

Чиркин А.А., Балаева-Тихомирова О.М., Долматова В.В., Семенов И.О.

**Роль научной школы профессора Е.В. Барковского в изучении протеолиза и его регуляции на кафедре химии и естественнонаучного образования Витебского государственного университета УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», Витебск, Республика Беларусь**

В настоящее время согласно международной базе MEROPS 12.0 (<https://www.ebi.ac.uk/merops/whatsnew.shtml>) пептидазы и протеиназы (протеазы) подразделяются на семь семейств на основе природы каталитических центров: аспарагиновые – тип А (впервые описаны в 1993 г.), цистеиновые – тип С (1993 г.), сериновые – тип S (1993 г.), металло- тип М (1993 г.), треониновые – тип Т (1997 г.), глутаминовые тип G (2004 г.), аспарагин-пептид-лиазы (2010 г.). К семейству U относят неизвестные и плохо изученные протеиназы. При доклинических испытаниях и отработке лечебных технологий нарушений протеолиза обычно используются млекопитающие (крысы, кролики, собаки, свиньи, обезьяны). Однако из-за этических причин и дороговизны их применение сокращается. В то же время эксперименты на клеточных культурах не решают многие проблемы межклеточного взаимодействия в тканях организма, требуют специального оборудования, реагентов и специалистов-морфологов. Поэтому внимание исследователей привлекают простейшие многоклеточные эукариотические организмы, в которых представлены основные типы клеток, межклеточных взаимодействий, метаболизма и регуляторных систем.

**Целью** данной работы явился сравнительный анализ степени гомологии протеолитических ферментов у человека и легочных пресноводных моллюсков.

**Материалы и методы исследования.** В качестве сравниваемых животных и возможных источников получения протеолитических ферментов избраны широко распространенные в водоемах Европы легочные пресноводные моллюски – прудовик обыкновенный (*Lymnaea*

*stagnalis*), также катушка роговая (*Planorbarius corneus*). Ближайшим родственником последней является хорошо изученная *Biomphalaria glabrata*, в частности известен ее полный аннотированный геном. Учитывая это, был проведен сравнительный анализ гомологии протеолитических ферментов человека (*Homo sapiens*) и *Biomphalaria glabrata*. Поиск и отбор нуклеотидных последовательностей, кодирующих белки человека, осуществлялся на сервере <https://www.ensembl.org>; поиск гомологичных последовательностей для моллюсков осуществлялся на сервере <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> при помощи ресурса BLAST; описание белков для человека было взято с ресурса <https://www.uniprot.org>; парное выравнивание и сравнение последовательностей человека и моллюсков выполнено в программе MEGA 5.2.; построение 3D-структур ферментов для моллюсков осуществлялось на сервере <https://swissmodel.expasy.org> по шаблону 3D-структуры ферментов человека, найденных в банке данных трёхмерных структур белков и нуклеиновых кислот <http://www.rcsb.org>. На протяжении 5 лет обучающую, консультативную и экспертную функции по этому исследованию выполнял доцент кафедры общей химии БГМУ В.В. Хрусталеv. В работе проведен анализ 75 белков, участвующих в протеолизе и его регуляции.

**Результаты.** Гомология ферментов по нуклеотидным последовательностям, а через дробь по аминокислотным последовательностям, у человека и легочного пресноводного моллюска при анализе не регулируемого протеолиза составляет 66-68% / 50-68%; регулируемого протеолиза – 69-76 % / 49-88%; убиквитин-подобных модификаторов – 78-83% / 32-95%; внеклеточных ферментов – 67-76% / 26-46% и внутриклеточных ферментов – 65-72% / 27-71%. Из приведенных данных следует, что наиболее консервативными по кодирующим нуклеотидным последовательностям являются убиквитин-подобные модификаторы, ферменты регулируемого протеолиза и внеклеточные ферменты, а по аминокислотным последовательностям – убиквитин-подобные модификаторы, ферменты регулируемого и нерегулируемого протеолиза. Практическое значение достаточно высокой степени гомологии протеолитических ферментов у людей и легочных пресноводных моллюсков обосновывает целесообразность формирования аквакультуры моллюсков, для получения из их тканей белковых ферментативных препаратов протеолитического действия для биофармацевтики, косметики и пищевой промышленности.

**Вывод.** Эволюционный консерватизм протеолитических ферментов, наличие незамкнутого кровообращения, позволяющего доставлять изучаемые субстанции из гемолимфы непосредственно к клеткам-

мишеням позволяют использовать этих животных в качестве дешевых и удобных в содержании тест-организмов.