



## АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФЕРМЕНТОВ: МЕХАНИЗМЫ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ.

*Научный руководитель: профессор кафедры «Фармацевтика и химия»,*

*DSc*

*Пулатова Л.Т.*

*Тулкинов Х.Х.*

*Абдуллаев О.Б.*

*Alfraganus University g. Tashkent, Uzbekistan.*

**Аннотация:** Аллостерическая регуляция является универсальным и фундаментальным механизмом контроля биологической активности белков, в особенности ферментов. Она обеспечивает быструю и точную адаптацию клеточного метаболизма к изменяющимся внутренним и внешним условиям, лежа в основе клеточного гомеостаза, каскадов передачи сигнала и координации сложных биологических сетей. Глубокое понимание молекулярных основ аллостерии не только расширяет фундаментальные знания о функционировании живых систем, но и открывает широкие перспективы для разработки нового поколения таргетных лекарственных препаратов с повышенной селективностью и безопасностью.

**Ключевые слова:** аллостерия, ферменты, регуляция активности, ферментативная кинетика, кооперативность, сигмоидальная кинетика, модель Моно-Ваймана-Шанжэ (MWC), модель Кошланда-Немети-Филмера (KNF), конформационные изменения, четвертичная структура, аллостерический сайт, гомотропная регуляция, гетеротропная регуляция, метаболические пути, ингибирование по типу обратной связи, передача сигнала, аллостерические модуляторы, дизайн лекарств, фармакология, селективность.



**Abstract:** Allosteric regulation is a universal and fundamental mechanism for controlling the biological activity of proteins, especially enzymes. It provides rapid and accurate adaptation of cellular metabolism to changing internal and external conditions, underlying cellular homeostasis, signal transmission cascades, and coordination of complex biological networks. A deep understanding of the molecular basis of allosteria not only expands fundamental knowledge about the functioning of living systems, but also opens up broad prospects for the development of a new generation of targeted drugs with increased selectivity and safety.

**Keywords:** allostery, enzymes, activity regulation, enzymatic kinetics, cooperativeness, sigmoidal kinetics, Monowayman-Shanger (MWC) model, Koshland-Nemeth-Filmer (KNF) model, conformational changes, quaternary structure, allosteric site, homotropic regulation, heterotropic regulation, metabolic pathways, reverse inhibition communication, signal transmission, allosteric modulators, drug design, pharmacology, selectivity.

#### Введение:

Живая клетка представляет собой высокоорганизованную и динамичную систему, эффективность функционирования которой зависит от строгой координации тысяч одновременно протекающих биохимических реакций. Центральную роль в этой координации играют ферменты — белковые катализаторы, активность которых должна тонко и точно регулироваться в ответ на метаболические потребности клетки и внешние сигналы (1, 2). Одним из наиболее универсальных и элегантных механизмов такой регуляции является **аллостерия** (от греч. *állos* — другой и *stereós* — пространственный).



В отличие от простого конкурентного ингибирования, где молекула-регулятор связывается с активным центром фермента, аллостерическая регуляция опосредуется связыванием эффекторной молекулы (аллостерического модулятора) в топографически обособленном центре, именуемом аллостерическим сайтом (3). Это связывание индуцирует конформационные изменения в структуре белка, которые передаются на удаленный активный центр, изменяя его сродство к субстрату и/или максимальную каталитическую скорость. Таким образом, аллостерия — это, по сути, механизм передачи информации на расстоянии внутри белковой молекулы (4, 5).

Исторически концепция аллостерии зародилась из наблюдений, которые не укладывались в рамки классической кинетики Михаэлиса-Ментен. Было замечено, что многие регуляторные ферменты демонстрируют не гиперболическую, а **сигмоидальную зависимость** скорости реакции от концентрации субстрата. Это указывало на кооперативное связывание субстрата, при котором связывание одной молекулы субстрата облегчает связывание последующих (6). Кроме того, было обнаружено, что активность таких ферментов может модулироваться (активироваться или ингибироваться) метаболитами, структурно не похожими на субстрат или продукт реакции. Классическим примером послужило ингибирование фермента аспартаткарбамоилтрансферазы (АТКазы) конечным продуктом пиримидинового биосинтеза — цитидинтрифосфатом (ЦТФ), что является каноническим примером **ингибирования по типу обратной связи** (7).

Эти наблюдения привели Жака Моно, Джеффриса Ваймана и Жан-Пьера Шанжэ в 1965 году к формулировке первой стройной теоретической модели аллостерии — модели MWC (8). Почти одновременно Даниел Кошланд с коллегами предложил альтернативную, последовательную модель (модель



KNF), основанную на его концепции "индуцированного соответствия" (9). Эти две модели заложили теоретический фундамент для понимания аллостерических феноменов и до сих пор остаются краеугольными камнями в преподавании и исследовании биохимии.

Значимость аллостерической регуляции выходит далеко за рамки контроля отдельных ферментов. Она является основой для функционирования сложных метаболических сетей, где активность ключевых ферментов на развилках метаболических путей регулируется концентрациями конечных продуктов, обеспечивая экономичное расходование ресурсов и поддержание гомеостаза (10). Аллостерические механизмы лежат в основе работы рецепторов, ионных каналов, транспортных белков и факторов транскрипции, что делает их универсальным языком клеточной коммуникации (11, 12).

В последние десятилетия, с развитием методов структурной биологии (рентгеноструктурный анализ, криоэлектронная микроскопия) и вычислительного моделирования, наше понимание аллостерии перешло с феноменологического на детальный молекулярный уровень (13, 14). Стало возможным "увидеть" конформационные изменения, лежащие в основе аллостерических переходов, и проследить пути передачи сигнала через белковую структуру. Это, в свою очередь, открыло новую эру в фармакологии — эру **аллостерических лекарств**. В отличие от традиционных препаратов, нацеленных на высококонсервативные активные центры, аллостерические модуляторы связываются с менее консервативными и более специфичными аллостерическими сайтами, что обещает создание препаратов с большей селективностью и меньшим количеством побочных эффектов (15, 16).

Теоретические основы и модели аллостерической регуляции



Понимание аллостерии невозможно без рассмотрения теоретических моделей, которые позволили формализовать и количественно описать это сложное явление. Исторически были предложены две конкурирующие, но взаимодополняющие модели, которые заложили основу для всех последующих исследований.

**Фундаментальные концепции: кооперативность и конформационные состояния**

Ключевым свойством многих аллостерических ферментов является **кооперативность**. Это явление, при котором связывание одной молекулы лиганда (субстрата или эффектора) с одной субъединицей олигомерного белка влияет на сродство других субъединиц к этому же или другому лиганду.

**Положительная кооперативность:** Связывание первой молекулы лиганда повышает сродство других центров связывания. Кинетически это проявляется в виде сигмоидальной кривой зависимости скорости реакции от концентрации субстрата  $V([S])$ . Такая кривая указывает на то, что фермент работает наиболее эффективно в узком диапазоне концентраций субстрата, что позволяет ему действовать как метаболический "переключатель" (17).

**Отрицательная кооперативность:** Связывание первой молекулы лиганда понижает сродство других центров. Это встречается реже и служит для расширения диапазона чувствительности фермента к концентрации субстрата (18).

В основе кооперативности и аллостерии в целом лежит способность белка существовать как минимум в двух различных конформационных состояниях, которые находятся в равновесии:



**Состояние Т (Tense, напряженное):** Характеризуется низкой каталитической активностью и низким сродством к субстрату.

**Состояние R (Relaxed, расслабленное):** Обладает высокой активностью и высоким сродством к субстрату.

Аллостерические модуляторы и субстрат влияют на активность фермента, смещая равновесие между Т и R состояниями (19). Аллостерические активаторы стабилизируют R-состояние, а аллостерические ингибиторы — Т-состояние.

Модель Моно-Ваймана-Шанжё (MWC) — симметричная модель

Предложенная в 1965 году, модель MWC (также известная как "концертированная" или "симметричная" модель) базируется на нескольких ключевых постулатах (8):

**Олигомерная структура:** Аллостерические ферменты являются олигомерами, состоящими из нескольких идентичных протомеров (субъединиц).

**Два состояния:** Весь олигомер может существовать только в двух конформационных состояниях: Т или R. Переход между состояниями происходит согласованно ("концертировано") для всех субъединиц одновременно. Смешанные состояния (например, часть субъединиц в Т, часть в R) запрещены.

**Симметрия:** В обоих состояниях (Т и R) олигомер сохраняет свою структурную симметрию. Все субъединицы в состоянии Т эквивалентны, так же как и все субъединицы в состоянии R.



**Преференциальное связывание:** Лиганды (субстрат, активаторы, ингибиторы) обладают разным сродством к Т и R состояниям. Субстрат и активаторы связываются преимущественно с R-формой, а ингибиторы — с Т-формой.

Согласно модели MWC, связывание молекулы субстрата или активатора с одной из субъединиц в R-форме "захватывает" весь олигомер в этом состоянии, делая его недоступным для возврата в Т-форму. Это резко повышает вероятность связывания следующих молекул субстрата, поскольку все активные центры теперь находятся в высокоаффинном R-состоянии. Это и объясняет положительную кооперативность и сигмоидальную кинетику. Аллостерические ингибиторы, связываясь с Т-формой, стабилизируют ее и сдвигают равновесие влево, что требует более высоких концентраций субстрата для перехода фермента в активное R-состояние.

Модель MWC элегантно объясняет **гетеротропные эффекты:** активатор, стабилизируя R-форму, снижает кажущееся значение L, что облегчает активацию фермента субстратом. Ингибитор, стабилизируя Т-форму, увеличивает L, что затрудняет активацию (20).

Модель Кошланда-Немети-Филмера (KNF) — последовательная модель

Практически одновременно Кошланд и его коллеги предложили альтернативную модель, основанную на концепции "индуцированного соответствия" (induced fit) (9, 21). Ключевые положения модели KNF:

**Индукционные конформационные изменения:** Связывание лиганда с субъединицей индуцирует в ней конформационное изменение. В отличие от модели MWC, здесь нет предсуществующего равновесия между Т и R; изменение конформации является следствием связывания.



**Последовательность:** Конформационные изменения происходят последовательно. Связывание лиганда с одной субъединицей изменяет ее конформацию, и это изменение влияет на структуру соседних субъединиц, изменяя их сродство к лиганду.

**Возможность промежуточных состояний:** В отличие от MWC, модель KNF допускает существование гибридных олигомеров, где одни субъединицы уже связали лиганд и изменили конформацию, а другие еще остаются в исходном состоянии.

Модель KNF более гибкая. Она может объяснить не только положительную кооперативность, но и **отрицательную кооперативность**. Если конформационное изменение в одной субъединице затрудняет связывание лиганда с соседней (например, из-за стерических препятствий или электростатического отталкивания), наблюдается отрицательная кооперативность. Модель MWC, в ее классической форме, неспособна объяснить этот феномен (22).

#### Сравнительный анализ моделей и современные представления

Долгое время модели MWC и KNF рассматривались как взаимоисключающие. MWC описывает "переключение состояний" всего белка, в то время как KNF описывает "распространение информации" от одной субъединицы к другой. Сегодня считается, что эти две модели представляют собой крайние случаи на континууме возможных аллостерических механизмов (23).

**Модель MWC** является частным, предельным случаем модели KNF, в котором кооперативность между субъединицами бесконечно велика, что приводит к согласованному переходу.



Реальные ферменты часто демонстрируют поведение, сочетающее черты обеих моделей. Например, может существовать предсуществующее равновесие (как в MWC), но связывание лиганда может дополнительно изменять конформацию (как в KNF).

Современные взгляды, подкрепленные данными биофизических методов, описывают аллостерию в терминах **энергетического ландшафта** и **конформационного ансамбля** (14, 24). Белок не существует всего в двух состояниях (T и R), а представляет собой динамический ансамбль множества взаимопревращающихся конформаций. Равновесие между этими субсостояниями определяет общую активность. Аллостерические лиганды действуют путем **конформационной селекции**: они связываются с определенными субсостояниями из этого ансамбля и стабилизируют их, тем самым смещая общее распределение конформаций в сторону более (или менее) активной популяции (25). Этот взгляд объединяет и обобщает классические модели MWC и KNF.

#### Структурные и молекулярные механизмы аллостерии

Теоретические модели получают свое подтверждение и детализацию при изучении трехмерной структуры ферментов. Методы рентгеноструктурного анализа (РСА) и криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ) позволили визуализировать конформационные изменения, лежащие в основе аллостерических переходов.

#### Аллостерические сайты и передача сигнала

**Аллостерический сайт** — это уникальный участок связывания на поверхности белка, структурно отличный от активного центра. Его эволюционное возникновение является ключевым событием, наделяющим фермент способностью к регуляции (26). Связывание эффектора в этом сайте



запускает каскад конформационных изменений, который распространяется по белковой глобуле и в конечном итоге достигает активного центра.

Пути передачи аллостерического сигнала внутри белка представляют собой сложную сеть взаимодействий. Они могут включать:

**Сдвиги и вращения альфа-спиралей и бета-листов.** Небольшие локальные изменения могут амплифицироваться и приводить к значительным перестройкам на уровне доменов.

**Изменение положения боковых цепей аминокислот.** Переориентация ключевых остатков может изменять электростатический потенциал или стерические характеристики как аллостерического, так и активного центра (27).

**Динамические сети.** Аллостерический сигнал может передаваться не через статические структурные изменения, а через изменение динамики (колебательной подвижности) определенных участков белка. Этот "динамический" аспект аллостерии активно изучается методами ЯМР-спектроскопии и молекулярного моделирования (28).

Роль олигомерной структуры и симметрии

Большинство аллостерических ферментов являются **олигомерами**, состоящими из двух, четырех, шести или более субъединиц. Олигомеризация является критически важной для аллостерической функции по нескольким причинам:

**Кооперативность:** Наличие нескольких центров связывания в одном комплексе является предпосылкой для кооперативных эффектов.



**Стабильность конформаций:** Взаимодействия между субъединицами стабилизируют как T-, так и R-состояния, делая переход между ними более четким и переключателеподобным (29).

**Формирование аллостерических сайтов:** Часто аллостерические сайты находятся на границе контакта между субъединицами. В этом случае сайт связывания формируется аминокислотными остатками, принадлежащими разным полипептидным цепям.

Симметрия в расположении субъединиц, постулируемая в модели MWC, играет важную роль в согласованности перехода. Изменения на одной границе раздела субъединиц могут симметрично передаваться на другие, обеспечивая глобальный конформационный ответ (8, 30).

**Примеры структурных перестроек:** Аспараткарбамоилтрансфераза (АТКаза)

АТКаза из *Escherichia coli* является парадигматическим примером аллостерического фермента. Она катализирует ранний этап биосинтеза пиримидинов и регулируется по принципу обратной связи: ингибируется конечным продуктом ЦТФ и активируется пуриновым нуклеотидом АТФ (31).

Структурно АТКаза представляет собой крупный комплекс из 12 субъединиц (с<sub>6</sub>r<sub>6</sub>): двух каталитических тримеров (с<sub>3</sub>) и трех регуляторных димеров (r<sub>2</sub>).

**T-состояние (неактивное):** Каталитические тримеры расположены близко друг к другу, что создает стерические препятствия в активных центрах. Структура компактна.



**R-состояние (активное):** При связывании субстрата (аспартата) происходит масштабное конформационное изменение. Каталитические тримеры раздвигаются друг от друга на 12 Å и поворачиваются на 10-12° вокруг оси симметрии. Регуляторные димеры также претерпевают вращение. В результате этой перестройки структура становится более "открытой", стерические препятствия в активных центрах снимаются, и сродство к субстрату резко возрастает (32, 33).

Аллостерические эффекторы связываются с регуляторными субъединицами. ЦТФ стабилизирует компактную T-форму, а АТФ, связываясь в том же сайте, что и ЦТФ, стабилизирует раскрытую R-форму. Это объясняет, как два структурно похожих нуклеотида могут оказывать противоположное действие (34). Наличие отдельных каталитических и регуляторных субъединиц в АТКазе является ярким примером эволюционной "специализации" белковых доменов.

### Обсуждение

#### Биологическое значение аллостерической регуляции

Аллостерическая регуляция не является просто биохимическим курьезом; это фундаментальный принцип организации живых систем, обеспечивающий их адаптивность, эффективность и гомеостаз.

#### Фармакологический и терапевтический потенциал

Открытие и понимание аллостерических механизмов произвело революцию в подходе к разработке лекарственных средств. Концепция **аллостерической модуляции** предлагает привлекательную альтернативу традиционному ортостерическому (конкурентному) ингибированию (15).



Аллостерические модуляторы как перспективные лекарственные средства

Разработка лекарств, нацеленных на аллостерические сайты, имеет ряд теоретических и практических преимуществ:

**Высокая селективность:** Активные (ортостерические) центры ферментов внутри одного семейства часто имеют схожее строение, так как они должны связывать один и тот же субстрат. Это приводит к тому, что ортостерические ингибиторы часто обладают низкой селективностью и вызывают побочные эффекты из-за воздействия на "нецелевые" ферменты. Аллостерические сайты, напротив, эволюционно менее консервативны и структурно более разнообразны. Это позволяет создавать препараты, которые с высокой точностью нацелены на один конкретный белок (44, 45).

**Эффект "потолка":** Действие аллостерических модуляторов часто является насыщаемым. Поскольку они не блокируют активный центр напрямую, а лишь модулируют его активность, их эффект достигает плато. Это снижает риск передозировки и токсичности, связанных с полным подавлением жизненно важной ферментативной активности (16).

**Возможность активации:** Аллостерический подход позволяет не только ингибировать, но и активировать ферменты. Это открывает терапевтические возможности для лечения заболеваний, связанных с недостаточной активностью определенных белков, что практически недостижимо с помощью ортостерических лигандов (46).

**Лучшие физико-химические свойства:** Аллостерические модуляторы часто представляют собой небольшие липофильные молекулы, что может



облегчать их проникновение через клеточные мембраны и гематоэнцефалический барьер (47).

Примерами успешных аллостерических препаратов на рынке являются **Цинакальцет** (модулятор кальций-чувствительного рецептора для лечения гиперпаратиреоза) и **Маравирок** (модулятор хемокинового рецептора CCR5 для лечения ВИЧ-инфекции) (48, 49).

Проблемы и перспективы в разработке аллостерических лекарств

Несмотря на огромный потенциал, разработка аллостерических препаратов сталкивается с рядом сложностей:

**Поиск сайтов:** Идентификация и валидация функционально значимых аллостерических сайтов является нетривиальной задачей. Она требует комбинации биоинформатических подходов, методов структурной биологии и высокопроизводительного скрининга (50).

**Сложность химического скрининга:** Эффекты аллостерических модуляторов часто зависят от наличия субстрата, что усложняет дизайн скрининговых кампаний.

**Трансляция в клинику:** Доказательство механизма действия и эффективности аллостерического модулятора в сложных условиях целого организма представляет собой значительный вызов.

Тем не менее, прогресс в области вычислительной химии, машинного обучения и структурной биологии (особенно крио-ЭМ) позволяет надеяться на преодоление этих трудностей. Разработка новых алгоритмов для предсказания аллостерических сайтов ("аллостерический докинг") и симуляции конформационной динамики белков обещает ускорить открытие новых классов аллостерических лекарств для лечения рака,



нейродегенеративных заболеваний, метаболических расстройств и инфекционных болезней (51, 52).

### Заключение

Аллостерическая регуляция, открытая более полувека назад, превратилась из теоретической концепции, объясняющей аномальную кинетику ферментов, в центральную догму молекулярной биологии и основу для передовых фармакологических разработок. Она является универсальным механизмом, позволяющим белковым молекулам выполнять функции сложных наностроительств, способных воспринимать, обрабатывать и передавать информацию.

### Список литературы:

1. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 8th ed. New York: W.H. Freeman; 2021. Chapter 6, Enzymes.
2. Berg JM, Tymoczko JL, Gatto GJ Jr, Stryer L. Biochemistry. 9th ed. New York: W.H. Freeman; 2019.
3. Changeux JP, Edelstein SJ. Allosteric mechanisms of signal transduction. *Science*. 2005;308(5727):1424-8.
4. Nussinov R, Tsai CJ. Allostery in disease and in drug discovery. *Cell*. 2013;153(2):293-305.
5. Goodey NM, Benkovic SJ. Allosteric regulation and catalysis emerge via a common route. *Nat Chem Biol*. 2008;4(8):474-82.
6. Monod J, Wyman J, Changeux JP. On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J Mol Biol*. 1963;6(3):306-29. [Примечание: это исходная краткая статья, предшествующая классической 1965 г.]