

Фибринолитическая активность микромицетов отдела Zygomycota

Выполнила:

Богуш М. А.

Руководитель:

к. б. н., доцент Осмоловский А. А.



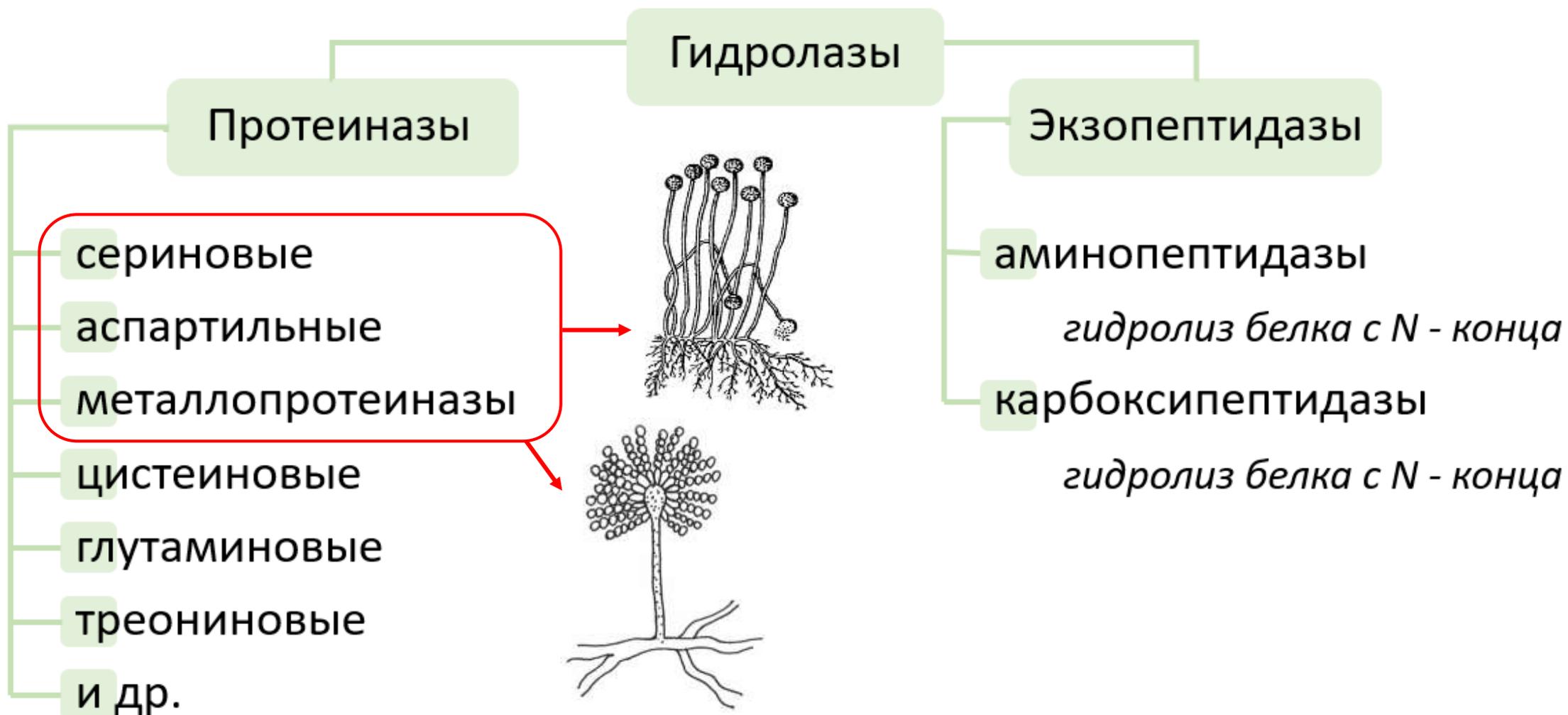
- ✓ Некоторые микроорганизмы способны к продуцированию ферментов, способных лизировать белковые субстраты, - **протеиназ**.
- ✓ В силу специфичности протеиназ возможно их применение в **тромболитической терапии** за счёт подверженности лизису **фибрина** – основного белка тромбов.
- ✓ Различные **грибы**, в основном из отдела *Ascomycota*, оценены как перспективные **продуценты фибринолитических протеиназ**. Одни виды уже используются для производства препаратов, у других фибринолитическая активность только изучается.
- ✓ **Зигомицеты** входят в число организмов, способных к **продукции фибринолитических ферментов**. В настоящее время ведётся изучение этой способности и оценка активности отдельных представителей.

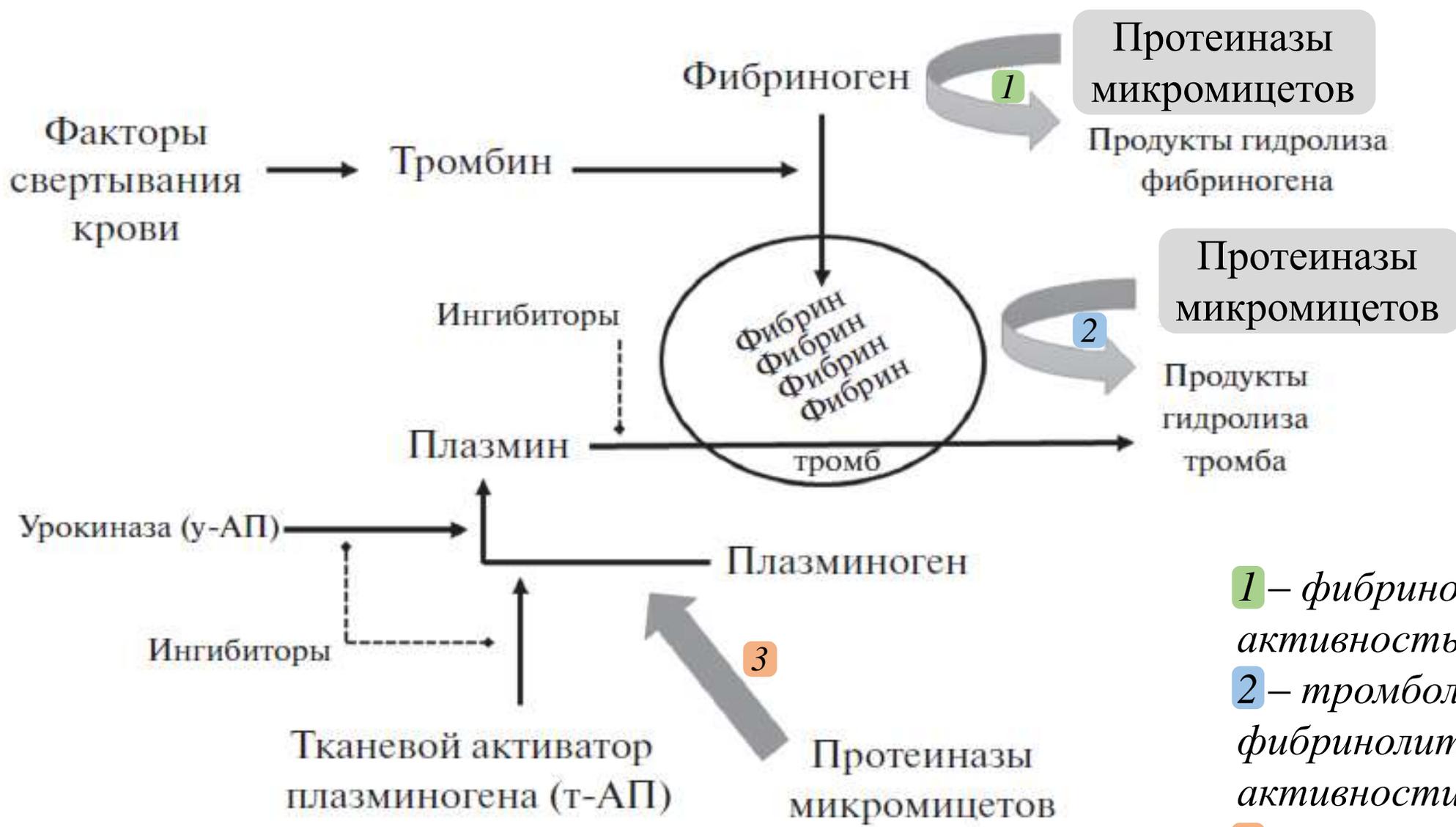


Цель работы:

выявление особенности секреции и свойства фибринолитических протеиназ зигомицетов и представление возможности их применения в тромболитической терапии.

Протеолитические ферменты – активные биологические вещества из класса гидролаз, действие которых направлено на разрушение структуры белка за счёт расщепления пептидных связей.





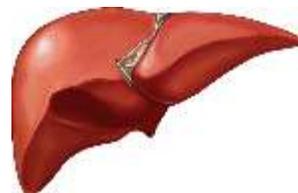
- 1** – фибриногенолитическая активность,
- 2** – тромболитическая и фибринолитическая активности,
- 3** – активаторная к плазминогену активность

Антикоагулянты

Пероральные

Варфарин

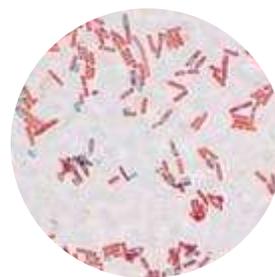
Гепарин



I поколения (внутривенные)

Стрептокиназа

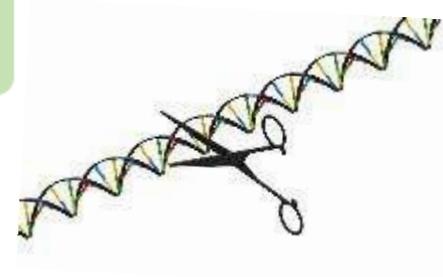
Наттокиназа



II поколения (генномодифицированные)

алтеплаза

тенектеплаза

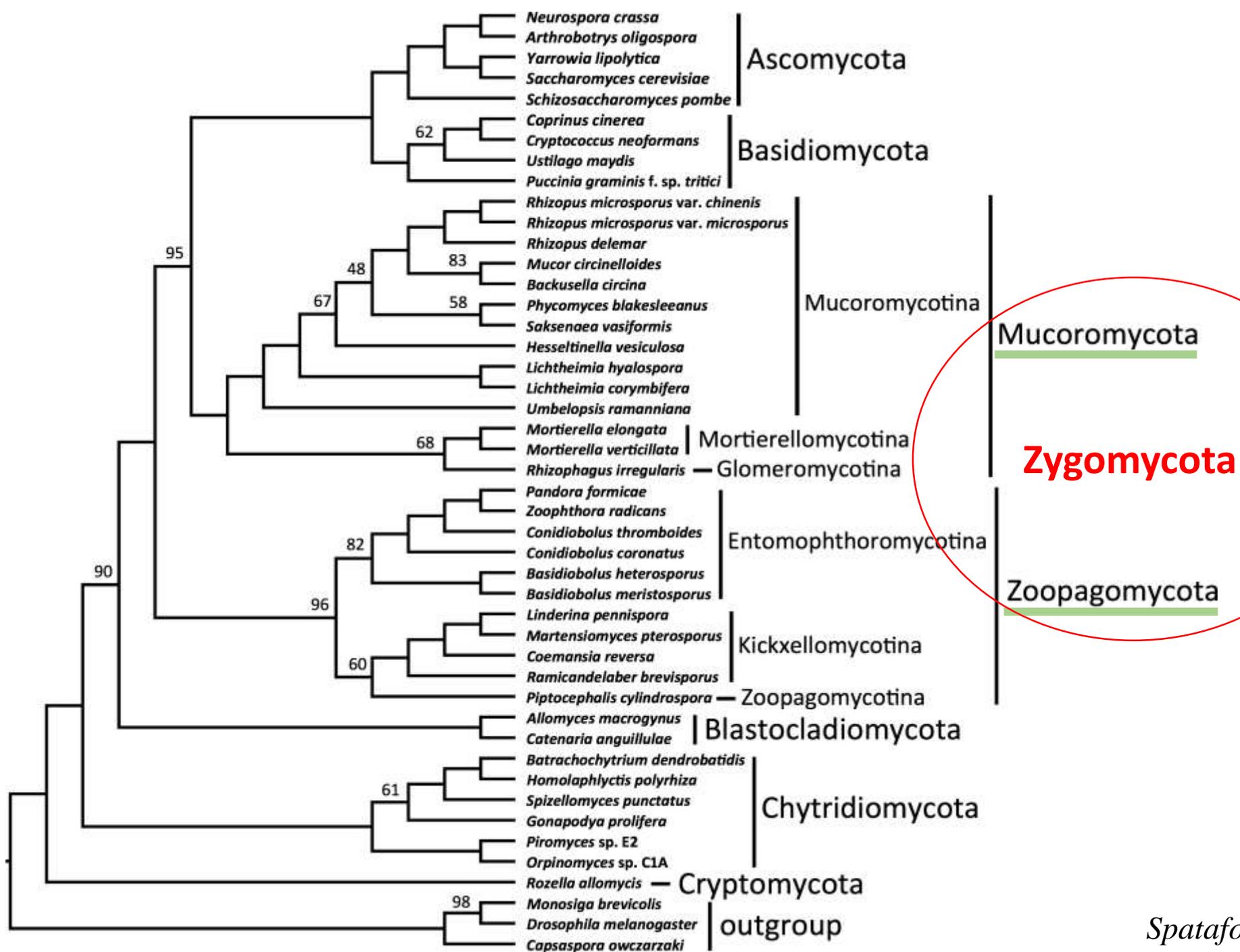


III поколения (исследуются)

ретеплаза и др.



- ✓ 1959 год – **первый препарат** с фибринолитической активностью из культуральной жидкости *Aspergillus oryzae* (аспергиллин O).
- ✓ Дальнейшие работы с *Aspergillus sp.*, разработка **аспергиллина M** (Егоров, 1978).
- ✓ Исследования **других групп** грибов - *Fusarium*, *Paecilomyces*.
- ✓ Получение препаратов **лонголитин** и **трихолизин**, применяемых в медицине, из *Trichothecium roseum* и *Arthrobotrys longa* соответственно (Осмоловский и др. 2021).
- ✓ Выделение протеиназ с фибринолитической активностью из некоторых **базидиомицетов** - *Ganoderma lucidum* (Choi and Sa, 2000), *Flammulina velutipes* (Kudryavtseva et al., 2008).
- ✓ Исследования конкретных видов зигомицетов.





Плесневые грибы рода	№ среды	обследованных	Число микроорганизмов					
			свертывающих плазму					
			1:5		1:2		без разведения	
			всего	%	всего	%	всего	%
<i>Aspergillus</i>	1,6	22	9	40,9	8	36,3	7	31,8
<i>Penicillium</i>	1,4,5,7	52	31	59,6	—	—	9	17,3
<i>Cladosporium</i>	1,2,3,4,6	17	14	82,3	5	29,4	1	5,8
<i>Alternaria</i>	1,2,3	7	2	28,5	1	14,3	2	28,5
<i>Fusarium</i>	1,2,3	21	11	52,4	7	33,3	7	33,3
<i>Cunninghamella</i>	1,6	3	0	0	0	0	0	0
<i>Cephalosporium</i>	1,6	1	0	0	0	0	0	0

Определение свёртывающей способности плесневых грибов некоторых систематических групп. Ушакова и др., 1974.

Микромицет	Фибринолитическая активность				Коллагенолитическая активность (наличие зоны гидролиза желатины)	
	Плазминоподобная, усл. ед./мл		Активаторная к плазминогену, усл. ед./мл			
	Среда № 1	Среда № 2	Среда № 1	Среда № 2	Среда № 1	Среда № 2
	Сапротрофы					
<i>Absidia glauca</i> M-1	416.3	0	0	0	+	—
<i>Umbelopsis isabellina</i> 14	0	0	0	0	—	—

Плазминоподобная, активаторная к плазминогену и коллагенолитическая активность микромицетов.

Шарова и др., 2015

Исследования фибринолитической активности зигомицетов:



- ✓ *Zygorhynchus vuilleminii* и *Z. japonicus*, их протеиназы слабо работали при значении рН 6,5 – 7,0 (Abdel-Rahman et al., 1990);
- ✓ *Rhizopus chinensis* 12, металлопротеиназа, стабильна при нейтральном рН, max активность - при рН 10,5 и температуре 45° С (Xiao-lan and Lian-xiang, 2005);
- ✓ *Rhizomucor. miehei* показал фибринолитическую активность с оптимумом при рН 8,0 – 8,5 и температуре 45° С (Ali and Ibrahim, 2008);
- ✓ *Rhizopus microsporus* var. *tuberosus*, фермент стабилен при значениях рН в диапазоне 6,0 – 8,0 и температуре 37° С (Zhang et al., 2015);
- ✓ *Mucor subtilissimus* UCP 1262, сериновая протеиназа с пиком активности при 40° С (Sharma et al., 2021)



Zygomycota:

- Обнаружены сериновые протеиназы и металлопротеиназы;
- Активны при нейтральном и щелочном pH (до 10,2);
- Работают при повышенной температуры 35 - 45°C;
- Мало исследований.

Ascomycota (в большинстве – аспергилловые):

- В основном, сериновые и реже аспартильные протеиназы;
- Активны при pH 6 - 8;
- Работают при комнатной и при повышенной (до 75 °C)температуре;
- Хорошо исследованы, получены препараты.

Выводы:

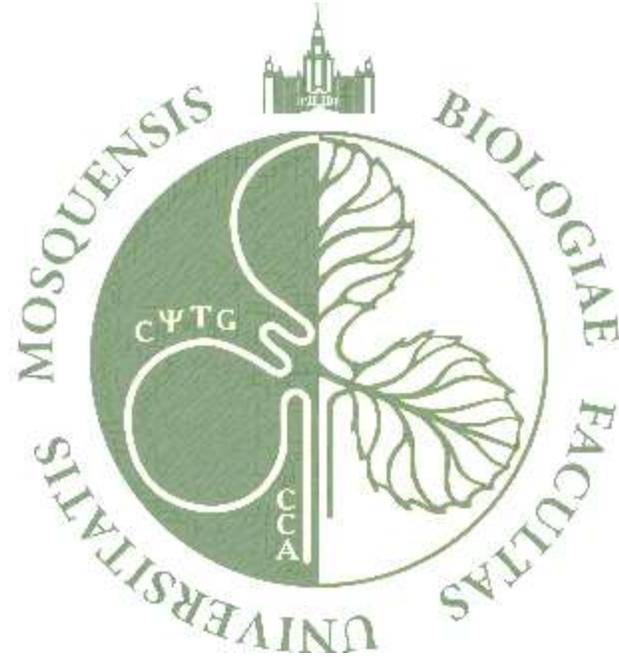


- ✓ Доступность материалов, дешевизна культивирования и высокая продуктивность при низкой антигенности позволяют **считать грибы перспективными для исследований организмами;**
- ✓ Наука стремится использовать все возможные природные ресурсы во благо человечества, поэтому в этом **направлении изучаются различные группы грибов;**
- ✓ **Зигомицеты** успешно прошли этап выявления фибринолитической активности и **требуют подробных исследований** и экспериментов над большим количеством видов;
- ✓ **Важно продолжать поиск** новых представителей зигомицетов с фибринолитической активностью и заниматься разработкой методик производства препаратов из ранее исследованных видов.

Материалы из презентации



- Гарибова Л. В., Лекомцева С. Н. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2005. 220 с.
- Осмоловский А. А., Крейер В. Г., Баранова Н. А., Егоров Н. С. (2021). Протеолитические ферменты мицелиальных грибов с плазминоподобной и активаторной к плазминогену активностью. Успехи современной биологии, 141, 5, 467–482.
- Ушакова В. И., Егоров Н. С., Ключковская В. В. (1974). Образование микроскопическими грибами веществ, свертывающих плазму крови человека. Микробиология, 43, 5, 834 – 838.
- Шаркова Т. С., Кураков А. В., Осмоловский А. А., Матвеева Э. О., Крейер В. Г., Баранова Н. А., Егоров Н. С. (2015). Скрининг продуцентов протеиназ с фибринолитической и коллагенолитической активностями среди микромицетов. Микробиология, 84, 3, 316–322.
- Ali Abdel-Rahman T. M., Salama A.-A. M., Ahmed Alim M. I., Tharwat N. A. - H. (1990). Fibrinolytic Activity of Some Fungi Isolated from Self-Heated Composted Fertilizer. Bot. Mag. Tokyo, 103, 313 – 324.
- Kudryavtseva O. A., Dunaevsky Y. E., Kamzolkin O. V., Belozersky M. A. (2008). Fungal proteolytic enzymes: features of the extracellular proteases of xylophilic basidiomycetes. Microbiology, 77, 6, 643–653.
- Sharma C., Osmolovskiy A., Singh R. (2021). Microbial fibrinolytic enzymes as anti-thrombotics: production, characterisation and prodigious. biopharmaceutical applications. Pharmaceutics, 13, 1880.
- [Spatafora J. W.](#), [Chang Y.](#), [Benny G. L.](#), [Lazarus K.](#), [Smith M. E.](#), [Berbee M. L.](#), [Bonito G.](#), [Corradi N.](#), [Grigoriev I.](#), [Gryganskyi A.](#), [James T. Y.](#), [O'Donnell K.](#), [Roberson R. W.](#), [Taylor T. N.](#), [Uehling J.](#), [Vilgalys R.](#), [White M. M.](#), [Stajich J. E.](#) (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. Mycologia, 108, 5, 1028–1046.
- Xiao-Lan L., Lian-Xiang D., Fu-Ping L., Xi-Qun Z., Jing X. (2005). Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Rhizopus chinensis* 12. Appl. Microbiol. Biotechnol., 67, 2, 209 – 214.
- Zhang S., Wang Y., Zhang N., Sun Z., Shi Y., Cao X., Wang H. (2015). Purification and characterisation of a fibrinolytic enzyme from *Rhizopus microsporus* var. *tuberosus*. Food Technol. Biotechnol. 53, 2, 243 – 248.



Спасибо за внимание!