

УДК 541.49:546.732/3:547.496.2

О.В. ГУДЗЕНКО, к. б. н., ст. наук. співроб., ст. дослідник,
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна
e-mail: alena.gudzenko81@gmail.com
ORCID 0000-0002-6103-6109

Л.Д. ВАРБАНЕЦЬ, д. б. н., проф., зав. відділу,
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна
e-mail: varbanets_imv@ukr.net
ORCID 0009-0000-1172-4088

В.О. ІВАНИЦЯ, д. б. н., проф., чл.-кор. НАН України, проректор,
Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65029, Україна
e-mail: v_ivanit@ukr.net
ORCID 0000-0001-5325-3800

ФІБРИНОГЕНОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ *BACILLUS* *licheniformis* IMB B-8008, ВИДІЛЕНОГО З ДОННИХ ОСАДІВ ЧОРНОГО МОРЯ

Встановлено, що *Bacillus licheniformis* IMB B-8008, ізольований з донних осадів Чорного моря, синтезує протеазу, яка проявляє високу фібриногенолітичну активність, починаючи з третьої доби культивування. Показано, що суттєвий вплив на активність досліджуваного фермента має температура вирощування. Супернатант культуральної рідини *B. licheniformis* IMB B-8008 розщеплює не лише фібриноген, фібрин, еластин, а також казеїн та колаген. Очищений ензимний препарат з фібриногенолітичною активністю має рН-оптимум 10,0 і термооптимум 50 °С. Його молекулярна маса становить близько 24 кДа, питома активність — 335,4 од/мг білка.

Ключові слова: *Bacillus licheniformis*, донні осади Чорного моря, фібриногенолітична активність, рН-оптимум, термооптимум, молекулярна маса, питома активність.

Світовий океан є джерелом біологічно активних сполук з високим біотехнологічним потенціалом. Екстремальні та специфічні умови морського середовища зумовили еволюційну адаптацію гідробіонтів, що виражається у синтезі унікальних ферментів з різноманітною субстратною специфічністю. Такі ензими характеризуються термостабільністю,

Ц и т у в а н н я: Гудзенко О.В., Варбанець Л.Д., Іваниця В.О. Фібриногенолітична активність *Bacillus licheniformis* IMB B-8008, виділеного з донних осадів Чорного моря. *Гідробіол. журн.* 2026. Т. 62, № 5. С. 58—70.

галорезистентністю та активністю за низьких температур, що відкриває широкі перспективи для їх застосування у промисловій біотехнології та сучасній біомедицині [9, 16]. На сьогодні морські організми визнані важливим ресурсом для ензимології. З них виділено низку ферментів, що проявляють антимікробну, колагенолітичну та альгінатну активність [7—9, 16]. Окрему увагу привертають протеази, здатні до специфічного гідролізу таких білків крові, як фібриноген і фібрин [6, 11—15]. Їх ідентифікують як у представників морської фауни (*Annelida*, *Echinodermata*), так і в мікроорганізмах [8—21].

Попри значні успіхи з вивчення організмів, які мешкають у товщі води, поза увагою дослідників тривалий час залишалася мікрофлора бентосних біотопів. Донні відкладення є ключовим абіотичним компонентом водних екосистем, де концентрується основна маса органічної речовини та формуються складні мікробні консорціуми. Як невід’ємна ланка гідробіоценозу, бентосні мікроорганізми відіграють вирішальну роль у трансформації речовини та енергії, виступаючи головними деструкторами високомолекулярних полімерів. В умовах антропогенного навантаження та евтрофікації водойм ферментативна активність гідробіонтів-деструкторів визначає інтенсивність процесів самоочищення та кругообігу азотовмісних сполук. Особливий інтерес становить мікрофлора донних осадів Чорного моря, де в умовах специфічного гідрохімічного режиму формуються адаптовані спільноти з унікальними властивостями. До таких об’єктів належать бактерії роду *Bacillus*, здатні до синтезу фібриногенолітичних протеаз [3—5, 7, 9, 19, 21, 22], які завдяки високій тромболітичній активності та безпеці можуть виступати природною альтернативою синтетичним препаратам. Раніше [9] нами було ідентифіковано штам *Bacillus licheniformis* IMB B-8008, виділений із донних осадів Чорного моря, здатний до ефективної деструкції еластину.

Метою даної роботи було дослідити здатність *B. licheniformis* IMB B-8008 до синтезу протеази з фібриногенолітичною дією і визначити деякі її фізико-хімічні властивості.

Матеріал і методика досліджень

Об’єктом дослідження був штам *B. licheniformis* IMB B-8008, ізольований з донних осадів Чорного моря. Для дослідження динаміки фібриногенолітичної активності та її накопичення в якості базового використовували середовище такого складу (г/дм³): KH_2PO_4 — 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,75; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,25; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,5; мальтоза — 1,0; желатин — 10,0; дріжджовий автолізат — 0,15, pH 7,0.

Культуру *B. licheniformis* IMB B-8008 вирощували у глибинних умовах за температури 28 °C у колбах Ерленмейєра (750 см³), які містили 100 см³ живильного середовища. Біомасу відділяли центрифугуванням при 5000 g протягом 45 хв, потім в супернатанті культуральної рідини визначали протеолітичну активність. Для одержання очищеного ензиму до супернатанта культуральної рідини додавали суху сіль сульфату амонію до кінцевої концентрації 90% насичення. Суміш витримували 12—16 год за

температури 4 °С і центрифугували в тих же умовах. Осад збирали, розчиняли у трикратному об'ємі 3 М сульфату амонію. Для подальшої очистки застосовували методи гель-фільтрації та іонообмінної хроматографії. Гель-фільтрацію проводили на колонці (2,5×90 см) з нейтральним TSK-гелем — Toyopearl HW-65F (Toyo Soda, Японія), врівноважений 0,01 М Трис-НCl буфером до рН 7,8. Осад, отриманий в результаті фракціонування сульфатом амонію, розчиняли в 1,5 об'ємах 0,01 М Трис-НCl рН 7,8. Зразок наносили на колонку, елюювали тим же буфером зі швидкістю 90 мл/год. Фракції, які виявляли фібриногенолітичну активність, збирали, об'єднували та концентрували ($\approx$ в 5 разів) упарюванням під вакуумом. Отримані зразки наносили на колонку (3×35 см) з Fractogel DEAE-650-M (Merck, Німеччина), врівноважену 0,01 М Трис-НCl буфером до рН 7,8. Елюцію проводили в лінійному градієнті NaCl (0—1 М, по 200 мл) зі швидкістю 24 мл/год.

Фібриногенолітичну активність визначали колориметрично [1]. За одиницю активності приймали таку кількість ензиму, яка каталізує гідроліз 1 мг фібриногену за 1 хв.

Вміст білка на всіх етапах дослідження реєстрували на спектрофотометрі СФ-26 при 280 нм, його кількість визначали за методом [1]. Інтенсивність забарвлення проб вимірювали при довжині хвилі 750 нм. Як стандарт використовували бичачий сироватковий альбумін.

Для дослідження впливу температури культивування на фібриногенолітичну активність штам *B. licheniformis* IMB B-8008 вирощували за температури 16, 28, 37 і 42 °С.

Визначення молекулярної маси ензиму у нативній системі проводили за допомогою гель-фільтрації на колонці (1,3×50 см) з Sepharose 6B. Вільний об'єм колонки, який був встановлений із застосуванням блакитного декстрану 2000, становив 20 мл. Колонку було врівноважено 0,01 М Трис-НCl буфером до рН 7,8. На колонку наносили 1 мл розчину ензиму (10 мг), збільшивши попередню густину розчину додаванням сахарози в кінцевій концентрації 0,5 М. Елюцію проводили тим же буфером з 0,1 М NaCl. Швидкість елюції — 0,2 мл/хв. Калібрувальну криву для розрахунку молекулярної маси будували за допомогою білків-маркерів (Pharmacia, Швеція): рибонуклеази (13,7 кДа), протеїнази К (25,0 кДа), овальбуміну курячого (43,0 кДа), бичачого сироваткового альбуміну (67,0 кДа).

Дослідження впливу температури та кислотності середовища проводили в інтервалі температур від 4 до 70 °С та рН від 2,0 до 12,0, останній створювали 0,01М універсальним фосфатним буфером (УФБ).

Термостабільність препаратів визначали за температури 37 °С (експозиція 90 хв), рН-стабільність — при показниках рН середовища 7,0, 8,0 та 9,0 (експозиція 120 хв). Після вичерпання часу дії на ензим відповідного фактору відбирали аліквоти по 0,5 мл і визначали активність, як описано вище.

Усі досліди проводили в 5—7 повторностях. Для проведення статистичного аналізу використовували *t*-критерій Стьюдента. Дані представляли як середнє $\pm$ стандартна помилка ($M \pm m$) і вважали значущими при

$p < 0,05$. Результати представлені у вигляді графіків, оброблених за допомогою Microsoft Excel 2007.

Результати досліджень

В супернатанті культуральної рідини (СКР) *B. licheniformis* IMB B-8008 було виявлено доволі широкий спектр протеолітичної активності, а саме: фібриногенолітичну, фібринолітичну, еластолітичну, казеїнолітичну та колагеназну (табл. 1). Оскільки штам проявив високу еластолітичну та фібриногенолітичну активність, які перевищували показники відомих в світі продуцентів, отримані нами результати були захищені патентами України на винахід [2, 3], а щодо еластазної активності — викладені у статті [9]. Тому в цій статті наведено результати досліджень тільки щодо фібриногенолітичної активності.

Вивчення в динаміці культивування *B. licheniformis* IMB B-8008 позаклітинної фібриногенолітичної активності показало, що максимальне значення відмічається на третю добу (рис. 1). Починаючи з четвертої доби вирощування відмічали поступове зниження фібриногенолітичної активності.

Суттєвий вплив на активність ензимів мав такий параметр культивування продуцента, як температура. Найбільша фібриногенолітична активність в супернатанті культуральної рідини *B. licheniformis* IMB B-8008 відмічалася за температури 28 °C (рис. 2).

Наступним етапом досліджень було підібрати умови для одержання очищеного препарату протеази з фібриногенолітичною активністю, насамперед відділити його від еластази. Для цього було застосовано комплекс класичних біохімічних методів, включно з висолюванням сульфатом амонію (табл. 2), який незначною мірою підвищує активність, але дає можливість сконцентрувати препарат для подальшої очистки.

Так, в результаті гель-фільтрації 90% висолу сульфатом амонію на TSK-HW-65F було отримано дві фракції. В першій визначалася фібриногенолітична активність, а в другій — еластолітична (рис. 3). Це дало змогу підвищити активність фібриногенази в 15 разів порівняно з вихідною (129 од/мг білка, табл. 2) і позбавитися протеази з еластолітичною активністю.

Таблиця 1
Спектр протеолітичної активності в СКР *B. licheniformis* IMB B-8008

Активність	Показники активності, од/мд
Фібриногенолітична	8,6
Фібринолітична	4,2
Еластолітична	35
Колагенолітична	5
Казеїнолітична	1,35

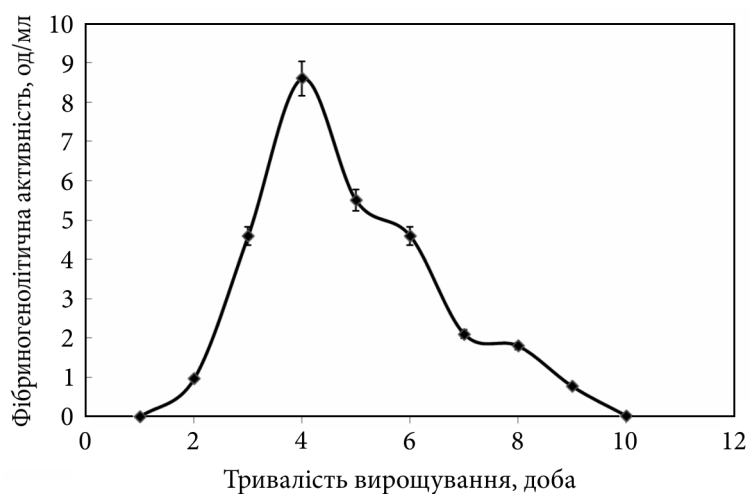


Рис. 1. Фібриногенолітична активність в динаміці вирощування *B. licheniformis* IMB B-8008

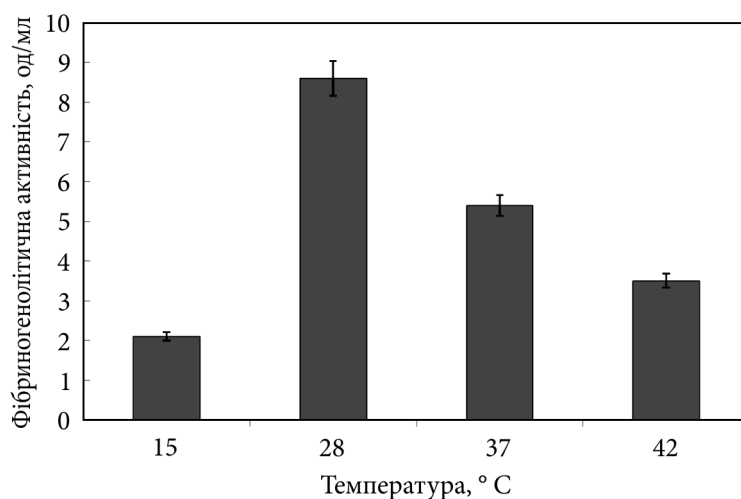


Рис. 2. Вплив температури культивування на фібриногенолітичну активність *B. licheniformis* IMB B-8008

Подальша очистка фракції 1 іонообмінною хроматографією на Frac-togel DEAE-TSK-650M з використанням градієнту NaCl (0—1 M) (рис. 4) призвела до значного підвищення питомої активності — до 335,4 од/мг білка, що в 39 разів вище від вихідної активності. Вихід очищеного ензи-му становив 1,12 %.

Гомогенність виділеного препарату з фібриногенолітичною актив-ністю була підтверджена гел-фільтрацією на колонці з Sepharose 6B і встановлена його молекулярна маса (рис. 5), яка становила близько 24 кДа.

Таблиця 2

Основні етапи очистки ензимного препарату *B. licheniformis* IMB B-8008

Стадії очистки	Загальний вміст білка, мг	Загальна активність, од	Вихід, %	Питома активність, од/мг білка	Ступінь очистки
Супернатант культуральної рідини	2500	175000	100	8,6	—
Осадження 90% сульфатом амонію	1220	92025	48,8	12,5	1,5
Гель-фільтрація на Toyopearl HW-65F	379,8	48994,2	15,192	129	15
Аніонообмінна хроматографія на Frac-togel DEAE-650M	28	9391,2	1,12	335,4	39

Гомогенність препарату підтверджується і даними щодо відсутності специфічності до еластину, казеїну і колагену (табл. 3). Що стосується специфічності до фібрину, то вона в 3,5 раза менше, ніж до фібриногену, і, як показали дослідники [7, 8], в одному ензимі специфічність до фібрину дуже часто корелює зі специфічністю до фібриногену.

Важливою характеристикою будь-яких ензимних препаратів є оптимальні параметри їхньої дії, зокрема рН і температура. Встановлено, що очищений ензимний препарат фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008 активний в досить широкому інтервалі рН — від 6,0 до 12,0, з оптимумом при 10,0 (рис. 6), а також в діапазоні значень температури від 4 до 70 °С, з термооптимумом при 50 °С (рис. 7). Фібриногеназа стабільна в діапазоні досліджених температур протягом 30 хв (рис. 8).

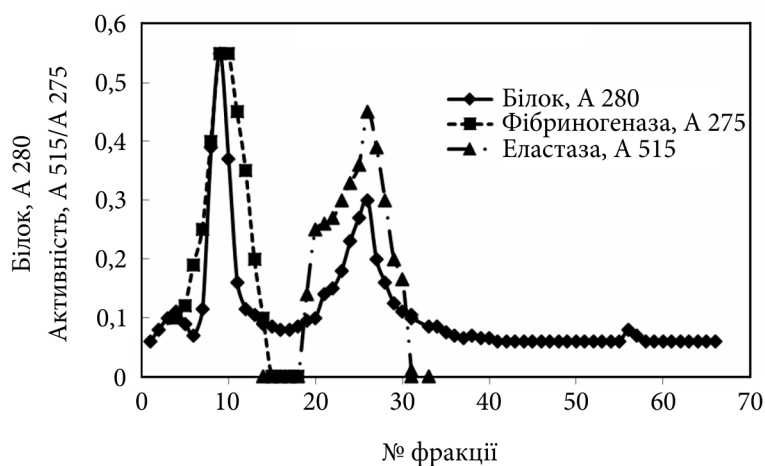


Рис. 3. Профіль елюції на TSK-HW-65F ензимного препарату *B. licheniformis* IMB B-8008

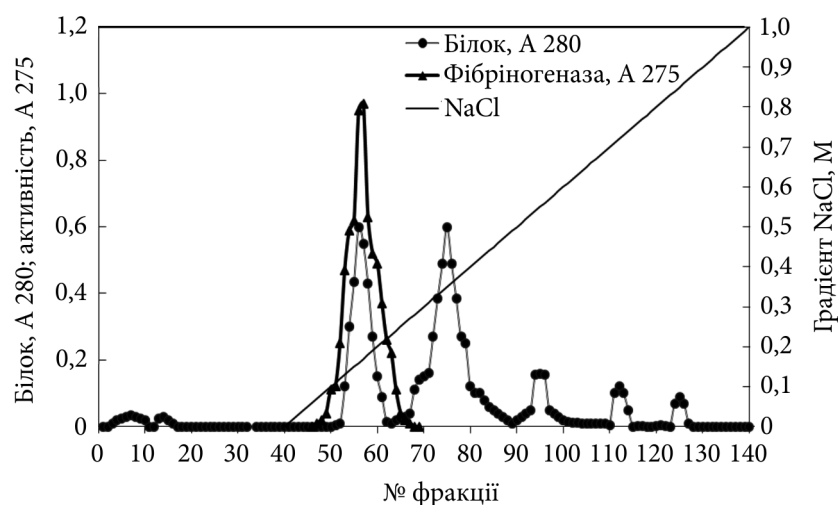


Рис. 4. Профiль елюції ензимного препарату *B. licheniformis* IMB B-8008 на Fractogel DEAE-650-M в градієнті NaCl (0—1 М)

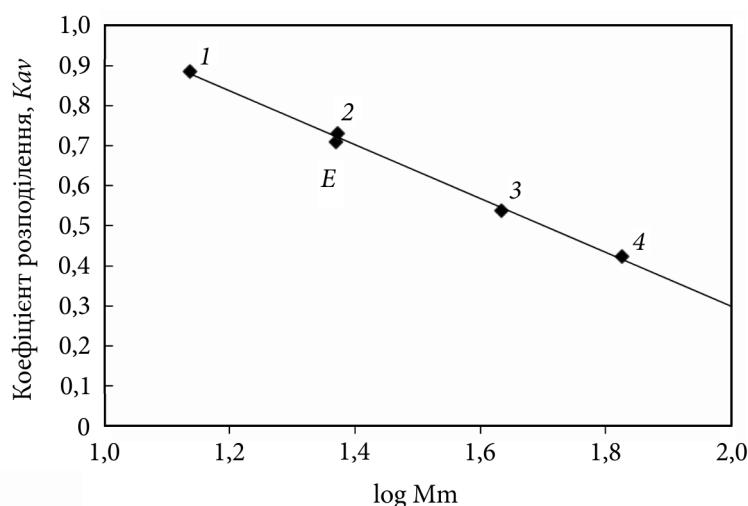


Рис. 5. Молекулярна маса фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008 у нативній системі. Маркери молекулярних мас: 1 — рибонуклеаза (13,7 кДа); 2 — протеїназа К (25 кДа); 3 — овальбумін курячий (43 кДа); 4 — бичачий сироватковий альбумін (67 кДа); E — ензимний препарат *Bacillus licheniformis* IMB B-8008

Вивчення рН-стабільності (рис. 9) доводить, що ензим при температурі 30 °С і рН 9,0 та 10,0 на 100%, а при рН 11,0 — на 80—90 % зберігає активність протягом 90 хв.

Отже, показано, що *B. licheniformis* IMB B-8008 синтезує протеазу, яка проявляє високу фібриногенолітичну активність на третю добу культивування. Встановлено, що температура вирощування суттєво впливає на фібриногенолітичну активність. Визначено молекулярну масу отриманого очищеного ензимного препарату: вона становить близько 24 кДа. Тем-

Таблиця 3

Субстратна специфічність фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008

Субстрати	Показники активності, од/мл білка
Фібриноген	335,4
Фібрин	95,83
Еластин	0
Колаген	0
Казеїн	0,12

пература 50°C і рН 10,0 є оптимальними для гідролізу фібриногену *B. licheniformis* IMB B-8008, питома активність 335,4 од/мг білка.

Обговорення результатів досліджень

Фібриногенолітична активність у мікроорганізмів зустрічається досить рідко. На сьогодні описані поодинокі штами з фібриногенолітичною активністю у *Bacillus thuringiensis* IMB B-7324, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. velezensis* [4, 5, 7, 21]. В СКР *B. licheniformis* IMB B-8008 визначено протеолітичну активність зі специфічністю до фібриногену, фібрину, еластину, казеїну та колагену. Використання класичних методів білкової хімії, таких як висолювання сульфатом амонію, гель-фільтрація та іонообмінна хроматографія, дозволило отримати очищений препарат фібриногенолітичного ферменту та підвищити його активність в 39 раз порівняно з вихідною. Молекулярна маса очищеного ферменту *B. licheniformis* IMB B-8008 становить близько 24 кДа, що можна порівняти з молекулярною масою фібринолітичних ферментів (18—38 кДа), виділених з інших видів *Bacillus* [12]. Так, молекулярна маса велефібринази була нижчою, ніж у

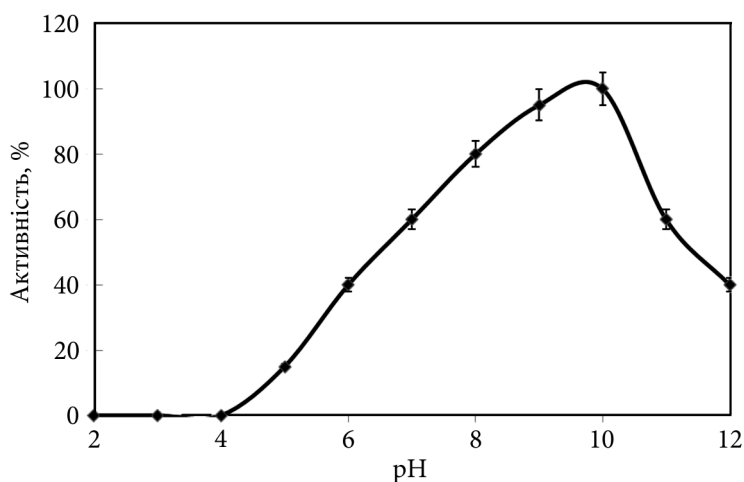


Рис. 6. pH-оптимум дії фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008

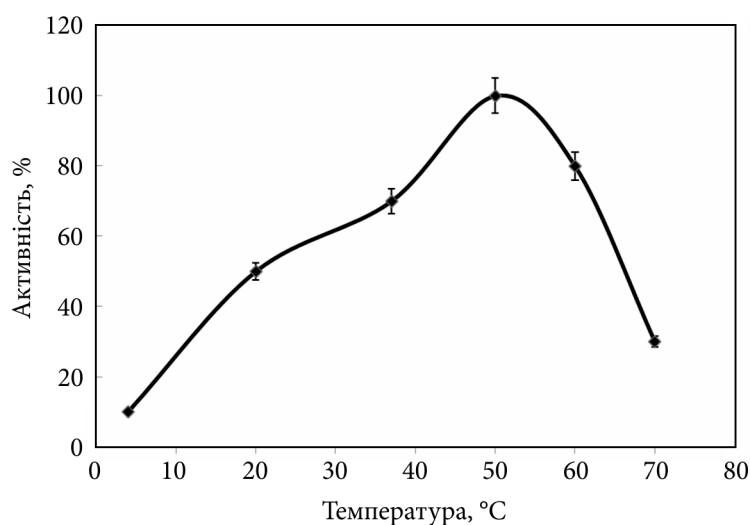


Рис. 7. Термооптимум дії фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008

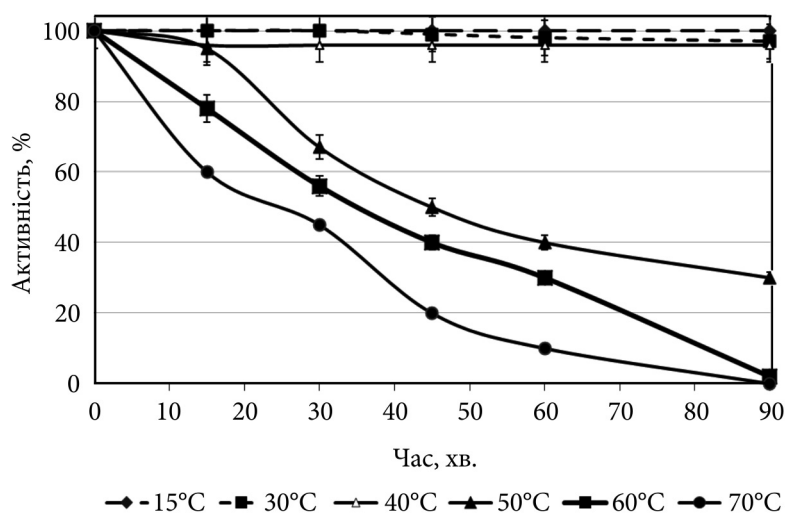


Рис. 8. Термостабільність фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008

багатьох інших фібринолітичних ферментів, таких як брєвітромболаза (56 кДа) [14] та руселобін (51,3 кДа) [21], але також вищою, ніж у кількох фібринолітичних ферментів, таких як РАІЕМ (14,9 кДа) [6] та С142 (23,5 кДа) [7]. Низька молекулярна маса фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008 може свідчити про компактну структуру ензиму, що часто корелює з його високою стабільністю у водних екосистемах.

Порівняльний аналіз фізико-хімічних властивостей показав, що досліджений штам має виражену адаптацію до лужних умов та підвищеної

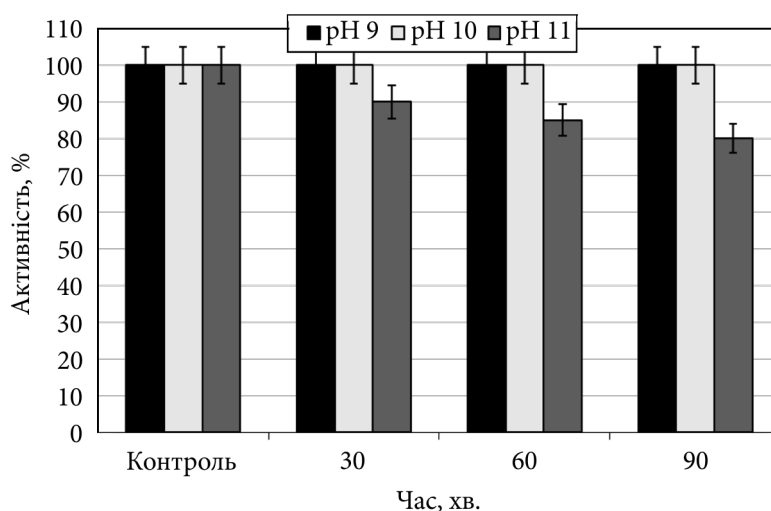


Рис. 9. pH-стабільність фібриногенази *B. licheniformis* IMB B-8008

температури. Оптимальними параметрами для гідролізу фібриногену ензимом *B. licheniformis* IMB B-8008 є pH 10,0 та температура 50 °C. Це свідчить про більш виражену термо- та алкалостабільність порівняно з фібринолітиками наземного походження. Наприклад, оптимальна температура для фібринолітичного ферменту штаму *Bacillus amyloliquefaciens* GUTU06 становить 45 °C, а для комерційних препаратів, таких як урокіназа та люмброкіназа — лише 20—37 °C [19]. Схожі характеристики (pH 9,0 і 50 °C) продемонстрував фермент FELP, що підтверджує загальну тенденцію до підвищеної резистентності протеаз морських гідробіонтів. Велефібриназа зберігала фібринолітичну активність у широкому діапазоні значень pH та температури, з оптимальним pH 7,0 та температурою 40 °C, що відповідає фізіологічному середовищу людського організму. Фібринолітичні ферменти *Streptomyces radiopugnans* VITSD8 [8] і *Serratia marcescens* [13], що походять з морського середовища, характеризуються аналогічними властивостями.

Варто зазначити, що пік накопичення фібриногенолітичної активності у *B. licheniformis* IMB B-8008 спостерігається на третю добу культивування. Температурний режим вирощування суттєво впливає на біосинтетичні можливості штаму, що характерно для мікроорганізмів, ізолюваних із донних осадов, де температурні коливання є важливим регуляторним чинником метаболізму. Висока активність при pH 10,0 відрізняє фермент дослідженого штаму від багатьох інших бацил, таких як *B. toyovensis* (pH 6,0) або *B. subtilis* NatГН9 (pH 8,0). Здатність ферменту зберігати стабільність у лужному діапазоні вказує на його придатність не лише для біомедичних цілей, а й для промислового застосування, де процеси часто відбуваються за екстремальних значень pH. На відміну від ферментів, активність яких різко падає при відхиленні від нейтральних

значень через руйнування третинної структури [10], фібриногеназа *B. licheniformis* IMB B-8008 демонструє значну стійкість каталітичного центру, тому викликає особливий науковий і практичний інтерес. Протеази з фібриногенолітичною активністю високоспецифічно гідролізують С-кінцеві ділянки молекули фібриногену, відщеплюючи від його А α -, В β -ланцюгів фрагменти різної величини. У більшості випадків внаслідок такої дії формуються 250 кДа Х-фрагменти фібриногену, які не полімеризуються під дією тромбіну. Вивчаючи функціонування окремих фрагментів молекули, можна зробити висновок щодо значення окремих її ділянок у протеїн-протеїнових та протеїн-клітинних взаємодіях [1, 6]. Крім того, фібриногенолітичний фермент *B. licheniformis* IMB B-8008: а) може бути використаний при вивченні процесів полімеризації фібриногену/фібрину; б) може розглядатися як основа для створення лікарських засобів, спрямованих на зменшення загрози внутрішньосудинного тромбоутворення шляхом обмеженого протеолізу фібриногену, що циркулює у кровотоці пацієнта; в) може входити до складу препаратів, які запобігають згортанню крові та знижують артеріальний тиск. Антикоагуляційний ефект протеази підсилюється й тим, що значна частина цих ензимів впливає також на тромбоцитарну ланку системи гемостазу, інгібуючи агрегацію тромбоцитів [19, 20].

Унікальність біохімічних властивостей досліджуваного мікроорганізму та його ферментного комплексу підтверджена отриманням двох патентів України на винахід [2, 3]. Зокрема, задекларовано спроможність штаму виступати активним продуцентом ферментів зі специфічністю не тільки до фібриногену, а й фібрину та еластину, що є рідкісною та цінною властивістю для протеаз мікробного походження. Такі характеристики штаму, виділеного з донних осадів, вказують на його високий адаптивний потенціал у деструкції складних білкових агрегатів у природних гідроеко-системах.

Висновки

Встановлено, що активність позаклітинної фібриногенази *Bacillus licheniformis* IMB B-8008 суттєво залежить від терміну культивування та температурного режиму. В супернатанті культуральної рідини (СКР) відмічали широкий спектр субстратної специфічності (фібриноgeno-, фібрино-, еласто-, казеїно- та колагенолітична активність). Показано, що молекулярна маса очищеного ензимного препарату становить близько 24 кДа, рН-оптимум — 10,0, термооптимум — 50 °С, питома активність — 335,4 од/мг білка. Висока ферментативна активність та стабільність у лужному середовищі роблять досліджувану фібриногеназу перспективною для використання в біотехнології та медицині як ефективного агента для розщеплення фібриногену.

Список використаної літератури

1. Варбанець Л.Д., Мацелюх Е.В. Пептидазы микроорганизмов и методы их исследования. Киев: Наук. думка, 2014. 323 с.

2. Гудзенко О.В., Іваниця В. О., Підгорський В.С. та ін. Штам *Bacillus licheniformis* IMV B-8008 — продуцент позаклітинної еластази. Патент на винахід. Бюл. № 47. 26.11.2024.
3. Іваниця В. О., Гудзенко О.В., Підгорський В.С. та ін. Штам *Bacillus licheniformis* IMV B-8008 — продуцент позаклітинної протеїнази з фібриногенолітичною активністю. Патент на винахід. Бюл. № 14. 09.04.2026.
4. Нідялкова Н.А., Мацелюх О.В., Варбанець Л.Д. Оптимізація середовища для синтезу фібриногенолітичної пептидази *Bacillus thuringiensis* IMB B-7324. *Біотехнологія*. 2012. Т.5, №4. С.74-81.
5. Birolli W.G., Lima R.N., Porto A.L.M. Applications of marine-derived microorganisms and their enzymes in biocatalysis and biotransformation, the underexplored potentials. *Frontiers in microbiology*. 2019. Vol. 10. P. 1453. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01453>
6. Chernyshenko V., Platonova T., Makogonenko Y. et al. Fibrin(ogen)olytic and platelet modulating activity of a novel protease from the *Echis multisquamatis* snake venom. *Biochimie*. 2014. Vol.105. P. 76—83. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2014.06.015>
7. Choi J.H., Kim J.E., Kim S. et al. Purification and partial characterization of a low molecular fibrinolytic serine metalloprotease C142 from the culture supernatant of *Bacillus subtilis* C142. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. Vol. 104. P:724—731. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.025>
8. Dhamodharan D., Naine J.S., Keziah M.S. et al. Novel fibrinolytic protease producing *Streptomyces radiopugnans* VITSD8 from marine sponges. *Mar. drugs*. 2019; Vol. 17. P.164. <https://doi.org/10.3390/md17030164>
9. Gudzenko O.V., Varbanets L.D., Ivanytsia V.O. Elastase activity of *Bacillus licheniformis* IMV B-8008, isolated from the Black sea bottom sediments. *Hydrobiol. J.* 2025. Vol. 61, N 2. P. 82-92 <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v61.i2.70>
10. Jamali A.M., Kethamreddy M., Burkett B.J. et al. PET and SPECT Imaging of ALS: An Educational Review. *Mol Imaging*. 2023. 5864391. <https://doi.org/10.1155/2023/5864391>
11. Jiang T., Zhang B., Zhang H. et al. Purification and properties of a plasmin-like marine protease from Clamworm (*Perinereis aibuhitensis*). *Mar. Drugs*. 2024. Vol. 22, N 2. P. 68 (<https://doi.org/10.3390/md22020068>).
12. Kotb E. Activity assessment of microbial fibrinolytic enzymes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013. Vol. 97. P.:6647—6665. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5052-1>
13. Krishnamurthy A., Belur P.D. A novel fibrinolytic serine metalloprotease from the marine *Serratia marcescens* subsp. *sakuensis*: Purification and characterization. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018. Vol. 112. P:110—118. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.129>
14. Majumdar S., Sarmah B., Gogoi D. et al. Characterization, mechanism of anticoagulant action, and assessment of therapeutic potential of a fibrinolytic serine protease (Brevithrombolase) purified from *Brevibacillus brevis* strain FF02B. *Biochimie*. 2014. Vol. 103. P: 50—60. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2014.04.002>
15. Nascimento T.P., Sales A.E., Porto T.S. et al. Purification, biochemical, and structural characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Mucor subtilissimus* UCP 1262. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2017. Vol. 40. P:1209—1219. (<https://doi.org/10.1007/s00449-017-1781-3>).
16. Ramnrez-Carretero S, Miranda-Zaragoza B, Simxes N. et al. Marine bioprospecting: enzymes and stress proteins from the sea anemones *Anthopleura dowii* and *Lebrunia neglecta*. *Mar. Drugs*. 2024. Vol. 22, N 1. P.12. (<https://doi.org/10.3390/md22010012>).
17. Razzaq A., Shamsi S., Ali A. et al. Microbial proteases Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2019. Vol. 7, N 110. P. 118 <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110>
18. Singh R., Gautam P., Sharma C. et al. Fibrin and fibrinolytic enzyme cascade in thrombosis: unravelling the role. *Life* 2023. Vol. 13. P. 2196. <https://doi.org/10.3390/life131121>

19. Wu J., Lan G., He N. et al. Purification of fibrinolytic enzyme from *Bacillus amylo-liquefaciens* GUTU06 and properties of the enzyme. *Food Chem.* X. 2023. Vol. 20. P. 100896. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100896>
20. Yang H., Liu Y., Ning Y. et al. Characterization of an intracellular alkaline serine protease from *Bacillus velezensis* SW5 with fibrinolytic activity. *Curr. Microbiol.* 2020. Vol. 77. P.1610—1621 <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01977-6>
21. Zhou Y., Chen H., Yu B. et al. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme from marine *Bacillus velezensis* Z01 and assessment of Its therapeutic efficacy In vivo. *Microorganisms.* 2022. Vol. 10, N 5: P:843. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050843>

Надійшла 27.03.2026

O.V. Gudzenko, PhD (Biol.), Senior Researcher, Senior Researcher,
D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine,
Academician Zabolotny Str., 154, Kyiv, 03143, Ukraine
e-mail: alena.gudzenko81@gmail.com
ORCID 0000-0002-6103-6109

L.D. Varbanets, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Head of Department,
D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine,
Academician Zabolotny Str., 154, Kyiv, 03143, Ukraine
e-mail: varbanets_imv@ukr.net
ORCID 0009-0000-1172-4088

V.O. Ivanytsia, Dr. Sci. (Biol.), Prof., NAS Corresp. member, Vice-Rector,
I.I. Mechnikov Odesa National University,
Dvoryanska Str., 2, Odesa, 65029, Ukraine
e-mail: v_ivanit@ukr.net
ORCID 0000-0001-5325-3800

FIBRINOGENOLYTIC ACTIVITY OF *BACILLUS LICHENIFORMIS* IMV B-8008 ISOLATED FROM THE BLACK SEA BOTTOM SEDIMENTS

It was established that *Bacillus licheniformis* IMV B-8008, isolated from the bottom sediments of the Black Sea, synthesizes a protease that exhibits high fibrinogenolytic activity, starting from the third day of cultivation. It was shown that the temperature of cultivation has a significant effect on the activity of the studied enzyme. The supernatant of the culture liquid of *Bacillus licheniformis* IMV B-8008 hydrolysed not only fibrinogen, fibrin, elastin, but also casein and collagen. The purified enzyme preparation with fibrinogenolytic activity had a pH-optimum of 10.0, and a thermooptimum of 50 °C. Was molecular weight is about 24 kDa, specific activity 335.4 U/mg of protein.

Key words: *Bacillus licheniformis* IMV B-8008, bottom sediments of the Black Sea, fibrinogenolytic activity, pH, thermo-optimum, molecular weight, specific activity.