

6. Behloul N., Wen J., Dai X. et al. Antigenic composition and immunoreactivity differences between HEV recombinant capsid proteins generated from different genotypes. *Infect. Genet. Evol.* 2015, 34: 211-20.
7. Drobeniuc J., Meng J., Reuter G. et al. Serological assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. *Clin. Infect. Dis.* 2010, 51(3): e24-e27.
8. Hyams C., Mabayoje D.A., Copping R. et al. Serological cross reactivity to CMV and EBV causes problems in the diagnosis of acute hepatitis E virus infection. *J. Med. Virol.* 2014, 86(3): 478-483.
9. Koonin E.V., Gorbalenya A.E., Purdy M.A. et al. Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992, 89(17):8259-8263.
10. Li W., Zhang J., He Z.Q. et al. Mutational analysis of essential interactions involved in the assembly of hepatitis E virus capsid. *J. Biol. Chem.* 2005, 280(5): 3400-3406.
11. Mast E.E., Alter M.J., Holland P.V. et al. Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group. *Hepatology.* 1998, 27(3): 857-861.
12. Osterman A., Vizoso Pinto M.G., Haase R. et al. Systematic screening for novel, serologically reactive Hepatitis E Virus epitopes. *Virology Journal.* 2012, 9: 28-32.
13. Reza Taherkhani, Manoochehr Makvandi, Fatemeh Farshadpour. Development of enzyme-linked immunosorbent assays using 2 truncated ORF2 proteins for detection of IgG antibodies against Hepatitis E Virus. *Ann. Lab. Med.* 2014, 34(2): 118-126.
14. Ulanova T.I., Obriadina AP, Talekar G. et al. A new artificial antigen of the hepatitis E virus. *J. Immunoassay Immunochem.* 2009, 30(1): 18-39.
15. Xinjie Wang, Qin Zhao, Lu Dang et al. Characterization of Two Novel Linear B-Cell Epitopes in the Capsid Protein of Avian Hepatitis E Virus (HEV) That Are Common to Avian, Swine, and Human HEVs. *J. Virol.* 2015, 89(10): 5491-501.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

В.Г.Арзумян, Т.А.Артемяева, А.М.Иксанова

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И НЕКОТОРЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

Цель. Оценка активности цельной сыворотки человека и фракции ее антимикробных пептидов против клинически значимых дрожжей и сравнение этих показателей у разных видов млекопитающих. *Материалы и методы.* В исследовании использовали пуловые образцы человеческой, бычьей, кроличьей и мышьиной сыворотки; культуры дрожжей *Candida albicans*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Massezia furfur*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon cutaneum*, *Saccharomyces cerevisiae*. Фракции антимикробных (поли)пептидов (АМП-фракции) получали путем фильтрации сывороток через молекулярные фильтры с диаметром пор 100 кДа. Активность сывороток и их АМП-фракций оценивали спектрофотометрическим методом. *Результаты.* Установлено, что активность цельных сывороток млекопитающих варьировала в пределах 73 — 89% независимо от рода дрожжей, тогда как активность АМП-фракций варьировала более значительно. Так, наименьшую чувствительность к АМП-фракциям сывороток проявляли дрожжи *M. furfur* (активность АМП-фракций 0÷13,5%) и *G. candidum* (0÷6,5%), а наибольшую — *R. mucilaginosa* (12,3÷56,4%), *S. albicans* (22,0÷32,9%) и *S. neoformans* (17,1÷29,9%). Активность АМП-фракций человеческой сыворотки значимо не коррелировала ни с одной из таковых у прочих млекопитающих ($r=0,459\div0,527$). Значимые корреляции имели место между этими показателями для кроличьей и бычьей сывороток ($r = 0,827$), а также для кроличьей и мышьиной ($r = 0,753$). *Заключение.* Различия в величинах активности АМП-фракций сывороток в отношении разных родов/видов дрожжей указывают на наличие специфичности, обусловленной различиями в структурной организации цитоплазматической мембраны клеток дрожжей, а также отличиями в составе АМП у разных млекопитающих.

Журн. микробиол., 2019, № 1, С. 17—22

Ключевые слова: противогрибковая активность, сыворотка, антимикробные пептиды, дрожжи, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF HUMAN AND SOME MAMMALS SERA

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Aim. Estimation of activity of native human serum and its antimicrobial peptides fraction against clinically important yeasts and comparison with the activity of some mammals sera. *Materials and methods.* Pooled samples of human, bovine, rabbit and mouse sera and collection strains of yeasts *Candida albicans*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Malassezia furfur*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon cutaneum*, *Saccharomyces cerevisiae* were used in the study. Antimicrobial peptides fractions (AMP) were obtained by filtration through molecular filters with 100 kDa pores. Activity of sera and their AMP-fractions were estimated by spectrophotometric method. *Results.* Activity of native mammal sera varied in diapason 73÷89% independently from yeast genus, although AMP-fractions activity varied more significantly. The minimal sensitivity to AMP-fractions of sera demonstrated *M. furfur* (activity values were equal 0÷13,5%) and *G. candidum* (0÷6,5%), but the maximal — *R. mucilaginosa* (12,3÷56,4%), *C. albicans* (22,0÷32,9%), and *C. neoformans* (17,1÷29,9%). Activity values of AMP-fractions of human serum were correlated meaningfully with no of the values of other mammals (Pirson coefficient $r=0,459\div0,527$). Considerable correlation of the indexes took place between rabbit and bovine sera ($r=0,827$), as well as between rabbit and mouse sera ($r = 0,753$). *Conclusion.* The differences between AMP-fractions activity towards studied yeast genera/species indicate the occurrence of its specificity probably related with structural organization of cytoplasmic membrane of yeast cells as well as with variations in AMP composition in different mammals.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 1, P. 17—22

Key words: antifungal activity, serum, antimicrobial peptides, yeast, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*

ВВЕДЕНИЕ

Противомикробный гуморальный иммунитет сыворотки млекопитающих складывается из белков системы комплемента, иммуноглобулинов и антимикробных пептидов/полипептидов (АМП). Независимо от пути реализации системы комплемента — классического или альтернативного, а также от механизма действия иммуноглобулинов и различных АМП (которых в сыворотке крови свыше 25), происходит, прежде всего, повреждение клеточной мембраны патогенных микроорганизмов или их лизис [15]. На этом свойстве сыворотки основаны все известные на сегодня методы оценки ее микробицидности. Метод определения бактерицидных свойств крови, основанный на классическом способе посева, входит в «Номенклатуру клинических лабораторных исследований» (п.б.3.2 — общие бактерицидные свойства сыворотки крови, секретов), утвержденную Приказом Министерства здравоохранения РФ № 64 от 21.02.2000 г. Однако в силу трудоемкости и длительности выполнения этот метод не нашел широкого применения в клинической практике. Не менее сложны в выполнении и более современные методы [4, 17]. Недавно нами предложен способ оценки активности фракции антимикробных пептидов эпителиальных секретов, заключающийся в микроскопировании окрашенных суспензий клеток дрожжей *Candida albicans* с целью подсчета процента убитых клеток [2]. Данный метод с некоторыми модификациями можно применить и к сывороткам крови, причем, как к цельным, так и к их низкомолекулярным фракциям (2,8 — 80 кДа), в которые входят АМП, но не иммуноглобулины и белки комплемента. Такая модификация была использована для определения активности АМП-фракций мышинных сывороток [5]. Использование данного способа дает возможность оценить микробицидную активность человеческих сывороток, обусловленную разными их фракциями, и сравнить ее с таковой у других млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Человеческие сыворотки получены из венозной крови 6 здоровых добровольцев женского и мужского пола в возрасте 22 — 24 года. Использована коммерческая бычья сыворотка «Adult bovine serum» (PAA Laboratories GmbH, Австрия), хранившаяся до использования в замороженном виде при -25°C . Пуловую кроличью сы-

воротку получали от 6 здоровых кроликов-самок породы Шиншилла весом 1,5 кг, питомник Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России. Пуловая мышьяная сыворотка получена от 35 беспородных мышей-самок весом 18-20 г из того же питомника. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33217—2014).

Использованы штаммы дрожжей *Candida albicans* №927, *Rhodotorula mucilaginosa* №132, *Malassezia furfur* №1451, *Cryptococcus neoformans* №3465, *Geotrichum candidum* №1206, *Trichosporon cutaneum* №18 из коллекции НИИВС им. И.И.Мечникова; *Saccharomyces cerevisiae* Y-375 из ВКМ (Пушино, Россия). Суспензии клеток дрожжей готовили из экспоненциальных культур, выращенных на плотной среде Сабуро (в случае *M. furfur* — на модифицированной среде Диксона) при 25°C из расчета 10¹⁰ КОЕ/мл.

Для получения АМП-фракций образцы сыворотки фильтровали через молекулярные фильтры «Amicon Ultra-4» (Millipore, Merck) с диаметром пор 100 кДа на центрифуге в течение 45 мин при 7500 об/мин. Определение противогрибковой активности проводили следующим образом: образцы сывороток или их АМП фракций объемом 300 мкл (контрольная пробирка содержала физраствор) соединяли с 50 мкл суспензии дрожжей, пробирки инкубировали 2 часа при 32°C на шейкере, затем смеси центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об/мин, супернатанты удаляли, а к осадкам добавляли по 300 мкл раствора бромкрезолового пурпурного в фосфатном буфере pH 4,6, суспендировали и инкубировали 45 мин при 32°C на шейкере. После этого суспензии вновь центрифугировали и по 50 мкл полученных супернатантов добавляли в заранее подготовленные пробирки, содержащие по 2,5 мл фосфатного буфера pH 4,6. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре при длине волны 440 нм в кюветах 1 см. Противогрибковую активность выражали в процентах и рассчитывали по формуле: $A = (OP_{\text{контр.}} - OP_{\text{опыт.}}) * 100 / OP_{\text{контр.}}$, где $OP_{\text{контр.}}$ — это оптическая плотность смеси из контрольной пробирки; $OP_{\text{опыт.}}$ — это оптическая плотность смеси из пробирки фракции I либо фракции II.

Осадки клеток микрокопировали с помощью микроскопа МБИ-6 («Ломо», СССР) при общем увеличении $\times 1750$. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel. В качестве показателя наличия корреляционных взаимосвязей использовали коэффициент Пирсона (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение величин активности АМП-фракций сыворотки, рассчитанных с использованием метода спектрофотометрии, и величин активности, рассчитанных с помощью микроскопии (т.е. процент убитых клеток), показало наличие корреляции высокой степени ($r=0,836$): соотношение этих показателей составляло в среднем $1,2 \pm 0,1$. То есть, если активность АМП-фракции, полученная методом спектрофотометрии, составляло 30%, то число клеток, убитых при их инкубации с данным образцом сыворотки, равнялось примерно 36%. Необходимо отметить, что расчет активности цельной сыворотки по методу микроскопии невозможен, так как в результате действия этого ликвора клетки дрожжей частично разрушаются с образованием мелких везикул. Тем не менее, в данном случае использование метода спектрофотометрии правомерно, поскольку везикулы также наполняются красителем. Важно отметить, что даже в этом случае остается значительная часть живых клеток. Судя по данным микроскопии можно заключить, что в первую очередь разрушительному воздействию подвергаются именно мертвые клетки.

Результаты оценки противогрибковой активности цельных человеческих, бычьих, кроличьих и мышьяных сывороток, а также их АМП-фракций представлены в табл. Видно, что общая противогрибковая активность сывороток млекопитающих примерно одинакова в отношении всех изученных видов дрожжей: она варьирует в пределах 73 — 89%. Исключение составила лишь активность мышьяной и бычьей сывороток против *S. neoformans* — 69,4% и 69,2% соответственно.

Противогрибковая активность цельных сывороток и их низкомолекулярных фракций у некоторых млекопитающих

Тип сыворотки Род /вид дрожжей	Человеческая сыворотка		Бычья сыворотка		Кроличья сыворотка		Мышиная сыворотка	
	Активность общая, %	Активность АМП фрак- ции, %	Активность общая, %	Активность АМП фрак- ции, %	Активность общая, %	Активность АМП фрак- ции, %	Активность общая, %	Активность АМП фрак- ции, %
<i>C. albicans</i>	88,9 ± 1,3	31,3 ± 6,1	83,5 ± 0,2	22,0 ± 3,2	84,7 ± 0,2	32,9 ± 2,0	77,2 ± 0,5	26,2 ± 2,6
<i>R. mucilaginosa</i>	78,1 ± 6,5	12,3 ± 7,2	73,9 ± 0,9	23,4 ± 0,7	75,4 ± 0,3	39,3 ± 1,7	82,5 ± 0,4	56,4 ± 0,8
<i>M. furfur</i>	83,6 ± 0,5	-2,4 ± 1,7	80,9 ± 0,3	9,1 ± 3,2	84,9 ± 0,1	13,5 ± 0,1	84,3 ± 0,3	-4,4 ± 0,6
<i>C. neoformans</i>	79,5 ± 7,8	22,8 ± 10,6	89,8 ± 0,7	29,9 ± 0,5	81,3 ± 0,6	27,6 ± 1,4	69,4 ± 0,6	17,1 ± 1,7
<i>G. candidum</i>	83,8 ± 6,6	5,4 ± 2,6	79,9 ± 0,7	-6,4 ± 2,0	88,4 ± 0,1	6,8 ± 2,6	81,6 ± 0,6	-2,7 ± 3,5
<i>T. cutaneum</i>	77,7 ± 7,7	7,6 ± 7,7	69,2 ± 0,2	-2,8 ± 2,1	73,1 ± 0,3	16,0 ± 1,4	86,3 ± 0,1	15,0 ± 1,8
<i>S. cerevisiae</i>	87,6 ± 1,4	18,6 ± 10,1	83,5 ± 0,1	-5,8 ± 1,8	85,3 ± 0,5	2,9 ± 0,6	89,2 ± 0,3	19,6 ± 1,8

При этом имела место значимая корреляция активности человеческих цельных сывороток разных видов дрожжей с таковой кроличьих ($r=0,724$), но не бычьих ($r=0,401$) и мышинных сывороток ($r=0,207$).

Активность АМП-фракций имела гораздо больший разброс, чем общая активность сывороток. Отрицательные значения в таблице означают, что оптическая плотность опытных растворов была выше контрольной. Это можно объяснить отсутствием противогрибкового действия данной фракции на данный вид дрожжей, в связи с чем, по-видимому, за 2 часа инкубации клетки начинают расти на неактивной фракции, используя ее как субстрат. Таким образом, отрицательные значения можно считать нулевыми в плане их противогрибковой активности. Значения активности АМП-фракций варьировали в диапазоне от 0 до 56,4%. Активность АМП-фракций человеческой сыворотки значимо не коррелировала ни с одной из таковых у прочих млекопитающих ($r=0,459 \div 0,527$). Однако имели место значимые корреляции между этими показателями между кроличьей и бычьей сыворотками ($r=0,827$), а также между кроличьей и мышинной сыворотками ($r=0,753$). При исследовании вклада активности АМП-фракций сывороток разных млекопитающих в общую противогрибковую активность сывороток обращает на себя внимание тот факт, что наименьший вклад соответствует дрожжам *M. furfur* и *G. candidum*, а наибольший — *R. mucilaginosa* и *C. neoformans*.

Человек и животные на протяжении жизни постоянно сталкиваются с различными видами дрожжевых грибов, причем некоторые из них относятся к условно патогенным микроорганизмам. Так, для человека из более чем 200 видов известных дрожжей около 40 считаются условными патогенами, несмотря на то, что эти виды в норме заселяют различные локусы: *Malassezia* spp. — кожу, *Candida* spp., *Rhodotorula* spp. — кишечник и половые органы, *Geotrichum* spp. и *Saccharomyces* spp. — кишечник [3]. Однако при нарушениях иммунитета, например, при atopическом дерматите, все указанные роды, а также *Trichosporon* spp. и *Syngnecoccus* spp. могут являться сильнейшими иммуногенами. Животные также подвержены дрожжевым инфекциям: описаны маститы у коров, связанные с вышеперечисленными родами дрожжей [14], а также криптококковый менингоэнцефалит [9]. Тот факт, что в ответ на взаимодействие с антигенами дрожжей образуются специфические иммуноглобулины (антитела), не вызывает сомнений. Антитела не только помогают распознавать и обезвреживать высокомолекулярные продукты жизнедеятельности дрожжей, но и обладают непосредственной противогрибковой активностью [8]. Поскольку общая микробицидная активность сывороток состоит по большей части из активности комплемента и иммуноглобулинов, то неудивительно, что этот показатель для человеческой сыворотки варьирует примерно в одинаковых пределах в отношении всех изученных видов дрожжей — 77÷89%. Удивительно то, что такие разные млекопитающие, как человек, бык, кролик и мышь, имеют сходные величины этой активности (табл.).

Иная ситуация наблюдается с активностью АМП-фракций: ее величины, конечно, значительно ниже активности цельных сывороток, но варьируют в широком диапазоне, причем у всех представленных видов млекопитающих. На основании по-

лученных данных можно заключить, что имеет место специфичность АМП по отношению к разным видам дрожжей. Это трудно себе представить, поскольку АМП не имеют такой сложной и разветвленной структуры, как иммуноглобулины. Основной мишенью АМП является мембрана микроорганизмов, при атаке которой происходит нарушение целостности мембраны, ведущее к гибели клетки. Несмотря на большое структурное разнообразие, большинство мембраноактивных пептидов образуют амфифильные структуры в присутствии мембраны [6]. Селективное действие АМП обусловлено липидным составом мембран и определяется, в основном, электростатическими взаимодействиями. Так катионные АМП атакуют бактериальные клетки, у которых во внешней мембране содержится большая доля отрицательно заряженных липидов, в отличие от электрически нейтральных мембран клеток эукариот. Кроме того, на антимикробную активность пептидов влияет упаковка и физические свойства липидного бислоя, например, наличие в составе мембраны специфических молекул-мишеней (стеринов, гликофинголипидов) или липидов, влияющих на спонтанную кривизну бислоя, таких как фосфатидилэтаноламин. Кроме того, некоторые пептиды атакуют специфические внутриклеточные мишени [6].

В человеческой сыворотке присутствуют следующие АМП: гепцидин, гистатины, дефензины, кателицидины, дермицидины, адреномедуллин, псориазин, секреторный ингибитор лейкопротеазы, лизоцим, РНКазы, липокалины, азуроцидин, кальпротектин, ВР1 (бактерицидный белок, повышающий проницаемость мембран — bactericidal permeability-increasing protein) и лактоферрин. Многие из них выполняют несколько функций помимо противомикробной.

Наиболее представленными в человеческой сыворотке в количественном отношении являются лизоцим (2800 ± 800 нг/мл) [7], РНКазы (2200 ± 400 нг/мл) [10] и дермицидины (2100 ± 100 нг/мл) [11]. Их концентрации в данном ликворе вполне соотносятся с их минимальными ингибирующими концентрациями в отношении *S. albicans*, что дает основание считать именно эти АМП отвечающими за противокандидозную активность сыворотки.

Лизоцим при взаимодействии с клетками *S. albicans* оказывает литическое действие на клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану [13]. Человеческие РНКазы легко связываются с мембраной клеток *S. albicans*, что приводит к деполаризации и разрушению мембраны. Помимо дестабилизации мембраны РНКазы атакуют клеточную РНК, что ведет к блокированию механизмов трансляции клеточного белка [12]. Дермицидины, в отличие от большинства АМП, являются отрицательно заряженными молекулами и действуют на клетки по так называемому «ковровому» механизму, образуют гексамерные каналы даже при отсутствии липофильных молекул (детергентов или липидов) [16].

Возможно, низкие значения активности АМП-фракции сывороток в отношении клеток *M. furfur* обусловлены именно их необычным строением: помимо обычной клеточной стенки они покрыты липидной «шубкой», которая помогает им выживать в условиях повышенных концентраций солей и липидов на поверхности кожи [1]. АМП человека и мыши, очевидно, не способны преодолеть данный барьер, тогда как АМП быка и кролика все же проявляют некоторую активность против клеток *M. furfur* (табл.). Вероятно, высокая чувствительность клеток *S. albicans*, *R. mucilaginosa* и *S. neoformans* к пептидам АМП-фракции обусловлена строением их мембран и наличием соответствующих клеточных мишеней: скорее всего, какие-то из присутствующих в сыворотке АМП функционируют именно при взаимодействии с клетками этих дрожжей, но не *M. furfur* и *G. candidum*. Тот факт, что клетки наиболее клинически значимых и изученных дрожжей — *S. albicans* и *S. neoformans* — являются высокочувствительными к сывороточным АМП, открывает перспективу создания новых противогрибковых препаратов на основе фракций сывороточных пептидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзумян В.Г. Дрожжи рода *Malassezia*: таксономия, идентификация, значение в экологии и патологии человека. Новое в систематике и номенклатуре грибов (ред. Ю.Т.Дьяков, Ю.В.Сергеев). Москва, Медицина для всех. 2003:458-492.

2. Арзумян В.Г., Мальбахова Е.Т., Фошина Е.П., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М., Варганова Н.О., Шмелева О.А. Патент на изобретение № 2602298 от 21.10.2016 по заявке № 2015113069, приоритет 10.04.2015: Способ определения совокупной активности антимикробных пептидов как маркера состояния местного иммунитета различных эпителиальных тканей. Патентообладатель ФГБНУ НИИВС им. Мечникова.
3. Арзумян В.Г., Шмелева О.А. Клинически значимые дрожжевые грибы — классификация, антигены и современные методы диагностики. Микология сегодня. Ю.Т.Дьяков, А.Ю.Сергеев (ред.). М.: Национальная академия микологии. 2016, 3:116-139.
4. Поляков Е.Г., Дерябин Д.Г., Грищенко В.А. Патент на изобретение № 2247987 от 10.03.2005, приоритет 22.01.2003. Способ определения бактерицидной активности сыворотки крови. Патентообладатель ООО «Центр научного зондирования» (RU).
5. Arzumian V., Shmeleva O., Michailova N. Elevated Activity Levels of Serum Antimicrobial Peptides in Mice as Response to Immunization with Yeast Antigens. Med. Mycol. Open. Access. 2017, 3(1):23.
6. Guimarres L.L., Marcos S., Toledo M.S. et al. Structural diversity and biological significance of glycosphingolipids in pathogenic and opportunistic fungi Front. Cell. Infect. Microbiol. 2014, 4:138-146.
7. Johansson B.G., Malmquist J. Quantitative Immunochemical Determination of Lysozyme (Muramidase) in Serum and Urine. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 1971, 27(3):255-261.
8. Kavishwar Amol, Shukla P K. Candidacidal activity of a monoclonal antibody that binds with glycosyl moieties of proteins of *Candida albicans*. Medical Mycology. 2006, 44(2):159-167.
9. Magalhães G.M., Saut J.P., Beninati T. et al. Cerebral cryptococcomas in a cow. J. Comp. Pathol. 2012, 147(2-3):106-110.
10. Martin L., Koczera P., Simons N. et al. The Human Host Defense Ribonucleases 1, 3 and 7 Are Elevated in Patients with Sepsis after Major Surgery — A Pilot Study. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17(3):294-305.
11. Ortega-Martínez I., Gardeazabal J., Erramuzpe A. et al. Vitronectin and dermcidin serum levels predict the metastatic progression of AJCC I—II early-stage melanoma. Int. J. Cancer. 2016, 139(7):1598-1607.
12. Salazar V.A., Arranz-Trullén J., Navarro S. et al. Secretory RNase 3 and RNase 7 against *Candida albicans*. Microbiology open. 2016, 5(5):830-845.
13. Sebaa S., Hizette N., Boucherit-Otmani Z. et al. Dose-dependent effect of lysozyme upon *Candida albicans* biofilm. Mol. Med. Rep. 2017, 15(3):1135-1142.
14. Wawron W., Bochniarz M., Piech T. Yeast mastitis in dairy cows in the middle-eastern part of Poland. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2010, 54:201-204.
15. Zasloff M. Antimicrobial Peptides in Health and Disease. The New England Journal of Medicine. 2002, 347(1):1199-1200.
16. Zeth K., Sancho-Vaello E. The Human Antimicrobial Peptides Dermcidin and LL-37 Show Novel Distinct Pathways in Membrane Interactions. Front. Chem. 2017, 5:86-92.
17. Zimmerman L.B., Worley B.V., Palermo E.F. et al. Absorbance-based assay for membrane disruption by antimicrobial peptides and synthetic copolymers using pyrroloquinoline quinone-loaded liposomes. Anal. Biochem. 2011, 411(2):194-199.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Д.С.Воробьев, И.Б.Семенова, Ю.В.Волох, Э.Е.Романенко, А.П.Батура, Н.А.Михайлова

СВОЙСТВА НАТИВНЫХ БЕЛОКСОДЕРЖАЩИХ АНТИГЕНОВ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

Цель. Исследование иммунохимических и иммунобиологических свойств нативных белок-содержащих антигенов пневмококка (БсАП). *Материалы и методы.* Штаммы *S. pneumoniae*, используемые в работе, получены из ЦКП коллекция НИИВС им. И.И. Мечникова. Изучали химический состав, молекулярную массу полученных антигенов в SDS-электрофорезе и титры антител к ним в иммуноферментном анализе (ИФА). Протективную активность БсАП определяли в опытах активной защиты мышей. *Результаты.* Белоксодержащие антигены пневмококка выделяли из *S. pneumoniae* серотипов 3, 6В, 10А, 14, 19F, 23F и 36. По химическому составу препараты содержали от 16 до 35 % белка. В SDS-электрофорезе в полиакриламидном геле (ПААГ) установлено, что молекулярная масса БсАП находилась в диапазоне от 14 до 116 кДа. С помощью ИФА показана перекрестная активность нативных антигенов. Практически все препараты реагировали с антимикробной кроличьей сывороткой, полученной к 19F серотипу ($p \leq 0,05$). Сыворотка 14 серотипа была менее активной, с ней взаимодействовали БсАП, полученные из 14 и 19F серотипов ($p \leq 0,05$). В реакции преципитации по Оухтерлони подтверждено, что препараты