

**Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Республиканская научная медицинская библиотека**

**Health Ministry of the Republic of Belarus
Republican scientific medical library**

Достижения медицинской науки Беларуси

Выпуск IX

Рецензируемый научно-практический ежегодник

**Accomplishments
of Medical Science
in Belarus**

9th Issue

Минск
ГУ РНМБ
2004

УДК 577.15.024–025:[616.98: 579.871.1

**Образование эффекторов протеолиза
в культуральной жидкости при росте
*Corynebacterium diphtheriae***

В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова

Рубрика: 76.03.41

Тема НИР: «Изучить набор внутри- и внеклеточных протеиназ у токсигенных и нетоксигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae* и их взаимосвязь с токсигенностью».

Сроки выполнения НИР: 2002–2004 гг.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. В.Н. Никандров.

Источник финансирования: госбюджет.

Супернатанты трехсуточной культуры *Corynebacterium diphtheriae* штамма PW-8, выращенной на бульоне Лингуда или бульоне Мартена, обрабатывали трихлоруксусной кислотой. Полученные осадки растворяли в 0,06 моль фосфатном буфере pH 7,4 (буферорастворимая фракция, БФ), а их нерастворившуюся часть — при добавлении NaOH с последующей нейтрализацией (щелочерастворимая фракция, ЩФ). Концентрация белка в растворах полученных фракций при культивировании микроорганизма на обеих средах составила: для БФ — 4,1–4,2 г/л, для ЩФ — 5,6–5,8 г/л. Обработка трихлоруксусной кислотой неинкубированных коринебактериями питательных сред не привела к образованию подобных осадков.

Добавление указанных фракций к волно-солевым растворам протеиназ и активаторов плазминогена вызвало существенные изменения их активности (за исключением субтилизина). Причем действие ЩФ, как правило, в 1,5–15,0 раз превосходило влияние БФ.

Практически независимо от использованной для культивирования микроорганизма питательной среды ЩФ вызвала подавление фибринолитической активности папаина на 60–65%, пепсина — на 50–75%, плазмина — на 40%, α -химотрипсина — на 20–30%.

Сильное действие выделенные белковые фракции оказали на плазминоген-активаторную активность ряда

протеинов. Так увеличение плазминоген-активаторной функции стрептокиназы наблюдалось под действием ЦФ из культуральной жидкости, полученной при использовании бульона Лингуда или бульона Мартена (на 35 и 52% соответственно). Плазминоген-активаторная способность тканевого активатора плазминогена из сердца свиньи в таких условиях возрастала на 155 и 75% соответственно. В рассматриваемых случаях БФ была значительно менее эффективной. Вместе с тем обе фракции оказали примерно одинаковый эффект на плазминоген-активаторную способность γ -субъединицы фактора роста нервов: она возрастала на 30–50%. Лишь плазминоген-активаторная функция β -субъединицы этого фактора угнеталась на 50–65% добавками указанных фракций, выделенных при использовании для культивирования микроорганизма обеих питательных сред. Наиболее сильное угнетение (на 95%) наблюдалось под действием ЦФ, выделенной из культуры, выращенной на бульоне Мартена.

Необходимо отметить, что проведенное сравнительное изучение действия эффекторов из культуральной жидкости и очищенного дифтерийного токсина показало, что токсин практически не влиял на плазминоген-активаторные свойства стрептокиназы, тканевого активатора плазминогена, фактора роста нервов, а также на фибринолитическую активность пепсина.

Следовательно, есть все основания считать, что коринебактерии дифтерии способны продуцировать белковые факторы, оказывающие существенное воздействие на протеолитические реакции и, возможно, играющие определенную роль в патогенезе дифтерии.

Область применения: физиология и биохимия патогенных микроорганизмов, энзимология, протеомика, экспериментальная медицина, медицинская биотехнология.

Область применения: полученные в результате исследования данные следует учитывать при оценке факторов патогенности коринебактерий и трактовке патогенеза дифтерии, а также в биотехнологии препаратов на основе культур коринебактерий

Предложения по сотрудничеству: совместные исследования по данной проблеме.

Production of proteolysis effectors in a culture fluid in the growth of *Corynebacterium diphtheriae*

V.N. Nikandrov, N.S. Pyzhova

Protein fractions were isolated with trichloroacetic acid treatment of cultural fluids after *corynebacterium* PW-8 growth. These fractions inhibited fibrinolytic activity of papain (60–65%), pepsin (50–75%), plasmin (40%) and α -chymotrypsin (20–30%). Isolated fractions increased the plasminogen-activating ability of streptokinase (up to 135–152%), tissue plasminogen activator from swine heart (up to 175–255%) and γ -subunit of nerve growth factor (up to 130–150%). At the same time 50–95% of such ability of β -subunit of nerve growth factor was decreased in the presence of these effectors.

Field of application: physiology and biochemistry of pathogenic microorganisms, enzymology, experimental medicine, medicine biotechnology.

Proposals for co-operation: joint study of the problem.