

Протеазы неприлизин и неприлизин 2: анализ расщепления натрийуретических пептидов А, В и С типа и экспрессии в тканях

Научный руководитель – Семенов Александр Геннадьевич

Селезнева Елизавета Михайловна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

E-mail: Elizaveta.Selezneva@student.msu.ru

Неприлизин (NEP) - цинк-зависимая металлопептидаза, относящаяся к семейству M13. Представители данного семейства являются трансмембранными белками 2 типа, участвующими в метаболизме ряда биологически активных пептидов. NEP также представлен в кровотоке циркулирующей растворимой формой, образующейся в результате ограниченного протеолиза. Экспрессия NEP была показана во многих тканях (почки, эндотелий, легкие и др.). Субстратами NEP являются в том числе и активные формы натрийуретических пептидов (НП). В ответ на растяжение стенок желудочков кардиомиоциты секреторируют НП А, В и С типа (ANP, BNP, CNP), которые стимулируют диурез, натриурез, снижение артериального давления и уменьшение нагрузки на сердце. Уровни НП в крови значительно повышаются при сердечной недостаточности (СН), что позволяет их использовать в качестве маркеров для диагностики данной патологии. Дегградация НП под действием NEP является одним из основных путей снижения их биологической активности [1]. Современный подход к терапии СН основан на ингибировании NEP специфичным ингибитором - сакубитрилом - который входит в состав препарата для лечения СН Entresto™. Помимо NEP был обнаружен близкий гомолог - неприлизин 2 (NEP2), имеющий высокое сходство с NEP; их активные центры на 95% гомологичны, однако NEP2 не восприимчив к сакубитрилу. NEP2 был обнаружен в мозге и семенниках, но локализация в других тканях пока изучена недостаточно, а вклад NEP2 в дегградацию НП неизвестен.

Целью нашей работы было исследование протеолиза ANP, BNP и CNP под действием NEP и NEP2 и анализ экспрессии NEP и NEP2 в различных тканях. Экспрессия растворимых доменов NEP и NEP2 была проведена в эукариотической клеточной линии Hcp1293F. Очистку проводили с использованием металл-аффинной хроматографии. Степень протеолиза ANP, BNP и CNP под действием NEP и NEP2 была оценена с использованием различных типов иммуноанализа. Проведенный сравнительный анализ показал, что NEP2 также, как и NEP, способен расщеплять ANP, BNP и CNP. Сравнение кинетики расщепления ANP, BNP и CNP выявило различия в активности NEP и NEP2 по отношению как к различным формам НП, так и сайтам расщепления. Анализ содержания NEP и NEP2 в тканях методом иммуноблоттинга, по оценке активности и по уровню экспрессии мРНК позволил выявить заметные различия в экспрессии по тканям для NEP и NEP2.

Полученные данные по сравнению активности и экспрессии NEP и NEP2 могут быть важны для понимания механизмов действия лекарственных препаратов на основе ингибиторов NEP и помочь в разработке новых подходов к терапии СН, основанных на повышении уровней биоактивных НП.

Источники и литература

- 1) E. E. Feygina et al., "Detection of neprilysin-derived BNP fragments in the circulation: Possible insights for targeted neprilysin inhibition therapy for heart failure," Clin. Chem., vol. 65, no. 10, pp. 1239–1247, 2019, doi: 10.1373/clinchem.2019.303438.