**ВЛИЯНИЕ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДУЛЯТОРОВ С646, А485 НА СЕКРЕЦИЮ ВНЕШНЕЙ ПРОТЕАЗЫ АКТИВАТОРА ПРОТЕИНА C**

Осмоловский А.А.1, Орехова А.В.2 , Дорожкина И.А.3

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*2Сапиенца — Римский университет, Рим, Италия*

*3ГБОУ Школа №192, Москва, Россия*

*dorozhkinira@gmail.com*

Согласно статистике ВОЗ ежегодно в мире от сердечно-сосудистых заболеваний и тромботических осложнений умирают 17,9 миллиона человек. [1]. Актуальными являются проблемы поиска новых эффективных тромболитических лекарств, а также снижение стоимости производства уже существующих медикаментов. В своих предыдущих исследованиях мои научные руководители Осмоловский А.А. и Орехова А.В. показали, что существуют протеазы микромицетов (ферменты из класса гидролаз, которые расщепляют пептидную связь между аминокислотами в белках), способные расщеплять и активировать белки системы гемостаза. [2] Так, вид *Aspergillus ochraceus* секретирует протеазы, активирующие протеин С и Х фактор [3].

Целью настоящей работы было определение влияния эпигенетических модуляторов С646 и А485 на уровень секреции внеклеточной протеазы, активирующей протеин C плазмы крови человека, продуцируемой микромицетом *A. ochraceus.*

Методы: на первом этапе работы была определена минимальная ингибирующая концентрация эпигенетических модуляторов С646 и А495. Эпигенетические модуляторы С646 и А485 не задерживали рост мицелия, что позволяло использовать их в дальнейшей работе.

На следующем этапе проведено культивирование *A. ochraceus* на посевной среде в качалочных колбах объёмом 750 мл с 200 мл питательной среды на орбитальной качалке при 200 об/мин, +28 °С в течение 48 часов. По истечении времени 3% (по объёму) посевного материала переносили в качалочную колбу с 200 мл ферментационной среды и выращивали при вышеописанных условиях ещё в течение 72 часов. В данном эксперименте было использовано три ферментационные среды: контрольная, среда с добавлением 100 μМ эпигенетического модулятора А485 и среда с добавлением 100 μМ эпигенетического модулятора С646. На третьи сутки культивирования микромицета культуральную жидкость отделяли от биомассы фильтрованием и определяли в ней активность протеолитических ферментов. Были получены комплексные препараты внеклеточных протеолитических ферментов культуры *A.ochraceus* после культивирования в ферментативной среде методом высаливания сульфатом аммония. В каждой пробе трехкратно определена концентрация белка по методу Бредфорд. Проведено исследование динамического уровня активаторной активности полученных препаратов и протеина С плазмы крови с использованием хромогенных субстратов. С целью подтверждения гомогенности фракций проведен электрофоретический анализ по методу Леммли.

Результаты: определена динамика активаторной активности к протеину С. Максимальная активаторная активность зафиксирована в культуральной жидкости, содержащей эпигенетический модулятор C646, на четвёртые сутки культивации. Активаторная активность к протеину С внеклеточной протеазы *A. ochraceus* выше в 6,2 раза после воздействия эпигенетического модулятора С646, выход протеазы увеличен на 45%.

Выводы: установлено, что эпигенетические модуляторы увеличивают скорость роста мицелиальных грибов. Лабораторный анализ выхода внеклеточных протеаз при применении эпигенетических модуляторов показал достоверное увеличение секреции белка – активатора протеина C. Существует линейная зависимость между концентрацией эпигенетических модуляторов и биосинтезом протеолитических ферментов. Результаты работы могут быть использованы для увеличения выхода фермента-активатора протеина С плазмы крови человека, являющегося потенциальным диагностическим средством параметров системы гемостаза человека.

1. Сайт «Всемирная организация здравоохранения» URL: https://www.who.int/cardiovascular\_diseases/ru/
2. Осмоловский А.А. и др. Микромицеты *Aspergillus ochraceus*- продуценты внеклеточных протеиназ- активаторов протеина С плазмы крови. //*Прикладная биохимия*, 2012, **48**, 537-542.
3. Орехова А. В. и др. Возможность применения внеклеточной протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* для определения содержания фактора x в плазме крови человека //*Вестник Московского университета*. Серия 16. Биология, 2019, №. 2, 146-150.