

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ВЫСШИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ЛЕГОЧНЫХ ПРЭСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ

Пинчук П.Ю.,

аспирант ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь
Научный руководитель – **Чиркин А.А.**, д-р биол. наук, профессор

Ключевые слова. Протеолитические ферменты, молекулярно-структурная гомология, модельные организмы.

Key words. Proteolytic enzymes, molecular-structural homology, model organisms.

Для исследования протеолитической системы необходимо использование модельных организмов. Разработка терапевтических технологий и доклинические испытания часто включают использование млекопитающих, таких как крысы, свиньи и обезьяны. Однако их использование сокращается из-за высокой стоимости и этических соображений. В то же время проблемы межклеточного взаимодействия в тканях организма не могут быть решены путем экспериментов на клеточных культурах, которые требуют использования специализированного оборудования, реагентов и специалистов морфологов.

Цель данной работы заключается в проведении сравнительного анализа степени гомологии протеолитических ферментов человека (*Homo sapiens*) с модельными организмами, такими как свинья, мышь и легочной пресноводный моллюск *Biomphalaria glabrata* с аннотированным геномом. Предмет исследования – аминокислотные последовательности лизосомальных ферментов человека и модельных организмов.

Материал и методы. Для исследования молекулярно-структурной гомологии 35 ферментов, которые относятся к классам Оксидоредуктазы, Трансферазы, Гидролазы и Лиазы использовались аминокислотные и нуклеотидные последовательности протеаз человека и моллюска *Biomphalaria glabrata*, который относится к одному семейству, что и широко распространенный в поверхностных водах Республики Беларусь легочной пресноводный моллюск катушка роговая (*Planorbarius corneus*). Помимо последовательностей для определения гомологии первичной структуры ферментов, были использованы шаблоны пространственных структур исследуемых ферментов человека для поиска мотивов и активных центров.

Общий алгоритм работы: в базе данных белковых последовательностей UniProt <https://www.uniprot.org> осуществляется поиск аминокислотных последовательностей исследуемых ферментов; поиск нуклеотидных последовательностей проводится на сервере NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>; на этом же сервере при помощи ресурса BLAST осуществляется поиск гомологичных аминокислотных и нуклеотидных последовательностей модельных организмов; выравнивание белковых последовательностей выполняется в программе MEGA; построение трехмерных структур исследуемых ферментов проводится на сервере <https://swissmodel.expasy.org> по шаблонам, найденным в банке данных трехмерных структур белков и нуклеиновых кислот RCSB PDB <http://www.rcsb.org>.

В работе использовался следующий алгоритм: поиск аминокислотных и нуклеотидных последовательностей человека → определение гомологии последовательностей сравниваемых ферментов → их парное выравнивание и оценка гомологии первичных структур → построение трехмерных моделей по шаблону структуры сравниваемого белка человека → оценка третичной структуры по архитектуре молекул → поиск активного сайта и лигандов [1].

Результаты и их обсуждение. Был проведен анализ для определения молекулярно-структурной гомологии катаболических ферментов человека и свиньи. Гомология исследованных ферментов по аминокислотным последовательностям ожидаемо оказалась в пределах 87,8-93,3 %, а по нуклеотидным 85,1-93,3 %.

В результате сравнения последовательностей ферментов человека и мыши процент покрытия составил 92-100 %. Это свидетельствует о высокой частоте использования мыши, как модельного организма. Гомология изученных ферментов по нуклеотидным последовательностям оказалась в пределах 82,7-93,3%, а по аминокислотным последовательностям – в пределах 85,6-94,7 %. Полученные данные подтверждают, что высшие млекопитающие являются наиболее подходящими модельными организмами для человека.

Однако из-за высокой стоимости, условий содержания и этических соображений актуальным остается поиск более доступных организмов, которые имеют высокий процент гомологии ферментов с аналогичными ферментами человека. Кандидатами на такую роль выступают легочные пресноводные моллюски, в частности *Biomphalaria glabrata*.

При оценке гомологии лизосомальных ферментов человека и моллюска *Biomphalaria glabrata* установлено, что по нуклеотидным последовательностям ферменты класса Трансферазы имели покрытие 80 % (58-98) и гомологию 54,4 % (34-70), а по аминокислотным последовательностям покрытие составило 77,8 % (58-96) и гомология 57,4 % (34-73). Близкие результаты были получены при анализе ферментов класса Гидролаз: по нуклеотидным последовательностям покрытие составило 88,6 % (51-99) и гомология 48,0 % (29-68); по аминокислотным последовательностям покрытие было 83,1 % (33-98) и гомология 50,1 % (30-68). Выявленные уровни гомологии протеолитических ферментов можно отнести к средним [2].

В ходе молекулярно-структурного анализа у 10 ферментов были обнаружены активные сайты и их лиганды. Интересно, что три фермента из 10 были обнаружены у всех исследуемых организмов (человек, свинья, мышь, моллюск) – миелопероксидаза, α -N-ацетилглюкозаминидаза, α -L-идуронидаза. У человека, мыши и свиньи активные сайты и лиганды практически совпали у ферментов – АсАТ, Катепсин D и α -L-идуронидаза. У человека и мыши есть совпадение по одной цепочки у фермента – α -глюкозидаза и у фермента – N-сульфоглюкозамин-сульфогидролаза. У человека и свиньи, также обнаруживаются совпадения по одной цепочке у фермента – β -глюкозидаза. Также, обнаружены совпадения у свиньи и мыши по ферменту галактоцереброзидаза.

Заключение. Полученные данные показывают, что степень гомологии лизосомальных ферментов у различных модельных организмов человека, таких как мышь, свинья и моллюск, может быть высокой или средней. Это подтверждает предположение о том, что лизосомальные ферменты выполняют схожие функции у различных модельных организмов. Несмотря на различия в генетической информации и эволюционных путях этих организмов, они все равно используют схожие механизмы для выполнения определенных биологических процессов, связанных с лизосомами. Следовательно, полученные материалы позволяют положительно решить вопрос об использовании тканей модельных организмов для моделирования патологических процессов человека, связанных с нарушениями системы протеолиза. Подобные исследования могут помочь установить общие принципы работы лизосомальных ферментов и их роли в клеточных процессах.

1. Чиркин, А.А. Молекулярно-биологические критерии отбора модельных организмов для биомедицинских исследований / А.А. Чиркин, П.Ю. Пинчук // Биохимия и молекулярная биология. – 2022. – Т. 1, № 1. – С. 114-118. URL: <https://rep.vsu.by/handle/123456789/36752> (дата доступа: 02.11.2023).

2. Чиркин, А.А. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов в изучении механизма протеолиза и его регуляции / А.А. Чиркин [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2021. – Т.57, № 2. – С. 206-217.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОКОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ПОДЗЕМНЫХ ВОД ДОЛГОПОЛЯНСКОЙ СЕЛЬСКОЙ ТЕРРИТОРИИ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Степанов Р.А.,

*молодой ученый Воронежского государственного университета,
г. Воронеж, Российская Федерация*

Научный руководитель – Косинова И.И., д-р геол.-минерал. наук, профессор

Ключевые слова. Сельская территория, скважина, микрокомпоненты, подземные воды зоны выщелачивания, депрессионная воронка.

Key words. Rural area, well, microcomponents, groundwater of the leaching zone, depression funnel.

Состояние природных вод является одним из важнейших показателей состояния окружающей среды в целом. Районом исследования выступает Долгополянская сельская территория Белгородской области, которая является крупной агропромышленной