

**МГУ имени М.В.Ломоносова**

**Химический факультет**

Кафедра химической энзимологии

# ГЛЮКОЗОКСИДАЗА

**Подготовил:**

*студент 508 гр. Андреев Е.А.*

***Москва-2011***

# Общие сведения о ферменте<sup>[1]</sup>

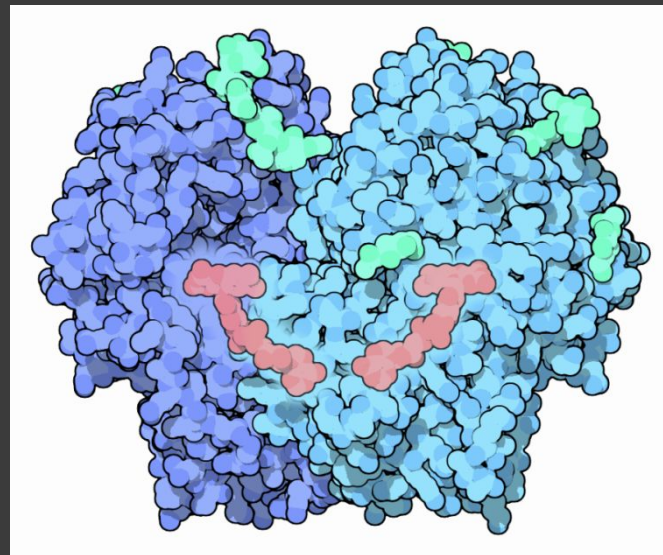
- Фермент *глюкозооксидаза* ( $\beta$ -D-Glucose: oxygen 1-oxidoreductase, GOD/GOx, EC 1.1.3.4) – впервые был открыт Мюллером в 1928 году

- Реакция:

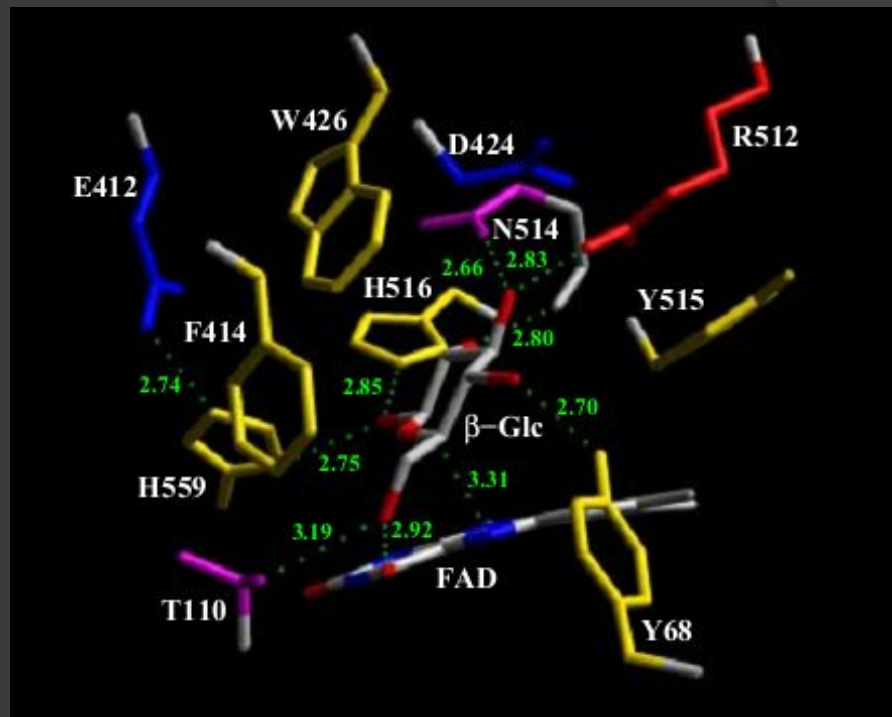
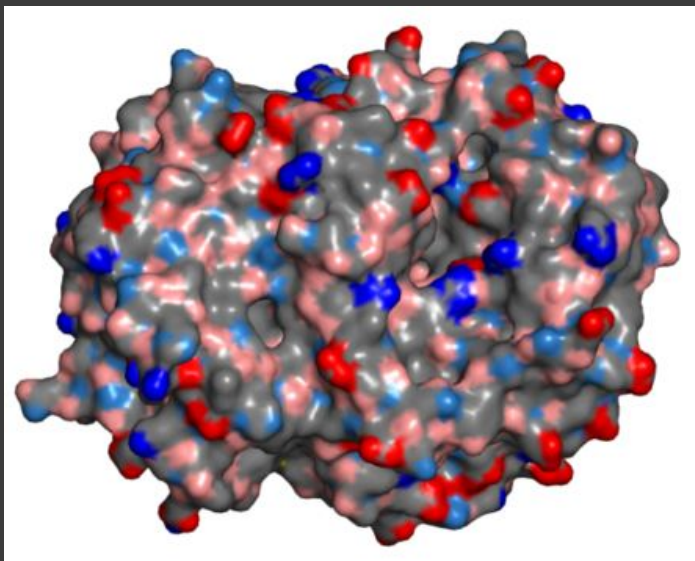


- Источники:

- Красные водоросли
- Цитрусовые
- Насекомые
- Бактерии
- Плесневые грибы



# Структурные особенности GOD<sup>[2,3]</sup>

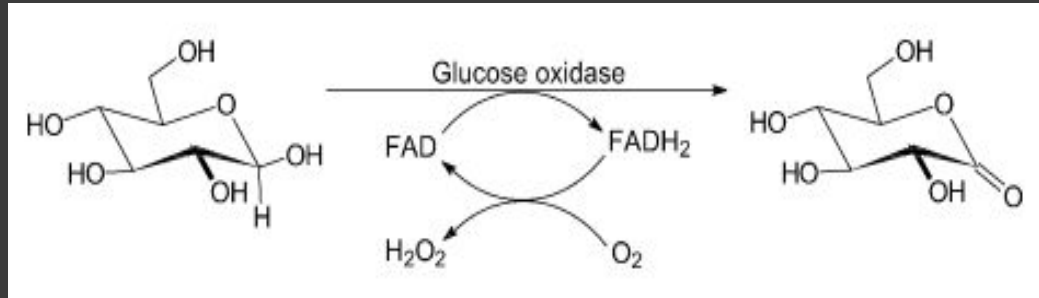


- I° структура - 583 АК
- Состоит из двух субъединиц ≈80 кДа, 2 молекулы FAD и гликозилированные участки (11-16% масс.)
- Субстрат фиксируется 9 водородными связями и взаимодействиями гидрофобных участков

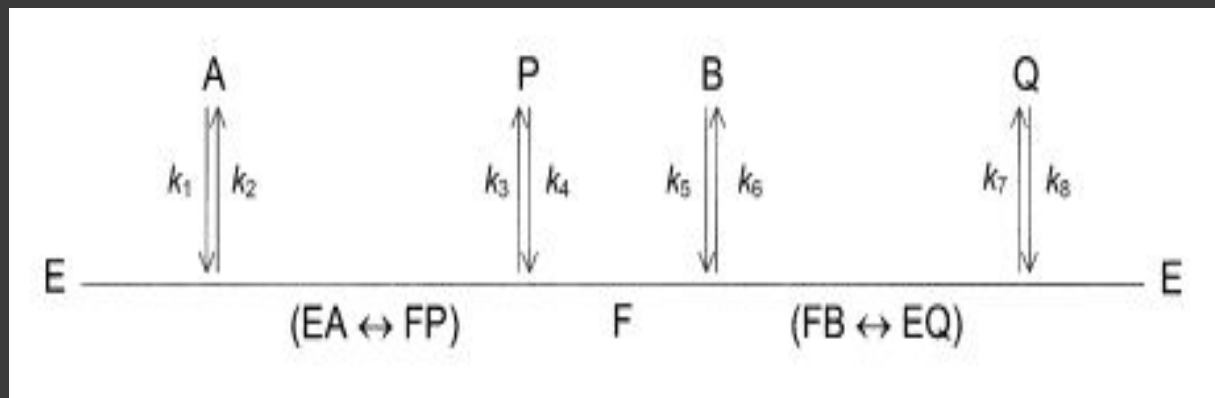
2. Glucose oxidase from *Aspergillus niger*: cloning, gene sequence, secretion from *Saccharomyces cerevisiae* and kinetic analysis from yeast-derived enzyme, *Journal of Biological Chemistry*, 1990, V.265, №7, pp3793-3802

3. Aspects of the mechanism of catalysis of glucose oxidase: a docking, molecular mechanics and quantum chemical study *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 1998, V.12, №5, pp 425-440

# Ферментативное окисление глюкозы



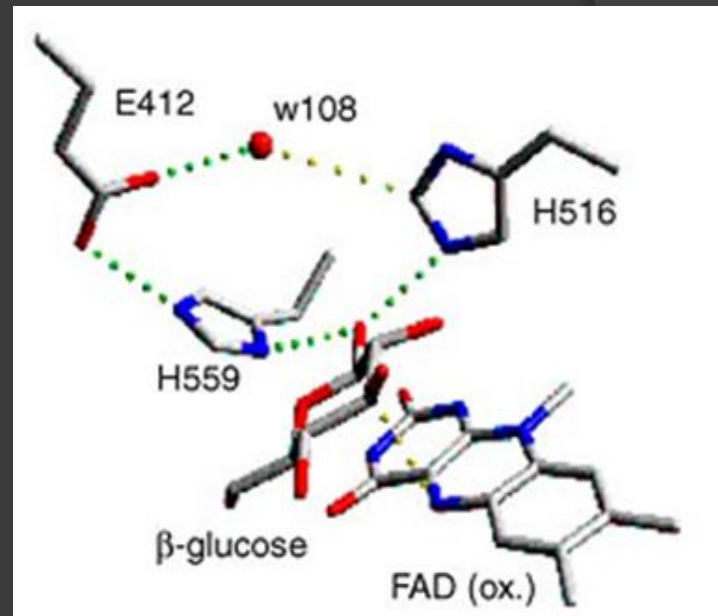
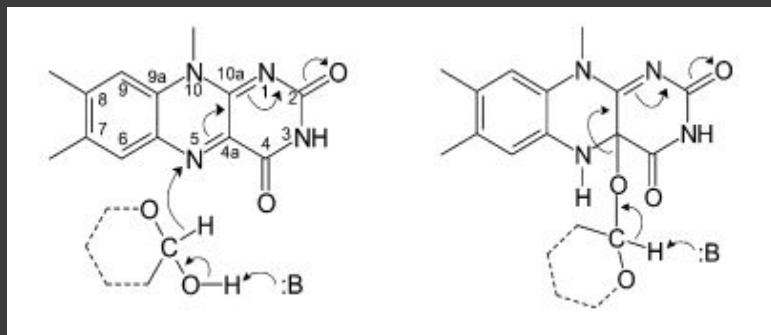
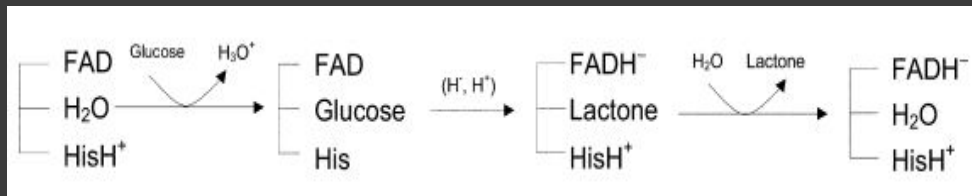
## Ping-Pong Bi Bi механизм



где **E** = GOD; **A** =  $\beta$ -D-Glc; **P** =  $\delta$ -Gluconolactone; **B** =  $\text{O}_2$ ; **Q** =  $\text{H}_2\text{O}_2$

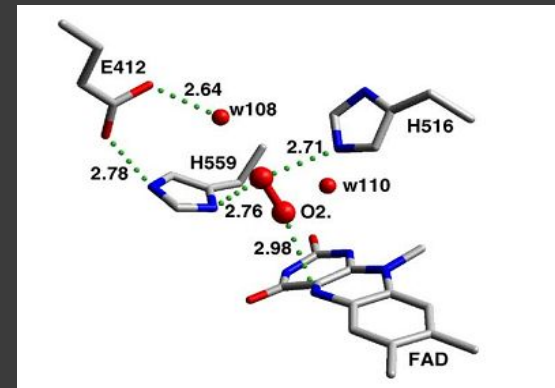
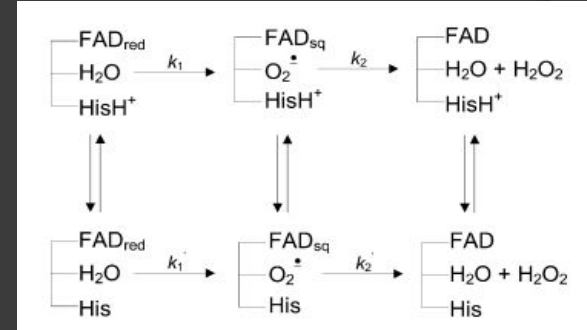
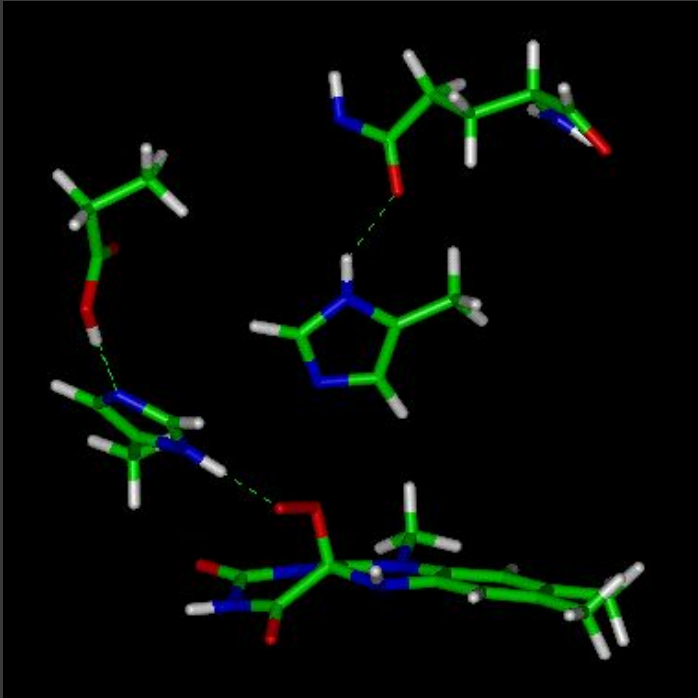
# Механизм окисления глюкозы<sup>[4]</sup>

## Восстановительная стадия



# Механизм окисления глюкозы<sup>[3,4]</sup>

## Окислительная стадия



- $O_2$  в основном состоянии парамагнетик и не взаимодействует с диамагнитным окружением активного центра GOD
- В ходе окислительной полуреакции образуются  $O_2^{\cdot-}$  и  $FADH^{\cdot}$ .

# Субстратная специфичность GOD<sup>[4]</sup>

Electron-donor substrates in the reductive half-reaction

Substrate	Relative to glucose <sup>a</sup> (%)	Substrate	Relative to glucose <sup>a</sup> (%)
$\beta$ -D-Glucose	100	3-Deoxy-D-glucose	1
2-Deoxy-D-glucose	25–30	6-O-methyl-D-glucose	1
4-O-methyl-D-glucose	15	$\alpha$ -D-Glucose	0.64
6-Deoxy-D-glucose	10	Mannose	0.2, 1
4-Deoxy-D-glucose	2	Altrose	0.16
2-Deoxy-6-fluoro-D-glucose	1.85	Galactose	0.08
3,6-Methyl-D-glucose	1.85	Xylose	0.03
4,6-Dimethyl-D-glucose	1.22	Idose	0.02

Different electron-acceptors in the oxidative half-reaction

Substrate	Michaelis constants at 25 °C	
	(mM)	pH
Dioxygen	0.48	5.6, 27 °C
Quinones		
1,4-Benzoquinone	3.33	5.5
Methyl-1,4-benzoquinone	2.97	low 7
1,2-Naphthoquinone	$\gg 1$	5.5
1,2-Naphthoquinone-4-sulfonic acid	>10	3.74
Other substrates		
Phenazine methosulfate	2.43	4.7

$\beta$ -D-Glucose + substrate(ox)  $\rightarrow$   $\delta$ -gluconolactone + substrate(red),  
at saturating glucose