



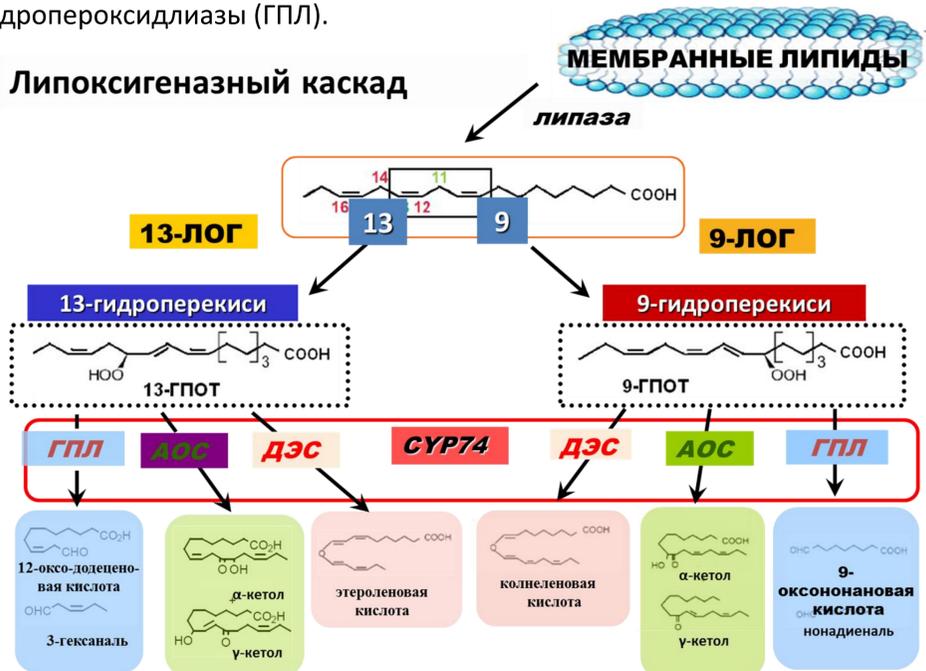
ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТОВ КЛАНА CYP74 И ПРОДУКТОВ ИХ КАТАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛАНЦЕТНИКОВ: *BRANCHIOSTOMA FLORIDAE*, *B. BELCHERII* И *B. LANCEOLATUM*

Е.О. Смирнова, С.С. Горина, Н.В. Ланцова, Я.Ю. Топоркова, А.Н. Гречкин

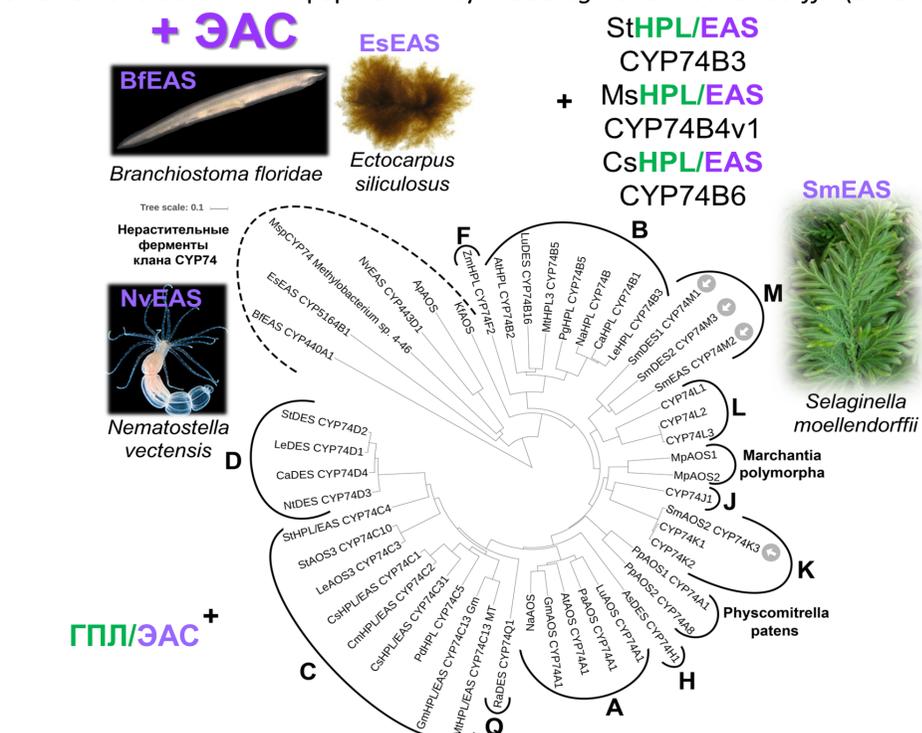
Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", г. Казань, yelena.smirnova@iiesec.net

1) Оксипирины животных включают **эйкозаноиды** (производные **C20** жирных кислот) и (производные **C18** жирных кислот). В то же время, механизмы образования, а также свойства октадеканойдов животных остаются практически неизученными, несмотря на то, что содержание C18 жирных кислот в животных тканях достигает значительного количества. При этом оксипирины октадеканового ряда, образуемые в рамках липоксигеназного каскада, хорошо изучены у растений. Показано, что они являются продуктами каталитического действия липоксигеназ и цитохромов P450 семейства **CYP74**, к которым относятся алленоксидсинтазы (АОС), дивинилэфирсинтазы (ДЭС), гидропероксидлиазы (ГПЛ).

Липоксигеназный каскад



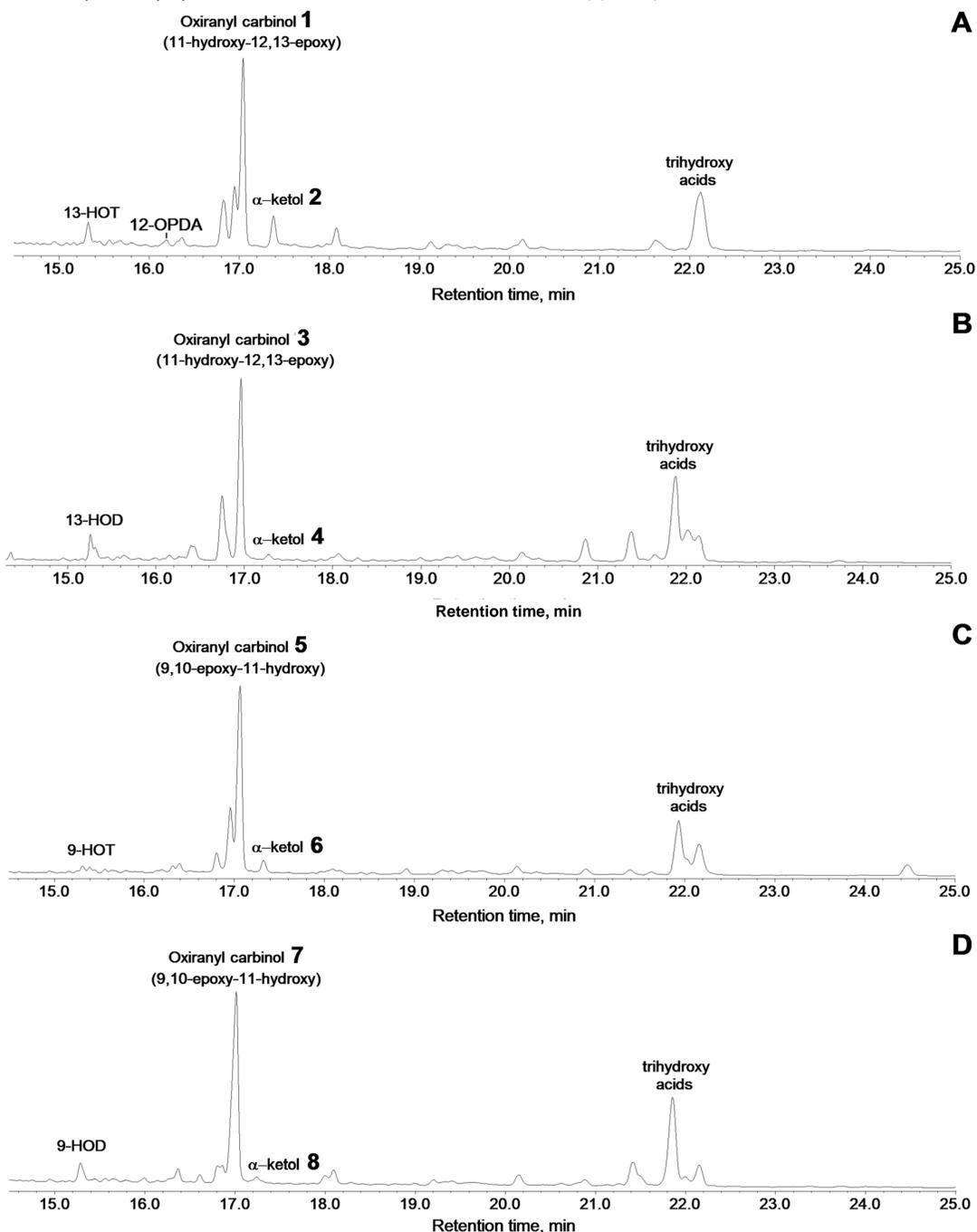
2) Ферменты семейства CYP74 ранее были обнаружены только у растений. Однако не так давно были обнаружены ферменты, сходные с представителями семейства CYP74 по структуре, механизму каталитического действия и тп. Они были выявлены у протеобактерий, животных, бурых и красных водорослей. По требованиям номенклатуры цитохромов P450 эти ферменты относятся к другим семействам. В связи с этим, было введено понятие **клана CYP74**. К нему отнесли еще одну группу ферментов – **эпоксисинтазы (ЭАС)**. В 2008 году был охарактеризован первый представитель этого класса ферментов – ЭАС ланцетника флоридского (**BfEAS**). В дальнейшем, ЭАС были обнаружены нами у бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus* и актинии *Nematostella vectensis*. Кроме того, ЭАС активность была обнаружена у GPL подсемейства CYP74C и некоторых ферментов из подсемейства CYP74B. В 2018 году в нашей лаборатории была охарактеризована и описана первая растительная ЭАС семейства CYP74 – фермент плаунка *Selaginella moellendorffii* (**SmEAS**).



3) В настоящей работе описаны и охарактеризованы три фермента трех видов ланцетников *B. floridae*, *B. belcherii* и обитающего в Черном море *B. lanceolatum*.

Рекомбинантные ферменты были получены при финансовой поддержке государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН. Каталитическая активность рекомбинантных ферментов была изучена при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 20-14-00338.

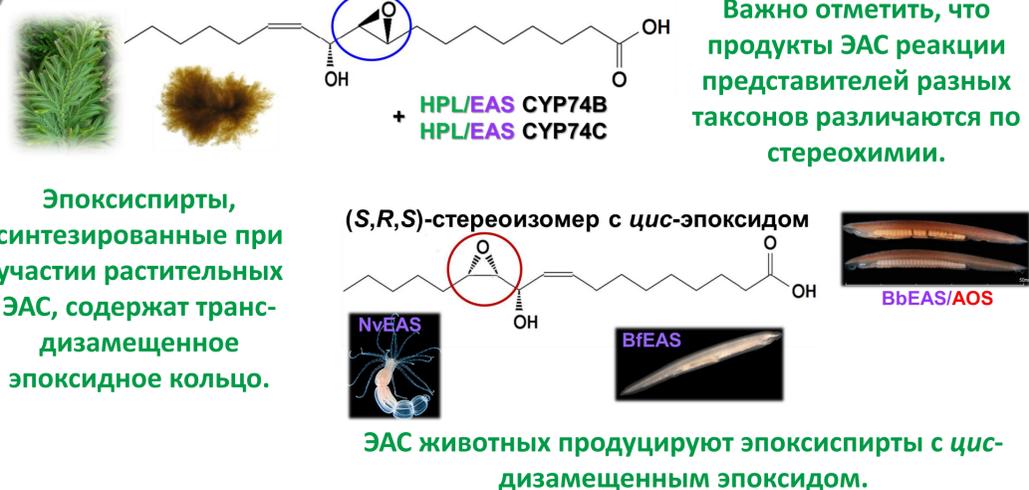
4) Фермент *B. floridae* превращает гидроперекиси жирных кислот исключительно в оксиранил карбинолы (эпоксиспирты), что указывает на то, что данный фермент обладает исключительно ЭАС активностью. Это уже второй фермент подобного типа, описанный для данного вида животных. Ему было присвоено тривиальное название BfEAS2. В то же время, фермент ланцетника *B. belcherii* проявляет двойную активность АОС и ЭАС. Ему присвоено тривиальное название BbEAS/AOS. Это первый фермент клана CYP74 животных, обладающий АОС активностью.



Хроматограммы (полный ионный ток) продуктов (Me/TMC) инкубации рекомбинантного белка BbEAS/AOS с 13-ГПОТ (А), 13-ГПОД (В), 9-ГПОТ (С), 9-ГПОД (D). кислоты

5) Фермент ланцетника *B. lanceolatum* является самым необычным ферментом из всех перечисленных. При участии данного фермента могут образовываться дивиниловые эфиры (ДЭС продукты), эпоксиспирты (ЭАС продукты) и лейкотриен-подобные соединения. Последние соединения не являются типичными продуктами реакций, катализируемых ферментами CYP74.

6) (S,S,S)-стереоизомер с транс-эпоксидом



По-видимому, образование эпоксиспиртов с *цис*-конфигурацией эпоксидного кольца является особенностью ЭАС животных.