

УДК 591

**К.В.Соловьев (5 курс, каф. БФ), А.В.Соколов (2 курс, СПбГУ),
Е.Т.Захарова, к.б.н. (ВНИИЭМ РАМН)**

ПРИЧИНА УНИКАЛЬНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА ДЕЛЬФИНОВ

Целью работы являлось исследование причины стабильности к протеолизу церулоплазминов (ЦП) черноморской афалины – Bottlenose Dolphin (ЦПА) и Белухи дальневосточной – Delphinapterus leucas (ЦПБ).

Было показано, что ЦП - односубъединичный медьпротеид плазмы крови с Mr130 kDa, характеризуется высокой склонностью к протеолитической деградации. Среди исследованных млекопитающих, стабильным ЦП обладают только дельфины, в частности, дельфин *Caretta caretta*. Мы исследовали на стабильность к протеолизу ЦП ещё 2-х дельфинов - ЦПА и ЦПБ. Оказалось, что ЦПА, в отличие от ЦПБ, устойчив к протеолизу трипсином, плазмином и неизвестной протеазой, содержащейся в разрушенных препаратах ЦПЧ. Однако, катепсин G и эластаза успешно протеолизуют ЦПА.

Кроме того, оба препарата ЦПА и ЦПБ оказались стабильны при хранении в течение 2-х лет при -70°C и неоднократном размораживании, сохраняя подвижность 130 kDa ЦП. В этих условиях препараты ЦПЧ разрушались до фрагментов с Mr 110 kDa и ниже.

Известно, что наиболее уязвимым сайтом для протеолиза в ЦПЧ является лизин-887. Именно по лизину-887, экспонированному на поверхности молекулы ЦПЧ, и атакуют трипсин и плазмин. Эластаза атакует остатки валина, а катепсин G-остатки фенилаланина. Отсутствие протеолиза в ЦПА под действием сериновых протеаз, и успешный протеолиз нейтрофильными протеазами указывает на то, что эти аминокислоты следуют за лизином-887 так же, как и в а.к последовательности ЦПЧ: валин-888 и фенилаланин-889, а по лизину-887, в ЦПА произошла точечная мутация.

Кроме того, стабильность ЦП дельфинов может объясняться не только аминокислотной заменой, как в случае с ЦПА, но и необычным гемостазом: у дельфинов отсутствуют сразу 4 фактора свертывания крови (ФСК) - FXII, FXI, FIX и калликреин, которые в активированной форме являются сериновыми протеазами. Если это так, то истинной причиной стабильности ЦП дельфинов, и, ЦПБ, в частности, может являться отсутствие одного из этих, или сразу нескольких ФСК.

В пользу того, что неизвестная протеаза, относится к ФСК, говорит и факт обнаружения нами эффективного ингибирования протеолиза ЦПЧ - гепарином.

Выводы:

1. Оба препарата, ЦПА и ЦПБ, стабильны при хранении в отличие от ЦПЧ.
2. ЦПА, в отличие от ЦПБ, устойчив к действию сериновых протеаз, но подвергается протеолизу под действием нейтрофильных протеаз, что говорит о возможной аминокислотной замене в ЦПА по лизину-887.
3. Оптимальный ингибитор протеолиза ЦПЧ, гепарин, указывает на то, что неизвестную протеазу, деградирующую ЦП, следует искать среди ФСК.