

Э. Н. Золотарева

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЛИЗИН- И АРГИНИЛ-СВЯЗЫВАЮЩИХ УЧАСТКОВ ПЛАЗМИНА НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ГИДРОЛИЗА ФИБРИН(ОГЕН)А

*Изучали влияние 6-аминогексановой кислоты (6-АГК) и L-аргинина на скорости начальных этапов гидролиза фибрин(оген)а Lys<sub>77</sub>-, Val<sub>442</sub>- и Lys<sub>530</sub>-плазмином. Показано, что 6-АГК в концентрациях, насыщающих участки связывания тяжелой цепи плазмينا, сильнее тормозила второй этап реакции (гидролиз X-фрагментов), чем первый (гидролиз фибрина). Влияние аргинина в концентрациях, насыщающих участки связывания кринглов 1 и 5, на первом этапе было таким же, как у 6-АГК, а на втором этапе не проявлялось. Сделано предположение о том, что во взаимодействии фермента с субстратом на первом этапе вовлечены кринглы 5 и 1, а на втором — крингл 4.*

**Введение.** В проявлении высокой избирательности плазмينا (КФ 3.4.21.7) по отношению к специфическому субстрату важное значение имеют участки связывания, обеспечивающие сорбцию профермента на фибрине, его активацию, а также быструю инактивацию десорбированного плазмина  $\alpha_2$ -антиплазмином. Роль участков связывания, однако, не ограничивается этими процессами. Особый интерес представляет вопрос об участии их непосредственно в гидролизе фибрин(оген)а. Связывающие участки локализованы в крингловых доменах тяжелой цепи и отличных от активного центра участках легкой цепи молекулы плазмينا. Они различаются по степени сродства к лизину и аргинину и их химическим аналогам [1—5].

По вопросу о роли участков тяжелой цепи плазмينا в фибрин(оген)олизе в литературе существуют неоднозначные мнения [6—8]. Однако показано, что в процессе расщепления субстрата на его поверхности экспонируются центры, комплементарные различным участкам связывания плазминогена [9]. Цель настоящей работы — изучение роли отдельных участков тяжелой цепи плазмينا на начальных этапах гидролиза фибриногена.

**Материалы и методы.** Lys<sub>77</sub>-плазминоген выделяли из фракции донорской плазмы аффинно-хроматографическим методом [10]. Lys<sub>77</sub>-плазмин получали активацией профермента стрептокиназой («Streptase», Швейцария) [11]. Val<sub>442</sub>-плазмин и Lys<sub>530</sub>-плазмин, полученные согласно описанным методикам [8], были любезно предоставлены С. И. Андриановым. Протеолитическую активность ферментов определяли казеинолитическим методом [11]. Препарат изолированного крингла 4 плазминогена (К4) был любезно предоставлен Т. В. Гриценко.

В работе использовали тромбин Каунасского предприятия бакпрепаратов НИИ эпидемиологии и микробиологии.

Фибриноген получали из бычьей крови по методу Варецкой [12]. Белок метили <sup>125</sup>I в присутствии хлорамина Т [13]. Удельная радиоактивность полученного <sup>125</sup>I-фибриногена составляла 4—5 МБк на 1 мг белка. В опытах использовали смесь исходного и меченого фибриногена в расчетном соотношении.

X<sub>2</sub>-фрагмент выделяли ограниченным протеолизом фибриногена с последующим разделением на колонке с биогелем Р-300 [14]. Электрофореграммы препаратов представлены на рис. 1, а.

© Э. Н. ЗОЛОТАРЕВА, 1996

Гидролиз  $^{125}\text{I}$ -фибриногена плазмином, миниплазмином или микроплазмином проводили при  $37^\circ\text{C}$ . Среда реакции содержала 50 мМ Na-фосфатный буфер, pH 7,4, 0,15 М NaCl, 29 мкМ  $^{125}\text{I}$ -фибриноген, 0,02—0,08 к. е./мл протеолитических ферментов. Реакцию останавливали добавлением к пробам равных объемов 10 М мочевины с 2 % DS-Na. Электрофореграммы плазминовых гидролизатов фибриногена представлены на рис. 1, б.

Расщепление фибриногена плазмином в присутствии тромбина анализировали при  $37^\circ\text{C}$  в среде, содержащей 20 мМ вероналовый буфер, pH 7,4, 0,15 М NaCl, 1 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 0,05 мг/мл рХМБ. Концентрация  $^{125}\text{I}$ -фибриногена составляла 2,9 мкМ. Гидролиз начинали добавлением свежеприготовленной смеси плазмينا и тромбина до конечного содержания 0,025 к. е./мл и 2,5 НИУ/мл соответственно. Параллельно с сохранением тех же условий готовили пробы, не содержащие тромбина. Реакцию останавливали добавлением

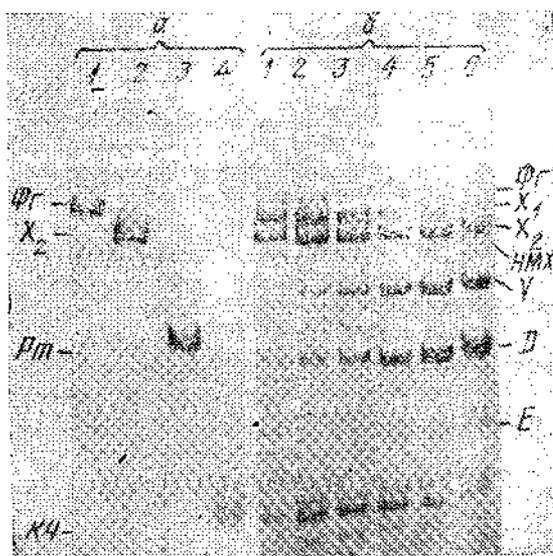


Рис. 1. Электрофореграммы в 5 %-м ПААГ с DS-Na: а — полученные препараты: фибриноген (1);  $X_2$ -фрагмент (2); плазмин (3);  $K_4$  (4); б — гидролизаты фибриногена, полученные за 10 (1); 20 (2); 30 (3); 40 (4); 50 (5) и 60 мин (6)

равных объемов 10 М мочевины с 2 % DS-Na, после чего пробы интенсивно встряхивали и выдерживали на водяной бане в течение 5 мин.

Изолированный  $X_2$ -фрагмент гидролизовали плазмином при  $37^\circ\text{C}$  в среде, содержащей 50 мМ Na-фосфатный буфер, pH 7,4, 0,15 М NaCl. Концентрация  $X_2$  составляла 2,9 мкМ, плазмина — 0,05 к. е./мл. Реакцию останавливали добавлением к пробам равных объемов 10 М мочевины с 2 % DS-Na.

Электрофорез осуществляли в 5 %-м ПААГ [15]. На дорожку наносили 5—10 мкг белка или 100—200 Бк радиоактивного материала.

После окрашивания и высушивания гелей вырезали белковые зоны. Концентрации фибриногена и его продуктов в среде реакции рассчитывали из отношения радиоактивности соответствующих белковых зон к радиоактивности всей дорожки.

Скорости исчезновения суммарной фракции фибриногена и X-фрагментов ( $\text{Фг}+X$ ), исчезновения фибриногена (Фг) и появления Y-фрагментов определяли по тангенсам углов наклона на прямолнейных участках соответствующих кинетических кривых. Лаг-периоды появления Y не учитывали.

**Результаты и обсуждение.** Предметом наших исследований было влияние ингибиторов L-аргинина и 6-АГК на начальные этапы гидролиза фибриногена плазмином и его частично деградированными формами. В этой работе мы использовали  $\text{Lys}_{77}$ -плазмин (плазмин), в молекуле которого присутствуют все крингловые домены ( $K_1$ —5),  $\text{Val}_{442}$ -плазмин (миниплазмин), лишенный в результате частичного отщепления кринглов  $K_1$ —4, а также деградированную форму плазмина —  $\text{Lys}_{530}$ -плазмин (микроплазмин), в молекуле которого крингловые структуры отсутствуют.

На первом этапе гидролиза фибриноген в результате отщепления  $\alpha$ C-доменов и N-концевых участков цепей В $\beta$  превращается в X-фрагменты. Детальное рассмотрение превращений X-фрагментов не входило в нашу задачу и на соответствующих рисунках отражено содержание X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> и низкомолекулярных X-фрагментов в сумме (НМХ). Второй этап реакции связан с отщеплением одного из D-доменов и появлением Y-фрагмента.

Для того чтобы выяснить, на какие участки связывания плазмينا может быть направлено действие ингибиторов в условиях эксперимента, реакцию проводили в присутствии их различных концентраций. При

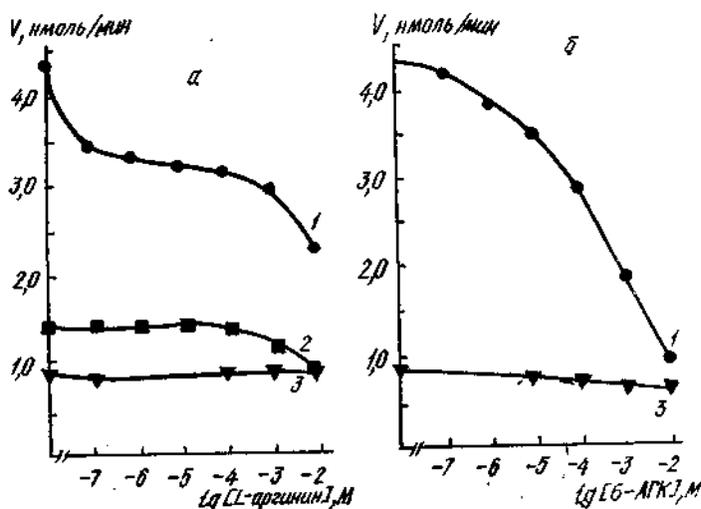


Рис. 2. Влияние L-аргинина (а) и 6-АКГ (б) на скорости исчезновения суммарной фракции Фг+Х (молекулярная масса 340000) под действием Lys<sub>77</sub>-плазмينا (1), Val<sub>442</sub>-плазмينا (2) и Lys<sub>530</sub>-плазмينا (3). Значения скоростей даны в пересчете на 1 к. е. фермента

этом определяли скорости исчезновения суммарной фракции фибриногена и X-фрагментов (Фг+Х), предполагая, что этот показатель должен отражать оба начальных этапа гидролиза.

На рис. 2 (а) представлены кривые зависимости скоростей исчезновения Фг+Х под действием плазмина, миниплазмина и микроплазмина от концентрации L-аргинина в среде реакции. Тормозящее влияние ингибитора на плазмин наблюдалось в области его микромолярных и миллимолярных концентраций, на миниплазмине — только в миллимолярных концентрациях. Активность микроплазмина практически не снижалась в пределах испытанных концентраций аргинина. В присутствии 10 мМ аргинина скорости гидролиза Фг+Х мини- и микроплазмином уравнивались, что свидетельствует о насыщении аргинином участка К5. Эффект микромолярных концентраций аргинина можно связать с участками, находящимися в К1—4, поскольку он проявлялся только на плазмине, но не на мини- и микроплазмине, в молекулах которых эти участки отсутствуют. С другой стороны, участок К4 был практически нечувствительным к аргинину [5], а участки К2 и К3 по лигандной специфичности были близки к К4 [16]. Показано, что фрагмент К1—3 плазминогена мог связываться с аргинилподобными лигандами и элюироваться аргинином [4]. Константа диссоциации комплекса изолированного К1 с аргинином, определенная методом флуоресцентной спектроскопии, находилась в микромолярной области и составляла 4,3 мкМ [5].

Таким образом, можно предположить, что ингибирующее влияние низких концентраций аргинина на плазмин было обусловлено насыщением высокоаффинного участка К1.

Аналогичные исследования мы провели с 6-АГК (рис. 2, б). В интервале исследованных концентраций ингибитор более чем на 80 % снижал активность плазмينا и мало влиял на микроплазмин. По-видимому, в присутствии 10 мМ 6-АГК насыщались все вовлеченные в гидролиз участки тяжелой цепи плазмينا, поскольку в этих условиях скорость реакции с участием плазмينا и микроплазмينا была одинаковой.

В работах Морриса и соавт. [7] гидролиз фибриногена и X-фрагментов плазмином и микроплазмином подавлялся в присутствии миллимолярных концентраций 6-АГК. Аналогичные данные были получены Нью при использовании лизина [6]. В результате этих исследований был сделан вывод о том, что структуры K1—4 не являются важными для гидролиза. Однако нам представляется затруднительным дифференцировать влияние 6-АГК на отдельные участки плазмينا при использовании этого метода, так как константы диссоциации комплексов изолированных доменов плазминогена с 6-АГК различались между собой меньше, чем соответствующие значения для аргинина [5].

Таким образом, 6-АГК в концентрации 10 мМ могла насыщать все участки тяжелой цепи плазмينا, важные для начальных этапов гидролиза фибриногена, а L-аргинин в такой же концентрации — участки K1 и K5.

Следует отметить, что исчезновение фракции Фг+X L-аргинином тормозилось намного слабее, чем 6-АГК. В то же время влияние этих соединений на скорость гидролиза фибриногена было одинаковым. В присутствии 10 мМ L-аргинина и 10 мМ 6-АГК торможение составляло 35 и 37 % соответственно. Поскольку исчезновение суммарной фракции Фг+X отражает два этапа реакции, а исчезновение Фг — только первый этап, мы предположили, что различие в действии двух ингибиторов связано именно со вторым этапом гидролиза и проявляется при расщеплении X-фрагментов. Поэтому исследовали влияние этих ингибиторов на первый и второй этапы реакции.

В реакции, катализируемой плазмином, милли- и сантимольная 6-АГК способствовала накоплению суммарной фракции X-фрагментов (рис. 3, а). В отсутствие ингибитора скорости исчезновения Фг и появления Y составляли 7,61 и 2,18 нмоль/мин в пересчете на 1 к. е. фермента соответственно, а в присутствии 10 мМ 6-АГК эти значения были равны 4,86 и 0,53 нмоль/мин. Из приведенных данных следует, что скорость исчезновения Фг снижалась ингибитором в 1,6 раз, а появления Y — в 4,1 раза. По-видимому, накопление X было обусловлено изменением соотношений скоростей первого и второго этапов реакции.

В аналогичных опытах с микроплазмином (рис. 3, б) уровень максимального содержания X-фрагментов в присутствии 6-АГК не изменялся и был сопоставим с таковым в реакции с участием плазмينا в присутствии 10 мМ 6-АГК. Таким образом, накопление X-фрагментов в катализируемой микроплазмином реакции наблюдалось даже в отсутствие 6-АГК. Скорее всего, блокирование участков тяжелой цепи плазмينا 6-АГК или отсутствие крингловых структур (в случае микроплазмينا) приводило к одинаковому эффекту: накоплению X.

На рис. 3, в, отражена кинетика появления и исчезновения фракции X-фрагментов в присутствии тех же концентраций L-аргинина. Как видно из рисунка, в условиях насыщения K1 и K5 (в присутствии 10 мМ аргинина) накопления X не отмечалось. Можно сделать вывод о том, что торможение второго этапа гидролиза в присутствии 6-АГК было обусловлено нечувствительным к аргинину участком тяжелой цепи плазмينا.

Изолированный K4 плазминогена проявлял сродство к 6-АГК и практически не связывался с аргинином [5]. С другой стороны, показано, что эта структура плазмينا может участвовать в гидролизе фибринового сгустка [8]. В литературе имеются данные о включении этого участка во взаимодействие с X-фрагментами [17]. Поэтому нам пред-

ставлялось вероятным, что торможение расщепления X-фрагментов в присутствии 6-АГК могло быть обусловлено именно этим участком плазмينا. Для того чтобы проверить такое предположение, мы исследовали скорости расщепления плазмином изолированного X<sub>2</sub>-фрагмента.

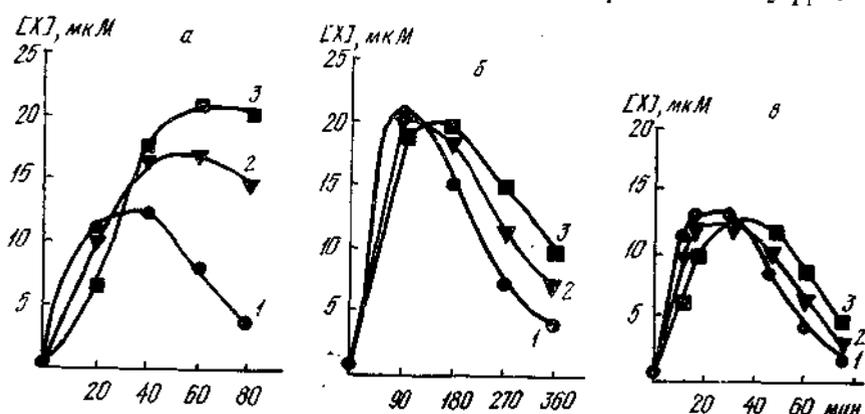


Рис. 3. Кинетика появления и исчезновения фракции X-фрагментов (молекулярная масса 290000) под действием: а — Lys<sub>77</sub>-плазмينا в отсутствие (1) и в присутствии 1 мМ (2) и 10 мМ (3) 6-АГК; б — Lys<sub>280</sub>-плазмينا в отсутствие (1) и в присутствии 1 мМ (2) и 10 мМ (3) 6-АГК; в — Lys<sub>77</sub>-плазмينا в отсутствие (1) и в присутствии 1 мМ (1) и 10 мМ (2) L-аргинина

На рис. 4 представлены электрофореграммы плазминовых гидролизатов X<sub>2</sub>-фрагмента, полученных за 15, 30 и 60 мин гидролиза. Согласно рисунку, полное превращение X<sub>2</sub>-фрагмента в отсутствие ингибиторов происходило в течение 30 мин обработки плазмином. L-аргинин в

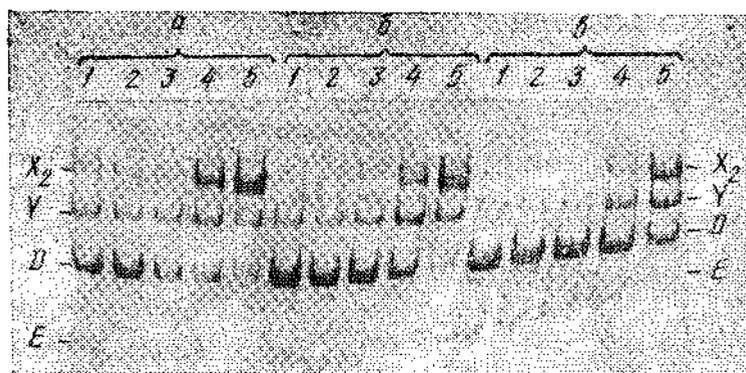


Рис. 4. Электрофореграммы гидролизатов, полученных после 15 (а), 30 (б) и 60 мин (в) обработки X<sub>2</sub>-фрагментов Lys<sub>77</sub>-плазмином в отсутствие ингибиторов (1); в присутствии 1 мМ (2) и 10 мМ (3) L-аргинина, а также 1 мМ (4) и 10 мМ (5) 6-АГК

концентрациях 1 и 10 мМ не оказывал влияния на протеолиз этого фрагмента: в гидролизатах присутствовали те же продукты, что и в контрольном варианте. Расщепление X<sub>2</sub>-фрагмента заметно тормозилось 1 мМ 6-АГК. С увеличением концентрации 6-АГК до 10 мМ ингибирующий эффект усиливался: даже за 60 мин гидролиза X<sub>2</sub>-фрагмент расщеплялся неполностью.

Мы попытались также использовать изолированный К4 плазминогена в качестве ингибитора плазмينا. Предполагалось, что К4 должен тормозить гидролиз вследствие конкуренции с соответствующим доменом плазмينا за комплементарные центры субстрата. На рис. 5 представлены электрофореграммы гидролизатов, полученных за 15, 30 и 60 мин обработки X<sub>2</sub>-фрагмента плазмином в отсутствие и в присутствии

180 мкМ К4. Можно видеть, что по сравнению с вариантом в отсутствие ингибитора К4 резко тормозил превращение X<sub>2</sub>- в Y-фрагмент. Таким образом, данные по изучению гидролиза изолированного X<sub>2</sub>-фрагмента полностью подтверждают наше предположение о ведущей роли К4 плазмина на втором этапе гидролиза фибриногена. Кроме того, поскольку в условиях насыщения К1 и К5 аргинином скорость расщепления изолированного X<sub>2</sub>-фрагмента плазмином не менялась, представляется возможным, что роль этих участков в гидролизе X<sub>2</sub> незначительна.

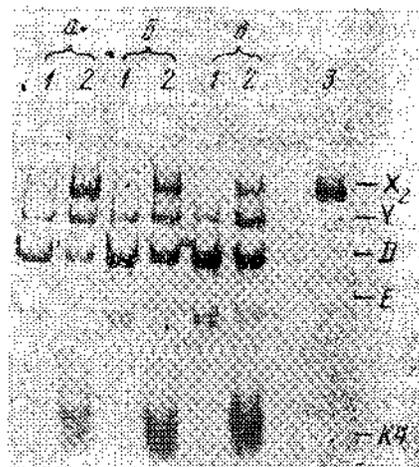


Рис. 5. Электрофореграммы гидролизатов, полученных после 15 (а), 30 (б) и 60 мин (в) обработки X<sub>2</sub>-фрагментов Lys<sup>77</sup>-плазмином в отсутствие К4 (1); в присутствии 180 мкМ К4 (2); 3 — исходный препарат X<sub>2</sub>

Исходя из вышеизложенного и данных литературы можно сделать следующие предположения относительно механизма ингибирования 6-АГК и L-аргинином начальных этапов фибринолиза. Вероятно, оба соединения подавляют первый этап, связанный с превращением

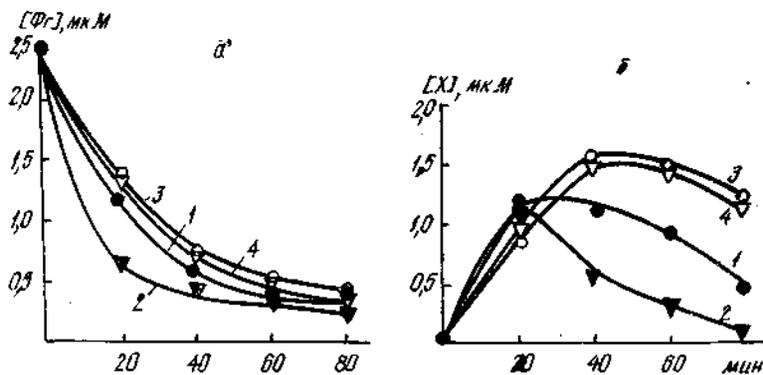


Рис. 6. Кинетика гидролиза фибриногена (молекулярная масса 340000) (а), а также появления и гидролиза фракции X-фрагментов (молекулярная масса 290000) (б) в отсутствие (1) и присутствии тромбина (2); в — в присутствии 1 мМ 6-АГК и в отсутствие тромбина (3) и в присутствии 1 мМ 6-АГК и тромбина (4). Условия реакции даны в разделе «Материалы и методы»

фибриногена в X-фрагменты. При этом их действие направлено на участки К1 и К5 плазмينا. Константы диссоциации комплексов этих участков с 6-АГК и аргинином близки [5], что, по-видимому, определяет одинаковое по величине влияние их на первый этап реакции. На втором этапе гидролиза, при расщеплении X-фрагментов, 6-АГК оказывала на плазмин больший тормозящий эффект, чем на первом этапе, что проявлялось в накоплении X-фрагментов в среде реакции. Действие 6-АГК в этом случае было направлено на К4. Эффект аргинина в данном случае не проявлялся, поскольку К4 характеризуется низким сродством к этому лиганду [5], а участки, расположенные в К1 и К5, утрачивали ведущую роль на этом этапе реакции.

Мы исследовали также влияние 6-АГК на кинетику фрагментации фибриногена, обработанного тромбином (фибрина), и его X-фрагментов (рис. 6, а, б). В присутствии тромбина в пробах образовывались

фибриновые сгустки. Параллельно (с сохранением тех же условий) готовили пробы, не содержащие тромбина. Исчезновение фибрина (а) и его X-фрагментов (б) проходило быстрее, чем в случае гидролиза фибриногена, хотя скорости этих процессов были сопоставимы. Разница в скоростях фибринолиза и фибриногенолиза определялась, очевидно, на первом этапе гидролиза при расщеплении фибрина или фибриногена. Тем не менее, характер влияния 1 мМ 6-АГК на второй этап фибринолиза был аналогичен таковому при расщеплении фибриногена: в обоих случаях наблюдалось накопление X-фрагментов в реакционной среде.

Показано, что для разрушения структуры фибринового сгустка является важным участие К4 и К5 плазмина [8]. Полученные нами результаты позволяют уточнить, что участие К5 может реализовываться на первом этапе гидролиза (при расщеплении фибрин(оген)а), а К4 — на втором (при расщеплении X-фрагментов). Эти выводы хорошо согласуются с данными Свенсон по связыванию плазминогена с фибрином и X-фрагментами [17, 18].

Автор выражает благодарность проф. С. А. Кудинову, Т. В. Гриненко и С. И. Андрианову за помощь, оказанную в работе.

*Е. М. Золотарьова*

#### ВИВЧЕННЯ РОЛІ ЛІЗИН- І АРГІНІЛ-ЗВ'ЯЗУЮЧИХ ДІЛЯНОК ПЛАЗМІНУ НА ПОЧАТКОВИХ ЕТАПАХ ГІДРОЛІЗУ ФІБРИН(ОГЕН)У

##### Резюме

Вивчали вплив 6-аміногексанової кислоти (6-АГК) і L-аргініну на швидкості початкових етапів гідролізу фібрина(оген)у Lys<sub>77</sub>-, Val<sub>44</sub>- і Lys<sub>530</sub>-плазміном. Показано, що 6-АГК у концентраціях, насичуючих ділянки зв'язування важкого ланцюга плазміну, дужче гальмувала другий етап реакції (гідроліз X-фрагментів), ніж перший (гідроліз фібріну). Вплив аргініну у концентраціях, насичуючих ділянки зв'язування кринглів 1 і 5, на першому етапі був таким самим, як і 6-АГК, а на другому етапі не виявлявся. Зроблено припущення про те, що до взаємодії ферменту з субстратом на першому етапі залучено крингли 5 і 1, а на другому — крингл 4.

*Е. N. Zolotareva*

#### STUDING OF ROLE SITE PLASMIN FOR RELATION WITH LYSINE AND ARGININE ON EARLY STAGES FIBRIN(OGEN) HYDROLYSIS

##### Summary

The effect of 6-aminohexane acid (6-AHA) and L-arginine on the rates of early stages of fibrinogen hydrolysis by Lys<sub>77</sub>-plasmin, Val<sub>44</sub>-plasmin and Lys<sub>530</sub>-plasmin were studied. It was shown that 6-AHA on the second reaction stage (hydrolysis of X) in the concentrations saturating the site, of plasmin heavy chain had a strong inhibiting influence even more stronger than a the first stage (hydrolysis of fibrinogen). Effect of arginine and 6-AHA on the first stage hydrolysis was identical. Arginine effect on the second stage failed to be observed while its concentration were effecting kringle 1 and 5. It was suggested the enzyme interaction with substrate took place on the first stage of hydrolysis under kringles 5 and 1 participation on second stage — under kringle 4 participation.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Marcus G., Pasquale Y. L., Wissler M. Quantitative determination of the binding of epsilon-amino capronic acid to native plasminogen // J. Biol. Chem.—1978.—253, N 3.—P. 727—732.
2. Trexler M., Wadi Z., Patti L. Structure of the ω-aminocarboxylic acid-binding sites of human plasminogen // Ibid.—1982.—257, N 3.—P. 7401—7406.
3. Winn W. S., Hu S. P., Hoshchswender S. M., Laursen R. A. Studies of the lysine-binding sites of human plasminogen // Eur. J. Biochem.—1980.—104, N 2.—P. 579—586.

4. Verevka S. V., Kudinov S. A., Grinenko T. V. Arginyl-binding sites of human plasminogen // *Tromb. Res.*—1986.—41, N 5.—P. 689—698.
5. Мацука Ю. В. Локализация и структурная характеристика лизинсвязывающих участков молекулы плазминогена: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—Киев, 1989.—17 с.
6. Ney K. A., Pizzo S. V. Fibrinolysis and fibrinogenolysis by Val<sub>442</sub>-plasmin // *Biochim. et biophys. acta.*—1982.—708, N 2.—P. 218—224.
7. Morris I. R., Castellino F. J. The role of the lysine binding sites of human plasmin in the hydrolysis of human fibrinogen // *Ibid.*—1983.—744, N 1.—P. 99—104.
8. Андрианов С. И., Макогоненко Е. М., Кудинов С. А. Роль кринглов К4 и К5 тяжелой цепи плазмина в разрушении структуры фибринового сгустка // *Укр. биохим. журн.*—1992.—64, № 2.—С. 31—38.
9. Гриненко Т. В., Третьяченко В. Г., Кудинов С. А., Медведь Л. В. Плазминоген-связывающие центры молекулы фибриногена, фибрина и продуктов их протеолиза // *Биохимия.*—1987.—52, № 10.—С. 1732—1739.
10. Deutch D., Merz S. Plasminogen purification from human plasma by affinity chromatography // *Science.*—1970.—170, N 3962.—P. 191—209.
11. Robbins K., Summaria L. Human plasminogen and plasmin // *Meth. Enzymol.*—1970.—19.—P. 184—186.
12. Варецька Т. В. Мікрогетерогенність фібриногену. Кріофібриноген // *Укр. біохім. журн.*—1960.—32, № 1.—С. 13—24.
13. McConehey P., Duxan F. Radioiodation of proteins by the use of the chloramine-T method // *Meth. Enzymol.*—1980.—70.—P. 210—213.
14. Medved L. V., Gorkun O. V., Privalov P. L. Structural organisation of C-terminal parts of fibrinogen A $\alpha$ -chains // *FEBS Lett.*—1983.—160, N 1, 2.—P. 291—295.
15. Fainbraks G., Steck Th., Wallach D. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of human erythrocyte membrane // *Biochemistry*—1971—10, N 13—P 2606—2617.
16. Мацука Ю. В., Новохатний В. В., Кудинов С. А. Два класса лизин-связывающих участков молекулы плазминогена // *Укр. биохим. журн.*—1990.—62, № 2.—С. 83—85.
17. Svenson E., Petersen L. C. Exact temporal correlation of the rapid phase of tPA catalysed plasminogen (Plg) activation during fibrinolysis, with Plg binding to the D-D-E-domains of fragment X-polymers // *Fibrinolysis.*—1989.—3, N 1.—P. 17.
18. Svenson E., Koek T., Petersen L. C. Functional binding of plasminogen to fibrin fragment X-polymer-involves simultaneous binding of high-affinity and kringle 5 lysine-binding sites // *Ibid.*—1990.—4, N 3.—P. 99.

Ин-т биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев

Получено 04.01.95