



УДК 577.322.5 : 577.122'852.242

© 1994 В. Н. Никандров

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ СТРЕПТОКИНАЗЫ

Белорусский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Минздрава Беларуси, Минск

Описаны изменения триптофансодержащих участков стрептокиназы и ее вторичной и третичной структур при действии хлорида натрия, мочевины, а также при нагревании и сдвиге рН. Рассмотрены данные об обратимости изменений конформации стрептокиназы, подвижности ее структуры и наличии в ней доменов.

Один из ярких примеров ограниченного протеолиза — активация зимогенов протеиназ, в частности плазминогена. Активация плазминогена может быть вызвана высокоспецифичными сериновыми протеиназами — урокиназой, тканевыми активаторами (КФ 3.4.21.31) либо стрептокиназой, белком, синтезируемым β -гемолитическими стрептококками. Считают, что стрептокиназа лишена протеолитической, эстеразной или какой-либо другой гидролазной активности [1, 2]. Между тем она является одним из эффективнейших активаторов плазминогена. Иных ее функций до недавнего времени не было известно, неясна также и роль этого белка в жизнедеятельности гемолитических стрептококков.

Данные о структуре стрептокиназы даже спустя полвека после ее открытия [3] скупы и фрагментарны. Полагают, что стрептокиназа состоит из одной субъединицы, не содержит углеводных, липидных компонентов или фосфора [2, 4]. Среди составляющих ее аминокислот (393—446 остатков [5, 6]) нет цистеина и цистина, значительна доля $Asx + Glx$ (25—30%), а также гидрофобных аминокислот (41%) [7]. К началу 80-х годов информация о физико-химических свойствах стрептокиназы исчерпывалась значениями молекулярной массы (45—67 кДа), констант седиментации и диффузии, величины f/f_0 и изоэлектрической точки [5, 6, 8—10]. В 1982 г. была опубликована аминокислотная последовательность стрептокиназы [7]. О пространственной структуре белка имелись лишь два сообщения [5, 11].

Начиная с 1980 г. в нашей лаборатории получены данные относительно влияния состава и свойств растворителя на конформацию стрептокиназы. Исследования проведены на образцах стрептокиназы из β -гемолитических стрептококков (штамм Н46А получен из *Imunološki zavod, Zagreb, Yugoslavia*, через Государственный институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича Минздрава СССР), культивированных на средах, содержащих гидролизат казеина [12]. Стрептокиназу выделяли из культуральной жидкости или отечественного препарата «Целиаза» с помощью ионообменной и абсорбционной хроматографии [13—15]. Использованные образцы были гомогенны при электрофорезе в 7,5% полиакриламидном геле при рН 8,3 [16] и в 12,5% полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия [17]. Удельная активность этих образцов была не менее 10^5 МЕ/мг белка согласно стандарту «стрептокиназа-стрептодорназа» (World Health Organization, London). Молекулярная масса очищенной стрептокиназы, определенная гель-хроматографией на ко-

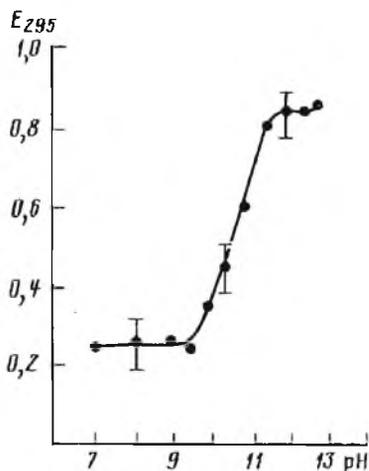


Рис. 1. Спектрофотометрическое титрование тирозиновых остатков в стрептокиназе [20]. Концентрация белка $1,3 \cdot 10^{-5}$ М

лонке с сефадексом G-100 и электрофорезом в полиакриламидном геле, составляла 54 кДа [18,19].

1. Состояние остатков тирозина и триптофана в молекуле стрептокиназы

Спектрофотометрическое титрование показало, что все остатки тирозина в стрептокиназе имеют pK_a 10,8 (рис. 1). Из результатов титрования следует, что этих остатков 20—21 и расположены они на поверхности молекулы белка вблизи заряженных групп [19, 20]. При обработке даже 30-кратным молярным избытком йода часть Туг остается, по-видимому, немодифицированной [21]. Эти данные не противоречат результатам титрования, ибо ион ^-OH и молекула йода заметно различаются по размерам. По-видимому, часть остатков Туг расположена в нишах поверхности белка, недоступных молекулам

йода. Аналогично объясняются и данные об ограниченной доступности остатков Туг для растворителя при солевой пертурбации [11, 22].

Йодирование части остатков Туг при 6-кратном молярном избытке йода почти не отражается на плазминоген-активаторной функции стрептокиназы, хотя она утрачивает способность образовывать устойчивый комплекс с плазминогеном человека [21]. Это позволяет думать, что часть остатков Туг в стрептокиназе непосредственно участвует в образовании подобных комплексов.

Методом Гудвина и Мортон [23] определено молярное соотношение Туг : Тгр = 5 : 1 [19, 20], т. е. в стрептокиназе 4 остатка Тгр. Эти остатки локализованы у поверхности молекулы, но их доступность растворителю ограничена, т. е. они находятся в своего рода «карманах» [20]. Спектры флуоресценции остатков триптофана в стрептокиназе при pH 7,0 характеризуются относительно низким квантовым выходом — 0,08, $\lambda_{max} = 344$ нм и $\Delta\lambda = 64$ нм [19, 20]. Эти параметры, на наш взгляд, отражают гетерогенность остатков Тгр.

Найденное нами число остатков Тгр несколько больше, чем у других авторов [4, 6, 8]. Сопоставлять эти данные крайне затруднительно, поскольку в ранее опубликованных работах часто отсутствуют указания о приемах оценки содержания Тгр, а из коммерческих соображений подробности получения очищенной стрептокиназы не раскрываются. Между тем особенности получения стрептокиназы могут сильно влиять на ее конформацию, существенно не затрагивая плазминоген-активаторную функцию. Можно думать, что условия получения (например, биосинтез) сказываются и на первичной структуре молекулы белка. Поэтому вопрос о вариациях числа остатков Тгр в молекуле стрептокиназы требует дальнейшего специального изучения.

Флуоресценция остатков триптофана в стрептокиназе эффективно тушится нитратом или акриламидом, но не ионами цезия (табл. 1), что свидетельствует о локализации остатков Тгр в положительно заряженных участках [20]. Изменения эффективности тушения флуоресценции при pH 3,0 и 9,6 отражают определенную гетерогенность остатков Тгр: возможно, триптофансодержащие «карманы» поверхности не одинаковы по строению. По-видимому, положительный заряд этих «карманов» обусловлен аминогруппами остатков лизина, число которых в стрептокиназе составляет 34—39 [24, 25]. Гетерогенность остатков Тгр проявляется при окислении стрептокиназы в системе « H_2O_2 — диоксан — бикарбонатный буфер»: один остаток Тгр окисляется с константой скорости $1,5 \cdot 10^{-2}$ мин $^{-1}$, два

Действие тушителей на флуоресценцию остатков триптофана в стрептокиназе
(раствор $5 \cdot 10^{-6}$ М) [20]

Тушители	K_{SV} , M^{-1} , pH			Степень тушения (%) при pH *		
	3,0	7,5	9,6	3,0	7,5	9,6
Cs^+	0	0,5	0,3	0	5,0	8,0
NO_3^-	5,0	16,8	4,6	33,0	63,0	31,0
Акриламид	4,0	7,4	38,0	28,0	42,0	85,0

* Концентрация тушителя равна 0,1 М.

наиболее легко окисляемых — с константой $1,0 \cdot 10^{-2}$ мин⁻¹, а третий и четвертый — с константой $5,0 \cdot 10^{-3}$ мин⁻¹ [13]. Окисление наиболее реакционноспособного остатка Тгр инактивирует белок на 50%, а окисление еще одного — полностью. Примечательно, что окисление даже одного Тгр приводит к сильному ускорению термоинактивации стрептокиназы (константа скорости инактивации при 80—100° С возрастает на порядок), что заставляет предположить существенные нарушения структуры белка. Этот вывод подтверждается изменениями характера спектров кругового дихроизма в ближней УФ-области [25].

В последние годы показано, что активаторная функция стрептокиназы реализуется при участии супероксидного радикала, а сама стрептокиназа вызывает его конверсию [26, 27]. Это предполагает присутствие в белке металла переменной валентности. Действительно, активаторная функция стрептокиназы частично подавляется комплексонами [27], а химическим анализом и с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии в ней найдено железо в количестве 1 атом на молекулу [28]. Можно думать, что металл локализован вблизи одного из триптофансодержащих участков.

2. Вторичная и третичная структуры стрептокиназы

С помощью спектроскопии КД в дальней УФ-области и по реперным спектрам [29—31] мы оценили вклады (в %) во вторичную структуру стрептокиназы в 0,2 М растворе NaCl α -спирали (24), антипараллельных β -лишков (13), параллельных β -лишков (3), β -изгибов (19) и неупорядоченного клубка (42) [19]. Весьма близкие значения получены также и при использовании 0,06 М фосфатного буфера (pH 7,0) [21, 32]. Это существенно изменяет ранее принятую в литературе точку зрения о неупорядоченности структуры стрептокиназы [5, 11]. Следует отметить, что на долю α -спирали не оказывает существенного влияния вклад хромофорных остатков. Об этом свидетельствуют результаты расчета вторичной структуры стрептокиназы по реперным спектрам, в которых влияние такого вклада учтено [33], хотя при его учете заметно уменьшается доля β -лишков и β -изгибов (табл. 2). Наше заключение о преимущественно упорядоченной вторичной структуре стрептокиназы позднее нашло подтверждение в работах других исследователей (табл. 3).

Предпринятое нами совместно с А. В. Финкельштейном предсказание вторичной структуры стрептокиназы (рис. 2) по ее аминокислотной последовательности [7] с использованием алгоритмов, основанных на матричном аппарате Крамерса-Ванье для расчета одномерной кооперативной системы [37—39], привело к следующему распределению (в %): α -спираль — 19, β -листки — 24, β -изгибы — 23, остальное — 34. Более поздние данные с использованием иных алгоритмов схожи с этими [34]. Представленные результаты предсказания отличаются от

Влияние хлорида натрия на вторичную структуру стрептокиназы в растворе [14]

Концентрация соли, М	Содержание, %				
	α -спирали	β -структуры		β -изгибы	неупорядоченный клубок
		антипараллельные	параллельные		
0	32	3	0	15	50
0,2—0,5	28	7	0	9	56
1,0	26	12	0	11	51
1,5	29	7	0	12	52
2,0	26	12	0	13	49

Таблица 3

Вторичная структура стрептокиназы в растворе

Элементы вторичной структуры	Содержание, % по данным					
	[11]	[19]	[21]	[34]	[35]	[36]
α -Спирали	7	24	26	10	17	14—23
β -Структуры:	20					28—46
антипараллельные		13	15		24	
параллельные		3	3	13	4	
β -Изгибы		19	20	17	21	10—30
Неупорядоченный клубок	73	41	36	60	34	12—35

полученных нами с помощью спектроскопии КД из-за использования иных образцов стрептокиназы. Кроме того, при анализе аминокислотной последовательности в положениях 169 и 181 обнаружены замены типа Leu \rightarrow Asp [7]. Предсказательные методы указывают на высокую вероятность существования α -спирали в участке цепи, содержащем Leu-169 и Asp-181, и ее дестабилизацию при замене этих остатков на Asp-169 и Leu-181 (рис. 2).

Информация об окружении хромофорных групп стрептокиназы, отражающем особенности третичной структуры, получена из спектров КД в ближней УФ-области. Эти спектры характеризуются несколькими слабыми полосами с экстремумами при 267, 270, 278 и 282 нм (рис. 3), обусловленными 1L_b -переходами и O—O-переходами остатков Тур и 1L_a -переходами остатков Тгр [40].

3. Конформационные перестройки молекулы стрептокиназы при действии физико-химических факторов

Основываясь на аминокислотном составе, последовательности N-концевой части стрептокиназы, на данных о ее термостабильности и о спонтанных колебаниях активности при 26—30° С, мы предположили обратимость изменений конформации стрептокиназы и присутствие в ее молекуле нескольких доменов [41—44]. Чтобы проверить эти предположения, мы исследовали структурные изменения молекулы под влиянием ряда физико-химических факторов.

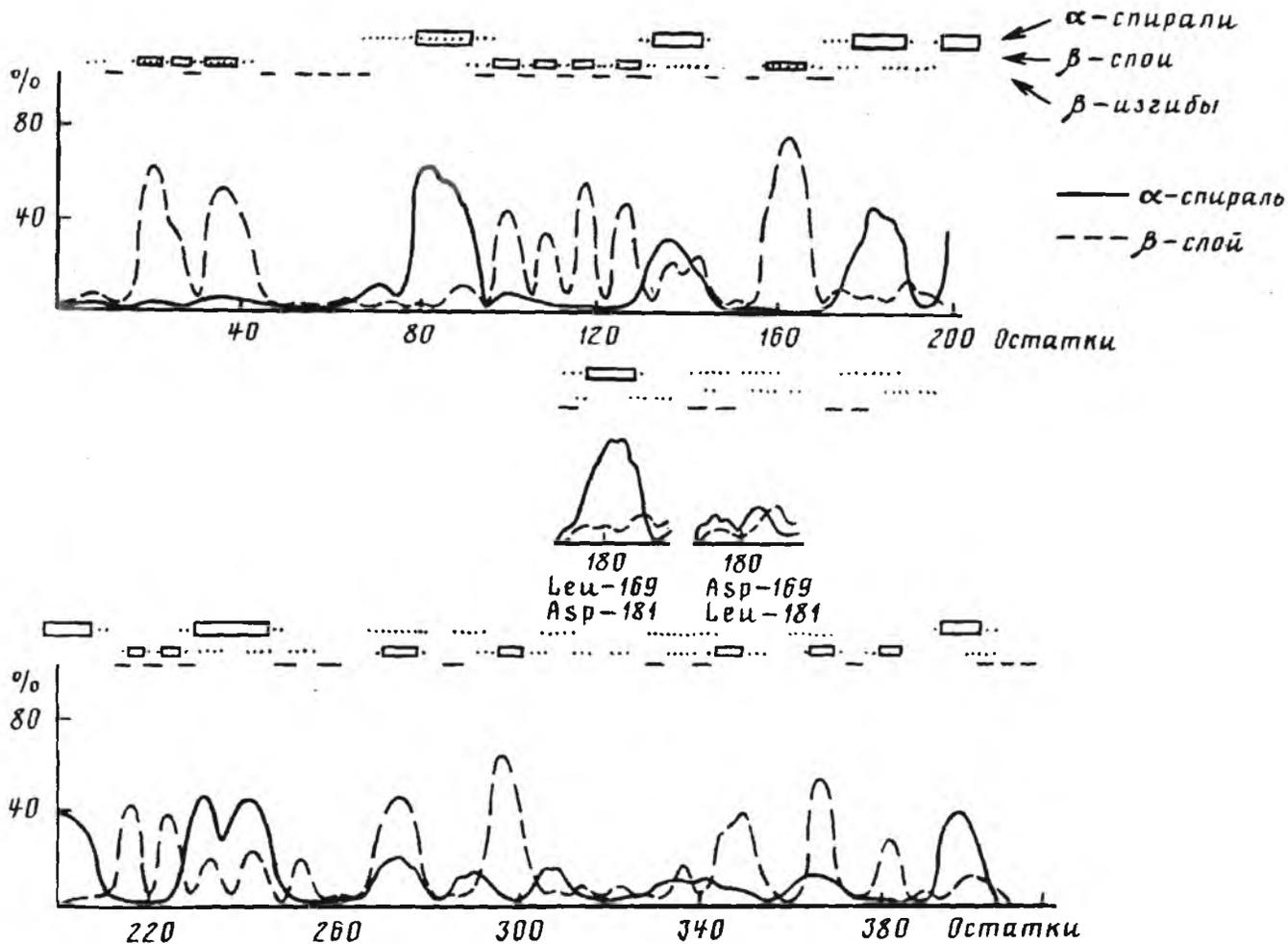


Рис. 2. Результаты расчетов укладки полипептидной цепи стрептокиназы и распределения в ней элементов вторичной структуры [28]

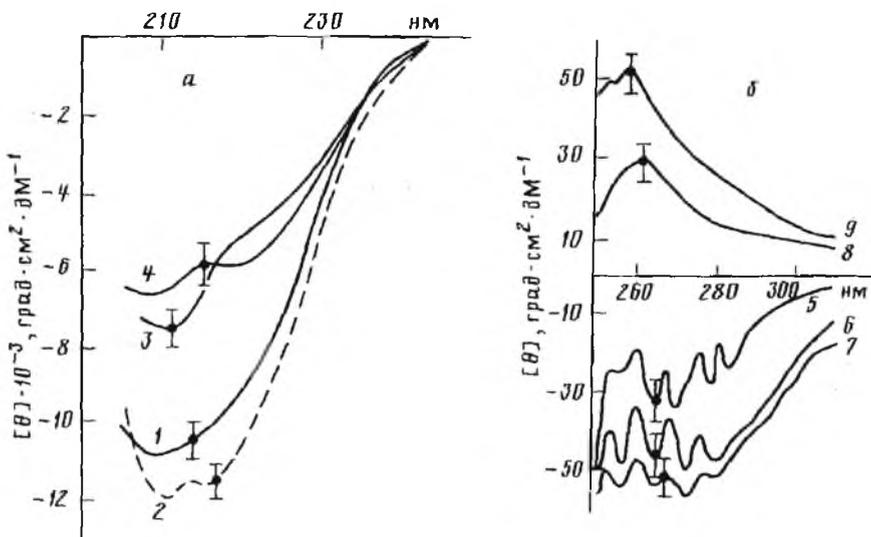


Рис. 3. Спектры КД раствора стрептокиназы в дальней (а) или ближней (б) ультрафиолетовых областях при рН 7,5 (1), 1,5 (2), 12,0 (3), 12,5 (4), 7,0—9,0 (5), 2,3 (6), 0,7 (7), 12,0 (8) и 12,8 (9) [28, 32]. Температура 22° С

3.1. Влияние хлорида натрия

При переходе от деионизованной воды к раствору 0,5 М NaCl значение $[\eta]$ у стрептокиназы возрастает от 0,02 до 0,049 дл/г [18, 28]. Поскольку при этом, судя по дифференциальному спектру, оптическая плотность раствора при 320 нм не увеличивается [14], этот эффект вызван, по-видимому, не агрегацией, а изменениями формы и размеров молекул белка, например в результате изменения их гидратации.

Между тем вторичная структура белка в присутствии 0,2—0,5 М хлорида натрия существенно не изменяется (табл. 2). Судя по спектрам флуоресценции остатков триптофана, принципиально не изменяется и состояние триптофансодержащих участков (табл. 4). Сохраняется также эффективность тушения флуоресценции акриламидом — константа Штерна — Фольмера в деионизованной воде и в 0,2—0,5 М растворах хлорида натрия составляет соответственно 8,0 и 7,7 М⁻¹ [14]. Лишь в спектрах КД в ближней УФ-области наблюдается небольшая сглаженность да в параметрах логнормальных полос спектров в дальней УФ-области фиксируются заметные сдвиги [14], что отражает изменения асимметрии окружения хромофорных групп.

Вторичная структура стрептокиназы сохраняется даже при концентрации соли 1,0—1,5 М, когда увеличение $[\eta]$ до 0,07 дл/г [18, 28] явно обусловлено агрегацией белка [14] (табл. 2). Спектры флуоресценции остатков триптофана (табл. 4) и эффективность тушения ее акриламидом [14] позволяют считать, что триптофансодержащие участки белка остаются в контакте с растворителем.

Это наводит на мысль, что данные участки локализованы в относительно небольшой области стрептокиназы, которая либо изолирована от остальной части молекулы, либо более жестка. Примечательно, что в диапазоне концентраций 0,1—1,0 М хлорид натрия не влияет на активаторную функцию стрептокиназы [28, 45, 46].

3.2. Влияние мочевины

При действии мочевины в изменении параметров, характеризующих конформацию стрептокиназы, наблюдается несколько фаз (рис. 4). При концентрации мочевины 1 М отмечено небольшое разупорядочивание вторичной структуры

Влияние хлорида натрия на параметры спектров флуоресценции триптофанов в стрептокиназе [14]

Концентрация соли, М	$I_{\text{отн}}$	λ_{max} , нм	$\Delta\lambda$, нм
0	1,0	344	64
0,01	1,1	344	64
0,10	1,0	344	64
0,50	1,1	344	63
1,00	1,1	343	63
1,50	1,2	342	64

белка, уменьшается степень асимметрии окружения хромофорных групп и, судя по величине полуширины спектров флуоресценции остатков триптофана, возрастает гетерогенность триптофансодержащих участков.

С ростом концентрации мочевины до 2—4 М спектры КД далее не изменяются, но характер спектров флуоресценции остатков триптофана свидетельствует о сильном увеличении гетерогенности триптофансодержащих участков. Этот эффект при концентрации мочевины 3—4 М приводит к тому, что наряду с основным максимумом при 345 нм в спектре флуоресценции появляется плечо при 350 нм [32].

Увеличение концентрации мочевины до 5 М приводит к полному контакту всех остатков Тгр с растворителем, однако вторичная структура при этом еще частично сохраняется. Круговой дихроизм в дальней УФ-области при концентрации мочевины 8—9 М практически исчезает [32], а в ближней УФ-области он частично сохраняется [46].

Все изменения, вызванные мочевиной, полностью обратимы — разбавление растворов или длительный диализ восстанавливают исходные спектры [32, 47, 48]. Более того, мочевина существенно не влияет на активаторную функцию стрептокиназы [32].

3.3. Влияние нагревания

При нагревании растворов стрептокиназы в 0,06 М фосфатном буфере (рН 7,4) также наблюдается несколько фаз конформационных изменений, хотя и менее четких, чем при действии мочевины (рис. 5).

Некоторое разупорядочивание вторичной структуры белка, судя по спектрам КД в дальней УФ-области, наблюдается лишь до 30° С [32, 49]. При этом, судя по увеличению полуширины спектров флуоресценции остатков триптофана, по-видимому, увеличивается гетерогенность триптофансодержащих участков. Интересно, что даже многочасовая инкубация растворов стрептокиназы при температуре ниже 40° С лишь очень незначительно снижает ее активаторную способность [50].

В диапазоне 30—70° С спектры КД более не изменяются, нагревание свыше 50° С влияет на состояние триптофансодержащих участков, приводя к раскрытию «карманов» на поверхности молекулы. В этих условиях термоинактивация стрептокиназы протекает как реакция 1-го порядка (константы скорости инактивации при 50, 75 и 100° С равны соответственно $2,47 \cdot 10^{-5}$, $3,83 \cdot 10^{-5}$ и $14,00 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$) [50].

Если изменения спектров КД стрептокиназы полностью обращаются при охлаждении, то триптофансодержащие участки, судя по величине $\Delta\lambda$, не возвращаются к исходному состоянию [32, 49]. По-видимому, эти участки локализованы

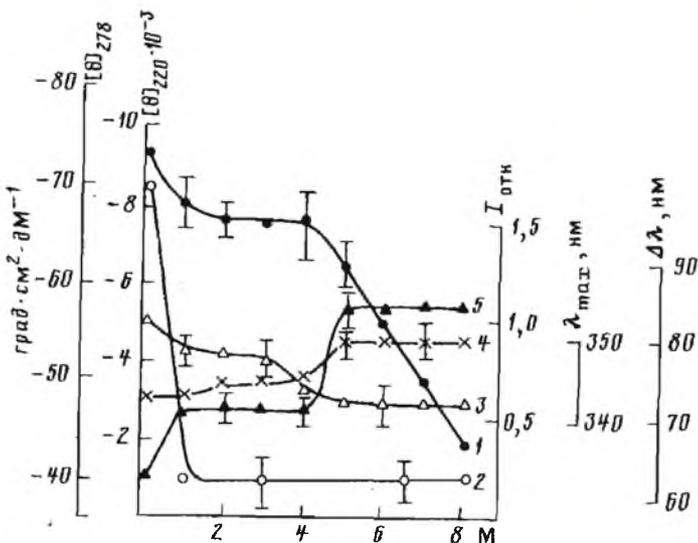


Рис. 4. Влияние мочевины на молярную эллиптичность при 220 (1) и 278 нм (2), а также интенсивность (3), положение максимума (4) и полуширину (5) спектров флуоресценции триптофанов в растворах стрептокиназы [28, 32]. Температура 22° С

в относительно небольшой и структурно менее подвижной области молекулы стрептокиназы.

3.4. Влияние рН раствора

Судя по спектрам КД, вторичная и третичная структуры стрептокиназы в диапазоне рН 5—9 принципиально не меняются (рис. 3 и 6). В более кислой среде (при $\text{pH} \leq 4$) возрастает упорядоченность третичной и в известной мере вторичной структур белка. Для триптофансодержащих участков при сдвиге рН от 6 к 1 характерно небольшое тушение флуоресценции из-за взаимодействия с группами, имеющими $\text{pK}_a = 4,7$ [28], а также уменьшение доступности остатков Тгр для растворителя. Последнее подтверждается уменьшением эффективности тушителей в кислой среде (табл. 1). Вместе с тем резкие изменения параметров флуоресценции остатков триптофана при рН 4,5 позволяют предположить, что увеличивается степень гетерогенности триптофансодержащих участков.

При рН 9—11 вторичная и третичная структуры, а также состояние триптофансодержащих участков существенно не изменяются. Однако при $\text{pH} \geq 11$ вторичная структура белка частично разупорядочивается и происходит резкая перестройка окружения хромофорных групп (рис. 3 и 6). Сдвиг рН от 8 до 12 вызывает тушение флуоресценции остатков триптофана из-за ионизации остатков Туг [28], при $\text{pH} \geq 11$ остатки Тгр, по-видимому, находятся в контакте с растворителем.

Описанные изменения конформации не исчерпывают структурных перестроек стрептокиназы под влиянием рН. Из предыдущих разделов видно, что круговой дихроизм стрептокиназы в ближней УФ-области не исчезает даже при высокой концентрации мочевины или при нагревании. Это предполагает частичное сохранение упорядоченности участков молекулы, содержащих хромофорные группы. По-видимому, их стабилизируют координационные взаимодействия, которые обусловлены присутствием металла [46]. Эта картина резко меняется, если нагревать растворы стрептокиназы при рН не 7,0—7,5, а 9,4 (рис. 7).

В щелочной среде конформационные изменения стрептокиназы необратимы

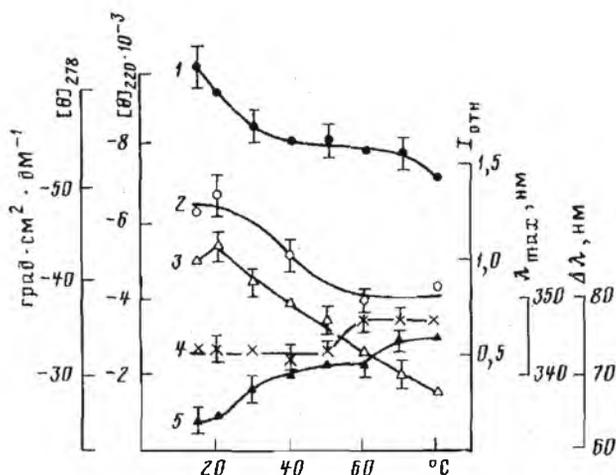


Рис. 5. Изменения молярной эллиптичности при 220 (1), 278 нм (2), а также интенсивности (3), положения максимума (4) и полуширины спектров (5) флуоресценции триптофанов при нагревании растворов стрептокиназы в 0,06 М фосфатном буфере (рН 7,4) [32, 49]

[47, 48, 52]. В кислой среде (рН 4—1) термоинактивация стрептокиназы, по-видимому, включает две реакции 1-го порядка, причем константа скорости второй, более медленной из них, близка константе скорости инактивации при рН 7,4 [50]. В щелочной среде термоинактивация стрептокиназы резко ускоряется, причем процесс описывается уравнением реакции 2-го порядка [50, 53].

В диапазоне рН 2—12 изменения активности стрептокиназы не превышают 15%; она снижается на 50% при рН 1 и на 60% при рН 13 [27, 32].

Заключение

Изложенные данные являются итогом фактически первого систематического исследования конформации стрептокиназы. Их анализ и обобщение позволили предложить модель структурной организации стрептокиназы [28, 50], суть которой в уточненном виде сводится к следующему:

— в солевом растворе при рН 7,4 молекула стрептокиназы в значительной мере упорядочена. Она состоит из нескольких доменов и включает (в %): α -спиралей — 24—28; β -структур (в основном антипараллельных) — 7—16; β -изгибов — 9—19; неупорядоченного клубка — 41—56. В деионизованной воде доля α -спиралей превышает 30%;

— один из доменов, по-видимому, более жесткий, чем другие, и содержит 4 остатка Тгр, локализованные в положительно заряженных «карманах» поверхности. Остатки Тгр различаются по доступности тушителям флуоресценции и окисляемости перекисью водорода. Интактность двух легко окисляемых остатков Тгр значима для активаторной функции стрептокиназы. Во вторичной структуре этого домена, вероятно, преобладают неупорядоченный клубок и β -изгибы, а положительный заряд Тгр-содержащих «карманов» обусловлен аминокруппами остатков Lys;

— остатки Туг (21) расположены на поверхности молекулы и различаются по реакционной способности. Часть этих остатков находится в «нишах» поверхности, а некоторые из них непосредственно участвуют в образовании устойчивых комплексов стрептокиназы с плазминогеном человека;

— молекула стрептокиназы отличается значительной подвижностью, причем ее перестройки под влиянием ряда факторов обратимы;

— характерная черта стрептокиназы — высокая устойчивость к дена-

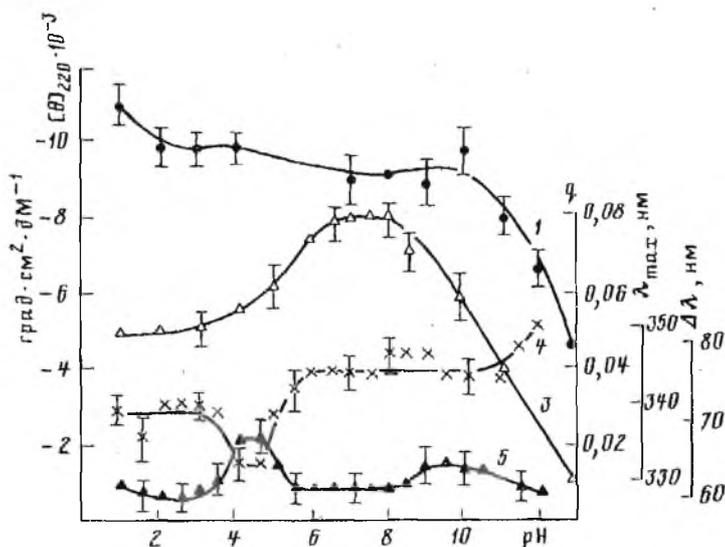


Рис. 6. Влияние рН на молярную эллиптичность при 220 нм (1), а также квантовый выход (2), положение максимума (4) и полуширину (5) спектров флуоресценции триптофанов в стрептокиназе [28, 32, 51]. Температура 22° С

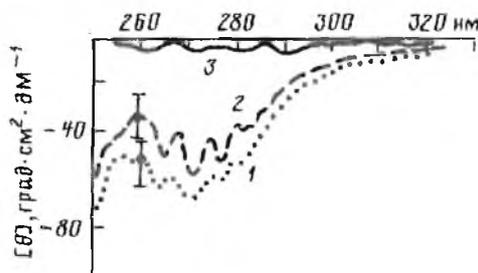


Рис. 7. Спектры КД растворов стрептокиназы в 0,06 М фосфатном буфере (рН 7,4; 22° С) (1), в растворе мочевины 8 М (рН 5,8; 22° С) (2) и в бидистиллированной воде (рН 9,4; 70° С) (3) [46]

турирующим воздействиям. Даже существенное нарушение вторичной и третичной структур не уничтожает активаторную функцию белка;

— активаторная функция стрептокиназы, реализующаяся при участии супероксидного радикала, определяется присутствием связанного иона железа, который локализован, по-видимому, вблизи Тгр-содержащих участков.

Уже в последние годы ряд наших выводов и положений подтвержден другими исследователями (значительная упорядоченность вторичной структуры, наличие доменов, подвижность структуры белка) [22, 34, 54—56].

Здесь мы не обсуждаем альтернативные модели стрептокиназы [54, 56], данные о форме и размерах молекулы, о существовании двух конформационно различающихся форм стрептокиназы [18, 19, 40, 57] и т. д. Мы касаемся только достаточно «грубых» проявлений конформационной специфики стрептокиназы. Это демонстрируют, например, результаты исследования фотоокисления, сенсibilизированного метиленовым синим. Оно вызывает в стрептокиназе модификацию одного His с $pK_a \sim 7,5$, и нет оснований предполагать, что при этом затрагиваются остатки Тгр или Туг [58]. Остается, однако, непонятным, почему при рН 7,4 фотоокисление заметно не изменяет состояние Тгр-содержащих уча-

стков, а также вторичную и третичную структуры белка, хотя это происходит при окислении стрептокиназы при рН 6,9.

Предложенная нами модель структуры не дает ответа на этот вопрос, являясь, разумеется, лишь первым приближением и основой для дальнейших более детальных и глубоких исследований.

Выражаю благодарность А. В. Финкельштейну за помощь при расчете вторичной структуры стрептокиназы, М. А. Розенфельду и А. М. Шкробу за участие в дискуссии.

Исследование финансировались Фондом фундаментальных исследований Республики Беларусь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Castellino F. J.*//Trans. Int. Biochem. Soc. 1979. № 1. P. 1—5.
2. *Reddy K. N. N.*//Enzyme. 1988. V. 40. № 1. P. 79—89.
3. *Tillett W. S., Garner R. L.*//J. Exp. Med. 1933. V. 58. P. 485—502.
4. *De Renzo E. C., Siiteri P. K., Hutchigs B. L., Bell P. H.*//J. Biol. Chem. 1967. V. 242. № 3. P. 533—542.
5. *Taylor F. B., Botts J.*//Biochemistry. 1968. V. 7. № 1. P. 232—242.
6. *Bilinski T., Loch T., Zakrzewski K.*//Acta biochim. pol. 1968. V. 15. № 1. P. 123—128.
7. *Jackson K. W., Tang J.*//Biochemistry. 1982. V. 21. № 26. P. 6620—6625.
8. *Morgan F., Henschen A.*//Biochim. et biophys. acta. 1969. V. 181. № 7. P. 93—104.
9. *Einarsson M., Skoog B., Forsberg B., Einarsson R.*//Biochim. et biophys. acta. 1979. V. 568. № 1. P. 19—29.
10. *Gerlach D., Kohler W.*//Folia haematol. 1979. Bd. 106. H. 536. S. 908—914.
11. *Loch T., Bilinski T., Zakrzewski K.*//Acta biochim. pol. 1968. V. 15. № 1. P. 130—136.
12. *Шатило Н. Л.* Закономерности накопления стрептокиназы при многостадийном глубинном культивировании стрептококка группы С на питательных средах с гидролизатом казеина: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1990. 22 с.
13. *Никандров В. Н., Казюциц О. А.*//Биохимия. 1988. Т. 53. № 3. С. 508—515.
14. *Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Янковская Г. С., Болотина И. А.*//Изв. АН БССР. Сер. биол. наук. 1990. № 5. С. 73—79.
15. *Nikandrov V. N., Pyzhova N. S., Nikandrov N. N.*//Bio-chromatography and Molecular Biology. Proc. 4th Europ. Meeting of G. F. B. C. La Grand Motte, 1992. P. 12.
16. *Davis B. J.*//Ann. N. Y. Acad. Sci. 1964. V. 121. P. 404—427.
17. *Weber K., Osborn M.*//J. Biol. Chem. 1969. V. 244. № 16. P. 4406—4412.
18. *Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Демидчик Н. В., Казюциц О. А.*//Энзимология тромболизиса и стрептокиназа. Минск: 1982. С. 47—53.
19. *Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Демидчик Н. В.*//VI Всесоюзн. симпоз. по химии белков и пептидов. Тез. докл. Рига: 1983. С. 194—195.
20. *Никандров В. Н., Воробьева Г. В.*//Изв. АН БССР. Сер. биол. наук. 1984. № 5. С. 74—78.
21. *Никандров В. Н., Казюциц О. А.*//Вопр. мед. химии. 1989. Т. 35. № 1. С. 41—47.
22. *Welfle H., Misselwitz R., Fabian H., Damerau W., Hoelzer W., Gerlach D., Kalnin N. N., Venyaminov S. Yu.*//Int. J. Biol. Macromol. 1992. V. 14. P. 9—18.
23. *Goodwin T. W., Morton R. A.*//Biochem. J. 1946. V. 40. № 4. P. 628—632.
24. *Nikandrov V. N., Kazyuchits O. A.*//13th Intern. Congress of Biochemistry. Abstracts. Amsterdam: Elsevier, 1985. V. 2. P. 302.
25. *Казюциц О. А.* Характеристика функциональных групп стрептокиназы: Дис. ... канд. биол. наук. Минск: Белорусский НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Беларуси, 1992. 196 с.
26. *Nikandrov V. N., Pyzhova N. S.*//Folia haematol. 1988. Bd. 115. H. 4. S. 557—561.
27. *Nikandrov V. N.*//Int. J. Biochem. 1992. V. 24. № 1. P. 47—53.
28. *Никандров В. Н.* Стрептокиназа. Структурные и функциональные свойства: Дис. ... д-р

- биол. наук. Минск: Белорусский НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Беларуси, 1988. 368 с.
29. Болотина И. А., Чехов В. О., Лугаускас В. Ю., Финкельштейн А. В., Птицын О. Б.//Молекулярн. биология. 1980. Т. 14. № 4. С. 891—991.
 30. Болотина И. А., Чехов В. О., Лугаускас В. Ю., Птицын О. Б.//Молекулярн. биология. 1980. Т. 14. № 4. С. 902—909.
 31. Болотина И. А., Чехов В. О., Лугаускас В. Ю., Птицын О. Б.//Молекулярн. биология. 1981. Т. 15. № 1. С. 165—175.
 32. Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Янковская Г. С., Пыжова Н. С., Микуц Н. В.//Изв. АН БССР. Сер. биол. наук. 1986. № 6. С. 47—52.
 33. Болотина И. А., Лугаускас В. Ю.//Молекулярн. биология. 1985. Т. 19. № 5. С. 1409—1421.
 34. Таратина Т. М., Илларионова Н. Г., Москвичев Б. В.//Биохимия. 1985. Т. 50. № 8. С. 1312—1318.
 35. Radek J. T., Castellino F. J.//J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 17. P. 9915—9922.
 36. Fabian H., Naumann D., Misselwitz R., Ristau O., Gerlach D., Welfle H.//Biochemistry. 1992. V. 31. № 28. P. 6532—6538.
 37. Финкельштейн А. В. Пакет прикладных программ «ALB» для расчета вторичной структуры белков и полипептидов. Пушино, 1982.
 38. Ptitsyn O. B., Finkelstein A. V.//Biopolymers. 1983. V. 22. № 1. P. 15—25.
 39. Финкельштейн А. В., Ройтбер М. А. Математические методы исследования первичных структур биополимеров. Пространственное строение биополимеров и их первичная структура//Докл. на IV Всесоюз. совещании «Математические методы для исследования полимеров и биополимеров». Препринт. Пушино, 1985. 31 с.
 40. Kahn P. C.//Meth. Enzymol. 1979. V. 61. P. 339—378.
 41. Никандров В. Н.//Энзимология тромболизиса и стрептокиназа. Минск, 1982. С. 23—34.
 42. Никандров В. Н., Казюциц О. А.//Микроорганизмы—продуценты биологически активных веществ. Тез. докл. конфер. Рига, 1984. С. 87.
 43. Никандров В. Н.//Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов. Тез. докл. регион. симпозиума. Минск, 1986. С. 59—60.
 44. Никандров В. Н.//Стрептокиназа в регуляции свертывающей и противосвертывающей систем крови. Минск, 1985. С. 43—58.
 45. Nikandrov V. N., Vorobyova G. V., Pyzhova N. S.//Molecular and Cellular Regulation of Enzyme Activity. Abstracts of Second Intern. Meeting. Halle-Wittenberg, 1986. P. 140.
 46. Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Янковская Г. С.//VI конференция по спектроскопии биополимеров. Тез. докл. Харьков, 1988. С. 222—223.
 47. Nikandrov V. N., Vorobyova G. V., Garbuz N. I., Golubovich V. P.//8th Intern. Biophys. Congress. Book of Abstracts. Bristol, 1984. P. 66.
 48. Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Янковская Г. С., Пыжова Н. С., Казюциц О. А.//Тез. I Всесоюз. конф. «Молекулярная структура бактериальных токсинов и генетический контроль их биосинтеза». М., 1985. С. 42—43.
 49. Никандров В. Н., Воробьева Г. В.//Актуальные проблемы современной биохимии. Сборник материалов конференции. Минск, 1991. С. 35—36.
 50. Никандров В. Н., Пыжова Н. С.//Изв. АН Беларуси. Сер. биол. наук. 1992. № 2. С. 74—78.
 51. Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Янковская Г. С., Бобылев Ю. Н.//Симпозиум с участием стран — членов СЭВ и СФРЮ «Физико-химические свойства биополимеров в растворе и клетках». Тез. докл. Пушино, 1985. С. 72—73.
 52. Nikandrov V. N., Votyakov V. J., Vorobyova G. V.//3rd Sympos. Soc. Countries on Biotechnology. Abstracts. Bratislava, 1983. P. A2—36.
 53. Никандров В. Н., Воробьева Г. В., Пыжова Н. С., Казюциц О. А., Цыманович С. Г., Микуц Н. В.//V Всесоюз. биохим. съезд. Тез. стэнд. сообщений. Т. 2. М.: Наука, 1986. С. 14—15.
 54. Misselwitz R., Kraft R., Kostka S., Fabian H., Welfle K., Pfeil W., Welfle H., Gerlach D.//Int. J. Biol. Macromol. 1992. V. 14. P. 107—116.
 55. Welfle K., Pfeil W., Misselwitz R. W., Welfle H., Gerlach D.//Int. J. Biol. Macromol. 1992. V. 14. P. 19—22.

56. *Damaschun G., Damaschun H., Gast K., Gerlach D., Misselwitz R., Welfle H., Zirwer D.*//*Eur. Biophys. J.* 1992. V. 20. P. 355—361.
57. *Nikandrov V. N.*//*Proc. 4th Europ. Congress on Biotechnology/Eds Neijssel O. M., van der Meer R. R., Luyben K. Ch. A. M.* Amsterdam: Elsevier. 1987. V. 2. P. 363—365.
58. *Казючиц О. А., Никандров В. Н., Янковская Г. С., Рытик П. Г.*//*Биохимия.* 1990. Т. 55. № 10. С. 1847—1859.

Поступила в редакцию
16.VII.1993

V. N. Nikandrov

STRUCTURE ORGANIZATION OF STREPTOKINASE MOLECULE

*Byelorussian Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Belarus
Ministry of Public Health, Minsk*

Conformational changes of the tryptophan-containing sites of streptokinase, its secondary and tertiary structures under the effect of NaCl, urea, heating, pH solution shift were analysed. Data on the reversibility of streptokinase's conformational changes, the flexibility of its structure, the presence of domains in the molecule were considered.