

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.Давыдова, 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 α -спиралей /10/. В отношении Про в этом плане высказано мнение, что он оказывает "дистанционный" эффект на расстоянии 10 остатков /11/. Действительно, доля α -спиралей в СК относительно мала (7–12%), тогда как β -структуры и неупорядоченный клубок составляют 20 и 70% соответственно /12,13/. Судя по количеству упомянутых выше остатков, в СК возможна значительная доля изгибов.

Иле-Ала-Гли-Про-Глю-Три-Лей-Лей-Асп-Арг-Про-Сер-Вал-Асп-
 10
 * * * * * 20 * * * * * 30
 Асп-Сер-Гли-Лей-Вал-Вал-Сер-Вал-Ала-Гли-Тре-Вал-Глю-Гли-Тре-Асп-
 * * * * * 40 * * * * *
 -Гли-Асп-Иле-Сер-Лей-Лиз-Фен-Фен-Глю-Иле-Асп-Лей-Тре-Сер-
 * * * * * 50 * * * * *
 -Арг-Про-Ала-Гис-Гли-Гли-Лиз-Тре-Глю-Гли-Гли-Лей-Сер-Про
 60
 * * * * * 70 * * * * *
 -Лиз-Сер-Лиз-Про-Фен-Ала-Тре-Асп-Сер-Гли-Ала-Мет- -Сер-
 * * * * * 80 * * * * *
 -Гис-Лиз-Лей-Глю-Лиз-Ала-Асп-Лей-Лей-Лиз-Ала-Иле-Гли-Глю-
 * * * * *
 -Гли-Иле-Иле- (Ала₇ Арг₅ Асх_{2I} Глх_{I2} Гли₆ Гис₃ Иле₇ Лей_{II}
 Лиз₈ Фен₆ Про₉ Сер₈ Тре_{II} Тир₅ Вал₉) -Мет-
 2I7

II
 -Асп-Гли-Глю-Фен-Тре-Тир-Арг-Вал-Лиз-Асп-Глю-Арг-(Ала₄ Арг₄
 Асх_{I8} Глх₉ Гли₄ Гис_I Иле₆ Лей_{I4} Лиз_{II} Фен₄ Про₄ Сер₆ Тре₅
 Тир₆ Вал₄) -Мет-

V
 -Асп-Тир-Тре-Лей-Тре-Гли-(Арг_I Асх₅ Глх_I Гис_I Иле_I Лиз_I
 Тре₂ Тир_I Вал₂) -
 352
 -Мет-Гли-Лиз-Арг-Про-Глю-Гли-Глю-Гли-

VI
 -Ала-(Ала_I Арг₃ Асх₇ Гли_I Гис_I Глх_I Иле_I Лей₂ Лиз_I Про₃
 Сер₂ Тре₃ Тир₅ Вал_I) -Лиз - COOH

(Схема I. Частичная расшифровка первичной структуры СК.
 * отмечены гидрофильные остатки.
 Последовательность локализации фрагментов II и V 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 разворачивания молекулы 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/.

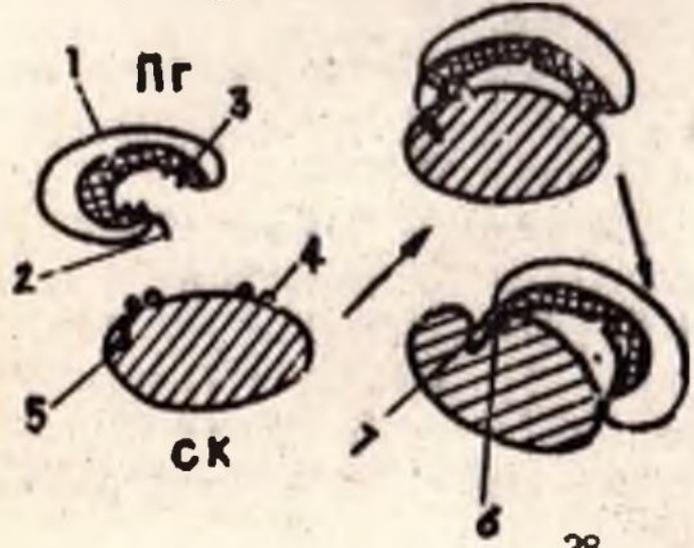
Природа описанной комплементарности белков не ясна. По-видимому, центры связывания Пг в СК довольно компактны и не несут антигенных детерминант, поскольку взаимодействие СК и Пг не уничтожается антителами к СК /28, 29/, а уменьшение ее молекулы на 20-30% почти не отражается на активности /30/, но существенно 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" (Вал₄₄₂-Асн₇₉₀-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 α -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 - 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 $[Пг] \leq [СК]$, 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
достаточных 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 (α - и β -нафтилацетаты, лизин-метил-
овый, трил-аргинин-метил-овый, 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 стабилизируются в активном центре СК серина, а лишь несущественно влияют на допущенные попытки серина во взаимодействии двух ... и свободном состоянии СК ее активный центр может быть активным. Для его проявления также требуется напряжение молекулы. В этом случае после раскрытия активного центра в Пг части комплекса происходит развитие активного центра и в СК части. Активный центр СК разрывает связь Арг — Вал — в молекуле Пг, фиксируемую в непосредственной близости от него (см. рисунок). 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 явление позволило предположить авторам, что Арг-Вал связь зимогена приводится избирательно в контакт с центром гидролиза путем координации Три-содержащим участком.

Однако СК может быть протеазой и несеринового типа. Логические рассуждения в этом направлении позволили нам предположить иной механизм катализа, чем для известных четырех групп протеаз (сериновые, тиоловые, карбоксильные, металлоэнзимы), например особую роль остатка Гис и карбоксигрупп. Аналогичная мысль о возможности существования пятой группы протеаз (сочетание металлоэнзима и тиоловых групп) была высказана Barrett /49/. Во всяком случае природа действия СК требует самого пристального изучения.

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

Предположение о протеазной природе СК ставит вопрос о взаимоотношениях ее с другими протеазами стрептококка. Как правило, внимание обращают лишь на S H-зависимую "нейтральную" протеазу. 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).

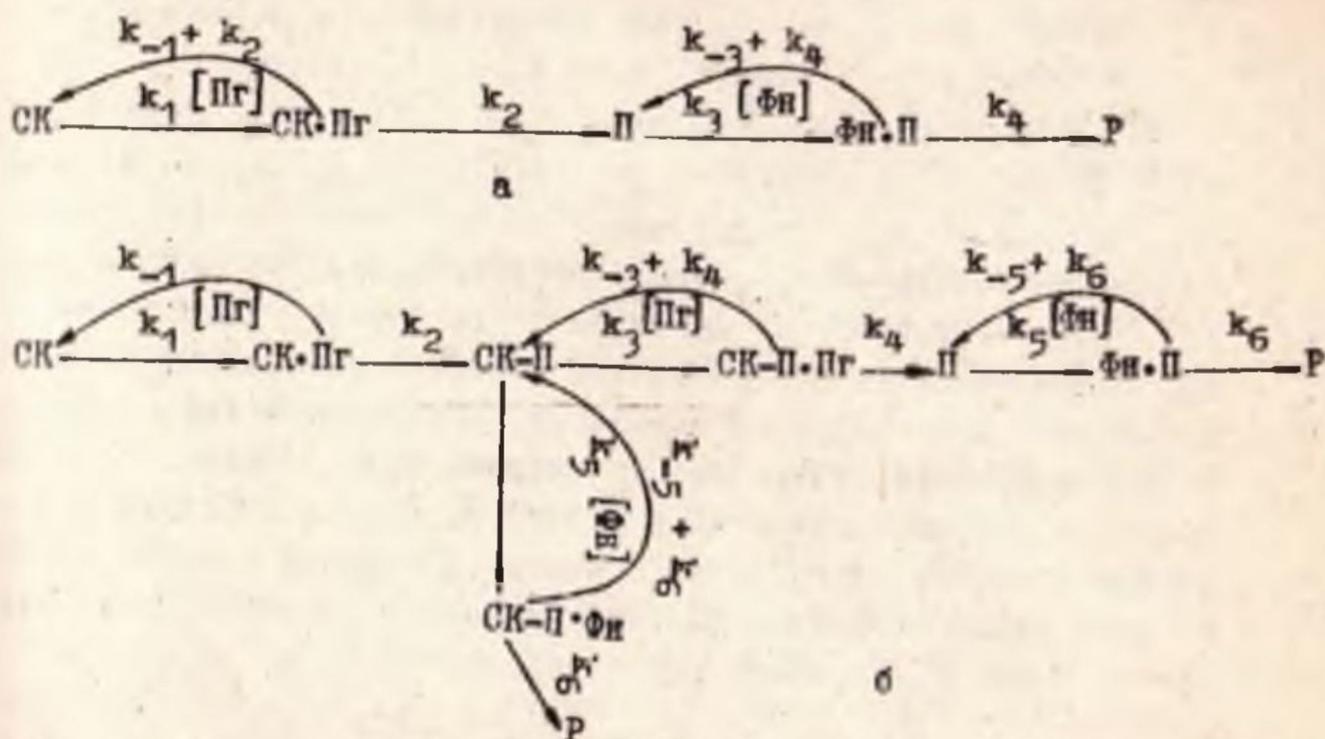


Схема 2. Многостадийная реакция гидролиза фибрина в системе, содержащей фибрин (Фн), плазминоген (Пг) и стрептокиназу (СК), в случаях энзиматического (а) и неэнзиматического - через активатор (б) действия СК ($[Prg] \gg [СК]$). СК-П - активатор, Р - продукты гидролиза Фн.

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

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

	1	2	3	4
ЭЛТА		10	52	194
Цитрат		35	40	34
Цистеин		28	42	63
P ⁻		82	178	131
СНВ ⁻		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. - *Biopolimeri* -

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.
 α_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
 α_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.
 α_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 fil- tration of streptokinase solution
Березов Т.Т., Левин Ф.Б., Со- рокина Л.В. Иммуобилизация некоторых протеолитических ферментов на тромбоцитах. . .	104	Beresov T.T., Levin F.B., So- rokina L.V. Immobilization of some proteolytic enzymes on thrombocytes
Самсонов Г.В., Кольцова С.В., Шельх Г.И., Даниличев В.Ф. Получение и биологическое ис- следование урокиназы и ее им- мобилизованных форм . . .	107	Samsonov G.V., Koltsova S.V., Shelykh G.I., Danilichev V.F. Isolation and biological in- vestigation of urokinase and its immobilized forms
Кастрикина Т.Ф., Таран Л.Д., Кудинов С.А. Определение ак- тивности плазмина по нараст- анию свободных аминогрупп	113	Kastrikina T.F., Teran L.D., Kudinov S.A. The determina- tion of plasmin activity ba- sed on the rise of free ami- no groups
Чазов Е.И., Мазаяв А.В., Тор- чилин В.П., Смирнов В.Н., Су- ворова Л.А., Воронков Ю.И. Клиническая эффективность иммобилизованной стрептоки- назы (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 тромболити- ческих свойствах стрептоки- назы	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 целиа- зы	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 иммуоби- лизованной стрептокиназы и ее тромболитические свойства. . .	139	Tereshin I.M. Immobilized streptokinase and its throm- bolytic properties