АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ СУБЪЕДИНИЦАМИ ДИМЕРНОГО БЕЛКА ПРОСТАГЛАНДИН-Н-СИНТАЗА-1 (COX-1) ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ НАПРОКСЕНОМ

Берзова А.П.[1], Бархатов В.И.[2], Митрофанов С.И.[2], Кривошей А.В.[2], Филимонов И.С.[2]

[1] – Московский физико-технический институт, [2] – МГУ им. М.В. Ломоносова, Международный биотехнологический центр Москва, Россия

В ходе исследования кинетического механизма взаимодействия фермента COX с ингибитором напроксеном были получены экспериментальные зависимости активности препарата фермента от времени инкубации с ингбитором при различных концентрациях ингибитора. Было показано, что взаимодействие фермента с ингибитором – достаточно медленный процесс, занимающий от нескольких секунд до нескольких минут в зависимости от концентрации ингибитора.

Полученные экспериментальные результаты были интерпретированы в соответствии со схемой, не учитывающей димерную природу COX (схема 1), и в соответствии со схемой, предполагающей наличие аллостерических взаимодействий между субъединицами белка, влияющих на взаимодействие с ингибитором (схема 2):

$$E \underset{k_{-1}}{\overset{k_1 \cdot I}{\rightleftarrows}} EI\,, \qquad \text{(схема 1)}$$

$$EE \underset{k_{-1}}{\overset{k_1 \cdot I}{\rightleftarrows}} EEI \underset{k_{-2}}{\overset{k_2 \cdot I}{\rightleftarrows}} IEEI \qquad \text{(схема 2)}$$

Исходя из схем 1 и 2 рассчитаны теоретические зависимости концентраций всех интермедиатов (*E, EI, EE, EEI, IEEI*) от времени при различных концентрациях ингибитора, соответствующие различным начальным условиям: ассоциации фермент-ингибиторного комплекса при смешивании фермента и ингибитора и его диссоциации при разбавлении.

Для иллюстрации на рис.1 приведены результаты аппроксимации экспериментальных данных по ассоциация комплекса. Видно, что соответствие эксперимента и теории достигается в случае схемы, учитывающей аллостерическое взаимодействие между субъединицами фермента (рис.1Б). Аналогичные результаты были получены при обработке экспериментальных данных по диссоциации фермент-ингибиторного комплекса (данные не приведены).

Таким образом, взаимодействие фермента COX с ингибитором напроксеном не может быть описано в рамках модели, не учитывающей аллостерические взаимодействия между отдельными субъединицами (схема 1), и хорошо описывается в рамках модели, учитывающей подобные взаимодействия (схема 2).

А Б

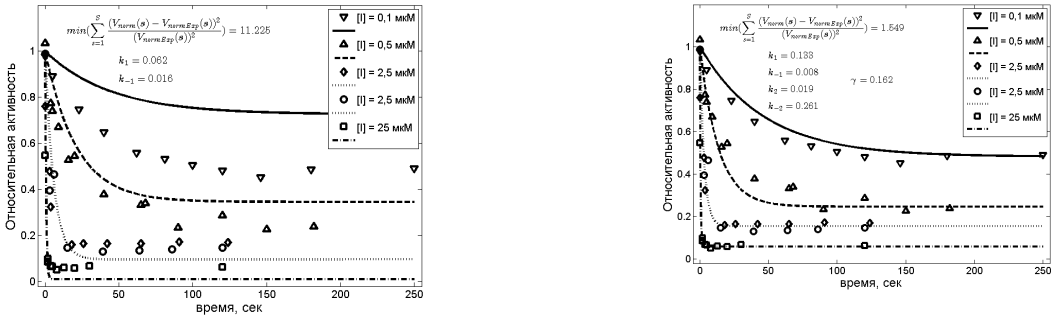

Рис. 1. Зависимость активности препарата фермента COX от времени инкубации с ингибитором при различных концентрациях ингибитора. Линии соответствуют аппроксимации экспериментальных данных (точки) в соответствии со схемой 1 (рис.1А) и со схемой 2 (рис.1Б). γ – относительная активность комплекса *EEI*

E-mail: dawqer@mail.ru

Литература

1. Rouzer C.A., Marnett L.J. Mechanism of Free Radical Oxygenation of Polyunsaturated Fatty Acids by Cyclooxygenases // Chemical Reviews, 2003, №103, pp. 2239−2304.

2. Smith W.L., Meade E.A., DeWitt D.L. Pharmacology of Prostaglandin Endoperoxide Synthase Isozymes-1 and -2 // Annals of the New York Academy Of Science, 1994, №714, pp. 136-142.

3. Dong L., Vecchio A.J., Sharma N.P., Jurban B.J., Malkowski M.G., Smith W.L. Human Cyclooxygenase-2 Is a Sequence Homodimer That Functions as a Conformational Heterodimer // The Journal of Biological Chemistry, 2011, №286, pp. 19035-19046.