоглобин, α и β — кинетические коэффициенты прямой и обратной реакции, y — степень насыщения гемоглобина кислородом, p — парциальное давление кислорода, $k = \alpha/\beta$ — константа равновесной реакции, k^{-1} — обозначаемая далее, как p_{50} — давление кислорода при $y = 50\%$.

Данная модель не способна объяснить S-образный характер КДО и может быть использована только при расчетах связывания кислорода миоглобином или отдельной субъединицей молекулы гемоглобина, а также служить основой при построении уравнений, учитывающих кооперативный эффект.

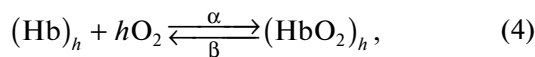
Следует также отметить, что уравнения Гюфнера, Лэнгмюра [31] и Михаэлиса–Ментен [32, 33] по сути эквиваленты друг другу, так как описывают сходные физические процессы:

$$\frac{kp}{1 + kp} = \frac{p}{p_{50} + p} = \frac{k'C}{1 + k'C} = \frac{C}{K'' + C} = \frac{[S]}{K_m + [S]}, \quad (3)$$

где k' — адсорбционная константа, K'' — константа адсорбционного равновесия ($1/k'$), C — равновесная концентрация адсорбата в уравнении

Лэнгмюра, $[S]$ — концентрация субстрата и K_m — константа Михаэлиса в одноименном уравнении.

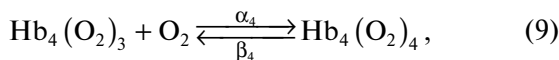
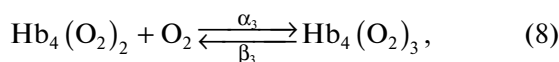
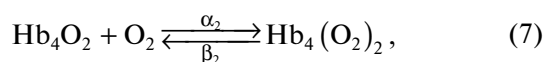
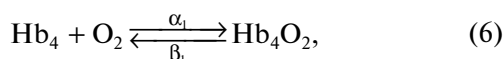
Уравнение Хилла (1910 г.) [1, 2] опирается на модель, которая представляет собой молекулу гемоглобина в виде полимера, состоящего из h субъединиц и связывающего одновременно h молекул O_2 . В этом случае процесс оксигенации рассматривается как реакция h -го порядка:



$$y = \frac{(kp)^h}{1 + (kp)^h} = \frac{p^h}{k^{-h} + p^h} = \frac{p^h}{p_{50}^h + p^h} = \frac{(p/p_{50})^h}{1 + (p/p_{50})^h}, \quad (5)$$

где h — константа Хилла.

Г. Эдером (1925 г.) [34] была предложена основанная на гипотезе промежуточного насыщения гемоглобина кислородом модель, в которой связывание лиганда осуществляется последовательно в четыре этапа:



$$y = \frac{a_1 p + 2a_2 p^2 + 3a_3 p^3 + 4a_4 p^4}{4(1 + a_1 p + a_2 p^2 + a_3 p^3 + a_4 p^4)}, \quad (10)$$

где $a_1 = k_1$, $a_2 = k_1 k_2$, $a_3 = k_1 k_2 k_3$, $a_4 = k_1 k_2 k_3 k_4$ — коэффициенты Эдера, $k_i = \alpha_i / \beta_i$ ($i = 1, 2, 3$ и 4) — константы равновесия реакций, Hb_4 — тетрамер гемоглобина.

Основываясь на гипотезе Ваймана—Аллена [35], предполагающей одновременное присоединение двух молекул кислорода к молекуле гем-белка, С. Бернард (1960 г.) [36] предложил уравнение оксигенации вида:

$$y = \frac{0.5a(p/p_{50})^2 + (p/p_{50})^4}{1 + a(p/p_{50})^2 + (p/p_{50})^4}, \quad (11)$$

где a — некоторый постоянный кинетический коэффициент. Данная модель в принципе является комбинированным вариантом уравнений Хилла и Эдера.

Основой для отмеченных (и родственных с ними) математических уравнений служит представление о взаимодействии лигандов с белком в рамках закона действующих масс как обобщенной химической модели, опирающейся на степенную функцию n -го порядка.

Рассматриваются альтернативные модели связывания кислорода гемоглобином, базирующиеся на постулировании переходного процесса, к которому неприменим данный закон [37–40]. При этом скорость оксигенации гемопротеида определяется показательной (экспоненциальной) функцией, аргументом (показателем степени) которой является парциальное давление кислорода.

Исходя из этих представлений, И. Высочина (1963 г.) [37] предложила уравнение следующего вида:

$$y = 1 - \left[1 + bp + \frac{(bp)^2}{2} + \frac{(bp)^3}{3} \right] \exp(-bp), \quad (12)$$

где b — переменный кинетический коэффициент.

Опираясь в своей основе на уравнение Гюфнера и предполагая, что константа связывания лиганда является функцией степени деформации макромолекулы белка, экспоненциально зависящей от $p\text{O}_2$, П. Подрабинек и П. Каменский (1968 г.) [38] представили свою модель:

$$y = \frac{\alpha p \exp(\lambda p)}{1 + \alpha p \exp(\lambda p)}, \quad (13)$$

где α и λ — постоянные положительные кинетические коэффициенты, а $k = \alpha \exp(\lambda p)$ — константа равновесия реакции.

Этот подход сродни подходу Ч. Тенфорда [41], на основе которого рассматриваются модели адсорбции свободных лигандов на молекуле нуклеиновой кислоты с ее частично заполненными центрами связывания этих лигандов.

Уравнение, представленное Ю. Кисляковым (1975 г.) [39], выглядит следующим образом:

$$y = \left[1 - \exp\left(-\frac{bp}{10}\right) \right]^{\frac{1}{b}}, \quad (14)$$

где b — кинетический коэффициент, равный $a_0 + a_1 z + a_2 z^2$, a_0, a_1, a_2 — постоянные кинетические коэффициенты.

Функция, предложенная М. Ханиным с соавторами (1978 г.) [40], аналогична предыдущим и имеет следующий вид:

$$y = 1 + \delta_1 \exp(-\delta_2 p), \quad (15)$$

где δ_1 и δ_2 — постоянные кинетические коэффициенты.

Анализ моделей кооперативного связывания кислорода гемоглобином. Можно оценить точность аппроксимации экспериментальной кривой диссоциации оксигемоглобина математическими функциями, имеющими в той или иной степени физический смысл, где в качестве крите-

рия соответствия выступает коэффициент детерминации (R^2).

Так как экспериментальные данные практически всегда содержат определенную долю случайных ошибок, которые в принципе могут качественно изменить трактовку результатов эксперимента, нами была выполнена двухступенчатая фильтрация исходных значений КДО.

На первом этапе были устранены так называемые «выбросы точек». Невязка в более чем 1% между исходным единичными экспериментальными точками кривой и ее аппроксимацией неоднородными рациональными В-сплайнами третьего порядка исключала эти точки из дальнейшей обработки [42–44]. Таких точек было всего две из 65. Следующий шаг включал в себя сглаживание кусочно-полиномиальным фильтром Савицкого–Голея третьего порядка. Этот фильтр является развитием метода скользящего среднего, что делает его простым, доступным и популярным инструментом при решении ряда аналогичных задач [45, 46]. Полученные после цифровой фильтрации данные были передискретизированы к равномерному шагу сетки в 0.5 мм рт. ст. в диапазоне парциального давления O_2 0–622.5 мм рт. ст. с суммарным количеством точек 1246 (массив 1).

Ранжирование функций выполнено по степени убывания значения величины R^2 (табл. 1). Как следует из представленных данных, в списке аппроксимаций с существенным отрывом лидируют функции, несущие в своей основе степенную зависимость, за ожидаемым исключением уравнения Гюфнера, являющегося базовой моделью.

Близость величин R^2 для моделей Эдера, Бернарда и Хилла в совокупности с общностью в представлении ими процесса оксигенации может косвенно указывать на характер присоединения кислорода гемоглобином, а именно на его ступенчатость, обусловленную структурными перестройками макромолекулы белка при связывании ею лигандов в ходе равновесных реакций.

При этом используемый в построении альтернативных моделей подход, основанный на экспоненциальной зависимости, в совокупности с разбросом значений коэффициента детерминации в группе уравнений 4–7 (табл. 1) также, на наш взгляд, опосредованно (методом исключения) это подтверждает.

С целью формализованного соотнесения рассматриваемых аппроксимирующих функций к тому или иному типу физических (и соответственно математических) моделей нами была проведена классификация данных объектов по критерию R^2 методом кластерного анализа по принципу «ближайшего соседа», где дистанция между объектами определялась через обычную евклидову метрику (рис. 2а). Следует также отме-

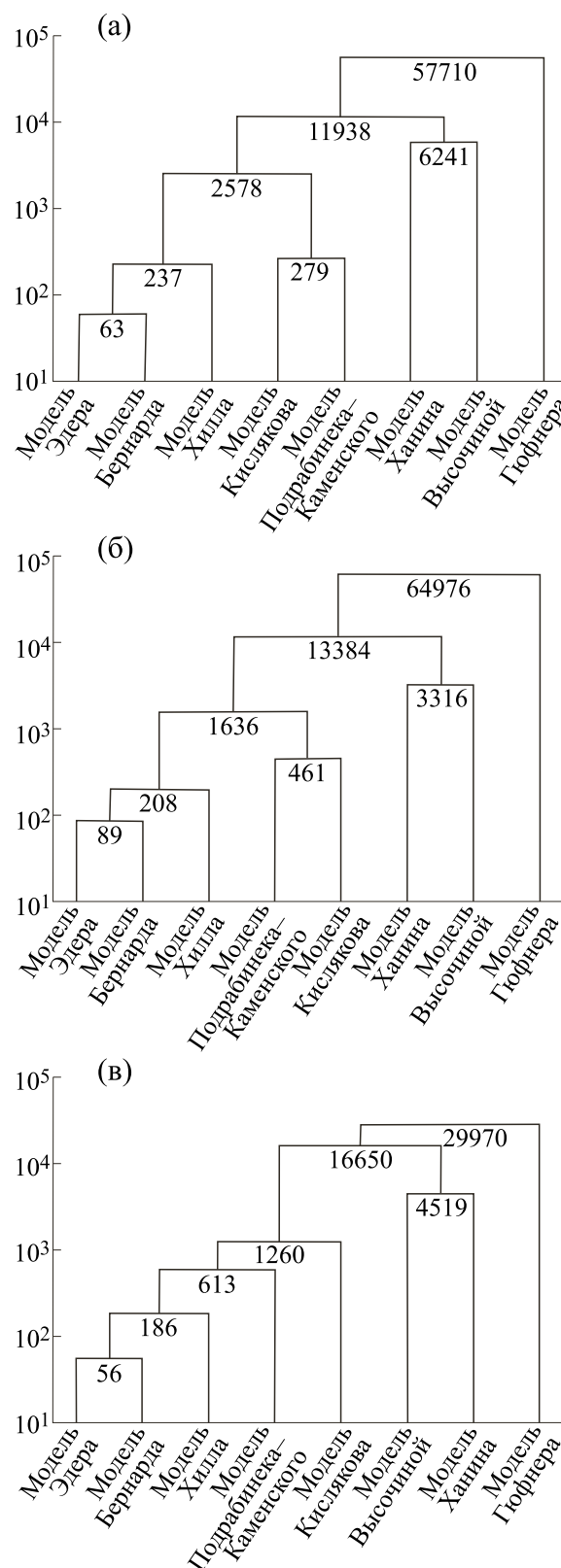


Рис. 2. Дендрограмма (матрица расстояний) распределения некоторых моделей кривой диссоциации оксигемоглобина для массивов 1 (а), 2 (б) и 3 (в).

Таблица 1. Аппроксимирующие КДО функции, имеющие физический смысл (данные по массиву 1)

№	Модель (уравнение)	R^2 , ppm	Число констант
1	Модель Эдера	999686	4
2	Модель Бернарда	999623	2
3	Модель Хилла	999386	2
4	Модель Кислякова	996808	1
5	Модель Подрабинека—Каменского	996529	2
6	Модель Ханина	984591	2
7	Модель Высочиной	978350	1
8	Модель Гюфнера	920640	1

Примечание — здесь и далее в таблицах значения R^2 приведены в миллионных долях (ppm).

тить, что анализ на основе «дальнего соседа» принципиально не меняет картину дендрограммы, т.е. качество кластеризации при использовании данных методов присоединения кластер-объектов не страдает.

Нами были последовательно рассмотрены особенности группировки в кластеры исследуемых математических моделей, исходя из характера их аналитического представления по мере уменьшения дистанции между объектами.

Исходно на дистанции 57710 точек наблюдается дихотомия между группами моделей 1–7 и группой 8 (табл. 1), состоящей всего из одного объекта (уравнение Гюфнера). И хотя известно, что данная модель не может описать кооперативность процесса оксигенации, кластерный анализ наглядно и математически формально это подтверждает (рис. 2а).

Уменьшение дистанции до 11938 точек показывает разделение оставшихся моделей на два подкластера (листья кластера). Кластер с расстоянием между объектами в 6241 точку представляет собой уравнения Ханина и Высочиной. Сходство этих аппроксимаций обусловлено составляющей уравнения вида: $a \exp(-bp)$, где a и b — кинетические коэффициенты, а p — парциальное давление кислорода.

Другой кластер (2578 точек) содержит в себе модели 1–5 (табл. 1). Близость данных объектов формально указывает на большую эффективность применения степенных уравнений в описании процесса оксигенации. Так, уравнение Кислякова, несмотря на свою экспоненциальную природу, имеет показатель степени вида b^{-1} , а модель Подрабинека–Каменского, как уже отмечалось, построена на соотношении вида: $kpn/(1 + kpn)$, где $n = \exp(\lambda p)$.

Небольшая дистанция (279 точек) между объектами-уравнениями 4 и 5 показывает на их общность в части содержания в них экспоненциальной составляющей, но не на высокую степень соответствия экспериментальным данным.

Подкластер с дистанцией между объектами в 237 точек представляет собой семейство степенных моделей: Эдера, Бернарда и Хилла, что усиливает версию о процессах связывания лигандов как химической реакции n -го порядка.

Тогда возможно ассоциировать эти математические аппроксимации с физическими моделями: уравнение Эдера может быть связано с моделью Кошланда—Немети—Филмера [47], так как рассматривает последовательное присоединение лигандов (асимметричная модель), уравнение Бернарда (гибридное решение) — модель Ваймана—Аллена [48], а уравнение Хилла — модель Моно—Уаймена—Шанжэ (симметричная модель) [3].

Кластер из этих объектов распадается на два подкластера: уравнение Эдера и Бернарда (с дистанцией между объектами 63 точки) и уравнение Хилла. Уравнение Хилла проигрывает остальным по значению R^2 . Аппроксимация Бернарда входит в один кластер с аппроксимацией Эдера, что означает их сходство в описании по состояниям последовательности присоединения лиганда. Так как значение R^2 для уравнения Эдера максимально из рассмотренных зависимостей, то на основании формального подхода преимуществом в описании связывания лигандов макромолекулой будет обладать модель Кошланда—Немети—Филмера с математической проекцией в виде уравнения Эдера.

В следующем варианте эксперимента исходные данные были непосредственно аппроксимированы полиномом вида:

Таблица 2. Аппроксимирующие КДО функции, имеющие физический смысл (данные по массиву 2)

№	Модель (уравнение)	R^2 , ppm	Число констант
1	Модель Эдера	999548	4
2	Модель Бернарда	999340	2
3	Модель Хилла	999251	2
4	Модель Подрабинека-Каменского	997615	2
5	Модель Кислякова	997154	1
6	Модель Ханина	983770	2
7	Модель Высочинной	980454	1
8	Модель Гюфнера	915478	1

$$y = \frac{a + b_1 \ln p + b_2 (\ln p)^2 + b_3 (\ln p)^3 + b_4 (\ln p)^4}{1 + c_1 \ln p + c_2 (\ln p)^2 + c_3 (\ln p)^3 + c_4 (\ln p)^4}, \quad (16)$$

где a , b_{1-4} и c_{1-4} — некоторые коэффициенты, а p (>0) — парциальное давление кислорода. Этот подход позволяет, на наш взгляд, оценить влияние как промахов эксперимента типа «выброс точки», так и систематической ошибки аппроксимации на устойчивость решения задачи численного моделирования. Полином был подобран таким образом, чтобы не вносить значимых преимуществ в пользу уравнений Эдера, Бернарда или Хилла относительно оставшихся моделей, и включал в себя как степенные, так и логарифмические преобразования. Коэффициент детерминации для него составил 999918 ppm, что выше, чем для любой из представленных регрессионных моделей. Это обстоятельство, по нашему мне-

нию, является формальным подтверждением адекватности выбранного аппроксимирующего полинома. Увеличение степени полинома от 4 и выше повышает, естественно, величину R^2 , однако в таком случае он приближается к интерполирующему полиному, аналогично, например, вышшим полиномам Фурье и Чебышёва [49].

Полученные численные значения, аналогичные предыдущему эксперименту, также были передискретизированы к равномерному шагу сетки в 0.5 мм рт. ст. с общим количеством точек 1246 (массив 2), что позволяет сопоставлять результаты вычислений R^2 от массивов 1 и 2.

Как следует из представленных данных (табл. 2), наличие операции логарифмирования в составе полинома ожидаемо приводит к некоторому уменьшению значений R^2 относительно

Таблица 3. Аппроксимирующие КДО функции, имеющие физический смысл (данные по массиву 3)

№	Модель (уравнение)	R^2 , ppm	Число констант
1	Модель Эдера	999545	4
2	Модель Бернарда	999489	2
3	Модель Хилла	999303	2
4	Модель Подрабинека-Каменского	998690	2
5	Модель Кислякова	997430	1
6	Модель Высочинной	980780	1
7	Модель Ханина	976261	2
8	Модель Гюфнера	946291	1

предыдущих результатов для степенных уравнений и повышению для уравнений, несущих в своей основе экспоненциальную функцию (табл. 1), за исключением регрессионной модели Ханина. Однако это практически не влияет на ранжирование исследуемых регрессионных моделей. Изменения произошли только в позициях 4 и 5 (табл. 1 и 2). В текущем случае уравнение Подрабинека—Каменского имеет более высокий коэффициент детерминации относительно уравнения Кислякова. При этом дендрограмма распределения моделей КДО также не претерпевает структурных изменений (рис. 2б).

Следовательно, выбор кусочно-полиномиального сглаживания или глобально аппроксимирующих полиномов в данном случае не меняет общей картины рейтинга функций и характера их кластеризации в дендрограммах, что делает версию о последовательном присоединении лигандов наиболее вероятной.

Вместе с тем в этих исследованиях в качестве эталонных значений КДО были использованы данные, прошедшие цифровую обработку, которая в принципе могла внести артефакты преобразований, изменить значения коэффициентов детерминации, а также расстановку объектов в кластере.

В связи с этим в последующем эксперименте были использованы исходные данные «как есть» (массив 3). Это также позволяет оценить устойчивость предлагаемого алгоритма анализа для данных, содержащих случайные ошибки, и по возможности отказаться от дополнительных математических преобразований.

Результаты исследования представлены в виде рейтинга аппроксимирующих функций (табл. 3). В представленном списке уравнения Высочиной и Ханина поменялись местами, что в принципе не меняет общей картины расстановок, вполне предсказуемо из анализа результатов предыдущих экспериментов и подтверждает корректность наших оценок.

По этим данным был выполнен кластерный анализ (рис. 2в). Как следует из представленных результатов эксперимента, структура дендрограммы практически не претерпела изменений. На дистанции 1260 точек формируются два кластера: объекты 1–4 (табл. 3) и объект 5 (уравнение Кислякова). Относительно предыдущих исследований (массивы 1 и 2): в данном случае наблюдается переход модели Подрабинека—Каменского из кластера, содержащего модель Кислякова, в кластер степенных моделей (Эдера, Бернарда и Хилла). Однако дистанция между кластером, содержащим степенные модели, и текущим объектом достаточно высока (613 точек). Это обстоятельство указывает, прежде всего, как на фактор случайной ошибки, так и некоторую близость в

описании моделью Подрабинека—Каменского кинетики связывания кислорода гем-белком относительно моделей Эдера, Бернарда и Хилла, что уже было отмечено ранее.

Для степенных моделей структура кластера, расположение его листьев, пропорции и абсолютные дистанции между объектами аналогичны предыдущим исследованиям (рис. 2а,б). Следует отметить, что значения величин расстояний между объектами Эдера, Бернарда (56 точек), а также Эдера, Бернарда против Хилла (186 точек) в последнем эксперименте меньше, чем для предыдущих оценок: (63/89 точек) и (237/208 точек) соответственно. Это обусловлено, вероятно, различием в количестве точек сравнения: 1246 точек (массив 1 и 2) против 65 (массив 3). В таком случае дистанция размерностью 613 точек для предыдущих экспериментов, если бы для них в объект-модель Подрабинека—Каменского входил кластер степенных моделей, могла бы быть еще более высокой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опираясь на результаты исследований, показано, что последовательная четырехступенчатая модель связывания олигомерным белком лиганда (т.е. модель Кошланда—Немети—Филмера) наилучшим образом подходит для аппроксимации экспериментальных данных связывания гемоглобином кислорода.

Предложенный в работе подход в оценке эффективности аппроксимации КДО может быть использован также и для решения сходных по своей постановке задач, т.е. тестирования математических моделей, имеющих физический смысл. В конечном итоге это позволяет, на наш взгляд, повысить эффективность поиска наиболее перспективных вариантов в разработке современных молекулярных моделей, а также верификации существующих в исследуемой области шаблонов, моделей и схем. Заметим, что анализ кооперативного связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами [6] также может проводиться подобным образом. Модели, развитые в этой области, в значительной степени перекрываются с моделями, описанными выше [50, 51]. Базовыми математическими построениями в описании связывания лигандов биополимерами здесь являются уравнения Г. Скетчарда [52], позволяющие рассчитать ход изотермы адсорбции, уравнения Р. Сипса [53], где описывается гетерогенное связывание лигандов, а также результаты теоретических исследований Ч. Тенфорда [41], Т. Хилла [54], С. Собера [55], Д. Крозерса [56], в которых сформулирован подход, позволяющий описывать адсорбцию лигандов на линейных полимерах. Следует отметить в этой области исследований работы

А. Заседателева с соавторами [57–63], а также Ландо и Тейфа с соавторами [64–66], в которых развит современный подход к описанию кооперативного связывания протяженных лигандов на линейных матрицах нуклеиновых кислот.

Использованный в данной работе способ оценки эффективности аппроксимации КДО, на наш взгляд, может быть использован также и для решения сходных по своей постановке задач медико-биологического, химического, а также фармацевтического профиля.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы считают своим приятным долгом выразить благодарность Н.Г. Есиповой, Г.Ю. Ризниченко и А.Ф. Топунову за ценные замечания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (темы № 01201363818 и № 01201363820).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. V. Hill, J. Physiol. **40**, i (1910).
2. W. E. L. Brown and A. V. Hill, Proc. Roy. Soc. Biol. **94**, 297 (1923). DOI: 10.1098/rspb.1923.0006
3. J. Monod, J. Wyman, and J. P. Changeux, J. Mol. Biol. **12**, 88 (1965). DOI: 10.1016/s0022-2836(65)80285-6
4. M. F. Perutz, *Mechanisms of cooperativity and allosteric regulation in proteins* (Cambridge University Press, Cambridge – New York, 1990).
5. А. А. Болдырев, Биохимия. **57**, 1433 (1992).
6. Ю. Д. Нечипуренко, *Анализ связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами* (Ин-т компл. исслед. (ИКИ), М.–Ижевск, 2015).
7. D. Whitford, *Proteins: structure and function* (John Wiley & Sons, Chichester, 2005).
8. Н. Абелиович, Biophys. J. **89**, 76 (2005) DOI: 10.1529/biophysj.105.060194
9. М. Н. Ahmed, М. S. Ghatge, and М. K. Safo, Subcell. Biochem. **94**, 345 (2020). DOI: 10.1007/978-3-030-41769-7_14
10. Н. А. Saroff, J. Phys. Chem. **76**, 1597 (1972). DOI: 10.1021/j100655a020
11. О. В. Космачевская, А. Ф. Топунов, Биохимия **84**, 3 (2019). DOI: 10.1134/S0320972519010019
12. G. K. Ackers and J. M. Holt, J. Biol. Chem. **281**, 11441 (2006). DOI: 10.1074/jbc.R500019200
13. N. B. Terwilliger, J. Exp. Biol. **201**, 1085 (1998).
14. A. Szabo, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **75**, 2108 (1978). DOI: 10.1073/pnas.75.5.2108
15. R. T. K. Ariyawansa, B. F. A. Basnayake, A. K. Karunaratna, et al., Sci. Rep. **8**, 16586 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-34675-2
16. W. J. Deal, Biopolymers **12**, 2057 (1973). DOI: 10.1002/bip.1973.360120912
17. O. Siggaard-Andersen, P. D. Wimberley, I. Göthgen, et al., Clin. Chem. **30**, 1646 (1984). DOI: 10.1093/clinchem/30.10.1646
18. W. Eaton, E. Henry, J. Hofrichter, et al., Nat. Struct. Mol. Biol. **6**, 351 (1999). DOI: 10.1038/7586
19. M. Sharan, M. P. Singh, and A. Aminataei, BioSystems. **22**, 249 (1989). DOI: 10.1016/0303-2647(89)90066-x
20. J. Otsuka and T. Kunisawa, Adv. Biophys. **11**, 53 (1978).
21. W. G. Gutheil, Biophys. Chem. **241**, 38 (2018). DOI: 10.1016/j.bpc.2018.07.008
22. И. А. Лавриненко, Г. А. Вашанов и В. Г. Артюхов, Актуальные вопросы биологической физики и химии **1**, 232 (2016).
23. Ю. А. Власов и С. М. Смирнов, *От молекулы гемоглобина — к системе микроциркуляции* (Наука, Новосибирск, 1993).
24. R. M. Winslow, M. Swenberg, R. L. Berger, et al., J. Biol. Chem. **252**, 2331 (1977). DOI: 10.1016/S0021-9258(17)40559-X
25. N. D. Dikumar, Matem. Mod. **27** (9), 89 (2015).
26. А. А. Амосов, Ю. А. Дубинский и Н. В. Копченкова, *Вычислительные методы для инженеров* (Выш. шк., М., 1994).
27. F. M. Dekking, C. Kraaikamp, H. P. Lopenhaa, et al., *A Modern Introduction to Probability and Statistics: Understanding Why and How* (Springer-Verlag, London, 2005). DOI: 10.1007/1-84628-168-7
28. M. H. Katz, *Multivariable Analysis: A Practical Guide for Clinicians and Public Health Researchers* (Cambridge University Press, Cambridge, 2011). DOI: 10.1017/CBO9780511974175
29. L. Kaufman and P. J. Rousseeuw, *Finding Groups in Data: An Introduction to Cluster Analysis* (John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2005). DOI: 10.1002/9780470316801
30. G. Hüfner, Arch. ges. Physiol. **31**, 28 (1890).
31. I. Langmuir, J. Am. Chem. Soc. **38**, 2267 (1916).
32. L. Michaelis and M. L. Menten, Biochem. Z. **49**, 333 (1913).
33. K. A. Johnson and R. S. Goody, Biochemistry. **50**, 8264 (2011). DOI: 10.1021/bi201284u
34. G. S. Adair, A. V. Bock, and H. Jr. Field, J. Biol. Chem. **63**, 529 (1925).
35. J. Wyman and D. W. Allen, J. Polymer Sci. **7**, 499 (1951). DOI: 10.1002/pol.1951.120070506
36. S. R. Bernard, Bull. Math. Biophys. **22**, 391 (1960). DOI: 10.1007/BF02476722
37. И. В. Высочина, Биофизика **8**, 361 (1963).
38. П. А. Подрабенек и И. И. Каменский, Молекуляр. биология **2**, 120 (1968).

39. Ю. А. Кисляков, *Математическое моделирование кровообращения и газообмена в мозгу* (Наука, Ленингр. отд-ние, Л., 1975).
40. М. А. Ханин, Н. Л. Дорфман, И. Б. Бухаров и др., *Экстремальные принципы в биологии и физиологии* (Наука, М., 1978).
41. Ч. Тенфорд, *Физическая химия полимеров* (Химия, М., 1975).
42. С. Т. Kelley, *Iterative Methods for Linear and Nonlinear Equations* (Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM), Philadelphia, 1995). DOI: 10.1137/1.9781611970944
43. J. H. Ahlberg, E. N. Nilson, and J. L. Walsh, *The Theory of Splines and Their Applications* (Academic Press, New York – London, 1967).
44. L. Piegl, *Computer-Aided Design* **21**, 509 (1989). DOI: 10.1016/0010-4485(89)90059-6
45. A. Savitzky and M. J. E. Golay, *Anal. Chem.* **36**, 1627 (1964). DOI: 10.1021/ac60214a047
46. A. Gorry, *Anal. Chem.* **62**, 570 (1990). DOI: 10.1021/ac00205a007
47. D. E. Jr. Koshland, G. Némethy, and D. Filmer, *Biochemistry* **5**, 365 (1966). DOI: 10.1021/bi00865a047
48. J. Jr. Wyman and D. W. Allen, *J. Polym. Sci.* **7**, 499 (1951). DOI: 10.1002/pol.1951.120070506
49. В. К. Дзядык, *Введение в теорию равномерного приближения функций полиномами* (Наука, М., 1977).
50. Ч. Кантор и П. Шиммел, *Биофизическая химия* (Мир, М., 1984).
51. А. Б. Рубин, *Биофизика* (Наука, М., 2004).
52. G. Scatchard, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **15**, 660 (1949).
53. R. Sips, *J. Chem. Phys.* **16**, 490 (1948).
54. T.L. Hill, *J. Polymer Sci.* **23**, 549 (1957). DOI: 10.1002/pol.1957.1202310403
55. S. A. Latt and L. H. Sober, *Biochemistry* **6**, 3293 (1967). DOI: 10.1021/bi00862a040
56. D. Crothers, *Biopolymers* **6**, 575 (1968). DOI: 10.1002/bip.1968.360060411
57. А. С. Заседателев, Г. В. Гурский и М. В. Волькенштейн, *Молекуляр. биология* **5**, 245 (1971).
58. Г. В. Гурский, А. С. Заседателев и М. В. Волькенштейн, *Молекуляр. биология* **6**, 479 (1972).
59. G. V. Gursky and A. S. Zasedatelev, *Sov. Sci. Rev. D. Physicochem. Biol.* **5**, 53 (1984).
60. Ю. Д. Нечипуренко, А. С. Заседателев и Г. В. Гурский, *Биофизика* **24**, 351 (1979).
61. Ю. Д. Нечипуренко, А. С. Заседателев и Г. В. Гурский, *Молекуляр. биология* **18**, 798 (1984).
62. Yu. D. Nechipurenko and G. V. Gursky, *Bioph. Chem.* **24**, 195 (1986). DOI: 10.1016/0301-4622(86)85025-6
63. Ю. Д. Нечипуренко и Г. В. Гурский, *Биофизика* **48**, 773 (2003).
64. D. Y. Lando and V. B. Teif, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **17**, 903 (2000). DOI: 10.1080/07391102.2000.10506578
65. В. Б. Тейф, Д. Ю. Ландо, *Молекуляр. биология* **35**, 117 (2001).
66. V. B. Teif, K. Rippe, *Brief Bioinform.* **13**, 187 (2012). DOI: 10.1093/bib/bbr03.

Analysis of Models of Cooperative Oxygen Binding by Hemoglobin

I.A. Lavrinenko*, G.A. Vashanov*, V.Yu. Sulin*, and Yu.D. Nechipurenko**

*Voronezh State University, Universitetskaya pl. 1, Voronezh, 394018 Russia

**Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia

This paper presents an overview of the most well-known models which describe the binding of oxygen to hemoglobin. This study attempts to provide a formal criteria-based approach that can be used to find optimal mathematical and physical models of cooperative oxygen binding by hemoglobin. Using the methods of regression and cluster analysis based on experimental data of oxyhemoglobin dissociation, the main models of oxygenation, which are based on power and exponential dependencies, are compared. It is shown that the models proposed by Eder, Bernard, and Hill which correspond to power-law models are more accurate for describing ligand binding by an oligomeric protein than exponential models. It is established that the sequential four-stage Koshland–Nemeti–Filmer model, which corresponds to the Eder equation, is the most accurate model for describing the experimental data.

Keywords: hemoglobin, allosteric effects, cooperative binding, binding curve, protein-ligand binding, isotherm of adsorption, mathematical model, regression analysis, cluster analysis