

Получение ферментного препарата *Aspergillus tennesseensis*, проявляющего плазминоподобную активность

Научный руководитель – Осмоловский Александр Андреевич

Гоу М.¹, Лавренова В.Н.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биотехнологии, Москва, Россия, *E-mail: goutingxuan1998@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия, *E-mail: pkviktoria@mail.ru*

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти во всем мире уже более десятилетия. Большинство этих заболеваний связано с тромбозом, причем тромбоз может быть как самостоятельным недугом, так и сопутствующим фактором других болезней. Применяющиеся в современной практике фибринолитические средства имеют недостатки, в связи с чем поиск новых тромболитиков является актуальной задачей как для фундаментальной науки, так и для фармакологии. Протеазы микроскопических грибов, включая виды рода *Aspergillus* из секции *Versicolores*, были ранее описаны как высокоактивные антикоагулянтные и фибринолитические ферменты [1, 2].

Объектом исследования был ранее не изученный микромицет *Aspergillus tennesseensis* из секции *Versicolores*. Культивирование микромицета проведено в два этапа. Споры гриба смывали с 7-дневного скошенного агара и переносили на посевную среду состава % (м/о): сусло – 6,7, глюкоза – 1,0, пептон – 0,1. После 48 часов культивирования 3% (о/о) посевной среды переносили в ферментационную среду №1 (% (м/о): глицерин – 7,0, глюкоза – 3,0, гидролизат рыбной муки – 3,0, NaNO₃ – 0,2, MgSO₄ – 0,1) или ферментационную среду №2 (% (м/о): крахмал – 1,0, глюкоза – 3,5, гидролизат рыбной муки – 0,5, пептон – 0,5, MgSO₄ – 0,05, KН₂РO₄ – 0,05, NaCl – 0,2) и культивировали до достижения максимальной протеолитической активности. Наибольшая плазминоподобная активность, измеренная спектрофотометрически с хромогенным субстратом H-D-Val-Leu-Lys-pNA, наблюдалась при 4-дневном культивировании в ферментационной среде №2. Фермент был выделен из культуральной жидкости путем осаждения сульфатом аммония при 80% насыщения с последующим диализом и лиофилизацией.

Полученный ферментный препарат разделили на фракции методом колоночного электрофокусирования. После электрофореза по Лэммли фракций с высокой плазминоподобной активностью обнаружено наличие нескольких белковых полос. Выявление гликозилированных белков в геле показало, что белки массой более 45 кДа имеют углеводный компонент. Плазминоподобная активность выделенных фракций стабильна в диапазоне температур 25-37°C и в диапазоне pH 7,0-10,0. Также у тех же фракций обнаружена высокая фактор Ха-подобная активность по субстрату Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA и тромбиноподобная активность по субстрату Tos-Gly-Pro-Arg-pNA. Дальнейшее разделение протеаз *A. tennesseensis* и сравнение их свойств с протеазами родственных видов, например *A. tabacinus*, позволит выявить наиболее активные и подходящие для разработки фармацевтических препаратов протеазы.

Источники и литература

- 1) Свойства внеклеточной протеазы – регулятора гемостаза, образуемой микромицетом *Aspergillus tabacinus*/ Лавренова В., Крейер В., Савкович Ж., Осмоловский А.// Прикладная биохимия и микробиология.—2024.—Т. 60, № 1.— С. 66–71.

- 2) A Novel Bi-Functional Fibrinolytic Enzyme with Anticoagulant and Thrombolytic Activities from a Marine-Derived Fungus *Aspergillus versicolor* ZLH-1/ Zhao L., Lin X., Fu J., Zhang J., Tang W., He Z.// Mar Drugs.—2022.—20, 6, 356-370.