

1
НОМЕР

БОИЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

<http://www.elmag.uran.ru>



БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН



Петр I. Екатерина I
Жан-Марк Натье, 1717

2024

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© Н.В. Морозова., В.А. Гриценко, 2024

УДК. 579.61

Н.В. Морозова, В.А. Гриценко

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ZP2 НА РОСТ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАЛОЧЕК *IN VITRO*

Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

Цель. Охарактеризовать особенности влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) ZP2 на рост в жидкой питательной среде грамположительных и грамотрицательных палочек.

Материалы и методы. Опыты *in vitro* проведены на штаммах *Corynebacterium amycolatum* (n=6), выделенных ранее от здоровых лиц (влагалище), *Klebsiella pneumoniae* (n=6), выделенных от больных с хирургической патологией. В экспериментах использовали синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2, полученный на синтезаторе «Applied Biosystems 430A». Влияние разных концентраций данного пептида (0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл) на рост изученных штаммов бактерий в сердечно-мозговом бульоне (СМБ) определялось путем динамического замера оптической плотности (ОД) бактериальных культур на 0, 2, 4, 6 и 24 часах и расчета Индекса ингибирования их роста.

Результаты. Экспериментально установлено, что через 2, 4, 6 и 24 часа наблюдалось дозо-зависимое ингибирование прироста биомассы планктонной культуры всех исследуемых штаммов бактерий под влиянием различных концентраций пептида ZP2 (0,5-2,0 мкг/мл). При этом ингибирующий эффект пептида ZP2 зависел как от его концентрации в среде культивирования, так и от фазы роста бактерий. Максимальный индекс ингибирования прироста планктонной культуры *C. amycolatum* под влиянием различных концентраций пептида ZP2 наблюдалось через 24 часа и составило от 89,3 до 94,1%. У штаммов *K. pneumoniae* максимальное ингибирование роста было зафиксировано на 6 часах и составило от 80,9 до 86,9%.

Заключение. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 оказывает на рост грамположительных и грамотрицательных палочек в жидкой питательной среде ингибирующее действие, особенности которого зависят от концентрации вещества, таксономической принадлежности бактерий и фазы развития бактериальной культуры.

Ключевые слова: *Corynebacterium amycolatum*, *Klebsiella pneumoniae*, активный центр, синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2, антибактериальная активность, рост.

N.V. Morozova, V.A. Gritsenko

FEATURES OF THE INFLUENCE OF THE SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER GM-CSF – ZP2 ON THE GROWTH OF GRAM NEGATIVE AND GRAM POSITIVE ROC *IN VITRO*

Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, UB RAS), Orenburg, Russia

Aim. To study the features of the influence of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) ZP2 on the growth of gram-positive and gram-negative rods in a liquid nutrient medium.

Materials and methods. *In vitro* experiments were carried out on strains of *Corynebacte-*

rium amycolatum (n=6), previously isolated from healthy individuals (vagina), *Klebsiella pneumoniae* (n=6), isolated from patients with surgical pathology. In the experiments, we used a synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2, obtained on an Applied Biosystems 430A synthesizer. The effect of different concentrations of this peptide (0.5; 1.0 and 2.0 µg/ml) on the growth of the studied bacterial strains in brain heart broth (BMB) was determined by dynamic measurement of the optical density (OD) of bacterial cultures at 0, 2, 4, 6 and 24 hours and calculating their growth inhibition index.

Results. It was experimentally established that after 2, 4, 6 and 24 hours, a dose-dependent inhibition of the increase in biomass of the planktonic culture of all studied bacterial strains was observed under the influence of various concentrations of ZP2 (0.5-2.0 µg/ml). In this case, the inhibitory effect of the ZP2 peptide depended both on its concentration in the cultivation medium and on the phase of bacterial growth. The maximum index of growth inhibition of the planktonic culture of *C. amycolatum* under the influence of various concentrations of the ZP2 peptide was observed after 24 hours and amounted to (from 89.3 to 94.1%). In *K. pneumoniae* strains, the maximum growth inhibition was recorded at 6 hours and amounted to (from 80.9 to 86.9%).

Conclusion. The synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 has an inhibitory effect on the growth of gram-positive and gram-negative rods in a liquid nutrient medium, the features of which depend on the concentration of the substance, the taxonomic affiliation of the bacteria and the phase of development of the bacterial culture.

Key words: *Corynebacterium amycolatum*, *Klebsiella pneumoniae*, active center, synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2, antibacterial activity, growth.

Введение

По оценкам экспертов, антимикробные пептиды (АМП) являются перспективными терапевтическими агентами с антимикробными, противогрибковыми, противопаразитарными, а с недавних пор и противоопухолевыми свойствами [1]. Благодаря своей антимикробной активности АМП привлекают к себе внимание как многообещающие альтернативные «классическим» антибиотикам соединения для терапии трудно поддающихся лечению бактериальных инфекций [2, 3], что определяет перспективность их использования в качестве основы при создании новых лекарственных препаратов для клинической практики [4, 5].

Одним из интенсивно изучаемых в настоящее время антимикробных пептидов является синтетический аналог активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептид ZP2 (химическая формула – THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), который обладает относительно высокой антибактериальной активностью [6, 7].

Вместе с тем пока недостаточно изучено влияние синтетического пептида ZP2 на рост в жидкой питательной среде грамположительных и грамотрицательных палочек, принадлежащих к разным таксонам (род/вид) и отли-

чающихся друг от друга степенью патогенности.

Цель данного исследования – охарактеризовать особенности влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колонистимулирующего фактора (ГМ-КСФ) ZP2 на рост грамположительных и грамотрицательных палочек.

Материалы и методы

Опыты *in vitro* проведены на штаммах *Corynebacterium amycolatum* (n=6), выделенных ранее от здоровых женщин (влагалище), *Klebsiella pneumoniae* (n=6), выделенных от больных с хирургической патологией, которые хранятся в Сетевой коллекции симбиотических микроорганизмов и их консорциумов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН – обособленного структурного подразделения ОФИЦ УрО РАН (Оренбург, Россия). Ранее выделенные штаммы бактерий были идентифицированы с помощью масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбцией и ионизацией, и временем пролета (MALDI-TOF).

Для эксперимента штаммы выращивали на сердечно-мозговом агаре при 37°C в течение 24 часов. Исследование влияния синтетического пептида ZP2 на рост планктонной культуры исследуемых штаммов производилось согласно методике [8] с незначительными изменениями в следующем порядке: аликвоты по 25 мкл взвесей суточных агаровых культур (5×10^8 КОЕ/мл), приготовленных на изотоническом растворе NaCl, вносили в лунки 96-луночного планшета и добавляли по 200 мкл сердечно-мозгового бульона (СМБ) с пептидом ZP2 (в конечных концентрациях: 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл). Контрольные лунки содержали тестируемый штамм бактерий и СМБ без данного пептида. После инкубирования в течение 24 часов при 37°C измеряли оптическую плотность культур (ОД) при длине волны (λ) 492 нм на спектрофотометре StatFax 2100 (США). В данном исследовании ОД культур измерялась на 0 (исходный уровень), 2, 4, 6 и 24 часах инкубации.

Влияние пептида ZP2 на рост планктонной культуры исследуемых штаммов бактерий рассчитывали по формуле [8]:

$$\text{ИИ} = (\text{ОДк} - \text{ОДо}) / \text{ОДк} * 100\%,$$

где ИИ – Индекс ингибирования (%); ОДк и ОДо – оптическая плотность контроля и опыта соответственно Индекс ингибирования бактериальных популяций оценивался на 2, 4, 6 и 24 часах.

Экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики с вычислением из трёх измерений средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). О достоверности отличий между контролем и опытом судили по критерию Стьюдента – t [9].

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных экспериментов показали, что внесенный в жидкую питательную среду синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 ингибировал рост изученных изолятов *S. amycolatum*, снижая их биомассу, оцениваемую по величине оптической плотности (ОД) контрольных и опытных культур в динамике развития бактериальных популяций (рис. 1).

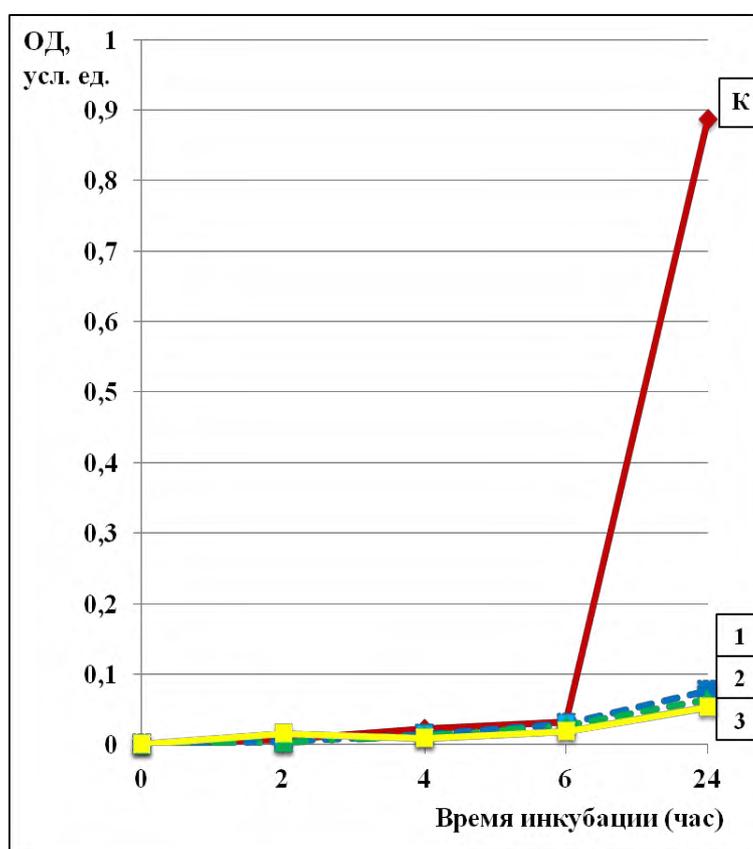


Рис. 1. Рост штаммов *S. amycolatum* в жидкой питательной среде под влиянием различных концентраций ZP2: 1 – 0,5 мкг/мл; 2 – 1,0 мкг/мл; 3 – 2,0 мкг/мл; К – контроль.

В диапазоне концентраций пептида ZP2 (0,5-2,0 мкг/мл) Индекс ингибирования роста бактерий *S. amycolatum* градиентно увеличивался через 4, 6 и 24 часа культивирования, свидетельствуя, с одной стороны, о дозозависимом эффекте влияния данного соединения на размножение *S. amycolatum*

в жидкой питательной среде, с другой стороны, о «накопительном» характере ингибирующего эффекта в процессе культивирования (табл. 1).

Таблица 1. Ингибирование роста *S. amycolatium* под влиянием различных концентраций ZP2 на разных этапах культивирования

Время культивирования (час)	Индекс ингибирования (ИИ, %) роста <i>S. amycolatium</i> при разных концентрациях пептида ZP2 в жидкой питательной среде		
	0,5 мкг/мл	1,0 мкг/мл	2,0 мкг/мл
2	7,2±1,8	7,4±1,8	2,0±0,1
4	10,5±1,5*	11,5±1,2*	15,1±1,1*
6	17,3±4,1*	18,9±1,8*	20,8±1,5*
24	89,3±1,9*	92,0±1,5*	94,1±1,8*

Примечание: достоверность отличия от ИИ на 2 часах (* - $p < 0,05$).

Оценивая влияние ZP2 на рост бактериальных культур, установлено, что через 2 часа инкубирования *S. amycolatium* в присутствии пептида ZP2 заметного снижения прироста микроорганизмов не наблюдалось. Более того, в отношении некоторых штаммов *S. amycolatium* регистрировалась слабо выраженная стимуляция роста бактерий под действием пептида ZP2 в концентрации 2,0 мкг/мл, что отражалось на снижении среднего значения ИИ до 2,0±0,1%.

Выявленное стимулирующее влияние пептида ZP2 на рост культур *S. amycolatium* на начальных этапах культивирования (до 2 часов) согласуется с ранее описанными данными М.А. Добрынина с соавт. (2015), которые касались *Staphylococcus epidermidis* №711 [10].

Максимальное угнетение прироста биомассы планктонной культуры *S. amycolatium* наблюдалось на 24 часах, и при концентрациях ZP2 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл оно соответственно составило 89,3±1,9; 92,0±1,5 и 94,1±1,8% относительно контроля.

Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 существенно и дозо-зависимо влиял на рост *K. pneumoniae* в жидкой питательной среде, снижая биомассу бактерий, оцениваемую по величине оптической плотности (ОД) контрольных и опытных культур в динамике их развития (рис. 2).

При этом наиболее выраженный ингибирующий эффект пептида ZP2 наблюдался на 6 часах инкубации *K. pneumoniae* и составил 80,9±1,8;

79,3±0,3 и 86,9±0,8% для концентраций – 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл соответственно (табл. 2).

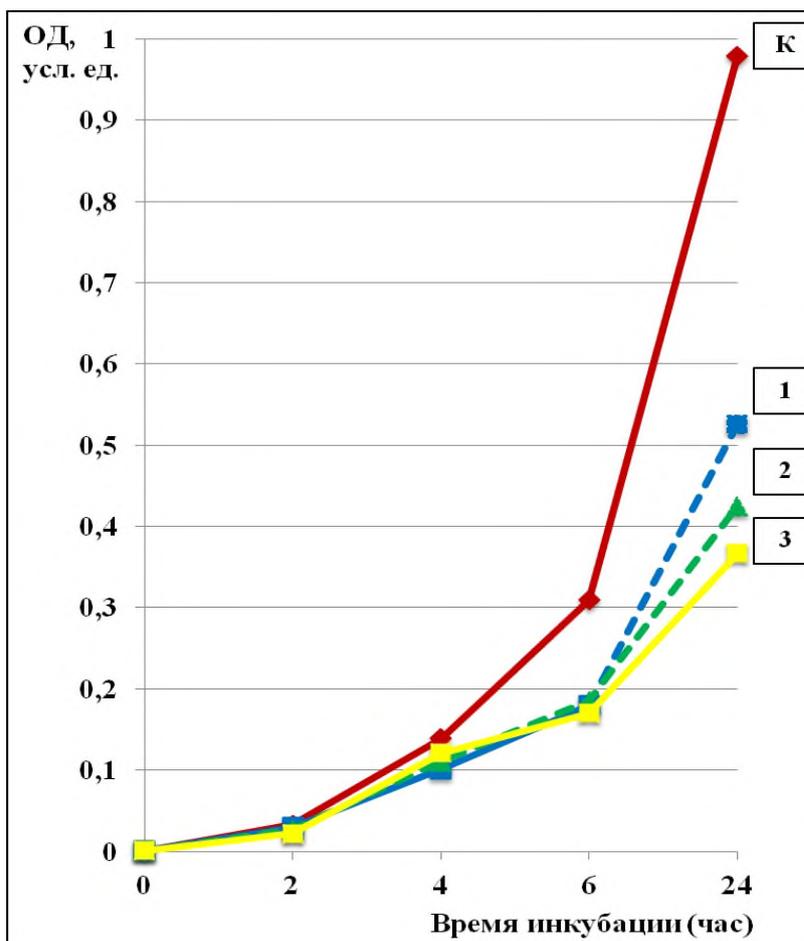


Рис. 2. Рост штаммов *K. pneumoniae* в жидкой питательной среде под влиянием различных концентраций ZP2: 1 – 0,5 мкг/мл; 2 – 1,0 мкг/мл; 3 – 2,0 мкг/мл; К – контроль.

Таблица 2. Ингибирование роста штаммов *K. pneumoniae* под влиянием различных концентраций ZP2 на разных этапах культивирования.

Время культивирования (час)	Индекс ингибирования (ИИ,%) роста <i>K. pneumoniae</i> при разных концентрациях ZP2 в жидкой питательной среде		
	0,5 мкг/мл	1,0 мкг/мл	2,0 мкг/мл
2	9,4±1,6	8,1±1,3	9,1±1,8
4	35,5±1,2*	35,2±1,9*	33,0±0,5*
6	80,9±1,8*	79,3±0,3*	86,9±0,8*
24	46,5±1,2*	59,7±1,3*	84,2±1,1*

Примечание: достоверность отличия от ИИ на 2 часах (* - p<0,05).

Сравнивая особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на рост бактерий *S. amycolatum* и *K. pneumoniae*, следует выделить обнаруженное сходство и имеющиеся отличия реакции изученных бактерий на пептид ZP2. В обоих случаях ингибирующий эффект пептида ZP2 зависел от концентрации фактора (дозо-зависимость) и нарастал при переходе бактериальных культур в фазу интенсивного роста (с 2 до 6 часов). Особенностью влияния пептида ZP2 на рост *S. amycolatum* являлось то, что Индекс ингибирования на 24 часах сохранялся на относительно высоких значениях (от $89,3 \pm 1,9$ до $94,1 \pm 1,8\%$), тогда как в опытах с *K. pneumoniae* значения этого показателя к 24 часам несколько снижались, причем более заметно на низких концентрациях пептида – 0,5 мкг/мл (с $80,9 \pm 1,8$ до $46,5 \pm 1,2\%$) и 1,0 мкг/мл (с $79,3 \pm 0,3$ до $59,7 \pm 1,3\%$), что могло отражать более высокую устойчивость штаммов *K. pneumoniae*, переходящих в стационарную фазу роста, к ингибирующему действию данного фактора.

Заключение

Таким образом, полученные экспериментальные данные позволили установить однонаправленный ингибирующий эффект пептида ZP2 *in vitro* в отношении исследуемых микроорганизмов, который зависел как от концентрации данного антибактериального фактора в среде культивирования, так и от фазы развития бактериальной популяции. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 при добавлении в жидкую питательную среду дозозависимо снижал рост грамположительных и грамотрицательных палочек, что в целом согласуется с ранее полученными результатами [10, 11].

Проведенные исследования показали, что через 2 часа культивирования в отношении некоторых штаммов *S. amycolatum* регистрировалась слабо выраженная стимуляция роста бактерий под действием пептида ZP2 в концентрации 2,0 мкг/мл. Максимальные значения Индекса ингибирования роста *S. amycolatum* наблюдались на 24 часах, тогда как наиболее выраженное снижение биомассы от контроля у штаммов *K. pneumoniae* регистрировалось на 6 часах.

Накопленные к настоящему времени экспериментальные данные по антибактериальному действию синтетического пептида ZP2 [10-14] позволяют рекомендовать препараты на основе пептида ZP2 для профилактики послеоперационных раневых инфекций в хирургии, гинекологии и косметологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klaiss-Luna M.C., Giraldo-Lorza J.M., Jemiola-Rzemińska M, Strzalka K, Manrique-Moreno M. Biophysical Insights into the Antitumoral Activity of Crotalicidin against Breast Cancer Model Membranes. *Int J Mol Sci*. 2023. 24(22): 17p. doi: 10.3390/ijms242216226.
2. Klubthawee N, Wongchai M, Aunpad R. *Sci Rep*. The bactericidal and antibiofilm effects of a lysine-substituted hybrid peptide, CM-10K14K, on biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. 2023. 13(1): 222-240. doi: 10.1038/s41598-023-49302-y.
3. Валиев Т.Т., Фатхуллин Р.Р., Рябухина Ю.Е., Зейналова П.А. Новые лекарственные формы колониестимулирующих факторов в онкогематологии. *Онкогематология*. 2023. 18 (1): 126-131. doi: 10.17650/1818-8346-2023-18-1-126-131.
4. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко А.В. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2018. 4: 20 с. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-4/Articles/MAD-2018-4.pdf>).
5. Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на рост грамположительных кокков *in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2015. 1: 10 с. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
6. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Черешнев В.А. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и его синтетические аналоги: иммунобиологические эффекты и клиническое применение. Екатеринбург: УрО РАН, 2021. 288 с.
7. Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Добрынина М.А., Зурочка А.В. Сравнительный анализ бактерицидных свойств синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении грамотрицательных бактерий разной таксономической принадлежности. *Российский иммунологический журнал*. 2021. Т. 24. 2: 221-228. doi: 10.46235/1028-7221-1016-CAO.
8. Бухарин О.В., Гриценко В.А. Влияние *in vitro* препарата лейкоцитарного катионного белка «Интерцид» на *Escherichia coli*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2000. 45 (1): 16-20.
9. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. – М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
10. Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост музейных бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2015. 2: 10. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
11. Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зурочка В.А., Гриценко В.А. Чувствительность музейных и клинических штаммов энтеробактерий к синтетическому пептиду активного центра ГМ-КСФ – ZP2. *Российский иммунологический журнал*. 2020. Т. 23. 4: 403-410. doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA.
12. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Мругова Т.М., Гриценко В.А. Антибактериальная активность косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2017. 4: 13. doi: 24411/2304-9081-2017-00030.
13. Пашинина О.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Гриценко В.А. Влияние синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2 на антицитокиновую активность бактерий рода *Enterococcus spp.* и их способность к продукции цитокиноподобных веществ. *Российский иммунологический журнал*. 2022. Т. 25. 4: 477-484. doi: 46235/1028-7221-1162-IOZ.

14. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на кинетику развития популяций грамположительных кокков и энтеробактерий в культуре. Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). 2: 30-35.

Поступила 29 марта 2024 г.

(Контактная информация: **Морозова Наталья Викторовна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000 г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел. +7(3532)77-05-12; e-mail: natascha210994@mail.ru;

Гриценко Виктор Александрович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; e-mail: vag59@mail.ru)

REFERENCES

1. Klaiss-Luna M.C., Giraldo-Lorza J.M., Jemioła-Rzemińska M, Strzałka K, Manrique-Moreno M. Biophysical Insights into the Antitumoral Activity of Crotalicidin against Breast Cancer Model Membranes. *Int J Mol Sci.* 2023. 24(22): 17c. doi: 10.3390/ijms242216226.
2. Klubthawee N, Wongchai M, Aunpad R. *Sci Rep.* The bactericidal and antibiofilm effects of a lysine-substituted hybrid peptide, CM-10K14K, on biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. 2023. 13(1): 222-240. doi: 10.1038/s41598-023-49302-y.
3. Valiev T.T., Fatkhullin R.R., Ryabukhina Yu.E., Zeynalova P.A. New dosage forms of colony-stimulating factors in oncohematology. *Oncohematology.* 2023. 18 (1): 126-131. doi: 10.17650/1818-8346-2023-18-1-126-131.
4. Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko A.V. Evaluation of the influence of the synthetic peptide of the active center of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - ZP2 on the growth and biofilm formation of clinical isolates of enterobacteria *in vitro*. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.* 2018. 4: 20 p. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-4/Articles/MAD-2018-4.pdf>).
5. Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Features of the influence of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF on the growth of gram-positive cocci *in vitro*. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.* 2015. 1: 10 p. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
6. Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Chereshev V.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and its synthetic analogues: immunobiological effects and clinical application. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2021. 288 p.
7. Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Dobrynina M.A., Zurochka A.V. Comparative analysis of the bactericidal properties of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF - ZP2 against gram-negative bacteria of different taxonomic affiliations. *Russian immunological journal.* 2021. Т. 24. 2: 221-228.
8. Bukharin O.V., Gritsenko V.A. In vitro effect of the leukocyte cationic protein preparation “Intertsid” on *Escherichia coli*. *Antibiotics and chemotherapy.* 2000. 45 (1): 16-20.
9. Lakin G.F. *Biometrics.* – M.: Higher School, 1990. 352 p.
10. Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Comparative analysis of the influence of the synthetic peptide of the active center of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - ZP2 on the growth of museum bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Escherichia in vitro*. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Rus-*

- sian Academy of Sciences. 2015. 2: 1-10. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
11. Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Gritsenko V.A. Sensitivity of museum and clinical strains of enterobacteria to the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2. Russian immunological journal. 2020. Т. 23. 4: 403-410. doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA.
 12. Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Тыраева Ya.V., Belozertseva Yu.P., Mrugova T.M., Gritsenko V.A. Antibacterial activity of the cosmetic product "Acegram" against gram-negative bacteria. Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 2017. 4: 1-13. doi:24411/2304-9081-2017-00030.
 13. Pashinina O.A., Kartashova O.L., Pashkova T.M., Gritsenko V.A. The influence of a synthetic analogue of the active center of GM-CSF, the ZP2 peptide, on the anticytokine activity of bacteria of the genus *Enterococcus* spp. and their ability to produce cytokine-like substances. Russian immunological journal. 2022. Т. 25. 4: 477-484. doi: 46235/1028-7221-1162-IOZ.
 14. Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. The influence of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 on the kinetics of the development of populations of gram-positive cocci and enterobacteria in culture. Russian immunological journal. 2015. Т. 9 (18). 2: 30-35.

Образец ссылки на статью:

Морозова Н.В., Гриценко В.А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на рост грамположительных и грамотрицательных палочек *in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2024. 1. 10с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2024-1/Articles/MNV-2024-1.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2024-11001