

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ БССР**

**Белорусский ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии**

**Белорусское научное медицинское общество микробиологов,  
эпидемиологов и паразитологов**

**ЭНЗИМОЛОГИЯ  
ТРОМБОЛИЗИСА  
И СТРЕПТОКИНАЗА**

**Минск 1982**

Министерство здравоохранения БССР

Белорусский ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии

Белорусское научное медицинское общество  
микробиологов, эпидемиологов и паразитологов

ЭНЗИМОЛОГИЯ  
ТРОМБОЛИЗИСА  
И СТРЕПТОКИНАЗА

Материалы  
Республиканского  
симпозиума

Минск 1982

## ЭНЗИМОЛОГИЯ ТРОМБОЛИЗИСА И СТРЕПТОКИНАЗА

Энзимология тромболизиса и стрептокиназы  
(Материалы Республиканского симпозиума). -  
Мн., 1982, с.156.

В сборнике опубликованы материалы, посвященные молекулярно-биологическим и физиологическим аспектам тромболизиса и его регуляции, свойствам стрептокиназы и других тромболитических ферментов. Освещены отдельные биохимические, микробиологические и технологические вопросы получения ферментов тромболитического действия и экспериментально-клинические аспекты их применения.

Сборник предназначен для биохимиков, физиологов, микробиологов, фармакологов, а также специалистов других профессий, интересующихся вопросами тромболизиса.

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

И.Е.Савченко, В.И.Вотяков - главные редакторы,  
П.Г.Рытик, В.Н.Никандров - заместители главных редакторов  
Е.Н.Ковчур - ответственный секретарь,  
Г.В.Воробьева, Г.С.Дзвидова, Т.А.Завалишина,  
А.И.Кузина, В.М.Ткач

УДК 576.851.214:615.779.94

В. Н. Никандров

ДИСКУССИОННЫЕ ВОПРОСЫ СТРУКТУРНЫХ  
И КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СТРЕПТОКИНАЗЫ  
(Минск)

Стрептокиназа (СК) - продуцируемый гемолитическими стрептококками белок - является широко известным тромболитиком. Однако до сих пор структурные и каталитические свойства ее изучены крайне недостаточно, что порождает многочисленные про-

тиворечивые толкования, домыслы, дискуссии. В данной статье сделана попытка обобщить имеющиеся в литературе фрагментарные материалы и на основании этого критически оценить существующие представления.

СК – белок с молекулярной массой, по различным данным, 45000–67000, изоэлектрической точкой 4,7–6,5 /1–5/. Аминокислотный состав СК варьируется, однако во всех случаях отмечена значительная доля остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также отсутствие S H-групп и –S–S– связей – несколько необычное явление для белка с такой молекулярной массой. Первичная структура СК не расшифрована. При расщеплении молекулы с помощью BrCN выделены пять фрагментов неодинакового размера /6/ и определена последовательность 85 N-концевых аминокислотных остатков /7/ (схема I).

Анализ особенностей аминокислотного состава, первичной структуры N-концевой части полипептидной цепи позволяет высказать некоторые предположения. С учетом средней величины гидрофобности аминокислотных остатков в молекулах белка /8,9/ можно заключить, что в полученных пяти фрагментах доля гидрофобных остатков (Еал, Лей, Иле, Мет, Фен, Три) неодинакова и составляет: в I – 27,7, во II – 26,5, в III – 24,2, в IV – 22,7, в V – 9,0% от общего числа остатков аминокислот. Это означает, что участок полипептидной цепи СК между 71-м и 352-м остатками включает два фрагмента с самым высоким и один меньший – с самым низким содержанием гидрофобных остатков. Поскольку при отщеплении от молекулы СК 59-членного N-концевого пептида образуется "модифицированная" СК, сохраняющая высокую каталитическую активность /7/, следует предполагать, что каталитические свойства СК определяются областью I, II и V фрагментов.

Аминокислотный состав характеризуется также довольно большим содержанием Тир, Про, Асн и Гли, как правило, препятствующих формированию  $\alpha$ -спиралей /10/. В отношении Про в этом плане высказано мнение, что он оказывает "дистанционный" эффект на расстоянии 10 остатков /11/. Действительно, доля  $\alpha$ -спиралей в СК относительно мала (7–12%), тогда как  $\beta$ -структуры и неупорядоченный клубок составляют 20 и 70% соответственно /12,13/. Судя по количеству упомянутых выше остатков, в СК возможна значительная доля изгибов.

10

Иле-Ала-Гли-Про-Глю-Три-Лей-Лей-Асп-Арг-Про-Сер-Вал-Асп-

30

Сер-Гли-Лей-Вал-Вал-Сер-Вал-Ала-Гли-Тре-Вал-Глю-Гли-Тре-Асп-

-Гли-Асп-Иле-Сер-Лей-Лиз-Фен-Фен-Глю-Иле-Асп-Лей-Тре-Сер-

-Арг-Про-Ала-Гис-Гли-Гли-Лиз-Тре-Глю-Гли-Гли-Лей-Сер-Про-

60

-Лиз-Сер-Лиз-Про-Фен-Ала-Тре-Асп-Сер-Гли-Ала-Мет-Сер-

70

-Гис-Лиз-Лей-Глю-Лиз-Ала-Асп-Лей-Лей-Лиз-Ала-Иле-Гли-Глю-

-Гли-Иле-Иле- (Ала<sub>7</sub> Арг<sub>5</sub> Асх<sub>21</sub> Глх<sub>12</sub> Гли<sub>6</sub> Гис<sub>3</sub> Иле<sub>7</sub> Лей<sub>11</sub>

Лиз<sub>8</sub> Фен<sub>6</sub> Про<sub>9</sub> Сер<sub>8</sub> Тре<sub>11</sub> Тир<sub>5</sub> Вал<sub>9</sub> ) - Мет-

Асп-Гли-Глю-Фен-Тре-Тир-Арг-Вал-Лиз-Асп-Глю-Арг-(Ала<sub>4</sub> Арг<sub>4</sub>  
Асх<sub>18</sub> Глх<sub>9</sub> Гли<sub>4</sub> Гис<sub>1</sub> Иле<sub>6</sub> Лей<sub>14</sub> Лиз<sub>11</sub> Фен<sub>4</sub> Про<sub>4</sub> Сер<sub>6</sub> Тре<sub>5</sub>  
Тир<sub>6</sub> Вал<sub>4</sub> ) - Мет-

Асп-Тир-Тре-Лей-Тре-Гли-(Арг<sub>1</sub> Асх<sub>5</sub> Глх<sub>1</sub> Гис<sub>1</sub> Иле<sub>1</sub> Лиз<sub>1</sub>

Тре<sub>2</sub> Тир<sub>1</sub> Вал<sub>2</sub>) - 352 - Мет-Гли-Лиз-Арг-Про-Глю-Гли-Глю-Гли-

Ала-(Ала<sub>1</sub> Арг<sub>3</sub> Асх<sub>7</sub> Гли<sub>1</sub> Гис<sub>1</sub> Глх<sub>1</sub> Иле<sub>1</sub> Лей<sub>2</sub> Лиз<sub>1</sub> Про<sub>3</sub>

Сер<sub>2</sub> Тре<sub>3</sub> Тир<sub>5</sub> Вал<sub>1</sub>) - Лиз - соон

Схема I. Частичная расшифровка первичной структуры СК.  
Звездочкой отмечены гидрофильные остатки.  
Полнота достоверности локализации фрагментов II и У неизвестна.

Оценка распределения гидрофильных аминокислотных остатков с учетом принципов зависимости формирования элементов вторичной структуры от локальной гидрофобности и встречаемости в них различных пар аминокислотных остатков /8,9,14-16/ создает впечатление, что для 88-членного N-концевого участка СК с известной аминокислотной последовательностью характерными элементами являются изгибы и неупорядоченный клубок.

Указанные моменты предполагают значительные возможности молекулы для обратимых изменений конформации. Как известно, СК устойчива к термическим воздействиям в нейтральной зоне pH, денатурирующему влиянию мочевины и гуанидинхлорида /2,17/. Увеличение pH от 7 до 10 не вызывает потери активности, однако даже кратковременное повышение pH до 12 приводит к изменению структуры (по данным электрофореза в полиакриламидном геле) и быстрой утрате каталитической активности /3/. Косвенным доказательством в пользу конформационной подвижности СК в водных растворах могут служить обнаруженные спонтанные колебания активности СК в процессе выдерживания при температуре 25°C /18/.

Другой особенностью СК является возможная гетерогенность ее, не связанная с изменениями молекулярной массы. Хроматография СК на ДЭАЭ-целлюлозе позволила выявить две фракции, десорбируемые при различной ионной силе раствора, хотя по молекулярной массе эти фракции практически не отличались /19/. Это неводит на мысль о возможности двух конформационных состояний в различных условиях. В одном из них молекула более устойчива, компактна, но активность СК сравнительно невелика, во втором характеризуется большей активностью, но менее стабильна, имеет более рыхлую структуру, увеличена в объеме. Последнее выгодно для энзиматического катализа, так как облегчает исключение тиоэстера растворителя из процесса реорганизации /20/. Можно думать, что во втором состоянии, вследствие частичного развертывания молекула СК должна отличаться большим значением  $rI$ . Подтверждением этого предположения в какой-то мере является меньшая величина  $rI$  нативной СК по сравнению с "модифицированной" - 5, и 5.6-5,7 соответственно /21/, имеющей меньшую молекулярную массу, меньшую степень спирализации и отличающуюся неустойчивостью в кислой среде /21-23/.

Активность СК существенно снижается вследствие образования агрегатов при длительном хранении растворов СК без стабильности.

лизатора по типу ди-, три-, тетрамеров. Молекулярная масса их, измеренная методом электрофореза в 6 М мочевины, составляет соответственно 103000, 150000, 190000 /1/. Однако факторы, влияющие на формирование подобных агрегатов, еще не изучены.

Один из наиболее известных феноменов – образование комплексов СК с плазминогеном (Пг) или плазмином (П) человека с формированием так называемого "активатора" Пг. СК обладает чрезвычайно большим сродством к этим белкам. Кроме человеческого Пг комплексы с СК образует Пг кота, собаки, некоторых обезьян. Комплексы СК с бычьим Пг (он не активируется СК) не обнаружено, что обусловлено, по-видимому, конформационными свойствами Пг быка (локализация центров связывания и т.д.). Как известно, бычий Пг имеет иную рН-зависимость термостабильности, чем Пг человека /24/. В N-концевой части легкой цепи П быка в 10-м положении находится Лиз (у человека и собаки – Гис), а в 17-м – Сер (у человека – Вал, у собаки – Иле) /25/. Далее будет показано, что для взаимодействия большое значение имеет именно легкая цепь П. В то же время имеются единичные указания о способности "модифицированной" СК активировать Пг быка и морской сливки /23, 26/. Примечательно также явление активации СК кроличьего Пг, хотя с нативными Пг и СК в этом случае не зарегистрировано образование комплексов. Последние формируются лишь после ацилирования зимогена /27/.

Природа описанной комплементарности белков не ясна. По-видимому, центры связывания Пг в СК довольно компактны и не несут антигенных детерминант, поскольку взаимодействие СК и Пг не уничтожается антителами к СК /28, 29/, а уменьшение ее молекулы на 20-30% почти не отражается на активности /30/, но существенно снижает антигенность. На этом явлении основана обработка СК протеазами с целью получения препаратов с уменьшенной антигенностью /31/. Можно предположить, что антигенные детерминанты молекулы локализуются в ее N-концевой части, отщепляемой при воздействии на СК протеаз.

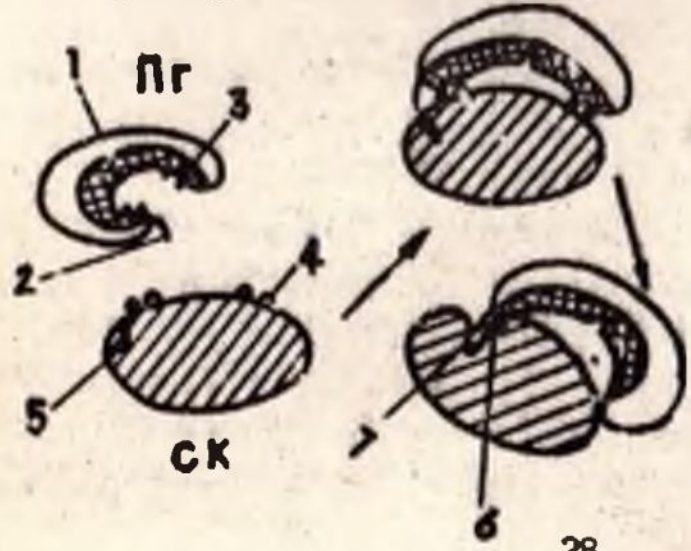
Диссоциация комплекса СК-Пг в присутствии мочевины или при снижении рН /32-34/, отсутствие формирования комплексов СК с Пг, подвергнутым нитрованию (модификация тирозилов), обусловили мнение, что взаимодействие СК и Пг реализуется за счет водородных связей между тирозилами Пг и карбоксильными группами Глю и Асп молекулы СК /35/. Причем для комплексообразования



имеет значение, по-видимому, лишь четыре доступных тирозила только той части молекулы Пг, которая соответствует легкой цепи П. Как известно, именно легкая цепь П образует комплекс с СК /36/. В силу этого "редуцированные" молекулы Пг, так называемый "нео-Пг" (Вал<sub>442</sub>-Асн<sub>790</sub>-Пг), активируются СК и образуют с ней комплексы /37/, причем центры связывания Пг с СК автономны от активного центра П. Это подтверждается тем, что генетически дефектный Пг человека способен образовывать с СК комплексы, но он не превращается в П и не дает активаторной активности /38/. Однако детально природа и топография центров связывания в СК и Пг не изучены.

Если принять, что во взаимодействии Пг с СК ведущую роль играют тирозилы зимогена, которые обычно препятствуют формированию  $\alpha$ -спиралей /10/, логично допустить взаимодействие зимогена с СК за счет неспирализованных клубкообразных участков. В пользу такого допущения свидетельствует распад комплекса СК-Пг при изменении вторичной структуры (воздействие мочевины) - момент, характерный для сорбции клубкообразных участков /39/.

После контакта СК и Пг комплекс стремится уменьшиться в объеме, возникают напряжения молекулы зимогена, приводящие к раскрытию активного центра. Этот комплекс и является активатором (см. рисунок). Считают, что он обладает крайне низкой протеолитической активностью, соответствующей ~20% активности свободного П /34/. Деформации Пг могут вызывать разворачивание активного центра и в отсутствие СК. Такой эффект был получен при иммобилизации человеческого Пг на аминоэтилцеллюлозе с помощью глутарового альдегида /40/. Было бы целесообразно выяснить, возможно ли подобное с бычьим Пг.



Гипотетическая схема катализируемых СК превращений Пг в П. Штриховкой в молекуле Пг показана часть, соответствующая легкой цепи П: 1 - активный центр П, 2 - один из боковых радикалов связи Арг-Вал в Пг, 3-4 - участки связывания в молекулах Пг и СК, 5 - активный центр СК в латентном и активном состоянии, 7 - "карман" для погружения бокового радикала связи Арг-Вал.

В превращении комплекса СК-Пг имеется ряд неясных моментов. Важно подчеркнуть, что активация Пг в П реализуется лишь после разрыва связи Арг - Вал молекулы Пг, в силу чего пер-  
постоянное значение приобретает природа такого разрыва. В на-  
стоящее время подавляющее большинство исследователей склонно  
считать, что СК не обладает энзиматической активностью, а Пг  
активируется при формировании комплекса СК с Пг или П. Однако  
мнение о неэнзиматической природе СК основано на результатах  
исследования так называемой "стехиометрической" активации, ког-  
да выполняется условие  $[Пг] \ll [СК]$ , т.е. при состоянии, прибли-  
жающемся к "системам с взаимным истощением" /41/ и имеющем су-  
щественные отличия от взаимодействия субстрата и энзима при  
значительно более низких концентрациях энзима. Характер всех  
изменений в системе при "каталистической" активации (когда  
 $[Пг] \gg [СК]$ ) абсолютно неизвестен, так как в этом случае СК  
очень мало и выяснить последовательность ее превращений прак-  
тически невозможно. Кроме того, полагают, что разрыв связи  
Арг - Вал в комплексе СК-Пг протекает по внутримолекуляр-  
ному типу, ибо дополнительное внесение СК-П к СК-Пг не вызы-  
вает превращения последнего в СК-П /42/.

Это заставляет с осторожностью воспринимать утверждения  
о неэнзиматическом характере действия СК. Важно заметить, что  
недостаточных прямых доказательств отсутствия у СК энзиматиче-  
ской активности до сих пор не получено. Проведенные ранее /2/  
в этом направлении работы выполнены с ограниченным набором тра-  
диционных субстратов ( $\alpha$ - и  $\beta$ -нафтилацетаты, лизин-метилоний,  
генил-аргинин-метилоний, ацетил-тирозин-этиловый эфиры). Между  
тем СК может обладать очень высокой субстратной специфичностью.  
Подобные примеры показаны в ходе исследований последних лет.  
Так, обнаружены протеазы, слабо расщепляющие белковые субстра-  
ты или активные в отношении очень ограниченной группы белков  
/43,44/. Столь высокую субстратную специфичность объясняют про-  
лонгированием центра связывания субстрата или множественностью  
субцентров, специфичностью к сегментам полипептидной цепи или  
домам белков /45,46/.

В связи с представлением о протеазном характере действия  
СК возникает вопрос, протеазой какого типа она может быть. Сам  
по себе факт отсутствия ингибирующего влияния димзопропил-  
фторфосфата на образование СК-Пг и активацию Пг /47/ озна-

... не ограничена и активном центре СК серина, а лишь несуще-  
... роль допущения потятков серина во взаимодействии двух  
... и свободном состоянии СК ее активный центр может быть  
... Для его проявления также требуется напряжение моле-  
... И в том случае после раскрытия активного центра в Пг час-  
... комплекса происходит развитие активного центра и в СК час-  
... Активный центр СК разрывает связь Арг — Вал — в молекуле  
... Пг, фиксируемую в непосредственной близости от него (см. рису-  
... нок). Отчасти это находит подтверждение в том, что модификация  
... Три в СК не отражается на способности ее взаимодействовать с  
... Пг, но резко уменьшает выход активности П /48/. Описанное яв-  
... ление позволило предположить авторам, что Арг-Вал связь зимо-  
... гена приводится избирательно в контакт с центром гидролиза пу-  
... тем координации Три-содержащим участком.

Однако СК может быть протеазой и несеринового типа. Логиче-  
... ческие рассуждения в этом направлении позволили нам предполо-  
... жить иной механизм катализа, чем для известных четырех групп  
... протеаз (сериновые, тиоловые, карбоксильные, металлоэнзимы), на-  
... пример особую роль остатка Гис и карбоксигрупп. Аналогичная  
... мысль о возможности существования пятой группы протеаз (соче-  
... тание металлоэнзима и тиоловых групп) была высказана Barrett  
... /49/. Во всяком случае природа действия СК требует самого при-  
... стального изучения.

На основе данных кинетических исследований /50-52/ раз-  
... вернута дискуссия о природе действия СК. Однако это косвенные  
... наблюдения по активности образующегося П (свободного или в со-  
... ставе "активатора"). Следует заметить, что экспериментаторы  
... имели дело с многокомпонентной системой (схема 2), включающей  
... две основные сопряженные через П реакции: образование активно-  
... го П из Пг и лизис субстрата (фибрина, например) под влиянием  
... П. В данном случае происходит активация зимогена, которая, по  
... видимому, обладает своими особенностями кинетики. Исследовате-  
... ли с неизбежностью делают ряд допущений при анализе полученных  
... материалов.

Предположение о протеазной природе СК ставит вопрос о на-  
... имоотношениях ее с другими протеазами стрептококка. Как прави-  
... ло, внимание обращают лишь на S H-зависимую "нейтральную" про-  
... теазу. В то же время получены предварительные данные /53/ о  
... возможности существования у гемолитических стрептококков неско-

ких протеаз, отличающихся по рН оптимуму лизиса белковых субстратов, кинетике биосинтеза, реакции на эффекторы (см. таблицу).

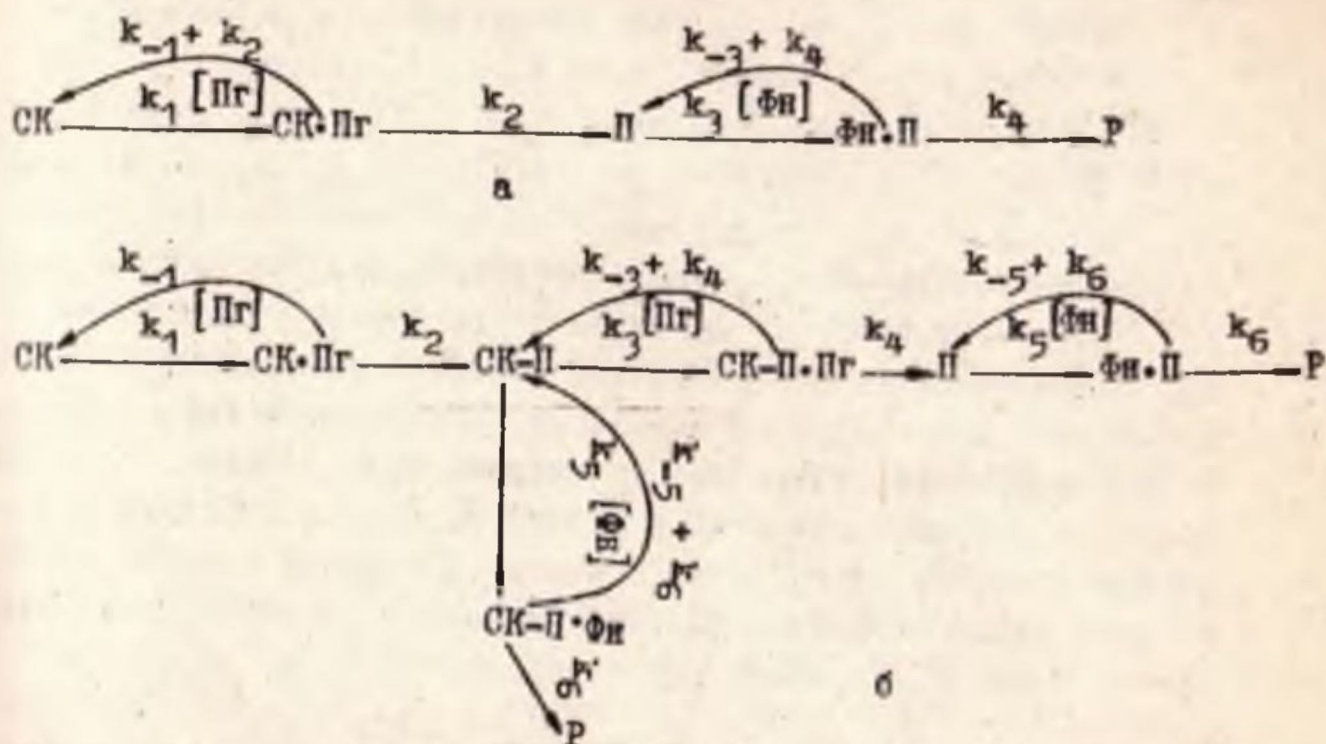


Схема 2. Многостадийная реакция гидролиза фибрина в системе, содержащей фибрин (Фн), плазминоген (Пг) и стрептокиназу (СК), в случаях энзиматического (а) и неэнзиматического - через активатор (б) действия СК ( $[Пг] \gg [СК]$ ). СК-П - активатор, Р - продукты гидролиза Фн.

Влияние некоторых эффекторов в конечной концентрации 0,5 мМ на изменение активности протеаз фильтрата культуры  $\beta$ -гемолитического стрептококка штамм 92I (% к контролю)

Эффектор	Протеазы		
	рН 5,0	рН 7,0	рН 11,0
I	2	3	4
Ca <sup>2+</sup>	22	8	300
Mg <sup>2+</sup>	17	20	11
Zn <sup>2+</sup>	15	36	119
Fe <sup>3+</sup>	25	76	300
Co <sup>2+</sup>	77	129	425
Mn <sup>2+</sup>	55	23	189
Cu <sup>2+</sup>	77	50	274
Cd <sup>2+</sup>	45	50	183

	1	2	3	4
ЭЛТА		10	52	194
Цитрат		35	40	34
Цистеин		28	42	63
P <sup>-</sup>		82	178	131
СНВ <sup>-</sup>		73	154	100

Особый интерес представляют компоненты, активные в кислой и щелочной зонах рН. Возникает предположение, что СК, возможно, есть трансформированная протеаза с необычайно высокой субстратной специфичностью и утратой тривиальной казеинолитической и эстеразной активности. К сожалению, имеющиеся в настоящее время сведения не дают ответа на эти вопросы. Для их выяснения требуется расшифровка первичной структуры СК, конформации Pg различных животных, топографии центров связывания в молекулах Pg и СК, а также развитие кинетики активации зимогенов и дальнейшее изучение субстратной специфичности СК-П, П, СК.

#### Л и т е р а т у р а:

1. Gerlach D., Kohler W. - *Folia haemat.*, 1979, 106, 5/6, 908-914. - 2. De Renzo E.C. et al. - *J. Biol. Chem.*, 1967, 242, 3, 533-542. - 3. Einarsson M. et al. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1979, 568, 1, 19-29. - 4. Smyth C.J., Fehrenbach F.J. - *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B*, 1974, 82, 860-870. - 5. Bilinski T., Loch T., Zakrzewski K. - *Acta biochim. pol.*, 1968, 15, 1, 123-128. - 6. Morgan F., Henchen A. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, 181, 7, 93-104. - 7. Jackson K.W., Tang J. - *Thromb. Res.*, 1978, 13, 693-699. - 8. Ponnuswamy P.K. et al. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1980, 623, 301-316. - 9. Meirovitch H., Scheraga H.A. - *Macromolecules*, 1980, 13, 6, 1406-1414. - 10. Медлер Д. *Биохимия. М.*, 1980, т. I. - II. Черников М. П. *Протеолиз и биологическая ценность белков. М.*, 1975. - 12. Taylor F.V., Botts J. - *Biochemistry*, 1968, 7, 1, 232-242. - 13. Loch T. et al. - *Acta biochim. pol.*, 1968, 15, 1, 129-136. - 14. Птицын О.Б., Финкельштейн А.В. - В кн.: *Молекулярная биология. (Итоги науки и техники/ВИНИТИ). Вып. 15. М.*, 1979, 6-41. - 15. Lifson S., Sander C. - *J. Molec. Biol.*, 1980, 139, 4, 627-639. - 16. Kanchisa M.J., Tsong Tien Yow. - *Biopolymers* -

шев, 1980, 19, 9, 1617-1628. - 17. Christensen L.K. - J. Gen. Physiol., 1947, 30, 6, 465. - 18. Никандров В.Н. и др. - В кн.: Стрептокиназа и другие тромболитические ферменты. Мн., 1979, 101-107. - 19. Никандров В.Н. и др. - В кн.: VI конференция биохимиков прибалтийских республик, Белоруссии и Ленинграда: Тез. докл. Рига, 1981, 454-455. - 20. Кришталик Л.И. - Молекулярная биология, 1979, 13, 3, 577-581. -

21. Brockway W.J., Castellino F.J. - Biochemistry, 1974, 13, 10, 2063-2070. - 22. Buck F.F. et al. - J. Biol. Chem., 1968, 243, 13, 3648-3654. - 23. Taylor F.B., Weisswenger J.G. - Ibid, 1973, 248, 4, 1127-1134. - 24. Mullertz S. - Biochem. J., 1955, 61, 424-434. - 25. Robbins K.C. et al. - J. Biol. Chem., 1973, 248, 20, 7242-7246. - 26. Mullertz S., Lassen N. - Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1953, 82, 264-268. - 27. Schik L.A., Castellino F.J. - Biochemistry, 1973, 12, 22, 4315-4320. - 28. Robbins K.C., Summaria L. - Immunochimistry, 1966, 3, 1, 29-40. - 29. Bruhn H.D. - Thrombos. u. Haemostas., 1973, 30, 1, 221-222. - 30. Losse G., Laube F. - Acta biol. med. germ., 1978, 37, 1629-1632. - 31. Schultze H.E. et al. - Патент ФРГ № I249797, 1968. - 32. De Renzo E.O. et al. - J. Biol. Chem., 1967, 242, 10, 2428-2434. - 33. Chung-Mei Ling. et al. - Ibid, 7, 1419-1425. - 34. Hummel B.C.W. et al. - Ibid, 1966, 241, 15, 3474-3479. - 35. Nedkov P., Ninh K.Z. - Изв. хим. Българска Акад. наук, 1978, 11, 1, - 36. Summaria L., Robbins K.C. - J. Biol. Chem., 1976, 251, 18, 5810. - 37. Powell J.R., Castellino F.J. - Ibid, 1980, 255, 11, 5329. - 38. Sakata Y., Aoki N. - Ibid, 5442-5447. - 39. Жулина Е.Б., Скворцов А.М., Бирштейн Т.И. - Молекулярная биология, 1978, 12, 2, 472-479. - 40. Кудинов С.А., Ерецкая Е.В. - Укр. биохим. журн., 1979, 51, 4, 340-344. - 41. Узоб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. М., 1966. - 42. Bajaj S.P., Castellino F.J. - J. Biol. Chem., 1977, 252, 2, 492-498. - 43. Nelson W.J., Traub P. - Eur. J. Cell. Biol., 1980, 22, 1, 373. - 44. Gohda E., Pitot H.C. - J. Biol. Chem., 1981, 256, 5, 2567-2572. - 45. Федоряк Д.М. и др. - В кн.: Молекулярная биология. Киев, 1977, вып. 17, 64-75. - 46. Neurath H. - Protein Folding. Proc. 28th Conf. Ger. Biochem. Soc. Regensburg, 1979. Ed. Amsterdam N.-Y., 1980, 501-523. - 47. Summaria L. et al. - J. Biol. Chem., 1968, 243, 1, 144-150. - 48. Buck F.F., Boggiano K. - Ibid, 1971, 246, 7, 2091-2096. - 49. Barrett A.J. - In: Protein degradation in health and disease. Amsterdam, 1980, 1-13. - 50. Kosow D.P. - Biochemistry, 1975, 14, 20, 4459-4465. - 51. Ко-

sow D.P.- Int.J.Biochem.,1976,7,249-252. - 52. Markus G. et al.  
- J.Biol.chem.,1976,251,21,6495-6504. - 53. Никандров В.Н.,  
Димонт Т.А. - В кн.: Микроорганизмы - продуценты биологически  
активных веществ: Тез.докл.конф. Рига, 1981, 97-98.

DEBATABLE PROBLEMS OF STRUCTURAL AND CATALYTIC  
PROPERTIES OF STREPTOKINASE

V.N. Nikandrov

Present ideas of streptokinase structure and mechanism  
of action are analysed. Peculiarities of streptokinase con-  
formation as well as possibilities of various forms of strep-  
tokinase are considered.

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

- Никандров В.Н., Савченко Н.Е.,  
Вотьяков В.И. Состояние иссле-  
дований в области создания  
тромболитических ферментных пре-  
паратов и пути дальнейшей раз-  
работки тромболитиков на осно-  
ве стрептокиназы . . . . . 3
- Розенфельд М.А. Термодинами-  
ка образования и лизиса фиб-  
рина . . . . . II
- Кудряшов Б.А. Естественный не-  
ферментативный фибринолиз,  
его молекулярная природа, фи-  
зиологическое и патофизиоло-  
гическое значение . . . . . 17
- Никандров В.Н. Дискуссионные  
вопросы структурных и катали-  
тических свойств стрептокина-  
зы . . . . . 23
- Кудинов С.А., Гриненко Т.В.  
Активация плазминогена стреп-  
токиназой . . . . . 34
- Кудинов С.А., Пилявская А.С.  
 $\alpha_2$ -антиплазмин в регуляции  
фибринолиза . . . . . 41
- Никандров В.Н., Воробьева Г.В.,  
Демидчик Н.В., Казючич О.А.  
Исследование некоторых физико-  
химических свойств стреп-  
токиназы стрептококка штамм  
H46A . . . . . 47
- Веремеенко К.Н., Кизим А.И.  
Субстратная специфичность  
плазмина, связанного с  
 $\alpha_2$ -макроглобулином . . . . . 53
- Давыдова Г.С., Шикова Л.В.,  
Погудо А.И., Шатило Н.Л. Изу-  
чение биосинтеза стрептоки-  
назы при различных условиях  
культивирования штамма-про-  
дукента . . . . . 58
- Егоров Н.С., Ландау Н.С. Неко-  
торые особенности и перспекти-  
вы биосинтеза тромболитиче-  
ских ферментов ассоциативны-  
ми культурами микроорганиз-  
мов . . . . . 63
- Nikandrov V.N., Savchenko N.E.,  
Votyakov V.I. The present  
state of research on desig-  
ning thrombolytic fermental  
preparations and ways of  
their further development  
on the basis of streptokinase
- Rosenfeld M.A. Thermodynamics  
of fibrin formation and ly-  
sis
- Kudryashov B.A. Natural non-  
enzymatic fibrinolysis, its  
molecular properties, phy-  
siological and pathophysio-  
logical significance
- Nikandrov V.N. Debatable  
problems of structural and  
catalytic properties of  
streptokinase
- Kudinov S.A., Grinenko T.V.  
Activation of plasminogen  
by streptokinase
- Kudinov S.A., Pilyavskaya A.S.  
 $\alpha_2$ -antiplasmin in the re-  
gulation of fibrinolysis
- Nikandrov V.N., Vorobyova G.,  
Demidchik N.V., Kazyuchits O.  
A study of some physico-  
chemical properties of strep-  
tokinase of H46A strain  
streptococcus
- Veremeenko K.N., Kizim A.I.  
Substrate specificity of  
macroglubulin-bound plas-  
min
- Davydova G.S., Shikova L.V.,  
Pogudo A.I., Shatilo N.L.  
The study of streptokinase  
biosynthesis under diffe-  
rent cultivation conditions  
of strain-producer
- Egorov N.S., Landau N.S. So-  
me peculiarities and pers-  
pectives of thrombolytic  
enzyme biosynthesis by mi-  
xed cultures of microorga-  
nisms



- Давыдова Г.С., Рытик П.Г.,  
Бессчастнова А.П., Шатило Н.Л.,  
Шикова Л.В., Погуло А.И. Опыт  
разработки питательных сред  
для культивирования стрепто-  
кокка - продуцента стрептоки-  
назы . . . . . 68
- Шкуматова Л.Б., Вотяков В.И.,  
Колесниченко Т.Г., Голубков  
В.И., Тотолян А.А. Перекрест-  
ный фаголизис между штамма-  
ми стрептококков групп А и С 74
- Голубков В.И., Вотяков В.И.,  
Шкуматова Л.Б., Кныш Л.С.,  
Тотолян А.А. Клонирование  
штамма Н46А по продукции  
стрептокиназы . . . . . 78
- Голубков В.И., Колесниченко  
Т.Г., Ионтова И.М., Шкумато-  
ва Л.Б., Кныш Л.С. Генетиче-  
ское маркирование штаммов -  
продуцентов стрептокиназы в  
экспериментах межгрупповой  
трансдукции . . . . . 80
- Цвигун В.И., Рухманов Ю.П.,  
Брель Г.Ф. Лабораторный фер-  
ментационный стенд . . . . . 82
- Ткач В.М., Пленина Л.В., Каре-  
зо Н.В., Постоянова Н.И., Сিনি-  
цына Р.М., Пыжова Н.С., Ковале-  
ва Е.Б., Ястребова Т.И. Кон-  
центрирование и предваритель-  
ные этапы очистки стрептоки-  
назы . . . . . 86
- Пленина Л.В., Ткач В.М., Каре-  
зо Н.В., Пыжова Н.С. Примене-  
ние адсорбционной хроматогра-  
фии на силикагеле для очист-  
ки стрептокиназы . . . . . 89
- Ковалева Е.Б., Ткач В.М., Пыжо-  
ва Н.С. Хроматографическая  
очистка стрептокиназы на бен-  
зилхитиновом сорбенте . . . . . 94
- Пленина Л.В., Карезо Н.В. Ис-  
пользование сульфокатионитов  
при получении очищенных пре-  
паратов стрептокиназы . . . . . 98
- Шашкова Н.А., Лебедева В.В.,  
Самойлова Л.И., Кузнецов В.И.,  
Немирович-Данченко М.М. Опыт
- Davydova G.S., Rytic P.G.,  
Beschastnova A.P., Shatilo N.,  
Shikova L.V., Pogudo A.P. The  
experience of developing  
culture media for cultivati-  
on of streptococcus, a strep-  
tokinase producer
- Shkumatova L.B., Votyakov V.I.,  
Kolesnichenko T.G., Golubkov  
V.I., Totolyan A.A. Group A  
and C streptococcus strain  
cross phagolysin
- Golubkov V.I., Votyakov V.I.,  
Shkumatova L.B., Knysh L.S.,  
Totolyan A.A. The cloning  
of H46A strain according  
to streptokinase production
- Golubkov V.I., Kolesnichenko T.I.,  
Iontova I.M., Shkumatova L.B.,  
Knysh L.S. Genetic marking  
of streptokinase strain-pro-  
ducers in the experiments of  
interspecific transduction
- Tavigun V.I., Rukhmanov Yu.P.,  
Brel G.F. Laboratory ferment-  
er stand
- Tkach V.M., Plenina L.V., Ka-  
reso N.V., Poscoyanova N.I.,  
Sinitcina R.M., Pyzhova N.S.,  
Kovaleva E.B., Yastrebova T.I.  
Concentration and initial  
stages of streptokinase pu-  
rification
- Plenina L.V., Tkach V.M., Ka-  
reso N.V., Pyzhova N.S. The  
use of adsorbtion chromatog-  
raphy on silicagele for  
streptokinase purification
- Kovaleva E.B., Tkach V.M.,  
Pyzhova N.S. Chromatography  
purification of streptoki-  
nase on benzylchitin sorbent
- Plenina L.V., Karazo N.V. The  
use of sulfocationite in  
obtaining purified strepto-  
kinase preparations
- Shashkova N.M., Lebedeva V.V.,  
Samoilova L.I., Kuznetsov V.,  
Nemirovich-Danchenko M.M.

применения полиядерных пленок для стерилизующей фильтрации раствора стрептокиназы . . .	101	The use of polynuclear films for sterilizing filtration of streptokinase solution
Березов Т.Т., Левин Ф.Б., Сорокина Л.В. Иммунизация некоторых протеолитических ферментов на тромбоцитах. .	104	Beresov T.T., Levin F.B., Sorokina L.V. Immobilization of some proteolytic enzymes on thrombocytes
Самсонов Г.В., Кольцова С.В., Шельх Г.И., Даниличев В.Ф. Получение и биологическое исследование урокиназы и ее иммобилизованных форм . . .	107	Samsonov G.V., Koltsova S.V., Shelykh G.I., Danilichev V.F. Isolation and biological investigation of urokinase and its immobilized forms
Кастрикина Т.Ф., Таран Л.Д., Кудинов С.А. Определение активности плазмина по нарастанию свободных аминогрупп	113	Kastrikina T.F., Teran L.D., Kudinov S.A. The determination of plasmin activity based on the rise of free amino groups
Чазов Е.И., Мазаяв А.В., Торчилин В.П., Смирнов В.Н., Суворова Л.А., Воронков Ю.И. Клиническая эффективность иммобилизованной стрептокиназы (стрептодеказы) . . . .	118	Chazov E.I., Mazayav A.V., Torchilin V.P., Smirnov V.N., Suvorova L.A., Voronkov Yu.I. Clinical efficacy of the immobilized streptokinase (streptodekase)
Андреев Г.В. О тромболитических свойствах стрептокиназы . . . . .	127	Andreenko G.V. Concerning thrombolytic properties of streptokinase
Микуцкий Н.С., Шевчук А.П., Савченко А.Н., Вотяков В.И., Никандров В.Н., Рытик П.Г. Предварительные результаты о клинической апробации целиазы . . . . .	134	Mikutsky N.S., Shevchuk A.P., Savchenko A.N., Votyakov V.I., Nikandrov V.N. Preliminary data on the clinical trial of "celyase"
Терешин И.М. Создание иммобилизованной стрептокиназы и ее тромболитические свойства. .	139	Tereshin I.M. Immobilized streptokinase and its thrombolytic properties