

**Разнообразие внеклеточных пептидаз микромицета *Aspergillus tabacinus*,
активных в отношении белков системы гемостаза**

Научный руководитель – Лавренова Виктория Николаевна

Коваль А.В.¹, Федулов А.А.²

1 - Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия, *E-mail: serenim.nastya@mail.ru*; 2 - Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия, *E-mail: aleksandr Fedulov777@gmail.com*

Современные противосвёртывающие препараты, применяющиеся для предотвращения тромбозов, действуют на три основные мишени: ингибируют тромбин или фактор Ха, активируют систему антитромбина, ингибируют витамин К-эпоксид-редуктазу. Использование таких препаратов зачастую приводит к побочным эффектам в виде кровотечений, тромбоцитопении, дисбаланса естественных прокоагулянтных и антикоагулянтных факторов. Перспективной мишенью для разработки более безопасных антикоагулянтов является система протеина С. Микромицет *Aspergillus tabacinus* был описан как первый микроорганизм, продуцирующий внеклеточную протеазу с протеин С-подобной активностью [1]. Также было показано, что секретируемые данным продуцентом ферменты являются фибриногенолитиками [2]. Это свойство может быть полезным для разработки препарата не только с антикоагулянтной, но и с тромболитической активностью, так как в составе фибринового каркаса тромба присутствуют молекулы фибриногена. Для последующей разработки терапевтического средства важно установить, проявляются протеин С-подобная и фибриногенолитическая активности одним ферментом или они свойственны разным секретируемым белкам микромицета.

В данной работе показано, что дробное высаливание белков культуральной жидкости микромицета *A. tabacinus* выявляет несколько ферментов с целевыми протеолитическими активностями, выпадающих в осадок при разной степени насыщения раствора сульфатом аммония (50, 60, 70, 80, 90 и 100%). Обессоливание всех белковых образцов было проведено при помощи гель-фильтрации с использованием Сефадекса G-25. Спектрофотометрически показано наличие высокой амидолитической активности по отношению к хромогенным пептидным субстратам активированного протеина С, урокиназы, плазмина во всех шести белковых образцах. Метод зимографии позволил выявить 8 ферментов с фибриногенолитической активностью в разных белковых образцах, в том числе 2 низкомолекулярных белка с массой около 15 кДа. Полученные данные позволяют предположить, что протеин С-подобная и фибриногенолитическая активности свойственны разным ферментам *A. tabacinus*, так как ранее было показано, что протеин С-подобную, урокиназа-подобную и плазминоподобную активность может проявлять протеаза с молекулярной массой около 30 кДа [1], но не были обнаружены низкомолекулярные протеазы с такой активностью. Дальнейший поиск метода совместного выделения целевых ферментов из культуральной жидкости микромицета или наработка нужных белков в системах гетерологичной экспрессии позволит разработать фармацевтический препарат, проявляющий одновременно антикоагулянтную и тромболитическую активности.

Источники и литература

- 1) Свойства внеклеточной протеазы – регулятора гемостаза, образуемой микромицетом *Aspergillus tabacinus*/ Лавренова В., Крейер В., Савкович Ж., Осмоловский А.// Прикладная биохимия и микробиология.—2024.—Т. 60, № 1.— С. 66–71.

- 2) *Aspergillus tabacinus* – новый продуцент противотромботических протеаз/ Лавренова В., Осмоловский А.// Микология и фитопатология.—2024.—Т. 58.—№1.—С. 19-26.