

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-271

НЕОБЫЧНЫЙ ФЕРМЕНТ КЛАНА CYP74 ЛАНЦЕТНИКА ЕВРОПЕЙСКОГО*

THE UNUSUAL ENZYME OF THE CYP74 CLAN OF EUROPEAN LANCELET

Е. О. Смирнова¹, А. С. Окатова², Н. В. Ланцова¹, А. М. Егорова¹, Я. Ю. Топоркова¹, А. Н. Гречкин¹¹Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН²Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университетаE. O. Smirnova¹, A. S. Okatova², N. V. Lantsova¹, A. M. Egorova¹, Y. Y. Toporkova¹, A. N. Grechkin¹¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center RAS²Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University

✉ yelenasmirnova1905@yandex.ru

Аннотация

Работа посвящена клонированию обнаруженного нами гена фермента клана CYP74 ланцетника европейского (*Branchiostoma lanceolatum*) и биохимической характеристике соответствующего рекомбинантного белка.

Abstract

The present work reports the detection and cloning of a new CYP74 clan gene of the European lancelet (*Branchiostoma lanceolatum*) and the biochemical characterization of the corresponding recombinant enzyme.

Оксилипины являются важными липидными медиаторами, которые образуются из полиненасыщенных жирных кислот, таких как арахидоновая, линолевая, α -линоленовая, эйкозапентаеновая, докозагексаеновая и др. В биосинтезе оксипинов принимают участие следующие группы ферментов: циклооксигеназы, липоксигеназы и цитохромы P450. Кроме того, оксипины могут образовываться спонтанно без участия ферментов. Подобные оксипины носят название фитопростаны и изопростаны.

Оксипины животных включают эйкозаноиды (производные C20 жирных кислот) и октадеканойды (производные C18 жирных кислот). У животных эйкозаноиды изучены очень хорошо. Они принимают участие в регуляции основных физиологических функций: работы органов пищеварения, сердечно-сосудистой и респираторной систем, воспроизводства, в воспалительных процессах, анафилаксии, системах иммунного ответа и др. 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 оксипины 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), гидропероксидазы (ГПЛ).

Цитохромы P450 семейства CYP74 ранее считались исключительно растительным эволюционным приобретением. Однако в 2008 г. в геномах различных морских беспозвоночных было обнаружено большое количество генов, кодирующих CYP74-подобные ферменты. Тогда же было введено и понятие клана CYP74. К нему отнесли еще одну группу ферментов — эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС). Первой охарактеризованной ЭАС был фермент ланцетника *Branchiostoma floridae* [1]. В дальнейшем ЭАС были обнаружены у актинии *Nematostella vectensis*, бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus* и представителя царства растений — плаунка *Selaginella moellendorffii*. Важно отметить, что дополнительная ЭАС-активность была обнаружена у ГПЛ подсемейства CYP74C и некоторых ферментов из подсемейства CYP74B.

Ланцетники на данный момент являются единственными хордовыми, у которых описаны гены ферментов клана CYP74. Геномы ланцетников *Branchiostoma floridae* и *B. belcheri* содержат 20 и 10 генов соответственно. Часть генов была клонирована, а соответствующие ферменты охарактеризованы. Так, у *B. floridae* было обнаружено как минимум две ЭАС [1], а у ланцетника *B. belcheri* был обнаружен фермент, который проявлял активность АОС и ЭАС [2]. Следует отметить, что продукты ЭАС-реакции представителей разных таксонов

* Исследование каталитической активности фермента CYP440A19 выполнено при поддержке РНФ (проект № 23-14-00350).

различаются по стереохимии. ЭАС животных продуцируют эпокиспирты с цис-дизамещенным эпоксидом, а эпокиспирты, синтезированные при участии растительных ЭАС, содержат транс-дизамещенное эпоксидное кольцо. По-видимому, образование эпокиспиртов с цис-конфигурацией эпоксидного кольца является особенностью ЭАС животных.

Геном ланцетника европейского (*B. lanceolatum*) также содержит гены ферментов CYP74. Нами были получены транскриптомные данные этого организма в условиях осмотического стресса и проанализирован профиль оксипинов. На основании этих данных, а также данных анализа каталитически важных доменов был выбран ген для клонирования (B110054) и получен соответствующий рекомбинантный фермент (CYP440A19). При участии данного фермента из C18 гидроперекисей жирных кислот образовывались дивиниловые эфиры (8-цис-колнелевая и этеролева кислоты — ДЭС продукты), эпокиспирты (ЭАС продукты), лейкотриен-подобные соединения (подобные соединения образуются из арахидоновой кислоты при участии липоксигеназ) и макролактон [3]. Последние соединения не являются типичными продуктами реакций, катализируемых ферментами CYP74. Результаты данного исследования вносят существенный вклад в понимание метаболизма C18 жирных кислот у животных.

Литература

1. Lee D. S. et al. Structural insights into the evolutionary paths of oxylipin biosynthetic enzymes // *Nature*. 2008. Vol. 455. P. 363–368.
2. Toporkova Y. Y. et al. Detection of the First Epoxyalcohol Synthase/Allene Oxide Synthase (CYP74 Clan) in the Lancelet (*Branchiostoma belcheri*, Chordata) // *Intern. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. P. 4737
3. Smirnova E. O. et al. The versatile CYP74 clan enzyme CYP440A19 from the European lancelet *Branchiostoma lanceolatum* biosynthesizes novel macrolactone, epoxydiene, and related oxylipins // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2024. Vol. 1869. P. 159507.