

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-СТРУКТУРНОЙ ГОМОЛОГИИ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ НОВЫХ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Пинчук П.Ю.

Учреждение образования «Витебский государственный университет
имени П.М. Машерова», г. Витебск, Республика Беларусь

***Аннотация.** При доклинических испытаниях и отработке лечебных технологий в качестве модельных организмов обычно используют мышей, крыс, собак и других млекопитающих. Однако из-за этических причин и дороговизны их применение сокращается. Цель работы заключается в установлении возможности использования легочных пресноводных моллюсков в роли модельных организмов для изучения углеводного обмена. В статье представлены данные о молекулярно-структурной гомологии 16 ферментов гликолиза, глюконеогенеза и пентозофосфатного пути, которые были отобраны в процессе моделирования метаболического синдрома у крыс.*

***Ключевые слова.** Гликолиз, глюконеогенез, пентозофосфатный путь, модельные организмы.*

THE STUDY OF THE MOLECULAR AND STRUCTURAL HOMOMOLOGY OF CARBOHYDRATE METABOLISM ENZYMES TO SUBSTANTIATE NEW MODEL ORGANISMS

Pinchuk P.Yu.

Educational institution "Vitebsk State University named after P.M. Masherov",
Vitebsk, Republic of Belarus

***Abstract.** In preclinical trials and development of therapeutic technologies, mice, rats, dogs and other mammals are usually used as model organisms. However, due to ethical reasons and high cost, their use is declining. The purpose of this work is to conduct a comparative analysis to establish the degree of homology of human carbohydrate metabolism enzymes (*Homo sapiens*) with the pulmonary freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata* with an annotated genome and other accepted model organisms with annotated genomes – pig (*Sus scrofa*) and laboratory rat (*Rattus norvegicus*). The article presents data on the molecular structural homology of 16*

enzymes of glycolysis, gluconeogenesis and the pentose phosphate pathway, which were selected in the process of modeling the metabolic syndrome in rats.

Keywords. *Glycolysis, gluconeogenesis, pentose phosphate pathway, model organisms.*

Введение. Для отбора и использования модельных организмов существуют международные и национальные критерии, которые имеют законодательный характер. Эти критерии включают правило 3R (Replacement – замена, Reduction – сокращение, Refinement – уточнение). «Замена» включает использование компьютерных моделей, неживых тканей и клеток, а также замену животных «высшего порядка» (приматов и млекопитающих) животными «низшего» порядка (например, хладнокровными животными, беспозвоночными). «Сокращение» относится к мероприятиям по минимизации количества животных, используемых в ходе эксперимента. «Уточнение» относится к попыткам сделать экспериментальный план максимально безболезненным и эффективным, чтобы свести к минимуму страдания модельного животного.

Высшие млекопитающие, в частности, крысы и свиньи являются классическими модельными организмами для изучения углеводного обмена. Однако, процесс обмена углеводов характерен и для других классов животных, в том числе и моллюсков. В работе проведен сравнительный анализ аминокислотных последовательностей, а также третичных структур ферментов, участвующих в процессах гликолиза, глюконеогенеза и пентозофосфатного пути у свиньи (*Sus scrofa*), крысы (*Rattus norvegicus*) и моллюска *Biomphalaria glabrata* с аннотированным геномом, который относится к одному семейству *Planorbidae*, что и катушка роговая (*Planorbarius corneus*), обитающая в водах Белорусского Поозерья. Цель работы заключается в установлении возможности использования легочных пресноводных моллюсков в роли модельных организмов для изучения углеводного обмена, поскольку они являются более выгодными объектами исследования с этической и экономической точки зрения, чем высшие млекопитающие.

Материалы и методы исследования. Учитывая результаты биохимических исследований, материалом для проведения анализа молекулярно-структурной гомологии послужили аминокислотные последовательности ферментов распада гликогена (Glycogen phosphorylase *liver type*), гликолиза (Hexokinase-2, Hexokinase-3, Glucokinase regulatory protein, ATP-dependent 6-phosphofructokinase *liver type*, Fructose-bisphosphate aldolase A, Fructose-bisphosphate aldolase B, Fructose-bisphosphate aldolase C, ATP-dependent 6-phosphofructokinase *liver type*), глюконеогенеза (Fructose-1,6-bisphosphatase 1, Glucose-6-phosphatase 2, Glucose-6-phosphatase 3, Glucose-6-phosphatase catalytic

subunit 1) и пентозофосфатного пути обмена углеводов (Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, Ribose-5-phosphate isomerase, Transketolase).

Поиск и отбор аминокислотных последовательностей, кодирующих белки человека, осуществлялся на сервере <https://www.uniprot.org>; поиск гомологичных последовательностей для модельных организмов проводился на сервере <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> при помощи ресурса BLAST; парное выравнивание и сравнение последовательностей выполнено при помощи ресурса https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/.

Определение молекулярно-структурной гомологии проводилось биоинформатическим методом по следующему алгоритму: поиск аминокислотных последовательностей сравниваемых белков → их парное выравнивание и оценка степени гомологии первичных структур → построение третичных структур и их оценка по архитектуре молекул и их доменной организации. Исследование мотивов и строения активных центров ферментов не входило в задачи данной работы [1].

Результаты исследований. В результате сравнительного анализа молекулярной структуры 16 ферментов крысы, свиньи и моллюска по сравнению с человеком было установлено, что сходство аминокислотных последовательностей ферментов у лабораторных крыс находится в диапазоне 98,63-81,79 %, у свиней – 99,08-88,96 % и у моллюска – 74,22-37,31 %. Гомология по третичной структуре ферментов была у лабораторных крыс в диапазоне 96,97-81,79 %, у свиней – 99,08-89,94 % и у моллюска – 74,38-36,70 %. Наиболее высокий процент гомологии у моллюска с человеком характерен для ферментов: *6-phosphogluconate dehydrogenase* (74,22 %), *Fructose-bisphosphate aldolase A, B, C* (68,07 %, 65,55 % и 66,95 % соответственно) и *Transketolase* (62,94 %).

В процессе исследования не удалось найти данных о белках Glucokinase regulatory protein у свиней, Glucose-6-phosphatase 2 у крыс и моллюсков, Glucose-6-phosphatase 3, Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase и hexokinase-3 у свиней и моллюсков и Glucose-6-phosphatase 2 и Glycogen phosphorylase liver type у моллюсков.

Заключение. Полученные данные дают возможность обосновать использование легочных пресноводных моллюсков в биомедицинских исследованиях, в частности для изучения обмена углеводов.

Список использованной литературы

1. Отбор модельных организмов для биомедицинских исследований посредством изучения молекулярно-структурной гомологии протеолитических ферментов/ А.А. Чиркин [и др.] // *Новости медико-биологических наук.* – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 215.