

СЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА»

УДК 539.193:577.175.153

Д.А.Белинская (6 курс, каф. БФ), Н.Н.Шестакова, к.б.н., с.н.с. ИЭФиБ РАН

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПО ДАНЫМ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО КОНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА

Холинэстеразы, относящиеся к классу сериновых гидролаз, по субстратно-ингибиторной специфичности подразделяются на две группы: ацетилхолинэстеразы (АХЭ, КФ 3.1.1.7) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ, 3.1.1.8). АХЭ принимает участие в проведении нервного импульса, гидролизуя свой природный нейромедиатор ацетилхолин (АХ), и является мишенью для действия фосфорорганических ингибиторов и нервно-паралитических отравляющих веществ [1]. Хотя физиологическая функция БуХЭ до конца не определена, этот фермент также представляет огромный интерес, поскольку известно, что он может гидролизовать токсичные эфиры, в том числе кокаин, и нервно-паралитические отравляющие вещества, такие как зоман [2]. Для исследования этих ферментов были разработаны методы выделения и очистки, синтезированы и опробированы сотни веществ, являющихся их субстратами и ингибиторами, найдены значения кинетических констант взаимодействия эффекторов с ферментами [3]. Таким образом, АХЭ и БуХЭ могут быть использованы в качестве моделей для изучения принципов механизма действия ферментов.

Целью данной работы являлось исследование особенностей строения активных центров и механизма действия АХЭ и БуХЭ методом теоретического конформационного анализа, выявление их сходства и различия.

Методами молекулярной механики в потенциальном поле Дашевского с помощью пакета ZMM были проведены расчеты всех устойчивых конформеров 34 аналогов АХ с общей формулой $R-C(O)O-A-N^+(CH_3)_3$. Распределение зарядов рассчитывали методом CNDO/2. Заселенности конформеров вычислялись по формуле Больцмана.

В ряду соединений $R-C(O)O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ корреляционный анализ подтвердил продуктивность *tt*-конформации АХ при гидролизе под действием АХЭ [4]. Выявлена достоверная корреляция между заселенностью *tg*⁻-конформации и скоростью гидролиза под действием БуХЭ. В ряду соединений $CH_3C(O)-A-N^+(CH_3)_3$ корреляционный анализ выявил зависимость между заселенностью конформаций, совпадающих по расстоянию между функционально значимыми атомами с *tg*⁻-конформацией АХ, и скоростью их гидролиза под действием БуХЭ.

На основании полученных данных сделан вывод о том, что *tg*⁻-конформация АХ является продуктивной для гидролиза под действием БуХЭ [5]. Показано, что существует различие во взаимном расположении эстеразного и анионного центра ферментов. Выявлено, что ориентация каталитической триады в активном центре АХЭ и БуХЭ совпадает. Показано, что существует сходство механизма действия ферментов. Подтверждено, что в случае холинэстеразного гидролиза стадия сорбции является лимитирующей. Выдвинуто предположение, что на сорбционной стадии гидролиза положение аммониевой группировки

субстратов-аналогов АХ стабилизируется водородной связью с остатком глутаминовой кислоты активного центра холинэстераз.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Розенгарт Е.В., Басова Н.Е., Суворов А.А. // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2002. Т.38. С.209-213.
2. Allon N., Raveh L., Gilat E. et al. // Toxicol. Sci. 1998. V.43. P.121-128.
3. Бресткин А.П., Кузнецова Л.П., Моралев С.Н., Розенгарт Е.В., Эпштейн Л.М. Холинэстеразы наземных животных и гидробионтов. – Владивосток: Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО - центр), 1997. – 466с.
4. Шестакова Н.Н., Розенгарт Е.В. // Биоорганическая химия. 1995. Т.21. С.323-329.
5. Белинская Д.А., Шестакова Н.Н. // Доклады академии наук. 2004. Т.396. С.258-262.