ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 577.152.34:579.222.3

СЕКРЕЦИЯ МИКРОМИЦЕТАМИ ПРОТЕИНАЗ С АКТИВНОСТЬЮ, ПОДОБНОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

А.А. Лукьянова[1], Е.И. Корниенко[1], П.А. Виган[2], В.Г. Крейер[1], А.В. Кураков[3], А.А. Осмоловский[1, *]

[1] Кафедра микробиологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;
[2] Paris-Sacley University, Route de l'Orme aux Merisiers, RD 128, 91190, Saint-Aubin, France;
[3] Кафедра микологии и альгологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
[*] e-mail: aosmol@mail.ru

С использованием хромогенных пептидных субстратов изучена протеолитическая активность по отношению к белкам системы гемостаза у 8 микромицетов, относящихся к разным эколого-трофическим группам: фито-, нематo-, мико- и энтомопатогенам, а также патогенам человека. Показано, что исследованные микромицеты секретируют протеазы с широкой субстратной специфичностью, однако среди них есть продуценты с выраженной плазминоподобной, урокиназной (*Arthrobotrys longa* 1, *Sarocladium strictum* 203) и подобной тканевому активатору плазминогена активностью (*Purpureocillium lilacinum* k1). Наиболее высокоактивным продуцентом протеаз с фибринолитической и активаторной к плазминогену активностью оказался микромицет *S. strictum* 203. Активаторная к плазминогену активность протеиназ, образуемых *S. strictum* 203, составляет около 50% от фибринолитической, что делает его перспективным продуцентом фибринолитических ферментов.

Ключевые слова: *протеиназы микромицетов, фибринолитические ферменты, тромболитические средства, плазминоподобная активность, активаторы плазминогена, хромогенные пептидные субстраты*

Внеклеточные протеолитические ферменты мицелиальных грибов обладают как широкой, так и узкой субстратной специфичностью и способны оказывать всестороннее воздействие на разнообразные белковые субстраты, в том числе на белки системы гемостаза [1–4]. Такие протеазы микромицетов либо напрямую гидролизуют белки-ферменты плазменного гемостаза, либо активируют их проферменты подобно эндогенным факторам свертывания крови (осуществляя реакции ограниченного протеолиза) и могут найти применение в терапии и диагностике тромбоэмболических заболеваний. Исследования последних лет показывают, что проведение широкомасштабного скрининга продуцентов ферментов направленного действия позволяет отобрать микромицеты-продуценты из разных эколого-трофических групп – сапротрофов, фитопатогенов, нематo- и энтомопатогенов [3, 5, 6]. Выделенные ферменты разных микромицетов отличаются как по активности, так и по физико-химическим свойствам. Однако направленный поиск высокоактивных продуцентов протеаз и разработка технологии их получения требуют расширения представлений о протеолитическом потенциале микромицетов, выделенных из разных экотопов. Одним из наиболее удобных инструментов в первичном скрининге продуцентов протеаз с активностью белков системы гемостаза служат их хромогенные пептидные субстраты – они позволяют определить спектр активности протеаз микромицетов в отношении ферментов плазмы крови и спрогнозировать активность гидролиза белковых субстратов [4, 7]. Особенно важен такой подход для поиска продуцентов фибринолитических протеаз – как прямого действия на фибрин (плазминоподобная активность), так и опосредованного (активаторная активность к предшественнику фибрина, плазминогену). Наиболее изученными в отношении продукции подобных ферментов являются микромицеты-космополиты, преимущественно относящиеся к сапротрофам – изолятам почв и растительных остатков. В связи с возрастающим интересом к продуцентам протеаз фибринолитического действия, не являющихся сапротрофами, значительный интерес могут представлять представители фито-, нематo-, мико- и энтомопатогенов, а также патогенов человека.

Целью работы было изучение активности микромицетов по отношению к белкам системы

гемостаза и отбор активного продуцента фибринолитических протеаз с активаторной к плазминогену активностью среди микромицетов – патогенов разных организмов.

Материалы и методы

Объекты исследования и их поддержание. Использовали штаммы микромицетов *Arthrobotrys longa* 1, *Aspergillus niger* 1, *Beauveria bassiana 2*, *Purpureocillium lilacinum* k1, *Paecilomyces carneus* 1, *Sarocladium strictum* 203, *Tolypocladium cylindrosporum* 31 и *Trichoderma harzianum* 410 из коллекции кафедр микологии и альгологии и микробиологии МГУ. Поддержание штаммов осуществляли в пробирках на скошенных среде Чапека–Докса и сусло-агаре (3°Б). В качестве посевного материала использовали культуры, выращенные в течение 7 сут.

Условия культивирования и определение протеолитической активности. Культивирование микромицетов проводили в глубинных условиях на орбитальной качалке (200 об/мин) в качалочных колбах объемом 750 мл со 100 мл питательной среды при 28 °С в течение 2 сут на среде, содержащей сусло, глюкозу и пептон [8, 9], после чего часть полученного посевного материала переносили в среду состава (в %): глюкоза – 3,0, глицерин – 7,0, гидролизат рыбной муки – 0,5, $NaNO_3$ – 0,2, KH_2PO_4 – 0,05, $MgSO_4$ – 0,05, pH 5,5 с последующим культивированием в течение 4 сут.

Активность внеклеточных протеиназ определяли в фильтрате культуральной жидкости с хромогенными пептидными и белковыми субстратами.

В качестве хромогенных пептидных субстратов использовали H-D-Val-Leu-Lys-pNA (S2251) – для определения плазмина, Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA (S2765) – для определения Ха-фактора плазмы крови человека, Glp-Pro-Arg-pNA (S2366) – для определения активированного протеина С, Glp-Gly-Arg-pNA (S2444) – для определения урокиназы, H-D-Ile-Pro-Arg-pNA (S2288) – для определения тканевого активатора плазминогена и Tos-Gly-Pro-Arg-pNA (Chromozym TH) – для определения тромбина [10]. Для проведения реакции к 200 мкл культуральной жидкости добавляли 100 мкл 0,05%-ного раствора (в 0,05М Трис-HCl-буфере, pH 8,2) соответствующего субстрата, полученную смесь инкубировали при 37 °С в течение 5 мин, реакцию останавливали добавлением 200 мкл 50%-ной уксусной кислоты. За единицу активности (Е) принимали количество мкмоль п-нитроанилина, отщепившегося от субстрата за 1 мин.

В качестве белковых субстратов использовали бычий фибриноген и казеин по Хаммерштайну (Sigma-Aldrich, США). Активность определяли с помощью модифицированного метода Ансона–Хагихары, инкубируя при 37 °С 200 мкл культуральной жидкости и 400 мкл 1%-ной суспензии соответствующих белковых субстратов, приготовленных на 0,1М Трис-HCl-буфере, pH 8,2, как описано ранее [11, 12]. Активность выражали в мкмолях тирозина, образовавшегося в течение 1 мин в 1 мл культуральной жидкости ($E_{Тир}$).

Реакции проводили при постоянном перемешивании в термошейкере TS-100 (BioSan, Латвия). Измерение оптической плотности растворов проводили на спектрофотометре Hitachi 200-20 (Япония).

Фибринолитическую и активаторную к плазминогену активность определяли на прогретых и непрогретых фибриновых пластинах по методу Аструпа–Мюллерца–Лансена [3]. Активность выражали в условных единицах (усл. ед.). За 1 усл. ед. принимали количество фермента, вызывающее зону лизиса фибрина, равную 10 мм^2.

Определение содержания белка. Количество белка в пробе определяли по методу Бредфорда [13]. Для этого к 50 мкл пробы добавляли 950 мкл реактива Coomassie Brilliant Blue G-250 и регистрировали светопоглощение при 595 нм.

Эксперименты проводили в трех повторностях, ошибка приведенных результатов не превышала 5–7 %. Статистическую обработку полученных данных поводили с помощью программ MS Excel 2013 и Statitstica 7.0. Для сравнения данных использовали U-критерий Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Использованные в работе штаммы мицелиальных грибов в эколого-трофическом отношении относятся к группам нематофагов (*A. longa* 1), условных патогенов человека (*Asp. niger* 1), фитопатогенов и микопаразитов (*S. strictum* 203, *T. harzianum* 410), энтомопатогенов и микромицетов, ассоциированных с насекомыми (*B. bassiana* 2, *P. carneus* 1, *P. lilacinum* k1, *T. cylindrosporum* 31).

Изучение протеолитической активности микромицетов с хромогенными пептидными субстратами белков системы гемостаза человека проводили на среде, содержащей источники как аминного, так и минерального азота, рост микромицетов на которой можно считать сбалансированным, что позволяет учесть смешанный тип их питания и выявить активность секретируемых ими протеаз [14]. Как показали полученные результаты, большинство культур обладает способностью гидролизовать все использованные субстраты, что может говорить об их широкой субстратной специфичности, однако в большинстве случаев активность была невысокой (от 0,4 до 10 Е/мл$\times 10^{-3}$). Наибольшей активностью с субстратами обладали *A. longa* 1 и *S. strictum* 203, наименьшей – *Asp. niger* 1 (табл. 1).

Микромицет *A. longa* 1 является известным продуцентом протеаз с фибринолитической и ак-

тиваторной к плазминогену активностью – комплекс его протеолитических ферментов известен под названием «Лонголитин» [15]. При росте на ферментационной среде, отличной от использованной ранее, продуцент проявляет характерные для него плазминоподобную активность и активность, подобную активности тканевых активаторов плазминогена (ТАП-подобную активность). Другие типы активности – с субстратами тромбина (тромбиноподобная), урокиназы (урокиназная), активированного протеина С и фактора Ха – были обнаружены впервые.

Как видно из табл. 1, *S. strictum* 203 обладает сходным спектром протеолитической активности, а ее значения в среднем в 1,8 раз превышают активность *A. longa* 1. Внеклеточные протеазы этого микромицета проявляют высокую урокиназную и ТАП-подобную активность, расщепляя субстраты эндогенных активаторов плазминогена человека, что может указывать на их способность к ограниченному протеолизу этого белка системы гемостаза.

Среди остальных микромицетов интерес вызывает *P. lilacinum* k1, протеазы которого обладали выраженной ТАП-подобной активностью и активностью активированного протеина С и не проявляли значительную активность в отношении субстратов тромбина, плазмина, урокиназы и Ха-фактора.

Активность в отношении использованных субстратов протеаз системы гемостаза микромицетов *B. bassiana* 2, *P. carneus* 1, *T. cylindrosporum* 31 и *T. harzianum* 410 была значительно ниже, хотя хорошо известно, что среди представителей этих видов микромицетов встречаются протеолитически активные представители [16–19].

Дальнейший интерес представляло изучение протеолитической активности в отношении белковых субстратов – фибрина, фибриногена и казеина – малоизученных штаммов – *S. strictum* 203 и *P. lilacinum* k1, которые были отобраны для дальнейших исследований.

Интересно отметить, что все хромогенные пептидные субстраты белков системы гемостаза расщепляются трипсиновыми протеиназами – соответственно, можно предположить, что и протеазы, секретируемые изученными микромицетами, относятся к этому типу. Однако для мицелиальных грибов вида *P. lilacinum* известно, что образуемые ими протеазы относятся к протеазам субтилизинового типа и не расщепляют хромопептиды-п-нитроанилиды по остатку аргинина [20]. Возможно, выявленная активность этого микромицета принадлежит протеазам другой группы.

В табл. 2 приведены данные по фибринолитической, фибриногенолитической, активаторной к плазминогену и общей протеолитической активности микромицетов *S. strictum* 203 и *P. lilacinum* k1. Было выявлено, что оба микромицета действительно образуют протеиназы, способные активировать плазминоген, что подтверждает данные, полученные с помощью хромогенных пептидных субстратов. Активаторная к плазминогену активность протеаз *S. strictum* 203 была в 2,9 раз выше, чем у протеаз *P. lilacinum* k1, а фибринолитическая – выше в 5,4 раза соответственно. В целом, активность по отношению к фибрину и плазминогену была выше, чем у других микромицетов, у которых она была обнаружена при их росте на использованной ферментационной среде [3]. Следует отметить, что протеазы *S. strictum* 203 были менее активны по отношению к фибриногену и казеину по сравнению с протеазами *P. lilacinum* k1. Так, общая протеолитическая активность *S. strictum* 203 и *P. lilacinum* k1 различалась в 4,3 раза, а фибриногенолитическая – в 16,5 раз. Высокая активаторная к плазминогену и фибринолитическая активность при отсутствии других типов активности, в особенности к глобулярному белку казеину, может указывать на специфичность протеолитических ферментов *S. strictum* 203 и на его преимущество в качестве продуцента фибринолитических ферментов. Количественное определение фибринолитической активности выявило, что протеазы, образуемые *S. strictum* 203 активнее гидролизуют фибрин, нежели фибриноген: значение фибринолитической активности со-

Таблица 1

Протеолитическая активность микромицетов с хромогенными пептидными субстратами протеаз системы гемостаза

Микромицет	Активность с субстратами, Е/мл×10^{-3}					
	Chromozym TH	S2251	S2444	S2288	S2366	S2765
Aspergillus niger 1	5,1±0,2	3,3±0,2	0,7±0,1	1,8±0,2	0,6±0,2	0,4±0,1
Arthrobotrys longa 1	25,6±0,2	20,1±0,2	20,6±0,2	22,5±0,2	18,2±0,2	18,9±0,2
Beauveria bassiana 2	3,2±0,3	10,2±0,2	2,4±0,2	4,5±0,2	0,7±0,1	2,4±0,2
Purpureocillium lilacinum k1	9,1±0,4	7,3±0,2	2,7±0,2	26,8±0,6	26,2±0,2	7,3±0,2
Paecilomyces carneus 1	2,2±0,1	1,5±0,1	10,8±0,3	1,6±0,2	2,8±0,2	1,5±0,1
Sarocladium strictum 203	40,5±0,6	38,9±0,6	58,3±0,6	39,5±0,6	54,4±0,4	38,2±0,2
Tolypocladium cylindrosporum 31	2,5±0,2	1,5±0,2	3,0±0,2	2,3±0,2	2,8±0,2	3,8±0,2
Trichoderma harzianum 410	0,9±0,1	1,9±0,2	2,7±0,2	0,8±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1

ставило 18,9 $Е_{Тир}$/мл, фибриногенолитической активности – 9,3 $Е_{Тир}$/мл.

Таблица 2

Активность *S. strictum* 203 и *P. lilacinum* k1 с белковыми субстратами

Микромицет	Фибринолитическая активность, усл. ед./мл	Активаторная к плазминогену активность, усл. ед./мл	Фибриногенолитическая активность, $Е_{Тир}$	Общая протеолитическая активность, $Е_{Тир}$
*S. strictu*m 203	485,8±3,5	235,8±3,5	9,3±1,5	32,8±1,5
P. lilacinum k1	166,3±3,5	43,7±3,5	153,0±1,5	139,8±1,5

Как следует из полученных данных, активаторная к плазминогену активность протеиназ, образуемых *S. strictum* 203, составляет около 50% от фибринолитической, как и у протеаз, входящих в комплекс «Лонголитин» [15]. При этом вклад обоих типов активности в суммарное фибринолитическое действие различен: доля активаторной к плазминогену активности в расчете на мг белка составляет лишь одну треть от общего фибринолитического действия протеаз микромицета (рисунок). Однако эффективность гидролиза фибрина протеазами микопаразитического штамма *S. strictum* 203 достаточно высока – соотношение фибринолитической активности и общей протеолитической (соотношение ФА/ОПА [21]) составило 0,57, что значительно превосходит соотношения, установленные для протеаз, образуемых микромицетами-сапротрофами *A. ochraceus* L-1 (0,18), *A. flavipes* A17 (0,27) и *A. terreus* 2 (0,18) [4, 12, 22]. Доля фибринолитической активности протеаз в их общем гидролитическом действии на белки составляет около 40% (рисунок). Полученные данные подтверждают перспективность микромицетов, не являющихся сапротрофами, в качестве продуцентов протеаз, активных по отношению к белкам системы гемостаза.

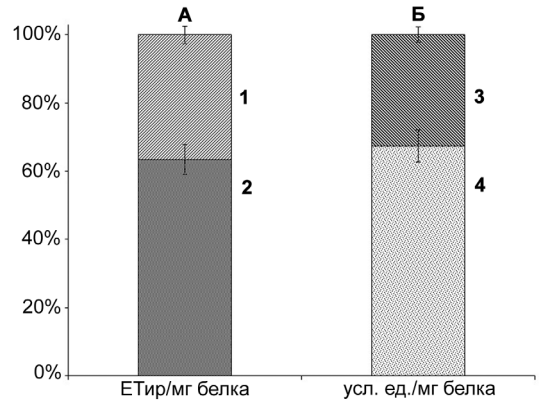

Рисунок. Вклад (в %): А – фибринолитической (1) и общей протеолитической (2) активности; Б – активаторной к плазминогену (3) и фибринолитической (4) активности в суммарное фибринолитическое действие внеклеточных протеиназ *S. strictum* 203.

Таким образом, с использованием хромогенных пептидных субстратов протеаз системы гемостаза изучена активность 9 штаммов микромицетов, относящихся к разным эколого-трофическим группам. Показано, что исследованные микромицеты секретируют протеазы с широкой субстратной специфичностью, однако среди них есть продуценты с выраженной плазминоподобной и урокиназной (*A. longa* 1, *S. strictum* 203) и ТАП-подобной (*P. lilacinum* k1) актвиностью. Отобран высокоактивный продуцент протеаз с фибринолитической и активаторной к плазминогену активностью – *S. strictum* 203. Активаторная к плазминогену активность протеиназ, образуемых *S. strictum* 203, составляет около 50% от фибринолитической, что делает его перспективным продуцентом фибринолитических ферментов.

Исследования выполнены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kotb E.* The biotechnological potential of fibrinolytic enzymes in the dissolution of endogenous blood thrombi // Biotechnol. Prog. 2014. Vol. 30. N 3. P. 656–672.

2. *Kotb E., Helal G.E.-D.A., Edries F.M.* Screening for fibrinolytic filamentous fungi and enzymatic properties of the most potent producer, *Aspergillus brasiliensis* AUMC 9735 // Biologia. 2015. Vol. 70. N 12. P. 1565–1574.

3. *Sharkova T.S., Kurakov A.V., Osmolovskiy A.A., Matveeva E.O., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Screening of producers of proteinases with fibrinolytic and collagenolytic activities among micromycetes // Microbiology. 2015. Vol. 84. N 3. P. 359–364.

4. *Osmolovskiy A.A., Kurakov A.V., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Ability of extracellular proteinases of micromycetes *Aspergillus flavipes, Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus sydowii* to affect proteins of the human haemostatic system // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2017. Vol. 72. N 1. P. 20–24.

5. *Шаркова Т.С., Матвеева Э.О., Кураков А.В., Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Егоров Н.С.* Энтомопатогенные микромицеты – перспективные продуценты протеиназ с фибринолитической активностью // Усп. мед. микол. 2015. Т. 14. С. 458–460.

6. *Kim H.C., Choi B.-S., Sapkota K., Kim S., Lee H.J., Yoo J.C., Kim S.-J.* Purification and characterization of a novel, highly potent fibrinolytic enzyme from *Paecilomyces tenuipes* // Process Biochem. 2011. Vol. 46. N 8. P. 1545–1553.

7. *Osmolovskiy A.A., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Properties of extracellular plasmin-like proteases of *Aspergillus ochraceus* micromycete // Applied Biochem. Microbiol. 2017. Vol. 53. N 4. P. 429–434.

8. *Batomunkueva B.P., Egorov N.S.* Isolation, purification and resolution of the extracellular proteinase complex of *Aspergillus ochraceus* 513 with fibrinolytic and anticoagulant activities // Microbiology. 2001. Vol. 70. N 5. P. 519–522.

9. *Osmolovskiy A.A., Rukavitsyna E.D., Kreier V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Production of proteinases with fibrinolytic and fibrinogenolytic activity by a micromycete *Aspergillus ochraceus* // Microbiology. 2017. Vol. 86. N 4. P. 512–516.

10. Proteolytic Enzymes. A practical approach / Ed. R. Beynon and J.S. Bond. Oxford: Oxford Univ. Press, 2001. 340 pp.

11. *Егоров Н.С., Ландау Н.С., Буяк Л.И., Крейер В.Г.* Гидролитическая система нокардиоформной бактерии *Nocardia minima* в процессе ее роста, развития и дифференциации // Микробиология. 1991. Т. 60. N 4. С. 637–643.

12. *Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Fibrinolytic and collagenolytic activity of extracellular proteinases of the strains of micromycetes *Aspergillus ochraceus* L-1 and *Aspergillus ustus* 1 // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2016. Vol. 71. N 1. P. 62–66.

13. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. N 1–2. P. 248–254.

14. *Blieva R.K., Safuani Zh.E., Iskakbaeva Zh.A.* Effect of various sources of nitrogen and carbon on the biosynthesis of proteolytic enzymes in a culture of *Aspergillus awamori* 21/96 // Applied Biochem. Microbiol. 2003. Vol. 39. N 2. P. 188–191.

15. *Sharkova T.S., Kornienko E.I., Osmolovskii A.A., Kreier V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Morphological and physiological properties of the micromycete *Arthrobotrys longa*, a producer of Longolytin, a proteolytic complex with a thrombolytic effect // Microbiology. 2016. Vol. 85. N 2. P. 180–184.

16. *Dias B.A., Neves P.M.O.J., Furlaneto-Maia L., Furlaneto M.C.* Cuticle-degrading proteases produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the presence of coffee berry borer cuticle // Braz. J. Microbiol. 2008. Vol. 39. N 2. P. 301–306.

17. *Umetsu H., Hishinuma K., Wake H., Ichishima E.* Production, purification, and properties of serine carboxypeptidase from *Paecilomyces carneus* // Curr. Microbiol. 1996. Vol. 33. N 1. P. 44–48.

18. *Scorsetti A.C., Elíades L.A., Stenglein S.A., Cabello M.N., Pelizza S.A., Saparrat M.C.* Pathogenic and enzyme activities of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium cylindrosporum* (Ascomycota: Hypocreales) from Tierra del Fuego, Argentina // Rev. Biol. Trop. 2012. Vol. 60. N 2. P. 833–841.

19. *Elad Y., Kapat A.* The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea* // Europ. J. Plant Pathol. 1999. Vol. 105. N 2. P. 177–183.

20. Kotlova E.K., Ivanova N.M., Yusupova M.P., Voyushina T.L., Ivanushkina N.E., Chestukhina G.G. Thiol-dependent serine proteinase from *Paecilomyces lilacinus*: Purification and catalytic properties // Biochemistry (Mosc.). 2007. Vol. 72. N 1. P. 117–123.

21. *El-Aassar S.A., El-Badry H.M., Abdel-Fattah A.F.* The biosynthesis of proteases with fibrinolytic activity in immobilized cultures of *Penicillium chrysogenum* H9 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1990. Vol. 33. N 1. P. 26–30.

22. *Osmolovskiy A.A., Zvonareva E.S., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S.* Secretion of proteinases with fibrinolytic activity by micromycetes of the genus *Aspergillus* // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2018. Vol. 73. N 1. P. 39–42.

Поступила в редакцию
06.12.2019 г.

После доработки
07.01.2020 г.

Принята в печать
05.02.2020 г.

RESEARCH ARTICLE

SECRETION OF PROTEINASE WITH ACTIVITY THAT IS SIMILAR TO ACTIVITY OF PROTEINS OF THE HEMOSTATIC SYSTEM BY MICROMYCETES

A.A. Lukianova[1], E.I. Kornienko[1], P.A. Vigand[2], V.G. Kreyer[1], A.V. Kurakov[3], A.A. Osmolovskiy[1, *]

[1] Department of Microbiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;
[2] Paris-Sacley University, Route de l'Orme aux Merisiers, RD 128, 91190, Saint-Aubin, France;
[3] Department of Mycology and Algology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia
[*] e-mail: aosmol@mail.ru

Using the chromogenic peptide substrates, proteolytic activity against proteins of the hemostasis system was studied in 9 micromycetes belonging to different ecological-trophic groups: phyto-, nemato-, myco- and entomopathogens, as well as human pathogens. It is shown that the investigated micromycetes secrete proteases with broad substrate specificity, but among them there are producers with pronounced both plasmin-like and urokinase (*Arthrobotrys longa* 1, *Sarocladium strictum* 203) also as TAP-like (*Purpureocillium*

lilacinum k1) activity. The most active producer of proteases with fibrinolytic and activator activity to plasminogen activity was *S. strictum* 203 micromycete. The activity of proteinases formed by *S. strictum* 203 is about 50% of the fibrinolytic activity of plasminogen, which makes it a promising producer of fibrinolytic enzymes.

Keywords: *micromycete proteinases, fibrinolytic enzymes, thrombolytic agents, plasmin-like activity, plasminogen activators, chromogenic peptide substrates*

Сведения об авторах

Лукьянова Анна Александровна – аспирант кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: *a.al.lukianova@gmail.com*

Корниенко Елена Игоревна – мл. науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: *aljnka-93@mail.ru*

Виган Полин Анастасья (Pauline Vigand) – магистр университета Париж-Сакле. Тел.: +33 1 69 33 21 66; e-mail: *pauline-vigand@hotmail.fr*

Крейер Валериана Георгиевна – канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: *vkreyer@yandex.ru*

Кураков Александр Васильевич – докт. биол. наук, зав. кафедрой микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова. Тел.: 8-495-939-54-82; e-mail: *kurakov57@mail.ru*

Осмоловский Александр Андреевич – канд. биол. наук, ст. преп. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: *aosmol@mail.ru*