

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра химии и биохимии

А. И. Сусллова, В. И. Бахтаирова, И.Э. Егорова

**ФЕРМЕНТЫ И АБЗИМЫ –
БИОКАТАЛИЗАТОРЫ БЕЛКОВОЙ
ПРИРОДЫ**

Учебное пособие

Иркутск
ИГМУ
2025

УДК 612.015:577. 15(075.8)
ББК 52.57я73
С 90

*Рекомендовано методическим советом фармацевтического факультета
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России в качестве учебного пособия по дисциплине
«Медицинская биохимия» для студентов, обучающихся по образовательной программе
высшего образования – программе специалитета по специальности
30.05.01 Медицинская биохимия (протокол № 6 от 19 июня 2025)*

Авторы:

А. И. Сулова – канд.биол.наук, доцент кафедры химии и биохимии
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России
В. И. Бахтаирова – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой химии и биохимии
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России
И. Э. Егорова – канд. мед. наук, доцент кафедры химии и биохимии
ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России

Рецензенты:

Л. Н. Минакина – канд. мед. наук, доцент, зав. каф. фармакологии ФГБОУ ВО
ИГМУ Минздрава России
Е. В. Гузовская – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической физиологии
и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО
ИГМУ Минздрава России

Сулова, А.И.

С 90 Ферменты и абзимы – биокатализаторы белковой природы : учебное
пособие / А. И. Сулова, В. И. Бахтаирова, И. Э. Егорова ; Иркутский
государственный медицинский университет, Кафедра химии и биохимии.
– Иркутск : ИГМУ, 2025. – 51 с. – Текст : непосредственный.

Учебное пособие содержит теоретические материалы, раскрывающие понятие биологических катализаторов белковой природы (ферментов и абзимов) и закономерности протекания каталитических реакций, рассмотрены перспективы применения абзимов в медицине и биотехнологии. Для самоконтроля знаний, полученных при изучении материала, пособие содержит тестовые задания и ситуационные задачи, а также эталоны ответов к ним.

Данное пособие предназначено для студентов, обучающихся по программе специалитета по специальности 30.05.01 Медицинская биохимия, при изучении дисциплины «Общая биохимия»

УДК 612.015:577. 15(075.8)
ББК 52.57я73

© Сулова А. И., Бахтаирова В. И.,
Егорова И. Э., 2025
© ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ФЕРМЕНТЫ	6
1.1. История открытия и развития энзимологии	6
1.2. Общие свойства биокатализаторов. Дизайнерские ферменты	9
1.3. Классификация ферментов до 2018 года.....	13
1.3. Транслоказы – новый седьмой класс ферментов	16
2. АБЗИМЫ.....	19
2.1. История открытия.....	20
2.2. Природные и искусственные абзимы	21
2.3. Механизмы образования каталитических антител	22
2.4. Абзимы при различных заболеваниях	27
2.5 Биологическая роль абзимов и перспективы их применения в медицине и биотехнологии.....	35
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ	42
СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ.....	47
ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ	48
ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ	49
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....	50

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	–	аденозиндифосфат
АИЗ	–	аутоиммунные заболевания
АТФ	–	аденозинтрифосфат
ВИП	–	вазоактивный кишечинальный пептид
ВИЧ	–	вирус иммунодефицита человека
ГМГ-КоА	–	Гидроксиметилглутарил-Коэнзим А
дАТФ	–	дезоксияденозинтрифосфат
дГТФ	–	дезоксигуанозинтрифосфат
ДНК	–	деоксирибонуклеиновая кислота
КРА	–	ковалентные реактивные аналоги
КФ	–	креатинфосфат
ОБМ	–	основной белок миелина
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
РС	–	рассеянный склероз
СКВ	–	системная красная волчанка
СККМ	–	стволовые кроветворные клетки костного мозга
ТТФ	–	тимидинтрифосфат
УТФ	–	уридинтрифосфат
Ф _н	–	фосфат неорганический
ФОС	–	фосфорорганические соединения
цГМФ	–	циклический гуанозинмонофосфат
Ala	–	аланин
Asp	–	аспартат
BCR	–	В-клеточный рецептор
Fab	–	участок связывания антигена с иммуноглобулином
Grp	–	глюкозо-регулируемый белок
HAD	–	никотинамидадениндинуклеотид
His	–	гистидин
IUBMB	–	международный союз биохимии и молекулярной биологии
Jg	–	иммуноглобулины
NO	–	монооксид азота
Ser	–	серин
sJg	–	секреторный иммуноглобулин
TSA	–	переходное состояние химической реакции
Ab ₁	–	антитела 1-го поколения
Ab ₂	–	антитела 2-го поколения
poly (C)	–	полицитидиловая кислота
poly (U)	–	полиуридиловая кислота
poly(A)	–	полиадениловая кислота

ВВЕДЕНИЕ

До начала 80-х годов XX века основополагающей аксиомой биохимии было утверждение, что все реакции метаболизма происходят с необходимыми для обеспечения жизни скоростями только благодаря высокоэффективным специфическим катализаторам белковой природы – ферментам или энзимам. Однако в 1980–1982 гг. группой американских биохимиков во главе с Т. Чеком было обнаружено, что в природе имеются виды РНК, которые, подобно белкам, обладают высоко специфической каталитической активностью. В 1992 году А. Габибову и его аспирантам А. Шустеру и Г. Гололобову удалось обнаружить эффект расщепления ДНК природными антителами с нуклеазной активностью, названными «абзимы» (от *antibody* и *enzyme*). Первый ДНКзим был создан *in vitro* с использованием метода направленной эволюции в 1994 году. Все названные катализаторы в настоящее время либо применяются как лекарства, либо эффективные лекарства на их основе будут созданы в перспективе. Все они подчиняются общим законам катализа, а также каждая из групп имеет свои специфические особенности и отличия, которые зависят от структуры и функций.

1. ФЕРМЕНТЫ

1.1. История открытия и развития энзимологии

Термин фермент предложен в XVII веке химиком Ван-Гельмонтом при обсуждении механизмов пищеварения. Собственно, ферментами (от лат. fermentum – закваска) называли «организованные ферменты» (т. е. сами живые микроорганизмы). Термин был предложен в 1876 г. В. Кюне для «неорганизованных ферментов», секретируемых клетками, например, в желудке, для пепсина. Вначале термины фермент и энзим отражали различные точки зрения в теоретическом споре Д. Пастера с одной стороны, и М. Бертло и К. Либиха – с другой, о причине спиртового брожения. Термин «энзим» (от греч. en zyme – в дрожжах), так же, как и «фермент» (от лат. fermentatio – брожение), означает процесс, связанный с выделением газов или брожение. Явления брожения и переваривания известны с незапамятных времен, однако зарождение учения о ферментах (энзимология) относится к первой половине XIX века. Первым ферментом, полученным в 1833 году, оказался фермент амилаза, «растворяющая крахмал». В 1930 Дж. Нортроп выделил пепсин, в 1936 году были охарактеризованы и пепсин, и трипсин. На рубеже XIX–XX веков Э. Фишер установил структуру и свойства почти всех аминокислот и предложил первую теорию специфичности ферментов. В 1926 году, который считается официальным годом рождения энзимологии как науки, Самнер выделил кристаллическую уреазу и доказал ее белковую природу. В начале 20 века (1913 г.) Л. Михаэлис сформулировал общую теорию кинетики ферментативных реакций.

Впервые первичная структура, т. е. аминокислотная последовательность фермента рибонуклеазы была установлена У. Стейном и С. Муром в 1960 г., а в 1969 г. Р. Меррифилдом осуществлен химический синтез этого фермента. Пространственное строение (третичная структура) фермента впервые установлено Д. Филлипсом в 1965 г. для лизоцима. С тех пор было обнаружено и выделено более 700 ферментов, но в живых организмах их существует

гораздо больше. С 1974 года регулярно проводились Всесоюзные симпозиумы, в которых принимали участие отечественные и зарубежные энзимологи. Всесоюзный симпозиум «Инженерная энзимология. Получение и применение биокатализаторов в народном хозяйстве и медицине» был последним в статусе Всесоюзного симпозиума. С 1993 года проводятся Международные конференции «Биокатализ». Изменение названия явилось отражением расширения тематики докладов. В дальнейшем международные конференции проводились в России каждые 2–3 года. Третья конференция получила более точное название «Биокатализ. Фундаментальные основы и применение». Основные проблемы, обсуждавшиеся на этих конференциях: активные центры ферментов, генетическая инженерия и сайт-специфический мутагенез ферментов, ферменты и белки как лекарственные средства, получение ферментов методами генетической инженерии, направленная эволюция промышленных ферментов. В дальнейшем в программу международных конференций добавлены новые разделы: промышленный биокатализ ферментов, мультиферментных систем и клеток, дизайн процессов биотрансформации; ферменты, рибозимы и белки как лекарственные препараты и вакцины; биосенсоры, биочипы, высокоэффективный анализ ферментативной активности; молекулярный полиморфизм ферментов человека. Следует отметить, что тематика всех последующих конференций всегда соответствовала самым последним тенденциям развития науки и включала в себя следующие разделы:

- Структура, каталитический механизм, генетическая инженерия ферментов, методы и достижения в конструировании белков. Модели ферментов (биозимы).
- Получение и применение биокатализаторов на основе иммобилизованных ферментов, мультиферментных систем и клеток микроорганизмов в пищевой промышленности, органическом синтезе, агrobiотехнологии и экологии.

- Ферменты и эффекторы в медицине, иммунохимии, нейрохимии и геномике. Биокаталитические технологии в развитии физико-химических методов для биомедицинских исследований. Биосенсоры и биочипы. Цифровые технологии в биокатализе. Ферменты резистентности. Ферменты и новая энергетика. Космическая энзимология.

В 2024 г. отмечен юбилей – 50 лет со дня организации на химическом факультете МГУ кафедры химической энзимологии. Организация и активное развитие кафедры обеспечили формирование целой области знаний, внедрение принципиально новых эффективных технологий. В настоящее время ферменты – глубоко изученные на молекулярном уровне катализаторы с пониманием детальных механизмов катализа. Кроме того, ферменты – это катализаторы, конструируемые белковой инженерией с созданием новых необходимых свойств. Биокатализ является составной частью многих промышленных биотехнологий. Биоводород, биометан, биодизель, биоэтанол – базовые возобновляемые топливные материалы, основа получения которых базируется на ферментативных процессах. Биотехнологические процессы защиты окружающей среды используют биокатализ как инструмент разрушения экотоксикантов. Ферменты – основа современного анализа сложных биомолекул и биополимеров, основа новых методов медицинской диагностики. Ферменты как участники ключевых физиологических процессов – это предмет и инструмент современной молекулярной медицины, основа многих процессов тонкого органического синтеза и производства лекарств. Исследования последних лет демонстрируют ключевую роль ферментов в функционировании центральной нервной системы человека, в молекулярных основах интеллекта.

В настоящее время основными направлениями исследований в области энзимологии являются:

1. Исследования более тонких деталей молекулярного механизма и принципов действия ферментов в соответствии с законами классической

органической химии и квантовой механики, а также совершенствование теории ферментативного катализа;

2. Изучение ферментов на более высоких уровнях (надмолекулярном и клеточном) структурной организации живых систем, причем не столько отдельных ферментов, сколько ферментных комплексов в сложных системах;

3. Исследование механизмов регуляции активности и синтеза ферментов и вклада химической модификации в действие ферментов;

4. Развитие исследований в области создания искусственных низкомолекулярных ферментов – абзимов (синтетические аналоги ферментов), наделенных аналогично нативным ферментам высокой специфичностью действия и каталитической активностью, но лишенных побочных антигенных свойств;

5. Исследования в области инженерной энзимологии (белковая инженерия), создание «гибридных» катализаторов, сочетающих свойства ферментов, антител и рецепторов, а также создание биотехнологических реакторов с участием индивидуальных ферментов или полиферментных комплексов, обеспечивающих получение и производство наиболее ценных материалов и средств для народного хозяйства и медицины;

6. Исследования в области медицинской энзимологии, основной целью которых является выяснение молекулярных основ наследственных и соматических болезней человека, в основе развития, которых, лежат дефекты синтеза ферментов или нарушения регуляции активности ферментов в организме человека. Таким образом, есть все основания для подтверждения положения, что не только современная биология, как отмечает академик А. Е. Браунштейн, но и медицина «говорит на языке энзимологии».

1.2. Общие свойства биокатализаторов. Дизайнерские ферменты

Ферменты, или энзимы – это биокатализаторы белковой природы. Как катализаторы ферменты обладают огромной эффективностью и специфичностью по отношению к субстратам. Каталитическая эффективность

ферментов регулируется как внутриклеточными регуляторами, так и с помощью гормонов – межклеточных регуляторов. Ферменты имеют такую же большую молекулярную массу как все белки и такую же структурную организацию. Как и любой белок, фермент может быть активным только в третичной или четвертичной структуре. Все факторы денатурации приводят к снижению каталитической эффективности или полной потере биологической активности. Специфичность белковых катализаторов ферментов может быть абсолютной (лактаза, сахараза) или относительной (пепсин, трипсин). Многим ферментам для проявления каталитической эффективности кроме белковой части (апофермента) необходимы кофакторы (металлы, коферменты, простетические группы). Изучение механизма действия индивидуальных ферментов продолжается на всём протяжении развития энзимологии как науки. Это обусловлено как открытием новых ферментов, так и разработкой новых методов исследования. Почти ежегодно на многих международных симпозиумах и конгрессах по энзимологии подробно обсуждаются структура, функции, механизмы действия новых ферментов. В частности, NO-синтазы, у которой открыты три изоформы: NO-синтаза-1 – нейрональная или мозговая, кальций-зависимая; NO-синтаза-2 – индуцибельная, или макрофагальная; NO-синтаза-3 – эндотелиальная, кальций-зависимая. Разработаны препараты, активирующие и ингибирующие функцию изоферментов NO-синтазы, необходимые для лечения сердечно-сосудистых и других заболеваний. Кроме того, изучаются свойства ДНК-топоизомераз, протеазы патогенов сибирской язвы, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). В 1992 году Александру Габибову и его аспирантам Александру Шустеру и Геннадию Гололобову удалось обнаружить эффект расщепления ДНК природными антителами с нуклеазной активностью, названными «абзимы». В 1997 году профессор Габибов создал лабораторию биокатализа, где продолжены работы с ферментами, наряду с работами по классической абзимологии на новом уровне. Новые молекулярно-биологические методы и понимание механизмов работы

ферментов, позволяют создавать ферменты с новыми свойствами. Такие ферменты более активные и/или более стабильные, чем встречающиеся в живой природе. Кроме того, появляется реальная возможность проектировать белки с доселе не наблюдавшейся каталитической функцией. Меняя структуру активного центра, можно синтезировать ферменты с более высокой каталитической активностью, новой специфичностью или новыми физико-химическими свойствами. Эти изменения возможны при использовании технологии рекомбинантных ДНК и связаны с развитием генетической инженерии. Некоторые из таких «синтетических» ферментов могут оказаться мощными терапевтическими средствами или мишенями с более высокой чувствительностью к лигандам-лекарствам. В процессе работы с помощью компьютерного моделирования подбирается вариант замен аминокислотных остатков, который может дать повышение активности фермента. Затем вносятся изменения в клонированный ген и получают фермент с более высокой активностью. Например, получена тирозил-тРНКсинтетаза, фермент для активации тирозина в процессе синтеза белка, также получают ферменты для производства лекарств – витаминов, антибиотиков. Небольшие изменения в структуре активного центра цитохрома P450 очень сильно влияют на субстратную специфичность этого фермента по отношению к лекарствам и другим ксенобиотикам.

Выяснилось, что мишенями с более высокой чувствительностью к лигандам (лекарствам) могут оказаться и ферменты с соматическими мутациями. Большая чувствительность к лигандам-лекарствам, в частности, к ингибиторам тирозинкиназы, показана при лечении больных с опухолями. Значительно более выраженный ответ на лечение был у пациентов с мутациями эпидермального фактора роста. Дальнейшие исследования в этой области направлены на распознавание таких «полезных» мутаций и воспроизведение их на более многочисленных группах больных. Новые ферменты для реакций, не катализируемых в природе, создают с помощью компьютерных моделей без

участия субстрата. Для конструкции каталитических центров в белках, осуществляющих требуемые реакции, обычно создают большое число вариантов гена, кодирующего исходный фермент, обладающий хотя бы следовой активностью, по случайности с улучшенными качествами. Многократное повторение этого процесса позволяет создать новые ферменты, характеристики которых намного превосходят «стартовую точку». Компьютерный дизайн белка-катализатора, то есть полученного *in vitro* фермента, дополняют методом направленной эволюции. «Оптимизированные» ферменты обычно содержат 4–8 аминокислотных замен, не затрагивающих ключевых остатков каталитического центра, но активность этих белков возрастает многократно. Так был получен фермент, эффективно расщепляющий наиболее токсичные фосфорорганические соединения (ФОС). Фермент пригоден для использования в качестве антидота. При поражении организма человека этими отравляющими веществами происходит ингибирование фермента ацетилхолинэстеразы. ФОС – это инсектициды и запрещённое химическое оружие, однако, встречаются случаи отравления ими в быту и использование их в терактах. Поэтому в настоящее время разработки по метаболизму ФОС ведутся по нескольким направлениям:

- создание фермента, перехватывающего отравляющие вещества до того, как они начнут ингибировать ацетилхолинэстеразу;
- создание фермента, который был бы эффективным для всех ФОС;
- снижение его иммуногенность
- повышение каталитической эффективности.

При этом очень важно, чтобы препарат можно было принимать не только заблаговременно, но и после контакта с ядом. Новые «дизайнерские» ферменты будут использоваться в биотехнологии и обороне, например, для нейтрализации химического и биологического оружия или последствий техногенных аварий.

1.3. Классификация ферментов до 2018 года

Современные классификация и номенклатура ферментов были разработаны Комиссией по ферментам международного биохимического союза и утверждены на V Международном биохимическом конгрессе в 1961 году в Москве. В 1964 г. была создана Комиссия по ферментам при международном союзе биохимии и молекулярной биологии (International Union of Biochemistry and Molecular Biology, IUBMB). Были предложены основные принципы классификации и номенклатуры ферментов. В соответствии с этой классификацией все ферменты делятся по типу катализируемой реакции на **6 классов**

1. Оксидоредуктазы – катализируют окислительно-восстановительные реакции;
2. Трансферазы – катализируют реакции переноса функциональных групп и молекулярных остатков с одной молекулы на другую;
3. Гидролазы – катализируют реакции гидролиза (расщепления связей с участием воды);
4. Лиазы – катализируют реакции отщепления (кроме атомов водорода) с образованием двойной связи либо присоединения по двойной связи, а также негидролитический распад органических молекул либо их синтез без участия макроэргических веществ;
5. Изомеразы – катализируют процессы изменения геометрической или пространственной конфигурации молекул;
6. Лигаза (синтетаза) катализируют реакции синтеза, сопровождающиеся гидролизом АТФ или других макроэргов.

Каждый класс подразделяется на **подклассы** – по природе атакуемой химической группы. Подклассы объединяют ферменты, действующие на сходно построенные субстраты. Подклассы делят на **подподклассы** – по характеру атакуемой связи или по природе акцептора. В подподклассе уточняют структуру химических групп, отличающих субстраты друг от

друга. Внутри подподклассов перечисляют индивидуальные ферменты. Все подразделения классификации имеют свои номера. Таким образом, любой фермент получает свой уникальный кодовый номер, состоящий из четырёх чисел, разделённых точками. Первое число обозначает класс, второе – подкласс, третье – подподкласс, четвертое – номер фермента в пределах подподкласса. Например, фермент α -амилаза, расщепляющая крахмал, обозначается как 3.2.1.1, где:

- 3 – тип реакции (гидролиз);
- 2 – тип связи в субстрате (гликозидная);
- 1 – разновидность связи (О-гликозидная);
- 1 – номер фермента в подподклассе.

Каждый новый фермент может быть помещён в конце соответствующего подподкласса без нарушения всей остальной нумерации. Точно так же при выделении новых классов, подклассов и подподклассов их можно добавлять без нарушения порядка нумерации ранее установленных подразделений. Если после получения новой информации возникает необходимость изменить номера некоторым ферментам, прежние номера не присваивают новым ферментам, чтобы избежать недоразумений. Говоря о классификации ферментов, следует также отметить, что ферменты классифицируются не как индивидуальные вещества, а как катализаторы определённых химических превращений. Ферменты, выделенные из разных биологических источников и катализирующие идентичные реакции, могут существенно отличаться по своей первичной структуре. Тем не менее, в классификационном списке все они фигурируют под одним и тем же кодовым номером. Система классификации, разработанная Комиссией по ферментам, включает также и вновь созданную номенклатуру ферментов, которая строится по специальным принципам. Согласно рекомендациям IUBMB, ферменты получают два рода названий: систематическое название и рабочее (рекомендуемое). Систематическое название составляется из двух частей.

Первая часть содержит название субстрата или субстратов, часто – наименование кофермента, вторая часть указывает на природу катализируемой реакции и включает название класса, к которому относится данный фермент. При необходимости приводится дополнительная информация о реакции в скобках после второй части названия. Систематическое название присваивается только тем ферментам, каталитическое действие которых полностью изучено. Например, систематическое название α -амилазы – 1,4- α -D-глюкан-глюканогидролаза. Конечно, такое название очень неудобно для запоминания и произнесения. Поэтому наряду с систематическими названиями Комиссия по ферментам IUBMB рекомендует использовать рабочие (упрощённые) названия ферментов. Рабочее название фермента должно быть достаточно коротким для употребления. В качестве рабочего названия в ряде случаев может быть использовано тривиальное название, если оно не является ошибочным или двусмысленным. В других случаях оно строится на тех же общих принципах, что и систематическое название, но с минимальной детализацией. В научных публикациях при первом упоминании о ферменте принято указывать его систематическое название и кодовый номер, а в дальнейшем пользоваться его рабочим названием.

Некоторые примеры подклассов и рабочих названий ферментов приводятся ниже.

1-й класс – **оксидоредуктазы** входят подклассы дегидрогеназ (отщепляющих атомы водорода), редуктаз (присоединяющих атомы водорода), оксигеназ (внедряющих кислород в субстрат – гидроксилазы и диоксигеназы). Всего в 1-й класс входит 22 подкласса, общеизвестными примерами ферментов этого класса являются изоцитратдегидрогеназа, (β -гидрокси- β -метил-глутарилКоА-редуктаза (ГМГ-КоАредуктаза), фенилаланингидроксилаза.

Ко 2-му классу – **трансферазы** относят аминотрансферазы (переносят аминокгруппу), метилтрансферазы (метильную группу), киназы (переносят остаток фосфорной кислоты от АТФ). Примерами ферментов класса трансфераз

являются аспаратаминотрансфераза, гуанидинметилтрансфераза, протеинкиназа А.

3-й класс – **гидролазы** катализируют реакции гидролиза: расщепления ковалентной связи с присоединением молекулы воды по месту разрыва. Подклассами этого класса являются эстеразы (липаза), гликозидазы (амилаза), пептидазы (пепсин).

4-й класс – **лиазы** отщепляют от субстратов негидролитическим путем определенную группу (например, CO_2 – глутаматдекарбоксилаза) или присоединяют чаще всего молекулу воды по двойной связи, образуют С–С (цитратсинтаза) или разрушают С–С связь, например, альдолазы.

5-й класс – **изомеразы** катализируют различные внутримолекулярные превращения, например, глюкозо-6-фосфатизомераза участвует в взаимопревращении двух гексоз. Фермент фосфоглюкомутаза – катализирует реакцию изомеризации, которая состоит во внутримолекулярном переносе фосфата.

6-й класс – **лигазы или синтетазы** катализируют реакции присоединения друг к другу двух молекул с образованием ковалентной связи, этот процесс сопряжен с затратой энергии АТФ (РНК-полимераза, ацилКоА-синтетаза).

1.3. Транслоказы – новый седьмой класс ферментов

Классификация ферментов периодически обновляется Комиссией по ферментам при международном союзе биохимии и молекулярной биологии. Но, ни один из шести классов не может описать важную группу ферментов, катализирующих движение ионов или молекул через мембраны. Некоторые из них вовлечены в гидролиз АТФ и ранее классифицировались как АТФазы, однако реакция гидролиза не является их прямой функцией. АТФ-синтаза – ранее фермент относился к третьему классу и был назван по номенклатуре — АТФ-фосфогидролаза, но название не соответствует характеру работы

фермента, так как гидролиз АТФ практически не происходит. Аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) – ферменты класса гидролаз (3.6.1.3), катализирующих отщепление от АТФ одного или двух остатков фосфорной кислоты с освобождением энергии, используемой в процессах мышечного сокращения, транспорта веществ через мембраны, или биосинтеза различных соединений. K^+, Na^+ АТФ-аза – фермент катализирующий гидролиз АТФ до АДФ и P_n с выделением энергии, которая используется для переноса K^+ и Na^+ через плазматическую мембрану. Фермент отвечает за поддержание в клетке низкой концентрации Na^+ и высокой K^+ . Ca^{2+} АТФ-аза трансмембранный фермент в мембранах эритроцитов, клетках скелетной и сердечной мускулатуры. Энергия гидролиза АТФ этим ферментом используется для выведения Ca^{2+} из клеток и поддержания внутри клеток низкой концентрации Ca^{2+} .

В августе 2018 года учёными Университета Маккуори (*Macquarie University, Австралия*) был предложен **7-й класс ферментов – Транслоказы**, объединивший мембранные ферменты, функцией которых является перенос ионов. За ферментами, перемещёнными в класс транслоказ, сохранились прежние систематические названия.

7. транслоказы (7.X.X.X) катализируют реакции перемещения ионов или молекул через мембраны или их разделение внутри мембран.

Подклассы определяются типом реакции, обеспечивающей катализ самого процесса транслокации. Предлагаемые подклассы:

7.1 – ферменты, катализирующие транслокации (переносы) протонов (ионов водорода);

7.2 – ферменты, катализирующие транслокации неорганических катионов и их хелатов;

7.3 – ферменты, катализирующие транслокации неорганических анионов;

7.4 – ферменты, катализирующие транслокации аминокислот и пептидов;

7.5 – ферменты, катализирующие транслокации углеводов и их производных;

7.6 – ферменты, катализирующие транслокации других соединений.

Подподклассы разделены по реакциям, обеспечивающим движущую силу для транслокации:

7.X.1 – транслоказы, связанные с окислительно-восстановительными реакциями

7.X.2 – транслоказы, связанные с гидролизом нуклеозидтрифосфатов

7.X.3 – транслоказы, связанные с гидролизом дифосфатов

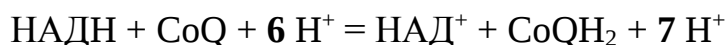
7.X.4 – транслоказы, связанные с декарбоксилазными реакциями

В настоящее время разрабатывается номенклатура для каждого фермента класса транслоказ.

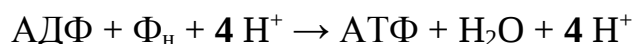
К ферментам класса **транслоказ** не относятся каналы (поры), изменяющие конформацию между открытым и закрытым состоянием в ответ на какое-либо воздействие, а также транспортеры, которые не зависят от фермент-катализируемых реакций.

Некоторые примеры ферментов этого класса:

НАДН-дегидрогеназный комплекс (7.1.1.2) катализирует перенос протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство и восстановление убихинона до убихинол, где :



Второй пример — АТФ-синтаза, катализирующая реакцию переноса протонов из межмембранного пространства митохондрии в матрикс с образованием при этом молекулы АТФ из АДФ и неорганического фосфата:



Кроме того, в седьмой класс ферментов входят:

– Хинол:феррицитохром-с -оксидоредуктаза (КФ 7.1.1.8) – фермент, часто называемый комплексом цитохрома bc1 или комплексом III, является третьим комплексом в цепи переноса электронов. Он присутствует в

митохондриях всех аэробных эукариот и во внутренних мембранах большинства бактерий.

– Цитохром-с-оксидаза (КФ 7.1.1.9) или комплекс IV электронтранспортной цепи — терминальная часть дыхательной цепи переноса электронов, которая катализирует перенос электронов с цитохрома с на кислород с образованием воды.

– Na⁺/K⁺-обменная АТФаза (КФ 7.2.2.13) – фермент плазматической мембраны, повсеместно присутствующий в клетках животных, который катализирует отток из клетки трех Na⁺ и приток двух K⁺ на гидролизованный АТФ. Он участвует в генерации электрического потенциала плазматической мембраны.

– H⁺/K⁺-обменная АТФаза (КФ 7.2.2.19) – фермент слизистой оболочки желудка, который катализирует отток из клетки одного H⁺ и приток одного K⁺ за счёт гидролиза АТФ.

– Транспортёры полярных аминокислот (КФ 7.4.2.1), неполярных аминокислот (КФ 7.4.2.2), митохондриального белка (КФ 7.4.2.3), использующие для транспортировки гидролиз АТФ.

2. АБЗИМЫ

Слова «иммунитет» и «антитело», как и понятие «фермент», безусловно, знакомы всем. Но многие ли слышали об уникальных белках, производимых нашей иммунной системой, которые умеют катализировать самые разные реакции? Сопровождая неизлечимые аутоиммунные заболевания, эти многофункциональные молекулы могут быть нашими врагами, но могут стать и настоящей находкой для биотехнологии и медицины.

Что такое *иммунитет*? Это один из главных механизмов защиты человека от вредных факторов окружающей среды (*immunis* на латыни означает «чистый, свободный от чего-либо»). Основные клетки. Участвующие в иммунной защите – лимфоциты. Уникальная черта этих клеток – способность распознавать огромное (около 10^{18} !) количество разнообразных потенциально

вредных объектов (бактерий, вирусов, чужеродных молекул и т. д.), включая и такие, с которыми жизнь за миллиарды лет существования на Земле еще не сталкивалась. Лимфоцитарным иммунитетом обладают лишь те виды многоклеточных организмов, у которых выживание каждой особи имеет значение для сохранения вида. Иммунитет предназначен для защиты не только от внешних «интервентов» разного типа и калибра, но и от собственных поврежденных клеток. Любая молекула, которая, попав в организм, может вызвать иммунный ответ, называется *антигеном*.

Принято считать, что антигены – это в основном белки и полисахариды, однако такие свойства могут проявлять и другие молекулы, в том числе и главный носитель наследственной информации – ДНК. Интересно, что в крови больных многими аутоиммунными заболеваниями повышена концентрация и самой ДНК, и антител к ней. Особенно в этом плане примечательна системная красная волчанка (СКВ).

2.1. История открытия

На заре биохимии считали, что структура активного центра фермента точно соответствует структуре субстрата, т. е. подходит к нему, как ключ к замку. Однако в 1940-х годах будущий Нобелевский лауреат Л. Полинг показал, что активные центры комплементарны не только субстратам и продуктам, но и некоторым промежуточным структурам – так называемым *переходным состояниям* вещества, которые образуются в ходе реакции. Из своей гипотезы Полинг сделал довольно интересный вывод: если бы иммунная система умела вырабатывать антитела против переходных состояний, то такие антитела обладали бы свойствами ферментов. Как мы видели, иммунная система производит невообразимое количество самых разных антител, и среди них всегда найдется такое, которое будет соответствовать даже самому экзотическому антигену. Однако схему Полинга в чистом виде невозможно реализовать технически – переходные состояния существуют очень короткое время. Поэтому позже В. Дженкс предложил использовать стабильные

молекулы с похожей структурой, чтобы получить антитела на них. Эта идея получила первое экспериментальное подтверждение в 1986 г. Такие антитела, обладающие каталитической активностью, называли *абзимами* (от английских слов *antibody enzyme* – антитело-фермент). Известные на сегодня абзимы катализируют более ста различных реакций, причем даже такие, для которых природных ферментов не существует. Можно считать, что возникла целая новая отрасль биохимии – *абзимология*. Каталитически активными антителами, или абзимами, называются иммуноглобулины различных классов, обладающие способностью не только связывать антиген, но и катализировать химические реакции с его участием. Указывая на сходство антител и ферментов в 1969 г. Б. Дженкс, развивая идеи Полинга, высказал гипотезу о том, что антитела, полученные иммунизацией химически стабильными аналогами переходных состояний, будут катализировать эти реакции, а их активные центры будут содержать структурные мотивы, подобные таковым для ферментов.

2.2. Природные и искусственные абзимы

Однако прошло не одно десятилетие, прежде чем подобные каталитически активные антитела были найдены. Каталитические антитела принято разделять на природные, образующиеся в живом организме, и искусственные, полученные путем иммунизации стабильными аналогами переходных состояний химических реакций, или другими генно-инженерными методами. Первым примером природных каталитических антител в мировой литературе принято считать антитела, расщепляющие вазоактивный интестинальный нейропептид (ВИП), выделенные из крови больных бронхиальной астмой в лаборатории под руководством Сидхура Пола в 1989 г. В настоящее время известно более 100 реакций, катализируемых антителами, полученными как иммунизацией различными гаптенами – стабильными аналогами переходного состояния, так и с помощью методов сайт-направленного мутагенеза генов антигенсвязывающего участка, селективной химической модификации активного центра и других подходов. Причем в ряде

случаев полученные абзимы обладают более высокой скоростью катализа, чем канонические ферменты, высокой специфичностью (в том числе и стереоспецифичностью), а для некоторых нет аналогов среди природных ферментов. Поэтому интерес в изучении антител связан с перспективами применения их в биотехнологии и медицине. Тем не менее, вопрос о механизмах образования и роли каталитических антител в функционировании иммунной системы в норме и при патологии остается недостаточно изученным.

Первые искусственные каталитические антитела получены ранее природных путем иммунизации стабильными аналогами переходного состояния реакции в 1986 г. независимо двумя группами исследователей под руководством П. Шульца и А.Трамонтано.

2.3. Механизмы образования каталитических антител

Основные механизмы образования антител с ферментативными свойствами к настоящему времени достаточно хорошо изучены *in vitro* в экспериментах с моноклональными антителами. Однако возможность реализации того или иного механизма *in vivo* оценить достаточно сложно. Тем не менее, существует несколько механизмов образования каталитических антител.

Первый механизм генерации каталитических антител связан с генетическими механизмами, лежащими в основе разнообразия продуцируемых антител организма. Как известно, молекула антитела человека (а также В-клеточного рецептора) состоит из двух тяжелых (H) и двух легких (L) цепей, соединенных дисульфидными связями. Каждая H-цепь и L-цепь содержит константные (C) и вариабельные (V) домены, гены которых находятся на 14-й хромосоме (гены тяжелой цепи), а также второй (гены легкой цепи K-типа) и 12-й хромосоме (гены легкой цепи λ -типа). Каждый ген H- и L-цепи содержит константный сегмент (Constant – C), кодирующий константный домен антител, а также несколько копий трех разных типов сегментов консервативных генов зародышевой линии (variable –V, diversity –D и joining – J). Удивительное разнообразие продуцируемых организмом антител (теоретически 1024–1026

возможных вариантов) обусловлено процессами V-(D)-J-рекомбинации и соматической гипермутации зародышевых генов, протекающей после антигенной стимуляции.

Формальное доказательство врожденного происхождения способности к нуклеофильному катализу на примере протеолитической активности было получено из исследования субъединицы легкой цепи антитела, гидролизующего ВИП. Каталитические аминокислотные остатки (Ser27-His93-Asp1), идентифицированные сайт-направленным мутагенезом, также были закодированы в исходных зародышевых генах варибельной области легкой цепи. Последовательности зрелой и зародышевой легкой цепи иммуноглобулина отличались всего на четыре аминокислоты, пространственно удаленные от каталитического сайта. Замена аминокислот путем мутагенеза на исходные, характерные для зародышевой линии, не приводила к потере каталитической активности, что подтверждает врожденное происхождение активности. Группа французских ученых, используя биоинформатические методы, показала, что гены, кодирующие каталитические участки антител, проявляют высокую степень гомологии с их зародышевыми аналогами. Следовательно, процесс созревания путем накопления соматических гипермутаций имеет меньшее значение для каталитической функции антител. Оказалось, что варибельные домены практически всех антител содержат нуклеофильные сайты. Имеющиеся данные позволили предположить, что каталитическая активность возникла в течение миллионов лет эволюции у более низших организмов, содержащих первую узнаваемую иммунную систему, и что каталитический иммунитет является важным защитным механизмом против чужеродных антигенов у этих организмов. Нуклеофильные свойства обусловлены точным пространственным позиционированием и внутримолекулярной активацией некоторых аминокислот, например, каталитической триады, характерной для сериновых протеаз, в которой атом кислорода гидроксильной группы Ser способен к нуклеофильной атаке на слабо

электрофильный углерод карбонильных связей из-за наличия водородной связи с остатками His и Asp. Кроме того, в катализе важную роль могут играть и другие аминокислоты: лизин, гистидин, треонин и тирозин. Например, лизин в положении 89 располагается в активном центре легкой цепи моноклонального антитела 93F3, катализирующего альдозазную реакцию. Также показано, что константные домены играют важную роль в регуляции каталитической активности антител. В частности, при совместной экспрессии переменного домена с константным доменом IgM протеолитическая активность была гораздо выше, чем при совместной экспрессии с константным доменом IgG. Интересно, что некоторые белки, подвергнутые необратимой тепловой денатурации, проявляют повышенную нуклеофильную активность. Показано, что сайт связывания одного антитела может принимать различные конформации, что приводит к мультиспецифичности. Наблюдаемый эффект можно объяснить наличием внутренне неупорядоченных мотивов (*intrinsically disordered regions*) в молекуле иммуноглобулина. Эти данные позволяют предположить важную роль конформации белковой молекулы для осуществления нуклеофильного катализа. Тем не менее, генерация каталитических антител ограничена процессами созревания В-клеток. При повторной встрече с антигеном, его взаимодействие с В-клеточным рецептором (BCR) должно приводить к активации пролиферации В-клеток. Быстрая деградация антигена в случае наличия каталитической активности у BCR, будет лишать В-клетки стимуляции, необходимой для деления. Однако в условиях избытка антигена данный механизм будет иметь меньшее значение. В целом, скорость катализа, демонстрируемая антителами, будет ограничена скоростью проведения стимулирующего сигнала от BCR для индукции пролиферации.

Скорости передачи трансмембранных сигналов зависят от силы взаимодействия с корецепторными молекулами в комплексе с BCR, а также от уровня экспрессии этих молекул. При этом нарушение проведения сигналов через BCR может приводить к развитию аутоиммунных заболеваний, что в

свою очередь будет способствовать увеличению продукции каталитических антител. Важно отметить, что нуклеофильная реакционная способность антител является необходимым, но не достаточным условием для ковалентного катализа. Помимо этого, антитела должны способствовать стабилизации промежуточных соединений реакции, а также высвобождению фрагментов продукта реакции из активного сайта. Поэтому существуют другие механизмы образования каталитических антител.

Вторым механизмом образования каталитических антител является иммунизация стабильными аналогами переходных состояний (transition state analogs, TSA) химических реакций. Образование каталитических антител, которые бы стабилизировали промежуточные продукты реакции, находящиеся в нестабильном типе переходного состояния, осложняется тем, что такие продукты неустойчивы и существуют короткий период времени. Поэтому для иммунизации в качестве гаптенов используют стабильные аналоги переходных состояний, которые имитируют переходное состояние для интересующей реакции с учетом стереохимии и распределения заряда. Образующие антитела будут комплементарны этому переходному состоянию и, таким образом, будут приводить к каталитическому ускорению этой реакции. Именно таким методом были получены первые искусственные каталитические антитела. К настоящему времени с помощью такого подхода получены абзимы, катализирующие гидролиз амидов и сложных эфиров, а также реакции циклизации, декарбоксилирования, лактонизации, окислительно-восстановительные реакции и другие. Причем описаны реакции, для которых не существует аналогов среди природных ферментов. Также получены абзимы, для которых требуются кофакторы, аналогичные классическим ферментам. Как развитие данного направления Р. Лернером предложена концепция «реактивной иммунизации», при которой организмы иммунизировались высокореактивными гаптенами, предназначенными для ковалентной связи с нуклеофильным BCR, формируя, таким образом TSA. Ковалентные реактивные аналоги (КРА), которые

связываются с нуклеофильными остатками BCR, были использованы С. Полон и его сотрудниками для получения абзимов, гидролизующих белок gp120 оболочки вируса ВИЧ-1. В качестве иммуногена использовался белок gp120, конъюгированный с КРА. Таким же подходом были получены абзимы, гидролизующие β -амилоид.

Таким образом, *третий механизм* образования каталитических антител заключается в иммунизации антигенами, конъюгированными с КРА, что приводит к образованию ковалентного комплекса с BCR и индукции адаптивного созревания каталитических антител, несущих нуклеофильные сайты.

Четвертый механизм образования абзимов основан на теории идиотип-антиидиотипической сети Эрне. Согласно этой теории, иммунизация животного антигеном приводит к получению антител 1-го поколения (Ab1) с антигенсвязывающим сайтом, специфичным для эпитопа на антигене (эпитопом называют часть молекулы антигена, которая распознается иммунной системой – Т- и В-лимфоцитами). Иммунизация вариабельной областью Ab1 индуцирует образование антител 2-го поколения Ab2, антигенсвязывающий домен которых является комплементарным вариабельной области Ab1 и в некоторых случаях является внутренним образом антигенного эпитопа. Если исходным антигеном является фермент, то некоторые из Ab2 будут являться аналогами активного центра фермента и, таким образом, будут каталитически активными. С помощью такого метода были получены моноклональные абзимы с эстеразной, β -лактамазной, карбоксипептидазной, аллииназной, протеолитической, РНК- и ДНК-гидролизующей активностью.

Помимо перечисленных механизмов к образованию каталитических антител может приводить и классическая иммунизация различными антигенами, в том числе конъюгированными с адъювантами. Иммуногенами могут выступать как крупные молекулы (ДНК, РНК, белки), так и гаптены (пептиды, олигосахариды, химические соединения). Кроме того, антигены

собственных тканей организма могут выступать в качестве иммуногенов. Вследствие различных деструктивных процессов, таких как окислительный стресс, воспаление, воздействие токсических веществ и факторов окружающей среды, некоторые молекулы могут изменять свою конформацию и приобретать иммуногенные свойства. Гибель клеток путем апоптоза также может являться источником аутоантигенов. При взаимодействии с белками некоторые антигены могут принимать конформацию, аналогичную структурам переходных состояний химических реакций.

Поэтому образование каталитических антител в живом организме может осуществляться по всем перечисленным механизмам: за счет адаптивного созревания нуклеофильных центров антител, происходящих из исходных зародышевых генов; за счет образования антител к аналогам переходных состояний; за счет иммунизации реактивными аналогами; за счет идиотип-антиидиотипических взаимодействий антител. Таким образом, общий пул иммуноглобулинов организма состоит не только из высокоаффинных и специфичных «связывающих» антител, но и каталитических антител, обладающих меньшей аффинностью и специфичностью. Однако оценить количество образующихся каталитических антител достаточно сложно, поскольку это зависит от индивидуальных особенностей организма, природы иммуногена, вызвавшего образование антител, и других причин.

2.4. Абзимы при различных заболеваниях

Как известно, аутоиммунные заболевания (АИЗ) сопровождаются образованием абзимов с самым широким репертуаром каталитической активности. При данных заболеваниях образуются каталитические антитела, гидролизующие ДНК, РНК, олигонуклеотиды, белки, пептиды и олигосахариды. Следует отметить, что наиболее высокий уровень каталитической активности абзимов обнаруживается при таких тяжелых аутоиммунных патологиях, как СКВ и рассеянный склероз (РС). Как известно, АИЗ характеризуются спонтанным образованием аутоантител к разнообразным

аутоантигенам. Например, повышенные титры анти-ДНК антител обнаружены при СКВ у 38 % больных, а при РС – у 17–18 % пациентов. При этом ДНК-гидролизующие абзимы обнаружены у 90–95 % больных РС и СКВ. Таким образом, отсутствует корреляция между титром аутоантител и наличием каталитических антител. Это связано с тем, что увеличение титров аутоантител происходит на поздних стадиях АИЗ, либо во время обострения. Поэтому очевидно, что образование антител, которые только связывают антиген, и абзимов, не только связывающих, но и гидролизующих антиген, происходит в разных клонах В-лимфоцитов, а также обусловлено различными механизмами. Тем не менее, имеются литературные данные, указывающие на то, что некоторые сайты гидролиза антигена находятся в иммунодоминантных областях молекулы (т. е. тех, к которым образуются антитела), что указывает на общность механизмов образования абзимов и обычных антител. Например, при РС обнаружены антитела, гидролизующие основной белок миелина (ОБМ), причем 5 из 6 основных сайтов гидролиза ОБМ находятся в иммунодоминантных областях молекулы ОБМ после аргинина или лизина. Таким образом, можно предположить, что при развитии АИЗ происходит увеличение количества клонов В-лимфоцитов, продуцирующих аутоантитела, а также абзимы. Известно, что В-лимфоциты синтезируют структурно и функционально различные классы антител на разных этапах жизненного цикла. Согласно литературным данным иммуноглобулины (Ig) класса М отличаются способностью катализировать гидролиз модельных субстратов со скоростями, существенно большими, чем IgG, продуцируемые на более поздних стадиях дифференцировки В-клеток после переключения синтеза изотипов антител. В частности, IgM из сыворотки больных СКВ обладали в 5–10 раз большей ДНК- и РНК-гидролизующей активностью, чем IgG из той же сыворотки. В другой работе показано, что специфическая каталитическая активность IgM и секреторного иммуноглобулина А (sIgA) из сывороток пациентов с РС в реакции гидролиза ОБМ были значительно выше, чем у IgG. В работах под

руководством S. Paul установлено, что IgM обладают в 344 раза большей протеолитической активностью, а IgA – в 3 раза большей активностью, по сравнению с IgG. Таким образом, по уровню каталитической активности иммуноглобулины различных классов можно расположить следующим образом: $IgM > IgA > IgG$. Ожидается, что IgM обладает наибольшей активностью, поскольку эта молекула имеет наименьшее сродство к субстрату и гибкий антиген-связывающий домен. Высокая каталитическая активность IgM по сравнению с IgG не объясняется эффектами авидности (стабильности взаимодействия между антигеном и антителом, отражающей прочность этой связи) поскольку возможности многовалентного связывания IgM препятствуют низким концентрациям субстрата, используемые в реакции. Объяснение полученных результатов, приведенных здесь, заключается в том, что протеолитическая активность теряется при соматической гипермутации V-домена после того, как В-клетки переключаются с производства антител класса М на антитела класса G. Другим объяснением является уникальная доменная архитектура IgM, которая способствует поддержанию целостности каталитического сайта, а в случае переключения на синтез другого изотипа, приводит к снижению каталитической активности. Имеющиеся данные указывают на то, что эффективное функционирование клонов В-лимфоцитов, продуцирующих абзимы, запускается при наличии выраженного аутоиммунного процесса. Это подтверждается исследованиями на мышинных моделях. Так у мышей линии MRL-lpr/lpr, подверженных спонтанному развитию аутоиммунных заболеваний (например, СКВ), появление каталитических антител было связано с глубокими нарушениями в пролиферации и дифференцировке стволовых кроветворных клеток костного мозга (СКККМ) и подавлением апоптоза клеток. Наибольший прирост в уровне активности абзимов был обнаружен у мышей, иммунизированных ДНК. При этом показано, что ДНК-гидролизующая активность возникает на самых ранних стадиях развития аутоиммунной патологии, когда общий титр антител к

ДНК еще очень низкий и сопоставим с таковым у здоровых мышей. Причем дальнейшее увеличение активности коррелирует с развитием клинических симптомов, а также с увеличением титров анти-ДНК-антител в сыворотке и белка в моче. В другом исследовании обнаружено, что после иммунизации гаптен-аналогом переходного состояния у мышей линии MRL/lpr, склонных к развитию СКВ, образуется гораздо больше каталитических антител, чем у мышей дикого типа MRL/++, или BALB/c. Таким образом, образование абзимов с ДНКазной активностью является ранним и четким *маркером* аутоиммунной патологии. Как было указано выше, при РС и СКВ образуются абзимы, гидролизующие ОБМ. Абзимы у больных СКВ также способны гидролизовать гистон H₁. При тиреоидите Хашимото обнаружены абзимы, расщепляющие тиреоглобулин, а также флуоресцентно-меченый трипептид пролин-фенилаланин- аргинин-МСА. Низкое значение константы Михаэлиса для тиреоглобулина (39 нМ) в сравнении с трипептидом (18 мкМ) может быть связано с тем, что этап связывания тиреоглобулина является специфическим, а гидролитический этап реакции менее специфичен, а также что сайт связывания и каталитический сайт находятся в непосредственной близости. Интересным примером протеолитических абзимов являются IgG, гидролизующие факторы VIII и IX свертывающей системы крови у больных приобретенной гемофилией, вызванной спонтанным образованием аутоантител к этим факторам. Причем в большинстве случаев IgG-опосредованный гидролиз фактора IX приводил к активации этого фактора, что может частично компенсировать опосредованное антителом ингибирование эндогенного фактора VI.

Протеолитические абзимы также образуются и при аутоиммунном миокардите и гидролизуют кардиомиозин. Таким образом, абзимы с протеолитической активностью способны гидролизовать функционально важные белки и могут существенно влиять на патогенез заболеваний.

Абзимы также образуются при воспалительных и инфекционных заболеваниях. Самыми первыми природными абзимами были

идентифицированы ВИП-гидролизующие антитела у больных бронхиальной астмой, при сепсисе обнаружены абзимы, гидролитически расщепляющие факторы VIII и IX системы свертывания крови. Кумулятивная выживаемость среди пациентов с высокими уровнями IgG-опосредованного гидролиза была выше, по сравнению с пациентами с низкими показателями гидролиза. Также наблюдалась обратная корреляция между маркерами тяжести синдрома диссеминированной внутрисосудистой коагуляции и уровнем активности IgG пациентов с сепсисом, что указывает на то, что каталитические IgG могут участвовать в контроле диссеминированного микрососудистого тромбоза, приводящего к полиорганной недостаточности.

Другим примером абзимов при инфекционных заболеваниях являются каталитические IgG и IgM больных ВИЧ-инфекцией, гидролизующие обратную транскриптазу и интегразу ВИЧ, гистоны (H₁, H_{2a}, H_{2b}, H₃, H₄), β -казеин и различные пептиды. Установлено, что обнаруженные протеолитические абзимы, представляют собой смесь субфракций антител, отличающиеся по биохимическим параметрам в зависимости от пациента. Часть абзимов проявляет сериновую протеазо-подобную каталитическую активность, другие являются металло-зависимыми, кислыми или тиоловыми протеазами. Часть этих антител может проявлять защитные свойства, поскольку разрушает вирусные белки. Также отмечено, что абзимы, гидролизующие гистоны могут нарушать сборку нуклеосом и процесс связывания с ДНК, поэтому могут играть негативную роль в патогенезе синдрома приобретенного иммунодефицита. При вирусных и бактериальных заболеваниях также образуются абзимы, гидролизующие нуклеиновые кислоты. В частности, при ВИЧ-инфекции и гепатитах А, В, С, D обнаружены антитела, гидролизующие плазмидную ДНК, при гепатитах также образуются РНК-гидролизующие антитела, расщепляющие цГМФ, poly(U), poly(A), poly(C), тРНК. В среднем каталитическая активность IgG при бактериальных инфекциях значительно ниже, чем при аутоиммунных патологиях. Уровень ДНКазной активности

увеличивается в следующем порядке: стрептококковая инфекция < урогенитальный хламидиоз, связанный с артритом (болезнь Рейтера) < менингококковый менингит < шигеллез < гнойные хирургические инфекции, вызванные *Staphylococcus aureus* < гнойные хирургические инфекции, вызванные *Staphylococcus epidermidis* < мочеполовой уреоплазмоз, связанный с реактивным артритом. ДНКазная активность отсутствовала у антител здоровых доноров, а также больных гриппом, пневмонией, тонзиллитом, туберкулезом, язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и некоторыми видами онкологических заболеваний (опухоли матки, молочной железы, желудка и кишечника). При онкологических заболеваниях каталитические антитела обнаружены только при опухолях лимфатической системы, связанных с пролиферацией В-клеток: множественной миеломе, хроническом лимфоцитарном лейкозе, клеточной лимфоме маргинальной зоны, фолликулярной лимфоме. При заболеваниях, связанных с пролиферацией Т-лимфоцитов, ДНКазная активность отсутствовала при неходжкинской лимфоме Т-клеток, синдроме Сезари, остром Т-лимфобластном лейкозе и лимфоме Ходжкина. Эти данные указывают на увеличение вероятности образования клонов, продуцирующих ДНК-гидролизующие абзимы в опухолях, полученных из относительно зрелых В-клеток, по сравнению с другими типами злокачественной лимфопролиферации. Кроме того, установлено, что ДНК-абзимы преимущественно присутствуют в крови пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями, осложненными различными аутоиммунными нарушениями. Это наблюдение позволяет предположить о схожих механизмах образования абзимов при опухолевых и аутоиммунных заболеваниях. Помимо ДНК-гидролизующих абзимов при множественной миеломе и макроглобулинемии Вальденстрема образуются абзимы с протеолитической активностью, гидролизующие протромбин и β -амилоид.

Интересным примером абзимов, образующихся при множественной миеломе являются десалилирующие антитела. Модификация уровня

поверхностного сиаилирования молекул под действием данных антител может приводить к изменению опухолегенности и метастатического потенциала клеток, а также облегчать удаление апоптотических клеток. Протеолитические антитела образуются также при аллоиммунных заболеваниях. Например, при гемофилии А после заместительной терапии обнаружены антитела, гидролизующие фактор VIII свертывающей системы, а у больных с реакцией отторжения почки при трансплантации продуцируются абзимы, гидролизующие коагуляционные факторы VIII и IX, но не фактор VII и протромбин, тем самым регулируя состояние прокагуляции.

Абзимы при метаболических заболеваниях обнаружены только при сахарном диабете. В частности, у больных найдены антитела, гидролизующие ДНК и β -казеин. При этом показано, что у пациентов с диабетом I типа образуются антитела и иммунные комплексы против глюкозо-регулируемого белка 94 (Grp94), который относится к белкам теплового шока. Кроме того, обнаружено образование аддуктов участков связывания антигенов с иммуноглобулинами Fab (Fab/(Fab)₂ с Grp94, а также антиидиотипических антител против этих аддуктов, которые ингибировали протеолитическую активность. Таким образом, это первый пример антиидиотипических антител, которые подавляют протеолитическую активность IgG.

Долгое время считалось, что абзимы не образуются у здоровых людей. Первым примером абзимов в отсутствие каких-либо заболеваний стали sIgA молока человека, катализирующие фосфорилирование белков. Впоследствии были обнаружены липид-киназная и полисахарид-киназная активности IgG и sIgA молока человека. Таким образом, впервые были идентифицированы природные абзимы, катализирующие не реакцию деградации, а реакцию синтеза. Причем данные реакции являются двусубстратными реакциями. Интересно, что в качестве донора фосфатной группы антитела способны использовать не только АТР, но и другие нуклеотиды (дАТФ, дГТФ, УТФ ТТФ), в том числе и ортофосфат.

В дальнейшем были обнаружены IgG и sIgA молока человека, способные катализировать реакции гидролиза ДНК, РНК, олигонуклеотидов. Помимо этого, в молоке здоровых женщин показано наличие абзимов, гидролизующих β -казеин, а также олигосахариды. Следует отметить, что антитела молока человека характеризуются более высокой активностью по сравнению с большинством известных абзимов больных АИЗ. В целом, можно предположить, что абзимы молока человека играют важную роль в защите новорожденного от вирусных и бактериальных инфекций. У клинически здоровых доноров в сыворотке крови обнаружены протеолитические абзимы. Например, у неинфицированных людей показано наличие каталитических IgG и IgM, гидролизующих гликопротеин gp120 оболочки ВИЧ. Один из сайтов расщепления (Lys432–Ala433) расположен в области, являющейся суперантигенной детерминантой. Также IgM здоровых доноров способны гидролизовать белок транстиретин, способный образовывать агрегаты и приводить к развитию амилоидоза. Помимо этого, обнаружены абзимы, гидролизующие внеклеточный фибриноген, связывающий белок *S. aureus*.

Таким образом, каталитические антитела у здоровых доноров могут участвовать в защите организма и являться первой линией защиты от различного рода патогенов. Антитела здоровых доноров обладают пероксидазной и оксидоредуктазной активностями и способны окислять различные токсические соединения.

Наряду с известными антиоксидантными ферментами данные абзимы могут защищать организм от окислительного стресса, шизофрении. Однако другие каталитические активности IgG при шизофрении не исследованы. Шизофрения связана с различными иммунологическими нарушениями, в том числе в гуморальном звене иммунитета. Поэтому нельзя исключить, что при шизофрении также образуются специфические каталитические антитела. Актуальность изучения абзимов при шизофрении и других заболеваниях обусловлена тем, что каталитические антитела могут участвовать в патогенезе

заболевания. Выяснение новых патологических механизмов, обусловленных каталитическими антителами, позволит разработать новые терапевтические стратегии лечения этих заболеваний. Также актуальность исследования каталитических антител связана с возможностью их использования в качестве специфических биомаркеров шизофрении.

2.5 Биологическая роль абзимов и перспективы их применения в медицине и биотехнологии

Образование каталитических антител является распространенным иммунологическим явлением. В связи с этим возникает вопрос: каталитическая активность является специфической функцией антител, или следствием дисфункции иммунной системы? Основываясь на имеющихся литературных данных, можно говорить, как о патологической, так и защитной роли каталитических антител в организме. Возможно, биологическая роль абзимов зависит от конкретного заболевания. Патологическая роль абзимов, гидролизующих ОБМ, очевидна при РС. Показано, что скорости катализа с помощью аутоантител к ОБМ являются одними из самых высоких значений, зарегистрированных для абзимов и, следовательно, достаточны для их патологических эффектов при медленном развитии нейродегенерации в ходе прогрессирования РС. При тиреоидите Хашимото протеолиз тиреоглобулина под действием абзимов может приводить к нарушению функции щитовидной железы. Гидролиз фактора VIII свертывающей системы крови аутоантителами больных гемофилией А в процессе заместительной терапии будет нарушать коагуляционный каскад и способствовать развитию кровотечений. Вместе с тем, протеолиз протромбина под действием легких цепей антител больных множественной миеломой приводит к образованию фрагментов, активирующих превращение фибриногена в фибрин, что способствует тромбозу. Снижение концентрации ВИП, вследствие гидролиза протеолитическими абзимами, может приводить к нарушению расслабления гладкой мускулатуры бронхов и дыхательной дисфункции при бронхиальной астме.

В случае ДНК-гидролизующих абзимов, их патологические эффекты обусловлены комплемент-независимой цитотоксичностью. Показано, что ДНК-гидролизующие антитела способны преодолевать плазматическую и ядерную мембрану различных клеток, вызывать фрагментацию ДНК и активировать апоптоз клеток через каспаза-зависимые механизмы. К транслокации через мембрану способны не только фрагменты иммуноглобулинов (легкие цепи, Fab-домены), но и целые молекулы антител. Проникновение иммуноглобулинов в клетку осуществляется за счет взаимодействия с сульфатированными протеогликанами на поверхности клетки путем клатрин-независимого эндоцитоза. Альтернативным вариантом реализации цитотоксической активности ДНК-абзимов является их взаимодействие с рецепторами на клеточной поверхности, которые вызывают апоптоз. Однако не все ДНК- гидролизующие абзимы цитотоксичны. Показано, что ДНК-абзимы, полученные иммунизацией здоровых животных, или от пациентов с различными бактериальными и вирусными инфекциями, не являются цитотоксичными по отношению к опухолевым и нормальным клеткам.

Однако вместе с этим можно привести множество примеров положительной роли абзимов. Гидролитическое расщепление β -амилоида под действием протеолитических IgM снижает агрегацию и токсичность этого белка на нейрональных культурах клеток, тем самым препятствуя развитию болезни Альцгеймера. Антитела, образующиеся при сепсисе и гидролизующие коагуляционные факторы VIII и IX, могут участвовать в регуляции диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови.

Удаление тиреоглобулина из кровотока путем его деградации абзимами при тиреоидите Хашимото будет способствовать минимизации аутоиммунного ответа, снижению воздействия иммунной системы на этот белок и уменьшению вероятности вредных иммунокомплексных эффектов.

Защитную функцию выполняют также абзимы, гидролизующие интегразу и обратную транскриптазу ВИЧ. У здоровых доноров обнаружены IgM,

способные гидролизовать транстиретин с неправильной конформацией, растворять токсичные виды этого белка и защищать от развития амилоидоза. Антитела сыворотки здоровых, неинфицированных доноров обладают способностью гидролитически расщеплять белок gp120 ВИЧ и внеклеточный фибриноген связывающий белок *S. aureus*.

При беременности образуются абзимы с ДНК- и РНК-гидролизующей активностью, которые помогают незрелой иммунной системе новорожденного защищаться от инфекций путем разрушения нуклеиновых кислот вирусов и бактерий. Другим доказательством защитной функции протеолитических абзимов молока человека является их способность активировать синтез дефензинов в эпителиальных клетках кишечника посредством гидролиза протеаза-активируемого рецептора.

Абзимы с оксидоредуктазной активностью могут участвовать в регуляции окислительного стресса. Эти данные указывают на потенциальную защитную функцию конститутивно продуцируемых каталитических антител. Такой, своего рода «каталитический» иммунитет, частично закодированный в генах зародышевой линии, обеспечил эволюционные преимущества при выживании.

В целом, абзимы при одном и том же заболевании могут играть двойственную роль. Это хорошо иллюстрируется на примере ДНК-гидролизующих абзимов, которые с одной стороны могут быть цитотоксичными, а с другой защищать от вирусных инфекций. Поэтому особенно важно изучать весь спектр каталитических активностей антител при определенном заболевании, чтобы выяснить их роль при данной патологии. Уникальная пространственная структура каталитических антител, сочетающая в себе высокую специфичность и функциональную активность, открывает большие возможности для разработки терапевтических средств на их основе.

Несмотря на низкую скорость катализа по сравнению с классическими ферментами, а также неспособность реализовывать сложные динамические

механизмы катализа, характерные для ферментов, *абзимы, тем не менее, имеют множество преимуществ:*

Во-первых, каталитические антитела обладают низкой иммуногенностью.

Во-вторых, иммуноглобулины циркулируют в крови длительное время (более двух недель), в отличие от канонических ферментов, которые, при попадании в кровь, быстро инактивируются протеазами. Кроме того, антитела способны преодолевать гистогематический барьер и накапливаться в пораженных органах, в местах воспаления.

В-третьих, абзимы обладают высокой специфичностью, которая может быть повышена путем различных генноинженерных методов.

В-четвертых, благодаря своей валентности, абзимы могут связывать и разрушать множество молекул антигена, в то время как классические антитела могут связывать только ограниченное число антигенов. Это позволяет уменьшать количество вводимых молекул антител для оказания значимых эффектов, что, в свою очередь, уменьшает риск побочных эффектов и стоимость терапии. Кроме того, быстрое удаление антигена из кровотока абзимами будет способствовать минимизации аутоиммунных реакций и снижению патологических иммунокомплексных эффектов, характерных для классических антител.

В-пятых, с помощью биотехнологических методов абзимы можно получить в больших количествах.

В-шестых, благодаря генно-инженерным методам, теоретически можно создать абзимы практически к любому антигену. Определенные надежды связаны с перспективой использования абзимов для лечения зависимостей от психоактивных веществ. В частности, разрабатываются моноклональные абзимы, гидролизующие кокаин и никотин. В лаборатории под руководством академика А. Г. Габиева занимаются разработкой абзимов, избирательно гидролизующих фосфорорганические соединения. С применением методов комбинаторной химии, технологий скрининга сверхвысокой пропускной

способности (Ultrahigh-throughput screening techniques), квантово-механических расчетов (QM/MM calculations) для созревания антител *in silico*, было разработано каталитическое антитело A17, гидролизующее фосфорорганический пестицид параоксон. Абзимы также могут применяться для защиты от различных инфекций. В частности, в лаборатории Сидхура Пола (США) разрабатывается вакцина против ВИЧ, основанная на способности абзимов гидролизовать вирусный белок gp120. Гликопротеин оболочки ВИЧ gp41 является еще одной мишенью для разработки каталитических антител.

Помимо этого, разрабатывается каталитическое антитело, гидролизующее полисахариды капсулы бактерии *Cryptococcus neoformans*. Установлено, что полученное моноклональное антитело 18B7 также эффективно расщепляет полисахариды грибковых клеток. Разработано моноклональное антитело UA15, гидролизующее уреазу бактерии *Helicobacter pylori*, вызывающей гастрит. Показано, что использование данного антитела значительно снижает количество этой бактерии в желудке мышей.

Синтезированы моноклональные легкие цепи, полученные от человека, вакцинированного против вируса бешенства, которые обладают протеазной активностью и защищают от инфицирования этим вирусом. Разработанные ДНК-гидролизующие абзимы 22F6-L способны защищать от вируса гриппа типа А (H₁N₁).

При болезни Альцгеймера разрабатываются антитела, гидролизующие β -амилоид. Разработан новый способ доставки адено-ассоциированного вирусного вектора, кодирующего ген β -амилоид-специфического каталитического антитела rAAV9-IgVL5D3. Адресная доставка гена антитела и его экспрессия непосредственно в головном мозге является безопасным и более эффективным подходом к профилактике и лечению болезни Альцгеймера, чем обычные анти- β -амилоид-антитела.

Для антицитокиновой терапии аутоиммунных заболеваний разработано моноклональное антитело ETNF-6-H, гидролизующее фактор некроза опухоли

а. Для коррекции окислительного стресса разработано Se-содержащее каталитическое антитело Se-scFv-2D8, обладающее глутатионпероксидазной активностью.

Интересны результаты корейских ученых, создавших однодоменное каталитическое антитело 3D8VL, гидролизующее нуклеиновые кислоты. Таким образом, создано сиквенс-специфичное, нуклеотид-гидролизующее, проникающее в клетки антитело, которое можно использовать для подавления экспрессии генов (gene silencing).

Помимо выше перечисленного, не менее интересным применением каталитических антител, является абзимная пролекарственная терапия. В основе этого метода лежит технология антитело-направленной ферментной пролекарственной терапии. Метод основан на использовании антител против антигенов опухолевых клеток, конъюгированных с ферментами, для активации пролекарственной формы препарата непосредственно вблизи опухолевых клеток. Замена фермента на абзим уменьшает иммуногенность. Наиболее изученным абзимом для пролекарственной терапии является 38C2 антитело, проявляющее альдозазную активность и активирующее пролекарственную форму противоопухолевых препаратов доксорубицина и камптотецина. Показано, что 38C2 ингибирует рост карциномы толстой кишки человека и линий рака простаты и уменьшает рост опухоли на животной модели нейробластомы. Также 38C2 может применяться при сахарном диабете для активации альдол-модифицированного инсулина. Три антитела на основе гуманизированного 38C2 уже вошли в клинические испытания.

В настоящее время разрабатывается каталитическая вакцина против ВИЧ, которая индуцирует образование каталитических антител у пациентов с синдромом иммунодефицита. Таким образом, поскольку антитела представляют собой самый большой класс биологической терапии на фармацевтическом рынке, вполне вероятно, что абзимы в будущем станут

источником новых терапевтических инструментов в медицине и биотехнологии.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ

1. ВЫБЕРИТЕ ПРАВИЛЬНОЕ СУЖДЕНИЕ

- 1) ферменты – это катализаторы белковой природы
- 2) ферменты– это катализаторы РНКой природы
- 3) ферменты – это катализаторы ДНКовой природы
- 4) ферменты –это любые катализаторы органической природы
- 5) ферменты –это абзимы

2. К КЛАССУ ОКСИДОРЕДУКТАЗ ОТНОСИТСЯ ФЕРМЕНТ

- 1) липаза
- 2) лактаза
- 3) лактатдегидрогеназа
- 4) пепсин
- 5) амилаза

3. К КЛАССУ ИЗОМЕРАЗ ОТНОСИТСЯ ФЕРМЕНТ

- 1) фосфоглюкомутаза
- 2) лактаза
- 3) лактатдегидрогеназа
- 4) пепсин
- 5) амилаза

4. БЕЛКОВАЯ ЧАСТЬ ФЕРМЕНТА НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) апофермент
- 2) простетическая группа
- 3) кофермент
- 4) кофактор

5. КЛАСС ФЕРМЕНТА УКАЗЫВАЕТ НА

- 1) конформацию фермента
- 2) строение активного центра
- 3) тип кофермента
- 4) тип химической реакции, катализируемой данным ферментом

6. ТРАНСЛОКАЗЫ – СЕДЬМОЙ КЛАСС ФЕРМЕНТОВ – СОДЕРЖИТ ПОДКЛАССОВ

- 1) 5
- 2) 6
- 3) 4
- 4) 7

7. УЧЕНЫЙ, ВЫДВИНУВШИЙ ТЕОРИЮ ПЕРЕХОДНОГО СОСТОЯНИЯ

- 1) Л. Полинг
- 2) В. Дженкс
- 3) Р.А. Лернер
- 4) П.Г. Шульц

8. НАЛИЧИЕ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У АНТИТЕЛ БЫЛО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ПОДТВЕРЖДЕНО В ГОДУ

- 1) 1986
- 2) 1975
- 3) 2000
- 4) 1990

9. ПЕРВЫЕ ПРИРОДНЫЕ АБЗИМЫ ОБНАРУЖЕНЫ ПРИ

- 1) вирусном гепатите
- 2) бронхиальной астме
- 3) системной красной волчанке
- 4) аутоиммунном тиреоидите

10. ГИДРОЛИЗОВАТЬ ПРИРОДНЫЕ АБЗИМЫ МОГУТ МОЛЕКУЛЫ

- 1) ДНК
- 2) РНК
- 3) белков
- 4) пептидов
- 5) триглицердов

Выберите два правильных ответа

11. К КЛАССУ ГИДРОЛАЗ ОТНОСЯТ ФЕРМЕНТЫ

- 1) липаза
- 2) фенилаланингидроксилаза
- 3) лактатдегидрогеназа
- 4) пепсин

12. К КЛАССУ ТРАНСФЕРАЗ ОТНОСЯТ ФЕРМЕНТЫ

- 1) липаза
- 2) лактаза
- 3) аспаратаминотрансфераза
- 4) протеинкиназа А

13. К КЛАССУ ЛИАЗ ОТНОСЯТ ФЕРМЕНТЫ

- 1) альдолаза
- 2) глутаматдекарбоксилаза
- 3) лактатдегидрогеназа
- 4) пепсин

14. К КЛАССУ ЛИГАЗ (СИНТЕТАЗ) ОТНОСЯТ ФЕРМЕНТЫ

- 1) альдолаза
- 2) глутаматдекарбоксилаза
- 3) РНК-полимераза
- 4) ацилКоА-синтетаза

15. К КЛАССУ ТРАНСЛОКАЗ ОТНОСЯТ ФЕРМЕНТЫ

- 1) Na^+/K^+ -обменная АТФаза
- 2) АТФ-синтаза
- 3) РНК-полимераза
- 4) ацилКоА-синтетаза

16. АНТИГЕНАМИ МОГУТ БЫТЬ

- 1) белки
- 2) полисахариды
- 3) ДНК
- 4) липиды

17. IgG ГИДРОЛИЗУЮТ ФАКТОРЫ СВЕРТЫВАЕИЯ КРОВИ

- 1) VIII
- 2) II
- 3) X
- 4) IX

Выберите четыре правильных ответа

18. У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ АБЗИМЫ
ГИДРОЛИЗУЮТ ГИСТОНЫ КЛАССОВ

- 1) H₁
- 2) H_{2a}
- 3) H_{2b}
- 4) H₃
- 5) H₄

Установите соответствие

19. УСТАНОВИТЕ СООТВЕТСТВИЕ МЕЖДУ КЛАССОМ ФЕРМЕНТА И
ТИПОМ КАТАЛИЗИРУЕМОЙ РЕАКЦИИ

Класс ферментов	Тип катализируемой реакции
1. Оксидоредуктазы	А) перемещение ионов (молекул) через мембраны
2. Трансферазы	Б) окислительно-восстановительные реакции
3. Гидролазы	В) перенос различных групп
4. Транслоказы	Г) расщепление субстрата с включением в продукты воды
	Д) синтез веществ с затратой энергии АТФ

20. УСТАНОВИТЕ СООТВЕТСТВИЕ МЕЖДУ ФЕРМЕНТОМ И
КАТАЛИЗИРУЕМОЙ ИМ РЕАКЦИЕЙ

ФЕРМЕНТ	Катализируемая реакция
1. липаза	А) синтез лимонной кислоты
2. лактатдегидрогеназа	Б) перенос фосфата от АТФ к фруктозе
3. фруктокиназа	В) гидролиз жиров
4. цитратсинтаза	Г) взаимопревращение лактата и пирувата
	Д) превращение глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6 фосфат

Установите правильную последовательность

21. УКАЖИТЕ ПРАВИЛЬНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ 4-Х ПОСЛЕДНИХ КЛАССОВ ПО МЕЖДУНАРОДНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ФЕРМЕНТОВ

1. Транслоказы
2. Оксидоредуктазы
3. Лигазы
4. Лиазы
5. Трансферазы
6. Гидролазы
7. Изомеразы

22. РАСПОЛОЖИТЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ КЛАССОВ IgM, IgG, IgA ПО УРОВНЮ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Дополните предложение

23. ФЕРМЕНТЫ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ, ОТНОСЯТСЯ К КЛАССУ _____

24. ФЕРМЕНТЫ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЕ РЕАКЦИИ ПЕРЕМЕЩЕНИЯ ИОНОВ ИЛИ МОЛЕКУЛ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ ИЛИ ИХ РАЗДЕЛЕНИЕ ВНУТРИ МЕМБРАН, ОТНОСЯТСЯ К КЛАССУ _____

25. СУЩЕСТВУЕТ _____ МЕХАНИЗМА ОБРАЗОВАНИЯ АНТИТЕЛ С КАТАЛИТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. До 2018 года классификация ферментов включала 6 классов ферментов. Обоснуйте необходимость обособления в отдельный 7-й класс – *транслоказ* некоторых групп ферментов, участвующих в транспорте веществ через мембрану.

2. Цитратсинтаза и глутаминсинтетаза являются ферментами разных классов по международной классификации. Назовите класс каждого из этих ферментов. Объясните различия в типах реакций, катализируемых этими ферментами.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1 – 1	2 – 3	3 – 1	4 – 1	5 – 4
6 – 6	7 – 1	8 – 1	9 – 2	10 – 1
11 – 1, 4	12 – 3, 4	13 – 1, 2	14 – 3, 4	15 – 1, 2
16 – 1, 3	17 – 1, 4	18 – 1, 2, 4, 5	19 – 1-Б; 2-В; 3-Г; 4-А	20 – 1-В; 2-Г; 3-Б; 4-А
21 – . 4.Лиазы 5.Изомеразы 6.Лигазы 7.Транслоказы	22 – Ig M>Ig A>Ig G	23 – оксидоредуктазы	24 – транслоказы	25 – четыре

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Во-первых, ферменты отвечают за транслокацию как неорганических (катионов и анионов), так и органических молекул аминокислот, углеводов и др.). Во-вторых, ферменты различаются по реакциям, обеспечивающим движущую силу для транслокации: транслоказы, связанные с окислительно-восстановительными реакциями или транслоказы, связанные с гидролизом нуклеозидтрифосфатов и другие. Названия многих ферментов не соответствовали характеру их работы.

2. Цитратсинтаза является ферментом 4-го класса ЛИАЗЫ. Глутаминсинтаза является ферментом 6-го класса ЛИГАЗЫ (СИНТЕТАЗЫ). Цитратсинтаза катализирует реакцию образования лимонной кислоты (цитрата) из ацетилКоА и оксалоацетата, АТФ в реакции не участвует. Глутаминсинтаза катализирует образование глутамина из глутамата и аммиака. Реакция требует энергии АТФ.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

1. Северин, Е.С. Биохимия: / под ред. Е. С. Северина. 5-е изд., испр. и доп. – М., ГЭОТАР – Медиа. 2019. – 768 с. ISBN 978-59704-4881 – Текст: непосредственный.
2. Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / под ред. С. Е. Северина, А. И. Глухова. – 3-е изд. , стереотипное. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. – 624 с. – ISBN 978-5-9704-7208-8. – Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. – URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970472088.html> (дата обращения: 22.05.2025). – Режим доступа : по подписке.
3. Тишков, В.И. Химические основы биологических процессов. Классификация (номенклатура) ферментов: / В.И.Тишков. Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Баку, Москва. 2022. – 9 с.
4. Основы биохимии: / под редакцией Н. Н.Чернова, В.С. Покровского – М., : e-poto, 2020. – 304 с. ISBN 978-5-906023-22-3 – Текст непосредственный.

Дополнительная литература

5. Северин, Е. С. Биохимия : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд. , испр. и доп. - Москва : ГЭОТАР- Медиа, 2019. - 768 с. - ISBN 978-5-9704-4881-6. - Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970448816.html> (дата обращения: 22.05.2025). - Режим доступа: по подписке.
6. Тарантул, В.З. Толковый словарь по молекулярной и клеточной биотехнологии. – 2015. – Т. 1. – 986 с.

Учебное издание

Сулова Антонина Ильинична
Бахтаирова Вера Ильинична
Егорова Ирина Эдуардовна

**ФЕРМЕНТЫ И АБЗИМЫ –БИОКАТАЛИЗАТОРЫ
БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ**

Учебное пособие