

УДК 539.193:577.175.153

С.Г.Фалькович (5 курс, каф. БФ), Н.Н.Шестакова, к.б.н., с.н.с. (ИЭФиБ РАН)

МЕХАНИЗМЫ РАБОТЫ ХОЛИНЭСТЕРАЗ С УЧЕТОМ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

В последние десятилетия особенно актуальны стали исследования молекулярного механизма действия ферментов. Эта тенденция обусловлена как развитием экспериментальных методов, так и успехами в области молекулярного моделирования.

Холинэстеразы играют важную роль в нервной системе, расщепляя нейромедиатор ацетилхолин и, таким образом, формируя нервный импульс. На сегодняшний день накоплен колоссальный объем информации о холинэстеразах, проведено множество теоретических исследований в данной области. Появляется возможность выйти на новый уровень исследований молекулярных механизмов работы холинэстераз, используя и обобщая предыдущие результаты.

Целью данной работы было исследование влияния строения катионной группировки неприродных субстратов ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) на кинетические характеристики реакции их гидролиза. Известно, что катионная группировка ответственна за сорбцию субстрата в активном центре АХЭ. В процессе исследований стало очевидно, что для объяснения некоторых экспериментальных фактов необходимо более подробно учитывать электростатические взаимодействия между субстратом и ферментом. Для АХЭ группой Риполли показано, что фермент создает внутри себя сильное электростатическое поле, которое, как предполагается, участвует в работе фермента.

Были сформулированы следующие задачи:

1. Описать роль электростатических взаимодействий между ферментами и субстратами при реакции гидролиза.
2. Более подробно рассмотреть участие электростатического поля АХЭ в сорбции молекулы субстрата в активном центре.
3. Подтвердить либо опровергнуть наличие у БуХЭ поля, аналогичного полю АХЭ.

Исследования проводились методом теоретического конформационного анализа с помощью программы ZMM и других программных пакетов.

Получены следующие результаты:

1. Подтверждено, что продуктивной конформацией АХ при гидролизе под действием АХЭ является полностью вытянутая конформация холинового фрагмента tt, а при гидролизе под действием БуХЭ – полусвернутая конформация холинового фрагмента to. При этом показано, что существенное влияние на продуктивную сорбцию АХ в активном центре ХЭ оказывают электростатические взаимодействия между субстратом и ферментом.

2. Описано влияние электростатического поля, создаваемого ферментами, на процесс сорбции молекулы субстрата в активном центре. Показано, что поле в активном центре АХЭ не экранировано и принимает активное участие в ориентации молекулы субстрата.

3. Холинэстеразы принадлежат к сериновым гидролазам, расщепление эфирной связи происходит при атаке гидроксильной серина на карбонильный углерод АХ. При анализе влияния отклонения центра зарядов молекулы субстрата на скорость реакции гидролиза выяснилось, что смещение карбонильного углерода вдоль линии атаки гидроксильной группы не влияет на скорость реакции, тогда как даже малые смещения, уводящие углерод с линии атаки, делают реакцию

невозможной. Полученные данные подтверждаются исследованиями вибронной структуры АХ, осуществленными с помощью пакета HyperChem.

4. Для БуХЭ показано наличие электростатического поля, создаваемого всем ферментом и участие этого поля в работе БуХЭ. Схожая с АХЭ реакция на смещение центра зарядов молекулы субстрата подтверждает предположение о схожести электростатических механизмов действия.