

УДК 594.3+571.27+591.113

## ФИБРИНОГЕНПОДОБНЫЕ БЕЛКИ ГАСТРОПОД

© 2021 г. Е. Е. Прохорова\*, Г. Л. Атаев

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,  
кафедра зоологии, лаборатория экспериментальной зоологии,  
наб. р. Мойки, д. 48, Санкт-Петербург, 191186 Россия  
\*e-mail: elenne@mail.ru

Поступила в редакцию 12.08.2021 г.

После доработки 30.08.2021 г.

Принята к публикации 01.09.2021 г.

К фибриногенподобным белкам (fibrinogen-related proteins, FREP) относятся кальций-зависимые лектины, имеющие в своем составе один фибриногеновый и один или два иммуноглобулиновых домена. Для FREP гастропод характерна уникальная среди патогенраспознающих молекул беспозвоночных способность к соматической диверсификации. Структура кодирующих FREP геномных участков подразумевает возможность альтернативного сплайсинга и соматического мутагенеза. С момента открытия у моллюсков *Biomphalaria glabrata* FREP были описаны у многих гастропод. В настоящее время выделяют как минимум 14 подсемейств FREP. FREP разных подсемейств избирательно участвуют в иммунном ответе на патогены различной природы. В частности, подтверждена роль FREP в защитных реакциях на трематодную инвазию и в формировании резистентности моллюсков к трематодам конкретных видов. Предполагаемые функции FREP разнообразны – от распознавания чужеродного до опсонизации и нейтрализации патогенов. Несмотря на обилие работ, посвященных изучению и открытию новых FREP моллюсков, в отечественной литературе этот вопрос почти не обсуждался. Соответственно, основная цель данной статьи – анализ сведений о FREP гастропод и обсуждение места FREP среди патогенраспознающих рецепторов моллюсков.

**Ключевые слова:** фибриногенподобные белки (FREP), гастроподы, трематодная инвазия, резистентность, патогенраспознающие рецепторы, врожденный иммунитет

**DOI:** 10.31857/S0031184721060016

В последнее время заметно возрос интерес к исследованиям в области сравнительной иммунологии. Среди беспозвоночных одной из наиболее изучаемых моделей являются брюхоногие моллюски. Во многом это внимание обусловлено их ролью промежуточных хозяев в жизненных циклах трематод. Изучение защитных реакций проводится как на улитках из природных популяций, так и на лабораторных линиях моллюсков, с разной степенью резистентности по отношению к трематодной инвазии. Одними из основных вопросов при изучении паразито-хозяинных систем являются определение механизмов совместимости паразита и хозяина и определение степени специфичности этого взаимодействия (Connors, 2003; Атаев и др., 2020). Взаимодей-

ствия между организмами происходят на уровне молекул – поверхностных рецепторов и их лигандов. Соответствие поверхностных и секретируемых антигенов паразита и хозяина определяет особенности этого взаимодействия и совместимость паразито-хозяинной системы.

Распознавание чужеродного – центральное событие иммунного ответа. Особенности этого процесса лежат в основе фундаментальной классификации типов иммунитета. Считается, что беспозвоночные животные являются обладателями системы врожденных защитных реакций (см.: Атаев и др., 2020). В основе распознавания в системе врожденного иммунитета лежит способность различать так называемые образы патогенности, или патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (pathogen-associated molecular pattern, PAMP), сигнализирующие о возможности опасности их носителя (Janeway, Medzhitov, 2002). Распознавание PAMP происходит с помощью патогенраспознающих рецепторов (pattern recognition receptors, PRR), представленных как на иммунocyтах, так и на других клетках (эпителиальных, нервных, соединительнотканых и др.). PRR очень разнообразны, но самой представленной среди них является группа Toll-подобных рецепторов и лектинов (см. Атаев и др., 2020).

Лектины беспозвоночных животных хорошо изучены. Их функции в системе иммунитета беспозвоночных не ограничиваются распознаванием PAMP (см.: Vasta, Ahmed, 2009). Лектины обладают агглютинирующей активностью и опсонизируют патогены, усиливая их фагоцитоз или инкапсуляцию (Кокряков, 2006). Роль лектинов в распознавании и уничтожении партенит трематод была убедительно показана в 80-х годах прошлого века в многочисленных экспериментах с заражением моллюсков *Biomphalaria glabrata* трематодами *Schistosoma mansoni* и *Echinostoma paraensei*. В частности, было подтверждено наличие в плазме моллюсков, которые относились к резистентным к трематодной инвазии линиям, агглютинирующих факторов, которых не было в плазме особой чувствительных линий (Loker et al., 1984, 1994; Wayne et al., 1986; Couch et al., 1990). В экспериментах *in vitro* было показано, что *Biomphalaria glabrata*, зараженные трематодами *Echinostoma paraensei*, продуцируют белки, которые связывают экскреторно-секреторные продукты (ЭСП) трематод, полученные при культивировании спороцист. У моллюсков, иммунизированных бактериями, или незараженных особей таких реакций не наблюдалось (Hertel et al., 1994; Adema et al., 1997). Это привело исследователей к мысли о том, что именно трематодная инвазия приводит у биомфаларии к выработке и, как следствие, повышению концентрации гуморальных защитных белков (вероятно, лектинов).

В дальнейшем было установлено, что с ЭСП *E. paraensei* связываются три группы молекул гемолимфы (Monroy, Loker, 1993; Hertel et al., 1994; Adema et al., 1997) с молекулярным весом 65, 80–120 и 200 кДа. При этом *in vitro* связывание с ЭСП избирательное и зависит от их концентрации в плазме. При добавлении 1 мкл ЭСП в гемолимфу моллюсков *Biomphalaria glabrata*, зараженных *Echinostoma paraensei*, в образующемся осадке с 4-го по 14-й день обнаруживаются белки из фракций 200 кДа и 80–120 кДа. При добавлении 10 мкл ЭСП в гемолимфу зараженных моллюсков они связываются белками из фракции с молекулярным весом 65 кДа. Белки детектируются со 2-го по 8-й день после заражения (п.з.). Интересно, что обработка гемолимфы одного и того же моллюска разным количеством ЭСП приводит к образованию обоих вариантов преципитатов.

В 1997 г. были секвенированы частичные аминокислотные последовательности четырех пептидов из 65 кДа фракции белков, выделенных из плазмы М-линии *Biomphalaria glabrata* (Adema et al., 1997). Было установлено, что белки функционируют как кальций-зависимые лектины, связывающиеся с остатками L-фукозы. Выявленные пептидные последовательности были использованы для предсказания соответствующих нуклеотидных последовательностей. Их анализ показал, что N-концевая часть пептидов содержит участок, гомологичный домену иммуноглобулинового суперсемейства (immunoglobulin-superfamily like domain, IgSF домен), а С-концевая область – фибриногеновый домен (fibrinogen-like domain, FBG домен). Анализ экспрессии показал, что при заражении трематодами *Echinostoma paraensei* количество транскриптов возрастает в три раза и коррелирует с ростом числа гемоцитов.

Большая часть данных о FREP гастропод получена для моллюсков *Biomphalaria glabrata* – промежуточных хозяев трематод *Schistosoma mansoni*. Именно для биомфаларий впервые изучены защитные реакции гастропод в ответ на трематодную инвазию (Lie, Heuneman, 1976a, 1976b; Lie et al., 1982, 1983; Sullivan et al., 1982; Sire et al., 1998; Ataev, Coustau, 1999), бактериальное заражение (Cheng, 1975; Matricon-Gondran, Letocart, 1999), а также описан клеточный ответ моллюсков на трансплантаты органов и тканей улиток (Cheng, Jourdane, 1987; Jourdane, Cheng, 1987; Sullivan, 1990; Sullivan et al., 1998). За длительное время культивирования в лабораторных условиях путем направленных скрещиваний и отбора были выведены линии *Biomphalaria glabrata*, различающиеся по уровню резистентности к разным видам трематод (Newton, 1953; Richards, 1970; Richards, Shade, 1987; Lewis et al., 2001; см.: Атаев, Полевщиков, 2004; Атаев и др., 2005). Выявление генетических основ резистентности биомфаларий привело в том числе и к открытию геномных локусов, кодирующих FREP.

### Классификация FREP

Первоначально было выделено четыре подсемейства FREP *Biomphalaria glabrata*, различающихся по нуклеотидным последовательностям, которые кодируют IgSF домены (Adema et al., 1997). Постепенно количество подсемействросло до 14 (Zhang et al., 2008). Белки, которые кодируются последовательностями, гомологичными на 90% и со сходством аминокислотной последовательности не менее чем на 85%, относят к одному подсемейству (Zhang et al., 2004). Классификация FREP затруднена, что обусловлено большой вариабельностью внутри некоторых подсемейств (например, FREP2) (Gordy et al., 2015). Кроме того, рост числа геномных и транскриптомных исследований привел к открытию новых представителей FREP, которые не могли быть классифицированы ни в одно из традиционных подсемейств (Adema et al., 2017; Galinier et al., 2017; Lu et al., 2020).

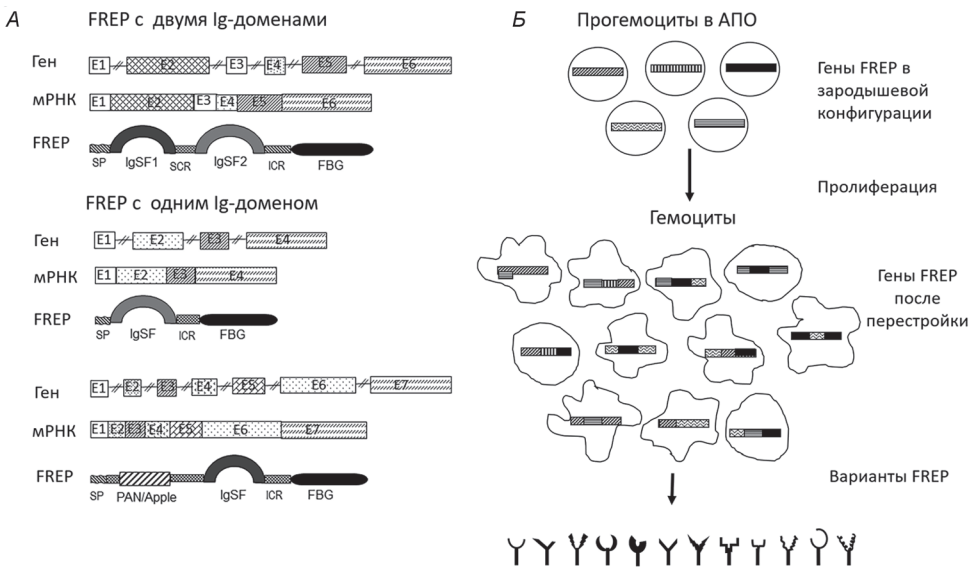
В 2017 г. была предложена альтернативная классификация (Galinier et al., 2017). Две любые последовательности FREP, идентичные более чем на 85%, были отнесены к одному классу и обозначены одной латинской буквой. FREP с одним доменом IgSF сгруппировали в классы от А до F, с двумя доменами – в классы от Н до М. Кодирующие их геномные локусы обозначили числами (например, C1 и C2).

В настоящее время используются обе классификации FREP, что значительно осложняет сопоставление получаемых результатов и описание вновь открытых FREP моллюсков других видов.

## Структура, геномные локусы и особенности организации доменов FREP

FREP имеют уникальную доменную организацию. На N-конце полипептида находятся один или два IgSF домена, а на C-конце расположен FBG домен (Doolittle, 1992; Kurosava, Hashimoto, 1996; Adema et al., 1997). Между доменами располагаются промежуточные участки (ICR, interceding region). мРНК FREP может содержать 4 или 6 экзонов (рис. 1).

Несмотря на то, что недавно стали доступными данные анализа геномных участков, кодирующих FREP (Lu et al., 2020), на сегодняшний день основная информация о структуре молекул и участках генома, кодирующих FREP, – результат анализа транскриптомов. Многочисленные работы, посвященные изучению дифференциальной экспрессии факторов иммунного ответа у биомфаларий при трематодной инвазии, дали примерное представление о том, как устроены домены FREP и их гены (Mitta et al., 2005; Jiang et al., 2006; Guillou et al., 2007; Lockyer et al., 2008; Zhang et al., 2008; Zahoor et al., 2014; Lu et al., 2020).



**Рисунок 1.** Организация генов, доменная организация и механизмы формирования разнообразия фибриногенподобных белков (FREP) (по: Атаев и др., 2020, с изменениями). *А* – организация геномных локусов и доменная структура FREP. E1–E6 – экзоны, SP – сигнальный белок, IgSF – домен иммуноглобулинового суперсемейства, FBG – фибриногеновый домен, ICR – промежуточный участок, PAN/Apple – PAN/Apple-подобный домен. Для каждого FREP показан один из возможных вариантов мРНК. *Б* – схема формирования разнообразия FREP в онтогенезе моллюска (пояснения в тексте).

**Figure 1.** Organization of genomic loci, domain structure and mechanisms of formation of a variety of fibrinogen-like proteins (FREP) (see Ataev et al., 2020 with changes). *A* – organization of genomic loci and domain structure of FREPs. E1–E6 – exons, SP – signaling protein, IgSF – domain of the immunoglobulin superfamily, FBG – fibrinogen domain, ICR – intermediate region, PAN/Apple – PAN/Apple-like domain. *B* – scheme of the formation of the FREP diversity in the ontogeny of the mollusk (see text for explanations).

Гены FREP биомфаларии кластеризованы и расположены в непосредственной близости друг от друга и от фрагментов FREP-подобных последовательностей (Zhang et al., 2001; Gordy et al., 2015; Lu et al., 2020). Так, три гена FREP3 и один ген FREP14 локализованы в пределах геномной области 70000 пн. Вероятно, эти последовательности FREP возникли в результате дубликаций генов. Такая конфигурация генов предполагает большую пластичность и может обеспечить материал для диверсификации за счет конверсии генов. Кроме того, именно такая структура генов часто ассоциируется с соматическим мутагенезом. Биоинформатический анализ показал, что все гены FREP кодируют сигнальные пептиды, обеспечивающие секрецию белков (Chen et al., 2007; Hanington et al., 2010b).

Полная информация о кодирующих участках генома и аминокислотных последовательностях получена только для некоторых представителей FREP, преимущественно FREP2, 3, 4 и 7 (Gordy et al., 2015). Для всех FREP, у которых доступны последовательности интронов, границы экзон–интрон определяются правилом GT–AG. Гомология последовательностей интронов составляет менее 25%. Сайты сплайсинга относятся к типу 1, за исключением интрона 3 в FREP3 и 7, которые относятся к типу 0 (Leonard et al., 2001; Zhang et al., 2001).

Фибриногеновый домен – наиболее консервативная часть молекул FREP. Гомология FBG доменов, относящихся к разным группам FREP, составляет не менее 72% (Dheilly et al., 2015). FBG домены высоко консервативны не только внутри классов FREP (Leonard et al., 2001; Zhang et al., 2001, 2008; Zhang, Loker, 2003), но и между классами (Hanington, Zhang, 2011). Средняя гомология по аминокислотной последовательности FBG доменов составляет ~65% при функциональном сходстве аминокислот ~84% (Zhang et al., 2008).

Для иммуноглобулиновых доменов FREP характерна крайняя вариабельность, которая была выявлена с помощью транскриптомного анализа (Dheilly et al., 2015). В настоящее время на основании изучения структуры IgSF домена выделено как минимум 14 подсемейств FREP моллюска *B. glabrata* (см. выше) (Loker et al., 2004; Gordy et al., 2015; Galinier et al., 2017). У отдельных особей этого вида выявляется от 36 до 45 различных вариантов мРНК FREP3 (Zhang et al., 2004), которые соответствуют 31 и 36 вариантам аминокислотных последовательностей. Репертуар FREP также меняется по мере роста моллюска и после заражения трематодами разных видов (Hanington et al., 2010a, 2010b, 2012; Gordy et al., 2015).

Существует два основных варианта организации генов FREP. Одна группа содержит один IgSF домен, другая – два IgSF домена (рис. 1A). Гены FREP с одиночным IgSF доменом (FREP2, 4 и 14) содержат 4 экзона и 3 интрона. Все гены FREP с двумя IgSF доменами (FREP3, 7, 12 и 13) (обозначаемыми как IgSF1 и IgSF2) имеют одинаковую организацию интронов и содержат 6 экзонов и 5 интронов (Zhang et al., 2001). Между тандемно расположенными IgSF доменами находится небольшой линкерный участок. Экзоны, кодирующие IgSF2, обычно прерываются интронами. Таким образом, домен IgSF2 может быть закодирован двумя или тремя экзонами (Adema et al., 2017). IgSF1 домены и FBG домены закодированы одним экзоном. Домены IgSF всех FREP, описанных на сегодняшний день, демонстрируют наибольшее сходство первичной структуры с вариабельными доменами иммуноглобулинов (Gordy et al., 2015). При этом домен IgSF2 значительно более вариабелен, чем домен IgSF1 (Lu et al., 2020).

Каждый домен IgSF в известных FREP содержит разное количество идентичных и переменных аминокислот (FREP2: 24 идентичных, 29 переменных; FREP3: 31 и 38 для обоих доменов IgSF; FREP4: 25, 20). Все они обладают четырьмя каноническими цистеинами, которые образуют межцепочечную петлю посредством дисульфидных связей (Leonard et al., 2001; Zhang et al., 2001, 2008; Zhang, Loker, 2003). Интересно, что домен IgSF2 тандемных IgSF по предсказанной аминокислотной последовательности и интрон–экзонной структуре FREP ближе к одиночному IgSF домену (идентичность 31–46%), чем к IgSF1 в той же молекуле (Zhang et al., 2001; Dheilly et al., 2015). Так, у FREP3 в доменах IgSF1 и IgSF2 совпадает только 11% аминокислотной последовательности, а у FREP7 – 12% (Zhang et al., 2001, 2008).

Промежуточная область, которая соединяет IgSF домены с FBG доменом, всегда кодируется на двух последних экзонах. Интроны FREP2 и 4 хорошо изучены и состоят из большого числа прямых повторов, которые различаются по длине (Gordy et al., 2015; Portet et al., 2017). Области ICR демонстрируют низкую гомологию между собой (в среднем ~10%) и значительно различаются по длине (от 14 до 320 аминокислот) (Dheilly et al., 2015; Lu et al., 2020). При этом они обогащены такими аминокислотами, как изолейцин (I), лейцин (L), лизин (K), аспарагин (N) и глутаминовая кислота (E) (Gordy et al., 2015). Для их структуры характерно формирование спиральных шпилек (coiled-coils), которые могут участвовать в мультимеризации FREP (Gorbushin, 2019).

Недавно на основе геномной последовательности *B. glabrata* был выявлен новый тип FREP, содержащий на N-конце PAN/Apple-подобный домен (Adema et al., 2017).

Вопрос о количестве геномных локусов, кодирующих FREP у биомфаларии, остается открытым. Первоначально транскриптомный анализ показал наличие 14 вариантов мРНК FREP в транскриптоме *B. glabrata* (Leonard et al., 2001; Hanington et al., 2010a). Путем ПЦП со специфическими праймерами к FBG домену было установлено, что у одной особи *B. glabrata* M-линии может присутствовать до 42 уникальные последовательности, кодирующие FREP (Zhang, Loker, 2004; Hanington, Zhang, 2011). Анализ транскриптомов биомфаларий нескольких линий выявил 69 транскриптов, потенциально кодирующих FREP. Сопоставление со сборкой генома позволило отнести их к 24 геномным локусам. (Galiniere et al., 2017). Первый поиск FREP в геноме *B. glabrata* линии BB02 выявил 20 генов с двумя тандемными доменами IgSF и 4 гена с одним IgSF доменом, а также FREP, содержащий PAN/Apple домен (Adema et al., 2017). Согласно данным последнего анализа с использованием усовершенствованного алгоритма поиска (Hidden Markov Models (HMM)) в геноме *B. glabrata* присутствует 39 генов FREP (Lu et al., 2020).

Важный аспект, определяющий формирование специфичного репертуара FREP, – существование вариантов аллелей генов, кодирующих FREP, и различия по этим аллелям между популяциями (линиями моллюсков), характеризующимися разной степенью восприимчивости к трематодной инвазии. Различия по аллелям между моллюсками *B. glabrata* двух линий (чувствительной и резистентной к трематодам *Schistosoma mansoni*), были обнаружены для FREP2, FREP3.1 и FREP3.2. В частности, одиночные нуклеотидные полиморфизмы, приводящие к замене аминокислот, присутствуют в последовательностях, кодирующих FBG домен FREP2, IgSF1 и IgSF 2 домены, IgSF1, IgSF2 и FBG домены в FREP3.2 (Lu et al., 2020). Различия в наборе аллелей между линиями *Biomphalaria glabrata* могут являться одним из основных факторов, определяющих разную восприимчивость моллюсков к заражению трематодами (Pila et al., 2017; Allan et al., 2019; Li et al., 2020).

## Механизмы формирования разнообразия FREP

Фенотипическое разнообразие FREP намного превосходит количество заложенных в геноме вариантов. Сопоставление геномных и транскриптомых данных выявило возможность существования у одной особи различных вариантов FREP в разных клетках и на разных этапах онтогенеза (Hanington et al., 2012; Adema, 2015). Этот феномен стал основой для проведения аналогий между FREP и антигенраспознающими молекулами адаптивного иммунитета беспозвоночных. Механизмы формирования разнообразия FREP – один из ключевых вопросов иммунологии моллюсков и молекулярной сравнительной иммунологии.

Возможность соматической диверсификации была показана для FREP2, FREP3, FREP4 и FREP12 *B. glabrata* (Zhang et al., 2004; Mone et al., 2010; Hanington et al., 2010b; Dheilly et al., 2015). В частности, FREP3 по разным оценкам кодируется в пяти локусах (Zhang et al., 2004; Hanington et al., 2010a), однако от одной особи может быть получено до 34 уникальных домена IgSF1 (Zhang et al., 2004) и 77 вариантов с учетом всех доменов (Hanington et al., 2010a). События диверсификации были продемонстрированы не только в переменных доменах IgSF, но и в более консервативных доменах FBG (Zhang et al., 2004), а также промежуточных регионах (Zhang et al., 2001; Hanington et al., 2010b; Dheilly et al., 2015).

В качестве наиболее вероятного механизма формирования разнообразия FREP рассматривается альтернативный сплайсинг. Это подтверждается результатами многочисленных транскриптомных исследований, в которых у моллюсков обнаруживаются разные варианты транскриптов одного и того же FREP (Galiner et al., 2017). Само явление альтернативного сплайсинга для гастропод изучено слабо и показано только для нескольких генов, экспрессирующихся в клетках нервной системы гастропод (Price, Greenberg, 1994; Santama et al., 1996).

Наличие кластерной организации генов и соматических мутаций позволили предположить возможность гипермутагенеза FREP по механизму, аналогичному соматическому гипермутагенезу генов иммуноглобулинов позвоночных (Adema, 2015). У *B. glabrata* выявлены нуклеотидные последовательности, кодирующие цитидиновую дезаминазу (AID, activation-induced deaminase). Её экспрессия повышается у моллюсков, зараженных трематодами (Bouchut et al., 2006). AID избирательно дезаминирует цитозины в последовательностях, кодирующих переменные домены иммуноглобулинов, что приводит к точечным мутациям – преимущественно С-Т– переходам (Chen et al., 2007; Neuberger, 2008). Однако для генов FREP в основном показаны точечные мутации с переходами А-Г и Т-С (Mone et al., 2010).

Возможность соматического гипермутагенеза заложена и в механизме гемопоэза пульмонат (рис. 1Б). В основном FREP экспрессируются в гемоцитах моллюсков (Adema et al., 1997; Hanington et al., 2010a, 2010b). Предполагается, что случайные соматические мутации могут возникать во время пролиферации и клеточной дифференцировки в гемопоэтических структурах, что изменяет зародышевое состояние генов в некоторых гемоцитах. В результате часть гемоцитов содержат гены FREP не в зародышевой конфигурации, а включают уникальные мутации (Hanington et al., 2010a, 2010b). Так как в онтогенезе улитки происходит обновление пула гемоцитов, то и репертуар FREP, экспрессируемых в этих клетках, также меняется (рис. 1Б). Эта закономерность показана экспериментально: транскрипты пулов из 20–40 гемоцитов *B. glabrata* содержат различные наборы модифицированных последовательностей

FREP (Hanington et al., 2010a, 2010b). Стимуляция патогеном может усиливать гемопоэз у *B. glabrata*, в результате чего усиливается процесс мутагенеза и разнообразие FREP (Hanington et al., 2012; Adema, Loker, 2015).

Другой обсуждаемый механизм формирования разнообразного репертуара FREP – ретротранспозиция. Наличие обратных последовательностей показано для FREP12 (Zhang, Loker, 2003). Кроме того, у *B. glabrata* выявлены мобильные генетические элементы, подобные LINE1. Эти элементы фланкированы короткими повторами и содержат открытые рамки считывания (Raghavan et al., 2007). Источником разнообразия FREP на посттрансляционном уровне может быть формирование мультимеров (Zhang et al., 2001).

Соответственно, у моллюсков репертуар патогенраспознающих молекул не ограничивается только генотипически определенным ресурсом. Важно отметить, что ранее онтогенетическая изменчивость патогенраспознающих молекул считалась прерогативой только позвоночных животных (Medzhitov, Janeway, 1997).

### Участие FREP в иммунных реакциях моллюсков

Впервые иммунологическая роль FREP была показана для моллюсков *B. glabrata* M-линии, у которых экспрессия генов FREP повышалась в три раза после заражения *Echinostoma paraensei* (Adema et al., 1997). В настоящее время установлено, что FREP – одна из самых обильно представленных фракций белков плазмы биомфаларий (Wu et al., 2017).

Было многократно подтверждено изменение экспрессии генов FREP при заражении моллюсков трематодами (Hertel et al., 2005; Mitta et al., 2005; Hanington et al., 2010a, 2010b). Имеются данные о специфичности экспрессии FREP при заражении трематодами разных видов. Так, у моллюсков *Planorbarius corneus* уровень экспрессии генов FREP различен у незараженных особей и особей, зараженных разными видами трематод. При заражении улиток партенитами *Notocotylus* sp. и *Plagiorchis* sp. экспрессия FREP понижается, а у особей, зараженных *Cotylurus* sp. и *Bilharziella polonica*, экспрессия FREP выше, чем у незараженных (Прохорова и др., 2010).

Показана зависимость между зараженностью моллюсков трематодами и уровнем экспрессии FREP разных подсемейств (Guillou et al., 2004; Hertel et al., 2005; Jiang et al., 2006). При заражении *Biomphalaria glabrata* мирацидиями *Echinostoma paraensei* значительно усиливается транскрипция FREP двух подсемейств (FREP2 и FREP4) и снижается выработка FREP8 (Mitta et al., 2005; Adema et al., 2010). Заражение трематодами *Schistosoma mansoni* усиливает экспрессию FREP2, FREP6, FREP11. Интересно, что у моллюсков линии BS-90 временной интервал повышенной экспрессии FREP2 больше, чем время, в течение которого происходят инкапсуляция и элиминация спорозист (Hertel et al., 2005; Dinguirard et al., 2018).

Кроме того, разные FREP обладают разной избирательной активностью в отношении патогенов различной природы: FREP2 плазмы зараженных моллюсков связывается преимущественно со спорозистами *Echinostoma paraensei*, а FREP3 – с бактериями и грибами (Zhang et al., 2008). Инъекция бактерий *Micrococcus luteus* приводит к усилению экспрессии FREP4 и FREP7. При этом *Escherichia coli* вызывает снижение экспрессии FREP7 (Adema et al., 2010).

Предполагается, что повышение транскрипции генов FREP при заражении трематодами может быть связано с усилением пролиферации гемоцитов, происходящей



в ответ на трематодную инвазию (Salamat, Sullivan, 2008). Транскриптомный анализ подтвердил экспрессию FREP3 и FREP12 гемоцитами и ее усиление в ответ на заражение трематодами (Hanington et al., 2012; Lockyer et al., 2012; Larson et al., 2014; Galinier et al., 2017; Li et al., 2020). Однако пока не ясно, могут ли отдельные клетки гемолимфы иметь уникальные наборы FREP, являющиеся результатом перестройки генов или транскриптов в ответ на иммунизацию (Gordy et al., 2015). Есть данные, что FREP3 экспрессируется не во всех гемоцитах *Biomphalaria glabrata*. При этом трематодная инвазия приводит к росту доли гемоцитов с транскриптами FREP3 (Hanington et al., 2010a).

Исследование изменений профилей экспрессии FREP в течение жизни моллюска лежит в основе решения вопроса об их возможной диверсификации в ходе онтогенеза. В ряде экспериментов показано, что моллюски *B. glabrata* разных возрастов различаются по интенсивности экспрессии и набору FREP. В частности, у биомфаларий М-линии разных размерных классов (0.2–2.3 см) FREP2, 3, 4, 12, 13, и 14 экспрессируются с разной интенсивностью. При этом средний уровень экспрессии генов FREP выше у улиток небольших размеров. FREP2 и FREP4 показали более интенсивную экспрессию в улитках наименьшего размера (FREP2 – до 16 раз, FREP4 – до 60 раз). FREP14 в наименьшей степени представлен у крупных улиток. Экспрессия FREP3 и FREP12 не отличается значимо у моллюсков разных размеров (Zhang et al., 2008).

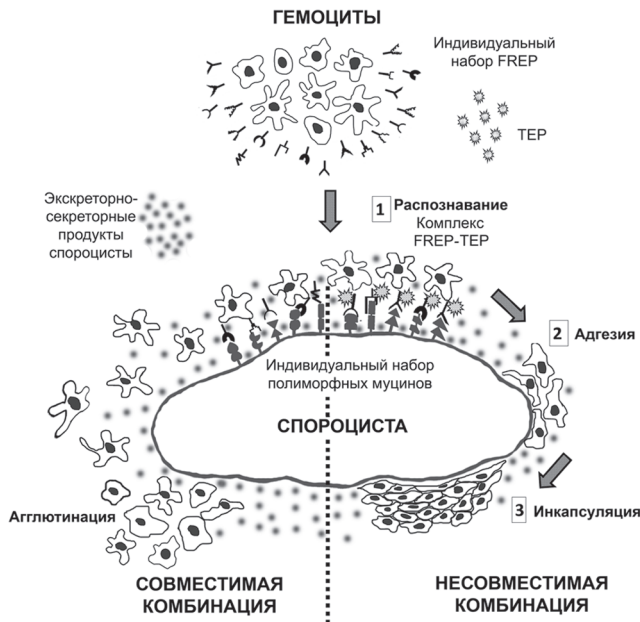
Такие результаты дают основание для обсуждения возможных путей и причин изменения генетических кластеров, кодирующих FREP у гастропод в ходе онтогенеза (см. выше). Возможно, изменение репертуара секретируемых белков свидетельствует о преобладании различных механизмов защиты на разных этапах онтогенеза организма и своеобразном «созревании» его защитной системы. Вероятно, роль FREP не исчерпывается антитрематодным ответом. Они участвуют в иммунном ответе на другие группы патогенов (бактерии, грибы, вирусы). И возможно, FREP участвуют в таких физиологических процессах, как морфогенез, постэмбриональное развитие и поддержание тканевого гомеостаза.

### **Роль FREP в резистентности к трематодной инвазии**

Вопрос о роли FREP в формировании фенотипа, устойчивого к трематодной инвазии, является одним из наиболее дискуссионных в исследовании биологии этих молекул. Существуют многочисленные доказательства того, что именно FREP могут определять совместимость в паразито-хозяинной системе «трематоды-моллюски».

Известно, что трематоды экспрессируют на своей поверхности многочисленные и разнообразные гликопротеины, набор которых меняется при превращении мирацидиев в спороцисты (Yoshino, Bayne, 1983; Yoshino et al., 1993; Mone et al., 2010). Разнообразие этих поверхностных (и секретируемых) молекул у *Schistosoma mansoni* отражено в их названии – «полиморфные муцины» (PoMucs, polymorphic mucins) (Mone et al., 2010). Считается, что именно полиморфные муцины во многом определяют совместимость или несовместимость трематоды с хозяином. Только паразит, имеющий муцины, совместимые с иммунной системой хозяина, может успешно развиваться и размножаться в моллюске (Mitta et al., 2012). При этом под совместимостью подразумевается неспособность гемоцитов моллюска распознать муцины, что и определяет отсутствие защитной реакции (рис. 2). Изменение репертуара муцинов, их мимикрия под собственные антигены моллюска, а также способность блокировать

защитные факторы иммунной системы – необходимые условия успешной инвазии. Со стороны моллюска такими молекулами, обеспечивающими взаимодействие с разнообразными антигенами паразита, являются FREP. В комплексе с другими гуморальными факторами иммунной системы (см. ниже) последние участвуют в формировании фенотипа, резистентного или чувствительного к трематодной инвазии.



**Рисунок 2.** Участие фибриногенподобных белков в иммунных реакциях гастропод на трематодную инвазию, основанное на взаимодействии комплексов молекул моллюска с совместимыми полиморфными муцинами паразита.

FREP – фибриногенподобные белки, ТЕР – тиоэфирсодержащие белки. Совместимая комбинация паразита и хозяина формируется в том случае, когда FREP моллюска не способны взаимодействовать с полиморфными муцинами паразита. В таком случае гемоциты, привлеченные экскреторно-секреторными продуктами спороцист, скапливаются в месте инвазии (агглютинация), но не происходит их адгезии на поверхности спороцисты. В несовместимой комбинации FREP моллюска подходят к полиморфным муцинам паразита как ключ к замку. Комплекс FREP–ТЕР облегчает адгезию гемоцитов на поверхности спороцисты, что приводит к ее инкапсуляции.

**Figure 2.** The participation of fibrinogen-like proteins in the immune reactions of gastropods to trematode invasion, based on the interaction of the immune complexes of the mollusc with compatible polymorphic mucins of the parasite.

FREP – fibrinogen-like proteins, ТЕР – thioester-containing proteins. A compatible combination of the parasite and the host is formed when FREPs of the mollusc are not able to interact with the polymorphic mucins of the parasite. In this case, hemocytes attracted by the excretory-secretory products of sporocysts accumulate at the site of invasion (agglutination). But their adhesion does not occur on the surface of the sporocyst. In an incompatible combination of FREPs, the molluscs approach the polymorphic mucins of the parasite as the key to the lock. The FREP–TER complex facilitates the adhesion of hemocytes on the surface of the sporocyst, which leads to its encapsulation.

У моллюсков *Biomphalaria glabrata* линий, различающихся по устойчивости к трематодной инвазии, выявлены как конститутивные различия в экспрессии FREP, так и различная интенсивность ответа при заражении трематодами (Hertel et al., 2005; Mitta et al., 2005). В частности, у моллюсков резистентной линии BS-90 заражение *Schistosoma mansoni* приводит к повышению уровня экспрессии FREP2 и FREP4 через день п.з. в 57 раз и в 4.5 раза соответственно. А заражение *Echinostoma paraensei* вызывает рост экспрессии FREP2 в 50 раз через день п.з. и FREP4 в 11 раз через 4 дня п.з. У моллюсков чувствительной линии М заражение обоими видами трематод вызывает гораздо менее выраженный ответ. Линия М демонстрирует рост экспрессии FREP2 на 4-й день п.з. трематодами *E. paraensei* только в 5 раз, а инвазия *Schistosoma mansoni* вообще не приводит к повышению экспрессии FREP2 и FREP 4. В то же время, для FREP7 было выявлено более специфическое повышение уровня экспрессии: у моллюсков линии М, зараженных *Schistosoma mansoni* (до 12 раз), и улиток линии BS-90, зараженных *Echinostoma paraensei* (увеличение в 6 раз) (Hertel et al., 2005).

В опытах с нокдауном генов FREP показано повышение восприимчивости *Biomphalaria glabrata* резистентных линий к заражению трематодами *Echinostoma paraensei* и *Schistosoma mansoni*. За два дня до заражения моллюскам и в культуру эмбриональных клеток биомфаларии (Bge-cells) вводили двуцепочечную интерферирующую РНК. РНК была комплементарна участку, кодирующему сигнальный пептид и IgSF домен FREP2. Это приводило к снижению экспрессии гена FREP2 после заражения как шистосомой, так и эхиностомой на 20–30% по сравнению с контрольной группой (Jiang et al., 2006).

Сходные результаты были получены и для FREP3 (Hanington et al., 2010a). Улиткам линии М *Biomphalaria glabrata* (резистентны к *Echinostoma paraensei*) вводили коктейль из олигонуклеотидов, комплементарных консервативным участкам мРНК FREP3. Это приводило к нокдауну экспрессии FREP3 через 72 ч после инъекции и повышению чувствительности к инвазии *E. paraensei* на 28–33% (Hanington et al., 2010a). Аналогичный эксперимент с моллюсками BS-90 линии *Biomphalaria glabrata* (резистентной к *Schistosoma mansoni*) показал снижение резистентности к шистосомной инвазии на 21% по сравнению с контрольной группой (Hanington et al., 2012). Подавление резистентности в результате снижения экспрессии FREP3 может происходить и в результате предварительного заражения облученными мирацидиями *Echinostoma paraensei*. В этом случае у моллюсков, зараженных эхиностомой линии BS-90, снижается способность подавлять последующую инвазию *Schistosoma mansoni* на 46%, а анализ экспрессии на микрочипах показывает значительное снижение числа транскриптов FREP3 (Hanington et al., 2012).

Транскриптомный анализ также подтвердил, что FREP3.1 и FREP3.2 являются факторами, определяющими устойчивость моллюсков к заражению трематодами. Заражение *S. mansoni* приводит к быстрому нарастанию уровня экспрессии этих белков только у резистентной линии моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Lu et al., 2020). Исследование транскриптома *B. pfeifferi* – вида, очень чувствительного к инвазии *Schistosoma mansoni*, — показало, что уровень экспрессии FREP3 практически не изменяется при заражении моллюсков шистосомами (Buddenborg et al., 2017). Однако другие FREP реагируют на заражение: экспрессия FREP2 постепенно повышается во время инвазии, экспрессия FREP5, FREP7 и FREP14 увеличивается на ранних стадиях заражения и во время эмиссии церкарий, а синтез FREP12 при инвазии последовательно снижается.

## Мишени FREP и взаимодействие с другими факторами иммунитета

В настоящее время остается невыясненной роль отдельных доменов FREP. Однако существует множество предположений относительно функциональной активности каждого из доменов на основе данных об участии этих (или гомологичных) доменов в иммунных реакциях других беспозвоночных и позвоночных животных.

Известно, что FBG домен у позвоночных участвует в реакциях коагуляции (Doolittle, 2016). Но его роль в этом процессе у беспозвоночных не подтверждена. Для беспозвоночных разных групп показано участие FBG домена в защитных реакциях – в распознавании бактериальных паттернов (Gokudan et al., 1999; Pieters, Wolberg, 2019), аллогенном распознавании (Yamada et al., 2009), регуляции иммунного ответа (Li, Graham, 2007), морфогенезе нервной системы и органов чувств (Yamada et al., 2009). Принято считать, что FBG домен моллюсков не участвует в реакциях коагуляции гемолимфы, а основная его функция – облегчение кальций-зависимого связывания лектинов с углеводами (Adema et al., 1999). FBG домены гастропод способны распознавать сложные углеводы, участвуют в реакциях агглютинации и антибактериальном ответе (Kurachi et al., 1998; Middha, Wang, 2008; Zhang et al., 2009). Одним из лектинов, имеющих сайт связывания с ионами кальция, является селектин, вовлеченный в процессы адгезии у моллюсков *Biomphalaria glabrata* (Guillou et al., 2004).

Предполагаемые функции IgSF домена еще более разнообразны. У животных белки, содержащие IgSF домен, участвуют в тканевых межклеточных взаимодействиях, являются рецепторами клеток нервной и мышечной тканей, а также выполняют многочисленные функции в иммунной системе (Schroeder, Cavacini, 2010; Buchmann, 2014). IgSF домены беспозвоночных способны взаимодействовать с различными молекулярными паттернами, связанными с патогенами (Sun et al., 1990; Adema et al., 1997; Zhang et al., 2001).

PAN/Apple-подобные домены участвуют в белок-белковых или белок-углеводных взаимодействиях, выполняя разнообразные функции у представителей как позвоночных, так и беспозвоночных животных. Среди моллюсков PAN/Apple-подобные домены обнаружены также у гастропод *Lottia gigantea* (Gorbushin et al., 2010) и бивальвий *Crassostrea gigas* (Huang et al., 2015). Интересно, что FREP1 с PAN/Apple доменом при заражении *Schistosoma mansoni* слабо экспрессируется у биомфаларий как резистентной, так и чувствительной линии. Возможно, его функциональная активность не связана с антитрематодным иммунным ответом (Lu et al., 2020).

Некоторые FREP биомфаларий образуют мультимеры. В частности, FREP4 обычно секретируется в плазму в виде тетрамеров, а FREP3 формирует мультимерные комплексы в ходе иммунного ответа (Zhang et al., 2008; Gordy et al., 2015). Предполагается, что мультимеризация влияет на функции во время иммунного ответа. Она может увеличить avidность (прочность) связывания и повысить аффинность (специфичность) распознавания патогенов (Li et al., 2020).

Таким образом, каждый из доменов FREP может являться как патогенраспознающим, так и участвующим в нейтрализации патогена компонентом молекулы. Поэтому в настоящее время FREP рассматриваются и в качестве наиболее значимых патогенраспознающих молекул гастропод и в качестве функциональных молекул иммунного ответа, обеспечивающих элиминацию патогена. Для того, чтобы выяснить функциональную роль FREP, необходимо определить их лигандную специфичность, выявить молекулы-мишени, с которыми FREP взаимодействуют.

С использованием специфических антител показана способность FREP *Biomphalaria glabrata* связываться с лигандами на поверхности бактерий, грибов и тегумента трематод *Schistosoma mansoni* и *Echinostoma paraensei* (Zhang et al., 2008; Mone et al., 2010). Впервые способность взаимодействовать с полиморфными муцинами шистосомы была показана для FREP2 *Biomphalaria glabrata* (Mone et al., 2010). Доказательства распознавания полиморфных муцинов гемоцитами с участием FREP были получены в экспериментах с использованием микросфер, покрытых гликопротеинами трематод (Peterson et al., 2009). Такие микросферы фагоцитируются гемоцитами *B. glabrata* быстрее и эффективнее, чем непокрытые микросферы.

С помощью вестерн-блоттинга было установлено, что FREP3 способен связываться моносахаридными мишенями, а наиболее сильно – с альфа-D-галактозой после инкубации микросфер с бесклеточной плазмой *B. glabrata*. При этом микросферы, покрытые дополнительно BgFREP3, фагоцитировались гемоцитами более эффективно, чем любой из протестированных моносахаридов (Hanington et al., 2010b). Это означает, что именно FREP является посредником во взаимодействии гемоцитов с гликопротеинами трематод.

Другими белками моллюсков, выявленными в экспериментах по иммунопреципитации, были тиоэфирсодержащий протеин (thioester-containing protein, TEP) и биомфализин. Был предложен возможный механизм, объясняющий распознавание полиморфных муцинов с участием комплекса FREP-TEP, а также биомфализина (Galiniere et al., 2013; Tereau et al., 2017; Portet et al., 2018; Pinaud et al., 2021).

Впервые TEP был описан как белок, содержащий характерный тиоэфирный домен (TED). Этот домен отличается наличием  $\beta$ -цистеинил- $\gamma$ -глутамильной связи. Данная связь обладает высокой реакционной способностью и позволяет TEP образовывать ковалентные связи с молекулами-мишенями (Bender et al., 1992). Связывание TEP с поверхностями микроорганизмов и паразитов указывает на его иммунные функции (Mone et al., 2010; Portet et al., 2018; Castillo et al., 2020). Иммуноцитохимическое исследование показало наличие TEP в гемоцитарной капсуле, формируемой вокруг паразита через день п.з. *Schistosoma mansoni*, а также в гемоцитах в непосредственной близости от инкапсуляций (Castillo et al., 2020). Анализ сборки генома *Biomphalaria glabrata* и связанных с ним баз данных RNAseq позволил выявить 12 TEP-подобных последовательностей, для которых были предсказаны возможные сайты связывания с NF- $\kappa$ B (Castillo et al., 2020).

Установлено, что FREP3 и комплекс FREP-TEP могут взаимодействовать с поверхностью тегумента спороцист *Schistosoma mansoni* в то время, как сами по себе TEP1 и FREP2 не обладают такой способностью. Соответственно, механизмы, с помощью которых FREP3 и FREP2 распознают спороцисты *S. mansoni*, различны – FREP3 не требует TEP для связывания с мишенями на поверхности спороцисты *S. mansoni*, при том, что FREP2 без TEP1 связаться не может (Li et al., 2020). При этом TEP способен связываться с FREP3 в отсутствие молекул *S. mansoni*. С поверхностью тегумента спороцисты связывается уже готовый комплекс FREP-TEP.

Другой фактор, взаимодействующий с FREP, – биомфализин. Биомфализин – аэролизинподобный белок плазмы, токсин, формирующий поры. Предположительно биомфализин достался моллюскам от бактерий в результате горизонтального переноса генов (Galiniere et al., 2013). Белок включает два домена – домен, который подобен формирующему  $\beta$ -поры токсину ( $\beta$ -pore-forming toxins) и который способен встраи-

ваться и перфорировать клеточные мембраны, а также малый домен, вовлеченный в распознавание углеводных РАРР. Биомфализины способны связываться с поверхностью спороцист *S. mansoni*, *Echinostoma caproni*, с бактериями и дрожжами (Tetreau et al., 2017).

Известно, что биомфализин напрямую связывается с поверхностью спороцист *Schistosoma mansoni* без помощи каких-либо других факторов (Galiner et al., 2013). Однако белки плазмы гемолимфы значительно усиливают его активность. Комплекс FREP3-ТЕР может активировать биомфализин, способствуя его олигомеризации (Li et al., 2020). В этом процессе также участвует FREP2 (Li et al., 2020). При этом у моллюсков и чувствительных и резистентных линий может образовываться комплекс FREP3-ТЕР-биомфализин, но только у резистентных особей этот комплекс привлекает дополнительно другие FREP – FREP2 и FREP3 (Li et al., 2020).

### Распространенность FREP

Большая часть описанного в литературе многообразия FREP является результатом изучения одного вида моллюсков – *Biomphalaria glabrata*, у которой FREP были описаны впервые. Работы, посвященные изучению факторов защитных реакций иммунитета моллюсков других видов, и особенно моллюсков из природных популяций, единичны. Однако уже сейчас ясно, что наличие FREP – особенность не только *B. glabrata*.

У другой биомфалирии – *B. pfeifferi* – выявлено 249 последовательностей, подходящих под описание как FREP. Из них 12 – полноразмерные гомологи FREP *B. glabrata* (Buddenborg et al., 2017). Заражение *B. pfeifferi* мирацидиями *Schistosoma mansoni* значительно изменяет профиль экспрессии FREP: FREP2 постепенно возрастает, FREP7 и 14 значительно повышается на 3-й день п.з. При этом экспрессия FREP3, который сильно реагирует на шистосомное заражение у *Biomphalaria glabrata*, возрастает незначительно только в самом начале инвазии. И наоборот, FREP5 экспрессируется значительно сильнее, тогда как у *B. glabrata* наблюдается снижение его экспрессии (Buddenborg et al., 2017).

Работы, посвященные изучению FREP у других гастропод, не описывают такого многообразия FREP, как у биомфалирий. Возможно, это связано с малочисленностью таких исследований. Одним из видов, для которых убедительно доказано наличие FREP, является *Physella acuta*. В геноме этой улитки пока выявлено только четыре гена FREP, два из которых гомологичны FREP2 и FREP4 биомфалирии. При этом транскриптомный анализ не выявил признаков соматической диверсификации этих генов (Schultz et al., 2018; 2020). Заражение трематодами *Echinostoma paraensei* и бактериями не приводит к росту экспрессии FREP. Но некоторые другие лектины положительно реагируют на иммунизацию. Похожие результаты получены и для *Lymnaea stagnalis*, у которой выявлено только два FREP (Seppälä et al., 2021). Из протестированных факторов (грамположительные и грамотрицательные бактерии, дрожжи, анестезия, голодание, экстракты тканей зараженных моллюсков) только иммунизация *Micrococcus lysodeikticus* приводит к повышению экспрессии одного из FREP. У *Helisoma trivolvis* выявлен один белок, гомологичный FREP3 (Zhang et al., 2004). Недавно гены, кодирующие FREP, были выявлены у глубоководных гастропод, обитающих в термальных источниках, – *Gigantopelta aegis* (18 генов) и *Chrysomallon squamiferum* (14 генов). Максимальная экспрессия генов FREP у этих улиток показана в барьерных структурах – ктенидиях и мантии (Lan et al., 2021).

В геноме *Littorina littorea* выявлено пять генов, кодирующих FREP, один из которых включает два иммуноглобулиноопобных домена (Gorbushin, Borisova, 2015). Последовательности содержат сигнальные пептиды, однако не включают трансмембранные области. В гемоцитах литторины не обнаружено значительного полиморфизма FREP. Только для одного из них выявлено два варианта мРНК. У переднежаберного моллюска *Aplysia californica* выявлено два гена FREP. Однако их структура значительно отличается от генов FREP биомфаларии. Один из них не содержит интронов и предположительно является ретрогеном. Второй включает интроны, но с сайтами сплайсинга, отличными от таковых у биомфаларий (Gorbushin et al., 2010). Анализ экспрессии не выявил соматической диверсификации этих генов FREP. Более того, специфическая экспрессия одного из генов была выявлена только в сердце и жабрах.

Нельзя не упомянуть о том, что FREP также распространены среди моллюсков других таксонов. Так, наличие генов FREP и их тканеспецифичная экспрессия показаны для бивальвий *Mytilus galloprovincialis*, *M. edulis*, *Argopecten irradians*, *Xenostrobus securis* (Romero et al., 2011, 2019; Yang et al., 2014; Tanguy et al., 2018; Saco et al., 2020). У мидий *Mytilus galloprovincialis* выявлено индивидуальное разнообразие наборов FREP (Romero et al., 2011).

В геноме тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* было идентифицировано 193 гена FREP, характеризующихся большим количеством полиморфизмов и множественных перекрывающихся FBG доменов. Наиболее активная экспрессия FREP наблюдается в жабрах, пищеварительных железах и гемоцитах (Huang et al., 2015). У морского гребешка *Argopecten irradians* выявлено значительное усиление экспрессии FREP в ответ на введение липополисахаридов,  $\beta$ -глюкана, пептидогликана, бактерий и грибов, показана значительная агглютинационная активность в отношении бактерий *Vibrio anguillarum* и *Staphylococcus aureus* (Yang et al., 2014).

Таким образом, FREP распространены среди моллюсков. Но разнообразия FREP, описанного у *Biomphalaria glabrata*, не найдено ни у одного из изученных в этом отношении других видов моллюсков. Однако исследований по анализу генома, протеома или транскриптомов биомфаларии в сотни раз больше, чем для других видов гастропод.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Участие FREP в защитных реакциях брюхоногих моллюсков против патогенов различной природы, способность связываться с широким спектром PAMP, структурное разнообразие и формируемое в ходе онтогенеза фенотипическое разнообразие делают FREP идеальными PRR. В то же время способность формировать иммунные комплексы, опсонизировать и агглютинировать патогены указывает на эффекторные функции FREP в иммунном ответе гастропод. Такой набор функциональных активностей FREP не может не привести к аналогии с основополагающими молекулами адаптивного иммунитета позвоночных – иммуноглобулинами, которые, как и FREP, выполняют роль распознающих молекул и одновременно являются важными эффекторами и регуляторами иммунного ответа. Эти данные позволяют обсуждать аналогичность путей иммунной защиты, существующих параллельно у беспозвоночных и позвоночных животных, и аналогичность молекулярных механизмов, которые используются системами врожденного и адаптивного иммунитета.

Существует предположение, что разнообразие FREP у биомфаларий могло сформироваться в результате длительной коэволюции с трематодами *Schistosoma mansoni*

(Bayne, 2009; Adema, Loker, 2015). Стремление паразита обмануть иммунную систему хозяина путем повышенного полиморфизма и мимикрии приводило к тому, что и иммунная система моллюска вырабатывала механизмы более эффективного распознавания и уничтожения паразита. Одним из таких механизмов стали FREP. Такие молекулы с возможностью распознавания широкого репертуара PAMP могут быть эффективны и при встрече с другими патогенами. У других видов моллюсков, взаимодействующих с другими видами трематод или других патогенов, механизмы распознавания и элиминации патогенов могли совершенствоваться за счет других PRR и других компонентов иммунитета.

То, что FREP не являются исключительными или преобладающими PRR в системе врожденного иммунитета гастропод, свидетельствует о важности вариативности в системе врожденного иммунитета. Вариативность распознающих механизмов достигается за счет разнообразия PRR, и система врожденного иммунитета в ходе исторического развития адаптируется под условия, в которых существует моллюск. В результате у каждого вида – свой уникальный набор PRR. Такая «адаптивность» не требует сложных механизмов созревания рецепторов, присутствующих в системе адаптивного иммунитета, но требует большого разнообразия PRR, которое еще предстоит изучить.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20–54–15003 НЦНИ\_а.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атаев Г.Л., Еремина Е.Е., Полевщиков А.В. 2005. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. Гуморальные реакции. *Паразитология* 39 (1): 3–15. [Ataev G.L., Eremina E.E., Polevchchikov A.V. 2005. Defensive reactions of Gastropod molluscs. Humoral reactions. *Parazitologiya* 39 (1): 3–15. (in Russian)]
- Атаев Г.Л., Полевщиков А.В. 2004. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. 1. Клеточные реакции. *Паразитология* 38 (4): 342–351. [Ataev G.L., Polevchchikov A.V. 2004. Protective reactions of Gastropod molluscs. 1. Cell reactions. *Parazitologiya* 38 (4): 342–351. (in Russian)]
- Атаев Г.Л., Прохорова Е.Е., Токмакова А.С. 2020. Защитные реакции легочных моллюсков при паразитарной инвазии. *Паразитология* 54 (5): 371–401. [Ataev G.L., Prokhorova E.E., Tokmakova A.S. 2020. Defense reactions of pulmonate molluscs during parasitic invasion. *Parazitologiya* 54 (5): 371–401. (in Russian)]. <https://doi.org/10.31857/S1234567806050028>
- Кокряков В.Н. 2006. Очерки о врожденном иммунитете. СПб., Наука, 261 с. [Kokryakov V.N. 2006. Essays on innate immunity. Saint Petersburg, Nauka, 261 p. (in Russian)]
- Прохорова Е.Е., Цымбаленко Н.В., Атаев Г.Л. 2010. Экспрессия генов защитных реакций у моллюсков *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при заражении трематодами. *Паразитология* 44 (4): 310–325. [Prokhorova E.E., Tsybalyenko N.V., Ataev G.L. 2010. Expression of genes encoding defense factors in the snail *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) infested with trematodes. *Parazitologiya* 44 (4): 310–325. (in Russian)]
- Adema C.M. 2015. Fibrinogen-Related Proteins (FREPs) in Mollusks. Results and Problems in Cell Differentiation 57: 111–129.
- Adema C.M., Hanington P.C., Lun C.-M., Rosenberg G.H., Aragon A.D., Stout B.A., Richard M.L., Gross P.S., Loker E.S. 2010. Differential transcriptomic responses of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Mollusca) to bacteria and metazoan parasites, *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei* (Digenea, Platyhelminthes). *Molecular Immunology* 47 (4): 849–860. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.10.019>
- Adema C.M., Hertel L.A., Miller R.D., Loker E.S. 1997. A family of fibrinogen-related proteins that precipitates parasite-derived molecules is produced by an invertebrate after infection. *PNAS* 94 (16): 8691–8696. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.16.8691>



- Adema C.M., Hertel L.A., Loker E.S. 1999. Evidence from two planorbid snails of a complex and dedicated response to digenean (Echinostome) infection. *Parasitology* 119 (4): 395–404. <https://doi.org/10.1017/s0031182099004850>
- Adema C.M., Hillier L.W., Jones C.S., Loker E.S., Knight M., Minx P., et al. 2017. Whole genome analysis of a schistosomiasis-transmitting freshwater snail. *Nature Communications* 8 (15451): 1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms15451>
- Adema C.M., Loker E.S. 2015. Digenean-gastropod host associations inform on aspects of specific immunity in snails. *Developmental and Comparative Immunology* 48 (2): 275–283. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.06.014>
- Allan E., Yang L., Tennessen J.A., Blouin M.S. 2019. Allelic variation in a single genomic region alters the hemolymph proteome in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Fish and Shellfish Immunology* 88: 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.065>
- Ataev G.L., Coustau C. 1999. Cellular response to *Echinostoma caproni* infection in *Biomphalaria glabrata* strains selected for susceptibility/resistance. *Developmental and Comparative Immunology* 23 (3): 187–198. [https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(99\)00023-3](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(99)00023-3)
- Bayne C.J. 2009. Successful parasitism of vector snail *Biomphalaria glabrata* by the human blood fluke (trematode) *Schistosoma mansoni*: A 2009 assessment. *Molecular & Biochemical Parasitology* 165 (1): 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2009.01.005>
- Bayne C.J., Loker E.S., Yui M.A. 1986. Interactions between the plasma-proteins of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) and the sporocyst tegument of *Schistosoma mansoni* (Trematoda). *Parasitology* 92 (3): 653–664. <https://doi.org/10.1017/s0031182000065513>
- Bender R.C., Fryer S.E., Bayne C.J. 1992. Proteinase inhibitory activity in the plasma of a mollusc: evidence for the presence of a-macroglobulin in *Biomphalaria glabrata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 102: 821–824. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90086-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90086-7)
- Bouchut A., Roger E., Coustau C., Gourbal B., Mitta G. 2006. Compatibility in the *Biomphalaria glabrata*/*Echinostoma caproni* model: potential involvement of adhesion genes. *International Journal for Parasitology* 36 (2): 175–184. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.09.009>
- Buchmann K. 2014. Evolution of Innate Immunity: Clues from Invertebrates via Fish to Mammals. *Frontiers in Immunology* 5: 459. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00459>. eCollection 2014
- Buddenborg S.K., Bu L., Zhang S-M., Schilkey F.D., Mkoji G.M., Loker E.S. 2017. Transcriptomic responses of *Biomphalaria pfeifferi* to *Schistosoma mansoni*: Investigation of a neglected African snail that supports more *S. mansoni* transmission than any other snail species. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 11 (10): e0005984. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005984>
- Castillo M.G., Humphries J.E., Mourao M.M., Marquez J., Gonzalez A., Montelongo C.E. 2020. *Biomphalaria glabrata* immunity: Post-genome advances. *Developmental and Comparative Immunology* 104: 103557. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103557>
- Chen J.M., Cooper D.N., Chuzhanova N., Férec C., Patrinos G. P. 2007. Gene conversion: Mechanisms, evolution and human disease. *Nature Reviews Genetics* 8: 762–775. <https://doi.org/10.1038/nrg2193>
- Cheng T.C. 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 266: 343–379. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1975.tb35116.x>
- Cheng T.C., Jourdan J. 1987. Transient cellular reaction in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) to heterotopic isografts. *Journal of Invertebrate Pathology* 49 (3): 273–278.
- Connors V.A. 2003. The schistosome – snail interaction: factors involved in host immunodefense activation and parasite killing in susceptible and resistant *Biomphalaria glabrata*. In: Combes C., Jourdan J. (eds). *Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites*. Perpignan: Presses Univ. de Perpignan, 203–224.
- Couch L., Hertel L.A., Loker E.S. 1990. Humoral response of the snail *Biomphalaria glabrata* to trematode infection: observations on a circulating hemagglutinin. *Journal of Experimental Zoology* 255 (3): 340–349. <https://doi.org/10.1002/jez.1402550310>
- Dheilly N.M., Duval D., Mouahid G., Emans R., Allienne J.-F., Galinier R., et al. 2015. A family of variable immunoglobulin and lectin domain containing molecules in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 48 (1): 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.10.009>
- Dinguirard N., Cavalcanti M.G.S., Wu X.J., Bickham-Wright U., Sabat G., Yoshino T.P. 2018. Proteomic analysis of *Biomphalaria glabrata* hemocytes during in vitro encapsulation of *Schistosoma mansoni* sporocysts. *Frontiers in Immunology* 9: 2773. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02773>

- Doolittle R.F. 1992. A detailed consideration of a principal domain of vertebrate fibrinogen and its relatives. *Protein Science* 1 (12): 1563–1577. <https://doi.org/10.1002/pro.5560011204>
- Doolittle R.F. 2016. Some important milestones in the field of blood clotting. *Journal of Innate Immunity* 8 (1): 23–29. <https://doi.org/10.1159/000442470>
- Galinier R., Portela J., Mone Y., Allienne J.-F., Henri H., Delbecq S., et al. 2013. Biomphalysin, a new  $\beta$  pore-forming toxin involved in *Biomphalaria glabrata* immune defense against *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 9 (3): e1003216. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003216>
- Galinier R., Roger E., Mone Y., Duval D., Portet A., Pinaud S., Chaparro C., Grunau C., Genthon C., Dubois E., Rognon A., Arancibia N., Dejean B., Theron A., Gourbal B., Mitta G. 2017. A multistrain approach to studying the mechanisms underlying compatibility in the interaction between *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11 (3): e0005398. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005398>
- Gokudan S., Muta T., Tsuda R., Koori K., Kawahara T., Seki N., Mizunoe Y., Wai S.N., Iwanaga S., Kawabata S. 1999. Horseshoe crab acetyl group-recognizing lectins involved in innate immunity are structurally related to fibrinogen. *PNAS* 96 (18): 10086–10091. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10086>
- Gorbushin A.M. 2019. Derivatives of the lectin complement pathway in Lophotrochozoa. *Developmental and Comparative Immunology* 94: 35–58. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.01.010>
- Gorbushin A.M., Panchin Y.V., Iakovleva N.V. 2010. In search of the origin of FREPs: Characterization of *Aplysia californica* fibrinogen-related proteins. *Developmental and Comparative Immunology* 34: 465–473. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2009.12.007>
- Gorbushin A.M., Borisova E.A. 2015. Lectin-like molecules in transcriptome of *Littorina littorea* hemocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 48: 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.10.007>
- Gordy M.A., Pila E.A., Hanington P.C. 2015. The role of fibrinogen-related proteins in the gastropod immune response. *Fish and Shellfish Immunology* 46 (1): 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.005>
- Guillou F., Mitta G., Galinier R., Coustau C. 2007. Identification and expression of gene transcripts generated during an anti-parasitic response in *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology* 31 (7): 657–671. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2006.10.001>
- Guillou F., Mitta G., Dissous C., Pierce R., Coustau C. 2004. Use of individual polymorphism to validate potential functional markers: case of a candidate lectin (BgSel) differentially expressed in susceptible and resistant strains of *Biomphalaria glabrata*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 138: 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.03.010>
- Hanington P.C., Lun C.-M., Adema C.M., Loker E.S. 2010a. Time series analysis of the transcriptional responses of *Biomphalaria glabrata* throughout the course of intramolluscan development of *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei*. *International Journal for Parasitology* 40 (7): 819–831. [10.1016/j.ijpara.2009.12.005](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.12.005)
- Hanington P.C., Forsy M.A., Dragoo J.W., Zhang S.-M., Adema C.M., Loker E.S. 2010b. Role for a somatically diversified lectin in resistance of an invertebrate to parasite infection. *PNAS* 107 (49): 21087–21092. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011242107>
- Hanington P.C., Forsy M.A., Loker E.S. 2012. Somatically diversified defense factor, FREP3, is a determinant of snail resistance to Schistosoma infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (3): e1591. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001591>
- Hanington P.C., Zhang S.-M. 2011. The primary role of fibrinogen-related proteins in invertebrates is defense, not coagulation. *Journal of Innate Immunity* 3: 1727. <https://doi.org/10.1159/000321882>
- Hertel L.A., Adema C.M., Loker E.S. 2005. Differential expression of FREP genes in two strains of *Biomphalaria glabrata* following exposure to the digenetic trematodes *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma paraensei*. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (4): 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.08.003>
- Hertel L.A., Stricker S.A., Monroy F.P., Wilson W.D., Loker E.S. 1994. *Biomphalaria glabrata* hemolymph lectins: binding to bacteria, mammalian erythrocytes, and to sporocysts and rediae of *Echinostoma paraensei*. *Journal of Invertebrate Pathology* 64 (1): 52–61. <https://doi.org/10.1006/jipa.1994.1068>
- Huang B., Zhang L., Li L., Tang X., Zhang G. 2015. Highly diverse fibrinogen-related proteins in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Fish and Shellfish Immunology* 43: 485–490. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.01.021>
- Janeway C.A. Jr, Medzhitov R. 2002. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 20: 197–216. [10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359](https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359)

- Jiang Y., Loker E.S., Zhang S.-M. 2006. In vivo and in vitro knockdown of FREP2 gene expression in the snail *Biomphalaria glabrata* using RNA interference. *Developmental and Comparative Immunology* 30 (10): 855–866. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.12.004>
- Jourdane J., Cheng T.C. 1987. The two-phase recognition process of allografts in Brazilian strain of *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Parasitology* 49 (2): 145–158. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(87\)90155-8](https://doi.org/10.1016/0022-2011(87)90155-8)
- Kurachi S., Song Z., Takagaki M., Yang Q., Winter H. C., Kurachi K., et al. 1998. Sialic-acid-binding lectin from the slug *Limax flavus* e cloning, expression of the polypeptide, and tissue localization. *European Journal of Biochemistry* 254 (2): 217–222. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2540217.x>
- Kurosawa Y., Hashimoto K. 1996. The immunoglobulin superfamily: where do invertebrate fit in? In: Cooper E. (ed.). *Advances in Comparative and Environmental physiology*, Berlin, Springer, 23: 151–184.
- Lan Y., Sun J., Chen C., Sun Y., Zhou Y., Yang Y., et al. 2021. Hologenome analysis reveals dual symbiosis in the deep-sea hydrothermal vent snail *Gigantopelta aegis*. *Nature Communications* 12 (1): 1165. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21450-7>
- Larson M.K., Bender R.C., Bayne C.J. 2014. Resistance of *Biomphalaria glabrata* 13-16-R1 snails to *Schistosoma mansoni* PR1 is a function of haemocyte abundance and constitutive levels of specific transcripts in haemocytes. *International Journal for Parasitology* 44 (6): 343–353. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.11.004>
- Leonard P.M., Adema C.M., Zhang S.-M., Loker E.S. 2001. Structure of two FREP genes that combine IgSF and fibrinogen domains, with comments on diversity of the FREP gene family in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Gene* 269: 155–165. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(01\)00444-9](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(01)00444-9)
- Lewis F.A., Pattarson C.N., Knight M., Richards C.S. 2001. The relationship between *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata*: genetic and molecular approaches. *Parasitology* 123: 169–179. <https://doi.org/10.1017/s0031182001007831>
- Li D., Graham L.D. 2007. Epiphragmin, the major protein of epiphragm mucus from the vineyard snail, *Cerutuella virgata*, *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B: Biochemistry & Molecular Biology* 148 (2): 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2007.05.009>
- Li H., Hambrook J.R., Pila E.A., Gharamah A.A., Fang J., Wu X., Hanington P. 2020. Coordination of humoral immune factors dictates compatibility between *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata*. *Elife* 9: e51708. <https://doi.org/10.7554/eLife.51708>
- Lie K.J., Heyneman D. 1976a. Studies on resistance in snails. 3. Tissue reaction to *Echinostoma lindoense* sporocysts in sensitized and resensitized *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 62 (1): 51–58.
- Lie K.J., Heyneman D. 1976b. Studies on resistance in snails. 6. Escape of *Echinostoma lindoense* sporocysts from encapsulation in the snail heart and subsequent loss of the host's ability to resist by the same parasite. *Journal of Parasitology* 62 (2): 298–302.
- Lie K.J., Jeong K.H., Heyneman D. 1982. Further characterization of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* 68 (4): 529–531.
- Lie K.J., Jeong K.H., Heyneman D. 1983. Acquired resistance in snails. Induction of resistance to *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *International Journal for Parasitology* 13 (3): 301–304.
- Lockyer A.E., Emery A.M., Kane R.A., Walker A.J., Mayer C.D., Miita G., Coustau C., et al. 2012. Early differential gene expression in haemocytes from resistant and susceptible *Biomphalaria glabrata* strains in response to *Schistosoma mansoni*. *PLoS One* 7 (12): e51102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051102>
- Lockyer A.E., Spinks J., Kane R.A., Hoffmann K.F., Fitzpatrick J.M., et al. 2008. *Biomphalaria glabrata* transcriptome: cDNA microarray profiling identifies resistant- and susceptible-specific gene expression in haemocytes from snail strains exposed to *Schistosoma mansoni*. *BMC Genomics* 9: 634. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-634>
- Loker E.S., Adema C.M., Zhang S.-M., Kepler T.B. 2004. Invertebrate immune systems – not homogeneous, not simple, not well understood. *Immunological Reviews* 198: 10–24. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.0117.x>
- Loker E.S., Couch L., Hertel L.A. 1994. Elevated agglutination titers in plasma of *Biomphalaria glabrata* exposed to *Echinostoma paraensei*: characterization and functional relevance of a trematode-induced response. *Parasitology* 108 (1): 17–26. <https://doi.org/10.1017/s0031182000078471>
- Loker E.S., Yui M.A., Bayne C.J. 1984. *Schistosoma mansoni*: agglutination of sporocysts, and formation of gels on miracidia transforming in plasma of *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 58 (1): 56–62. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(84\)90020-1](https://doi.org/10.1016/0014-4894(84)90020-1)

- Lu L., Loker E.S., Adema C.M., Zhang S.-M., Bu L. 2020. Genomic and transcriptional analysis of genes containing fibrinogen and IgSF domains in the schistosome vector *Biomphalaria glabrata*, with emphasis on the differential responses of snails susceptible or resistant to *Schistosoma mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 14 (10): e0008780. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008780>
- Matricion-Gondran M., Letocart M. 1999. Internal defenses of the snail *Biomphalaria glabrata*. I. Characterization of hemocytes and fixed phagocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 74 (3): 224–234. <https://doi.org/10.1006/jipa.1999.4876>
- Medzhitov R., Janeway C.A. 1997. Innate Immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 91 (3): 295–298. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80412-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80412-2)
- Middha S., Wang X. 2008. Evolution and potential function of fibrinogen-like domains across twelve *Drosophila* species. *BMC Genomics* 9: 260. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-260>
- Mitta G., Adema C.M., Gourbal B., Loker E.S., Theron A. 2012. Compatibility polymorphism in snail/schistosome interactions: From field to theory to molecular mechanisms. *Developmental and Comparative Immunology* 37 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.09.002>
- Mitta G., Galinier R., Tisseyre P., Allienne J.-F., Girerd-Chambaz Y., Guillou F., et al. 2005. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (5): 393–407. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.10.002>
- Mone Y., Gourbal B., Duval D., Du Pasquier L., Kieffer-Jaquinod S., Mitta G. 2010. A large repertoire of parasite epitopes matched by a large repertoire of host immune receptors in an invertebrate host/parasite model. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4: e813. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000813>
- Monroy F.P., Loker E.S. 1993. Production of heterogeneous carbohydrate-binding proteins by the host snail *Biomphalaria glabrata* following exposure to *Echinostoma paraensei* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 79 (3): 416–423.
- Neuberger M.S. 2008. Antibody diversification by somatic mutation: from Burnet onwards. *Immunology & Cell Biology* 86 (2): 124–132. <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100160>
- Newton W.L. 1953. The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Experimental Parasitology* 2: 242–257. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762010000200007>
- Peterson N.A., Hokke C.H., Deelder A.M., Yoshino T.P. 2009. Glycotope analysis in miracidia and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*: differential expression during the miracidium-to-sporocyst transformation. *International Journal for Parasitology* 39: 1331–1344. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.06.002>
- Pieters M., Wolberg A.S. 2019. Fibrinogen and fibrin: An illustrated review. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis* 3 (2): 161–172. <https://doi.org/10.1002/rth2.12191>
- Pila E.A., Li H., Hambrook J.R., Wu X., Hanington P.C. 2017. Schistosomiasis from a snail's perspective: advances in snail immunity. *Trends of Parasitology* 33 (11): 845–857. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.07.006>
- Pinaud S., Tetreau G., Poteaux P., Galinier R., Chaparro C., et al. 2021. New insights into biomphalysin gene family diversification in the vector snail *Biomphalaria glabrata*. *Frontiers in Immunology* 12: 635131. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.635131>
- Portet A., Galinier R., Pinaud S., Portela J., Nowacki F., Gourbal B., Duval D. 2018. BgTEP: an antiprotease involved in innate immune sensing in *Biomphalaria glabrata*. *Frontiers in Immunology* 9: 1206. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01206>
- Portet A., Pinaud S., Tetreau G., Galinier R., Cosseau C., Duval D., Grunau C., Mitta G., Gourbal B. 2017. Integrated multi-omic analyses in *Biomphalaria-Schistosoma* dialogue reveal the immunobiological significance of FREP-SmPoMuc interaction. *Developmental and Comparative Immunology* 75: 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.02.025>
- Price D.A., Greenberg M.I. 1994. Comparative aspects of FMRF-amide gene organization in mollusks. *Netherlands Journal of Zoology* 44: 421–431.
- Raghavan N., Tettelin H., Miller A., Hostetler J., Tallon L., Knight M. 2007. *Nimbus* (Bgl): An active non-LTR retrotransposon of the *Schistosoma mansoni* snail host *Biomphalaria glabrata*. *International Journal for Parasitology* 37: 1307–1318. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.04.002>
- Richards C.S. 1970. Genetics of a molluscan vector of schistosomiasis. *Nature* 227: 806–810. <https://doi.org/10.1038/227806a0>
- Richards C.S., Shade P.C. 1987. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 73: 1146–1151.

- Romero A., Aranguren R., Moreire R., Novoa B., Figueras A. 2019. Integrated transcriptomic and functional immunological approach for assessing the invasiveness of bivalve alien species. *Scientific Reports* 9: 19879. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56421-y>
- Romero A., Dios S., Poisa-Beiro L., Costa M.M., Posada D., Figueras A., Novoa B. 2011. Individual sequence variability and functional activities of fibrinogen-related proteins (FREPs) in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) suggest ancient and complex immune recognition models in invertebrates. *Developmental and Comparative Immunology* 35: 334–344. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2010.10.007>
- Saco A., Rey-Campos M., Novoa B., Figueras A. 2020. Transcriptomic response of mussel gills after a *Vibrio splendidus* infection demonstrates their role in the immune response. *Frontiers in Immunology* 11: 615580. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615580>
- Salamat Z., Sullivan J.T. 2008. In vitro mitotic responses of the amebocyte-producing organ of *Biomphalaria glabrata* to extracts of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 94 (5): 1170–1173. <https://doi.org/10.1645/GE-1554.1>
- Santama N., Li K.W., Geraerts W.P.M., Benjamin P.R., Burke J.F. 1996. Post-translational processing of the alternative neuropeptide precursor encoded by the FMRFamide gene in the pulmonate snail *Lymnaea stagnalis*. *European Journal of Neuroscience* 8: 968–977. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01584.x>
- Schroeder H.W., Cavacini L. 2010. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125 (2 Suppl 2): S41–52. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.046>
- Schultz J.H., Bu L., Adema C.M. 2018. Comparative immunological study of the snail *Physella acuta* (Hydrophila, Pulmonata) reveals shared and unique aspects of gastropod immunobiology. *Molecular Immunology* 101: 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.05.029>
- Schultz J.H., Bu L., Kamel B., Adema C.M. 2020. RNA-seq: The early response of the snail *Physella acuta* to the digenetic trematode *Echinostoma paraensei*. *Journal of Parasitology* 106 (4): 490–505. <https://doi.org/10.1645/19-36>
- Seppälä O., Walser J.-C., Cereghetti T., Seppälä K., Salo T., Adema C.M. 2021. Transcriptome profiling of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) for ecoimmunological research. *BMC Genomics* 22 (1): 144. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07428-1>
- Sire C., Rognon A., Theron A. 1998. Failure of *Schistosoma mansoni* to reinfect *Biomphalaria glabrata* snails: acquired humoral resistance or intra-specific larval antagonism? *Parasitology* 117: 117–122. <https://doi.org/10.1017/s0031182098002923>
- Sullivan J.T. 1990. Long-term survival of heterotopic allografts of the amoebocyte-producing organ in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Transactions of the American Microscopical Society* 109 (1): 52–60. <https://doi.org/10.2307/3226593>
- Sullivan J.T., Lares R.R., Galvan A.G. 1998. *Schistosoma mansoni* infection inhibits maturation of ovotestis allografts in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Journal of Parasitology* 84 (1): 82–87. <https://doi.org/10.2307/3284534>
- Sullivan J.T., Richards C.S., Joe L.K., Heyneman D. 1982. *Ribeiroia marini*: irradiated miracidia and induction of acquired resistance in *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 53: 17–25.
- Sun S.C., Lindstrom I., Boman H.G., Faye I., Schmidt O. 1990. Hemolin: an insect-immune protein belonging to the immunoglobulin superfamily. *Science* 250: 1729–1932. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(82\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0014-4894(82)90088-1)
- Tanguy M., Gauthier-Clerc S., Pellerin J., Danger J.-M., Siah A. 2018. The immune response of *Mytilus edulis* hemocytes exposed to *Vibrio splendidus* LGP32 strain: A transcriptomic attempt at identifying molecular actors. *Fish and Shellfish Immunology* 74: 268–280. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.038>
- Tetreau G., Pinaud S., Portet A., Galinier R., Gourbal B., Duval D. 2017. Specific pathogen recognition by multiple innate immune sensors in an invertebrate. *Frontiers in Immunology* 8: 1249. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01249>
- Vasta G. R., Ahmed H. 2009. *Animal lectins. A Functional View*. Boca Raton, London, New York, Crc Press, 596 pp.
- Wu X.-J., Dinguirard N., Sabat G., Lui H., Gonzalez L., Gehring M., et al. 2017. Proteomic analysis of *Biomphalaria glabrata* plasma proteins with binding affinity to those expressed by early developing larval *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathogens* 13 (5): e1006081. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006081>
- Yamada S., Hotta K., Yamamoto T. S., Ueno N., Satoh N., Takahashi H. 2009. Interaction of notochord-derived fibrinogen-like protein with Notch regulates the patterning of the central nervous system of *Ciona intestinalis* embryos. *Developmental Biology* 328: 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.12.037>

- Yang C., Wang L., Zhang H., Wang L., Huang M., Sun Z., Sun Y., Song L. 2014. A new fibrinogen-related protein from *Argopecten irradians* (AiFREP-2) with broad recognition spectrum and bacteria agglutination activity. *Fish and Shellfish Immunology* 38: 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.03.025>
- Yoshino T.P., Bayne C.J. 1983. Mimicry of snail host antigens by miracidia and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology* 5 (3): 317–328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.1983.tb00747.x>
- Yoshino T.P., Lodes M.J., Rege A.A., Chappell C.L. 1993. Proteinase activity in miracidia, transformation excretory-secretory products, and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 79 (1): 23.
- Zahoor Z., Lokyer A.E., Davies A.J., Kirk R.S., Emery A.M., et al. 2014. Differences in the gene expression profiles of haemocytes from schistosome-susceptible and -resistant *Biomphalaria glabrata* exposed to *Schistosoma mansoni* excretory-secretory products. *PLoS One* 9 (3): e93215. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093215>
- Zhang S.-M., Adema C.M., Kepler T.B., Loker E.S. 2004. Diversification of Ig superfamily genes in an invertebrate. *Science* 305: 251–254. <https://doi.org/10.1126/science.1088069>
- Zhang S.-M., Leonard P.M., Adema C.M., Loker E.S. 2001. Parasite-responsive IgSF members in the snail *Biomphalaria glabrata*: characterization of novel genes with tandemly arranged IgSF domains and a fibrinogen domain. *Immunogenetics* 53: 684–694. <https://doi.org/10.1007/s00251-001-0386-8>
- Zhang S.-M., Loker E.S. 2003. The FREP gene family in the snail *Biomphalaria glabrata*: additional members, and evidence consistent with alternative splicing and FREP retrosequences. *Developmental and Comparative Immunology* 27: 175–187. [https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(02\)00091-5](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(02)00091-5)
- Zhang S.-M., Loker E.S. 2004. Representation of an immune responsive gene family encoding fibrinogen-related proteins in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Gene* 341: 255–266. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.07.003>
- Zhang H., Wang L., Song L., Song X., Wang B., Mu C., et al. 2009. A fibrinogen-related protein from bay scallop *Argopecten irradians* involved in innate immunity as pattern recognition receptor. *Fish and Shellfish Immunology* 26 (1): 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.07.019>
- Zhang S.-M., Zeng Y., Loker E.S. 2008. Expression profiling and binding properties of fibrinogen-related proteins (FREPs), plasma proteins from the schistosome snail host *Biomphalaria glabrata*. *Innate Immunity* 14 (3): 175–189. <https://doi.org/10.1177/1753425908093800>

## FIBRINOGEN-RELATED PROTEINS OF GASTROPODA MOLLUSCS

E. E. Prokhorova, G. L. Ataev

**Keywords:** fibrinogen-like proteins (FREP), gastropods, trematode invasion, resistance, pathogen-recognizing receptors, innate immunity

### SUMMARY

Fibrinogen-related proteins (FREP) are calcium-dependent lectins with one fibrinogen domain and one or two immunoglobulin-like domains. FREP of gastropod molluscs have an ability to somatic diversification, which is unique among pathogen-recognizing molecules of invertebrates. The structure of the genomic regions encoding FREP implies the possibility of alternative splicing and somatic mutagenesis. Since the discovery of FREPs in *Biomphalaria glabrata*, these molecules have been described in many gastropods. At least 14 subfamilies of FREPs are currently known. FREPs of different subfamilies selectively participate in the immune response to various pathogens. In particular, their role in defense reactions to trematode invasion and in resistance to trematodes of particular species has been confirmed. The supposed functions of FREP are diverse, ranging from recognition of foreign matter to opsonization and neutralization of pathogens. Despite the abundance of FREPs studies, the Russian literature on this subject is scarce. The main purpose of this review is to analyze the available information on gastropod FREPs and to discuss their role among pathogen-recognizing receptors of molluscs.