

Довідка про творчий внесок у роботу
Стогнія Євгенія Миколайовича
кандидата біологічних наук, наукового співробітника
відділу структури та функції білка
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Результати, наведені в статтях із співавторами, отримані особисто автором або за його безпосередньої участі. Стогнієм Є.М. було продемонстровано здатність протеїназ різного походження розщеплювати молекулу фібрин(оген)у. Характеризувалась фібрин(оген)олітична активність ензимів за допомогою гель-електрофорезу в системі Лемлі, ензим електрофорезу та визначення здатності розщеплювати хромогенні субстрати. Ці протеїнази найбільш специфічно розщеплювали А α -ланцюг фібрин(оген)у. В роботі було досліджено ендопептидази з таких джерел: з культурального середовища *Bacillus thuringiensis*; культурального середовища *Bacillus sp.*; з гриба *Pleurotus ostreatus*; з отрут змій *Echis multisquamatus* та *Gloydius halys halys*. Дослідження дозволило обрати два ензими, які найбільш ефективно розщеплювали молекулу фібрин(оген)у - це протеїназа з культурального середовища *B. thuringiensis* та з отрути *G. halys halys*. за допомогою інгібіторного аналізу було встановлено, що вони є сериновими протеїназами.

За безпосередньої участі автора, використовуючи методи електрофорезу у поліакриламідному гелі, вестерн блот аналіз та MALDI-TOF мас спектрометрію було встановлено, що дія протеїнази з *B. thuringiensis* призводить до відщеплення від молекули фібрин(оген)у ділянки з масою 11.4 кДа. В той же час, дія протеїнази з отрути *G. halys halys* спричиняє відщеплення від С-кінцевої ділянки А α -ланцюга фрагмента з масою 21.1 кДа. Аналізуючи послідовність фібрин(оген)у та особливості специфічності досліджуваних протеїназ було виявлено, що при їх дії утворюються форми фібрин(оген)у desA α 505-610 (за дії протеїнази з *B. thuringiensis*) та фібрин(оген)у desA α 414-610 (за дії ензиму з *G. halys halys*).

Стогнієм Є.М. використовуючи метод турбідиметрії, було встановлено, що при дії на фібрин(оген) досліджуваних протеїназ, для тромбін-індукованої полімеризація фібрину характерне подовження lag-періоду процесу та зростання кінцевої мутності середовища. Збільшення мутності середовища неочікуваний прояв гідролізу фібриногену, оскільки у більшості випадків дії протеїназ на фібрин(оген) спостерігається саме зниження помутніння розчину. Тому, процес полімеризації фібрину за дії на нього досліджуваних протеїназ, вивчали і за допомогою електронної мікроскопії в якій автор приймав участь у підготовці зразків. Виявлено, що дія цих протеїназ призводить до утворення згустку з тонкими, невпорядкованими та аномальними фібрилами.

Автором, за допомогою методу агрегатометрії, було встановлено, що дія протеїнази з культурального середовища *B. thuringiensis* майже не змінює

