

3. Spontaneous airway hyperresponsiveness in estrogen receptor-[alpha]-deficient mice / M.A. Carey [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2007. – №175. – P. 126–135.

4. Targeting CCL5 in inflammation / R. E. Marques [et al.] // Expert Opin. Ther. Targets. – 2013. – Vol. 17. – P. 1439–1460.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕГОЧНЫХ ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТЕОЛИЗА И ЕГО РЕГУЛЯЦИИ**

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

*УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»,  
г. 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. Цели протеолиза; 1) посттрансляционный процессинг; 2) расщепление белков-предшественников для формирования специфичных молекул (биорегуляторов, каскад свертывания крови, система комплемента); 3) внеклеточное (пищеварение) и внутриклеточное расщепление белков; 4) «сотовая» регуляция путем активации или дезактивации ферментов метаболических и сигнальных путей, факторов транскрипции и рецепторов; 5) управление клеточным циклом через протеолиз циклинов убиквитин-опосредованным протеолитическим путем; б) каспазы – протеолитические ферменты апоптоза и др. Протеазы могут регулироваться антипротеазами или ингибиторами протеаз, и дисбаланс между протеазами и антипротеазами может приводить к заболеваниям[1,2].

Разработка биологических и медицинских аспектов протеолиза требует использования модельных организмов. При доклинических испытаниях и отработке лечебных технологий 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. Широко распространенный в водоемах моллюск *Lymnaea stagnalis* был признан модельным организмом для исследования воздействия водорастворимых химических агентов в Европейском союзе в 2010 году [3]. Целью данной работы явился сравнительный анализ степени гомологии протеолитических ферментов у человека и легочных пресноводных моллюсков.

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 (*Planorbis 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>. В работе использован следующий алгоритм: поиск нуклеотидной последовательности → построение аминокислотных последовательностей сравниваемых белков → их парное выравнивание и оценка степени гомологии первичных структур NS (нуклеотидные последовательности) AAS (аминокислотные последовательности) → оценка третичных структур по архитектуре молекул и их доменной организации [4]. В работе проведен анализ 75 белков, участвующих в протеолизе и его регуляции.

Средние данные оценки гомологии первичных структур протеолитических ферментов *Homo sapiens* и моллюска *Biomphalaria glabrata* представлены в таблице.

Из анализа данных таблицы 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. Однако по мере расширения исследований по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям приведенные данные могут уточняться.

Гомология ферментов по нуклеотидным последовательностям у человека и легочных пресноводных моллюсков при анализе не регулируемого протеолиза составляет 66-68%; регулируемого протеолиза – 69-76 %; убиквитин-подобных модификаторов – 78-83%; внеклеточных ферментов – 67-76% и внутриклеточных ферментов – 65-72%. 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.

Таблица. Оценка гомологии первичных структур протеолитических ферментов человека *Homo sapiens* и моллюска *Biomphalaria glabrata*

Исследованные белки	Кол-во	Нуклеотидные последовательности (NS)		Аминокислотные последовательности (AAS)	
		Покрытие, %	Гомология, %	Покрытие, %	Гомология, %
Ферменты нерегулируемого протеолиза	7	32,5 (16-61)	66,8 (66-68) Средний уровень	90,0 (79-99)	61,9 (50-68) Средний уровень
Ферменты регулируемого протеолиза	6	17,0 (4-31)	73,1 (69-76) Высокий уровень	85,8 (65-99)	64,7 (49-88) Средний уровень
Убиквитин-подобные модификаторы	9	23,5 (21-26)	80,5 (78-83) Высокий уровень	83,3 (47-100)	66,6 (32-95) Средний уровень
Внеклеточные ферменты	20	8,3 (2-34)	71,6 (67-76) Высокий уровень	88,8 (33-98)	37,2 (26-46) Низкий уровень
Внутриклеточные ферменты	33	24,8 (3-61)	67,8 (65-72) Средний уровень	77,7 (44-98)	45,2 (27-71) Средний уровень

Примечание: приведены средние величины, в скобках показан диапазон показателей

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 в рамках задач биофармацевтики, косметики и пищевой промышленности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. MEROPS: the peptidase database / N.D. Rawlings, A.J. Barrett, A. Bateman // *Nucleic Acids Res.* – 2010. – Vol. 38 (Database issue): D227–233. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp971>.
2. Oda, K. New families of carboxyl peptidases: serine-carboxyl peptidases and glutamic peptidases / K. Oda // *J. Biochemistry.* – 2012. – Vol. 151, no. 1. – P. 13-25. <https://doi.org/10.1093/jb/mvr129>.
3. Detailed review paper on mollusks-cycle toxicity testing. OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on testing and assessment. - Paris: Environment directorate organization for economic co-operation and development, 2010. – №121. -182 p.
4. Чиркин, А.А. Биоинформатический анализ внутриклеточных протеолитических ферментов человека и легочных пресноводных моллюсков / А.А. Чиркин, В.В. Долматова // *Новости медико-биологических наук*, 2018. - Том 18, №4. - С.11-16.

## АМИНОКИСЛОТНЫЙ БАЛАНС В ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШКАХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ МЕТРОНИДАЗОЛА

Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю., Смирнов В.Ю.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

Модуляция микробиоты кишечника антибиотиками увеличивает концентрацию аминокислот в плазме. Концентраций некоторых незаменимых аминокислот в воротной вене повышаются при изменении рациона питания и во многом сопряженным с питанием, метаболическом синдроме. Так, повышение АРУЦ, наблюдаемое при ожирении и сахарном диабете 2 типа, во многом обусловлено нарушением транспорта этих аминокислот из просвета кишечника в системный кровоток, тем самым способствуя стойкому усилению катаболизма аминокислот в просвете и увеличению количества короткоцепочечных жирных кислот. Микробиота кишечника в настоящее время воспринимается как виртуальный орган, который влияет на усвоение питательных веществ, сбор энергии и многие метаболические пути хозяина [1].

Механизм действия метронидазола заключается в биохимическом восстановлении 5-нитрогруппы метронидазола внутриклеточными транспортными протеинами анаэробных микроорганизмов и простейших. Восстановленная 5-нитрогруппа метронидазола взаимодействует с дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) клеток микроорганизмов, ингибируя синтез их нуклеиновых кислот, что ведет к гибели бактерий. Антибиотик активен в отношении *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica*, а также грамотрицательных анаэробов *Bacteroides* spp. (в т.ч. *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides*