

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ЛИЗИС БАКТЕРИЙ *Priestia megaterium* ЛИЗОЦИМОМ

© 2023 г. С. В. Южаков¹, А. Ю. Якимов¹, Н. В. Растрига¹, Д. А. Гасанова¹,
Д. А. Климов¹, С. А. Смирнов¹, П. А. Левашов¹, *

¹ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

*e-mail: levashov@yahoo.com

Поступила в редакцию 25.09.2023 г.

После доработки 02.10.2023 г.

Принята к публикации 04.10.2023 г.

Показано, что бактериолитическая активность лизоцима по отношению к живым клеткам *Priestia megaterium* в присутствии 5 мМ глутамата повышается в 1.6 раза, 5 мМ аргинина в 1.8 раза, 0.07 мкМ поверхностно-активного вещества Твин-21 в 1.5 раза. Перечисленные активизирующие добавки потенциально могут рассматриваться как перспективные компоненты лекарственных или дезинфицирующих средств как в комбинации с экзогенным лизоцимом, так и в варианте усиления действия эндогенного лизоцима иммунной системы.

Ключевые слова: бактериолитическая активность, лизоцим, лизис бактерий, активаторы лизоцима, *Priestia megaterium*

DOI: 10.56304/S0234275823040075

Широкое применение антибиотиков в медицине и ветеринарии [1, 2] провоцирует возникновение все новых антибиотикорезистентных штаммов бактерий [2–6]. Антибиотикорезистентность микроорганизмов ставит острый вопрос по поиску альтернативы антибиотикам в борьбе с патогенами. Одним из наиболее перспективных вариантов альтернативы антибиотикам является использование бактериолитических ферментов, в частности лизоцима (КФ 3.2.1.17) [7, 8]. Бактериолитические ферменты разрушают (гидролизуют) клеточную стенку бактерий, образованную сложным сополимером муреином (пептидогликаном), состоящим из полисахаридных цепочек и пептидных мостиков [9, 10]. Из бактериолитических ферментов наиболее доступными и применяемыми на практике являются лизоцимы, в первую очередь яичный куриный лизоцим, который близок по структуре и свойствам человеческому ферменту, функционирующему как в свободном виде в биологических жидкостях, так и в составе иммунных клеток [8, 11, 12]. В последние годы обнаружилось, что такие вещества как свободный глицин, свободные заряженные аминокислоты, некоторые ПАВ могут существенно влиять на активность лизоцима, причем эффект часто зависит от вида бак-

терий [13–17]. В настоящее время продолжается поиск и изучение потенциальных активаторов антибактериального действия лизоцима.

Спорообразующая палочковидная бактерия, факультативный аэроб *Priestia megaterium* (сенная палочка) широко распространена в природе и считается в целом неопасной для здоровья человека, часто применяется в биотехнологии как продуцент разнообразных метаболитов и белков, эффективно используется как компонент биоудобрений [18–21]. Однако на сегодняшний день было описано несколько случаев патогенности *P. megaterium*, а также имеет место морфологическая схожесть бактерии с условным патогеном *Bacillus cereus* и особо опасным патогеном *Bacillus anthracis* (сибирская язва) [22–28]. Вышеупомянутые факты показывают большую значимость изучения данной бактерии как модельного объекта.

Данная работа посвящена детальному исследованию бактериолитического действия лизоцима на *P. megaterium*. Результаты работы крайне актуальны как с точки зрения теоретического интереса по изучению особенностей функционирования лизоцима, так и с практической точки зрения поиска композиций веществ, которые существенно усиливают антибактериальное действие как экзогенного лизоцима в составе антибактериальных медицинских препаратов, так и собственного лизоцима в составе биологических жидкостей и клеток организма, что важно для разработки новых

Список сокращений: ДСН – додецилсульфат натрия; КОЕ – колониобразующие единицы (концентрация живых клеток); ПАВ – поверхностно активное вещество.

способов борьбы с бактериальными инфекциями, в том числе устойчивыми к антибиотикам.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Реагенты. В работе использовали яичный куриный лизоцим, Tris, MES (Amresco, США); HCl, CH₃COOH (“Компонент-Реактив”, Россия); NaCl, NaOH, додецилсульфат натрия (ДСН, SDS) (Panreac, Испания); Твин-21 (Tween-21) (Sigma Aldrich, США); L-аргинин (Merck, Германия); L-глутамат натрия (MeiHua (梅花), Китай); глицин (Roth, Германия); глюкоза (Rokett Freg, Франция); дрожжевой экстракт (Biospringer, Франция); бактоприпон, бактоагар (BD Difco, США); культура клеток *P. megaterium* штамм ATCC 14581 (B-9869) получена из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (НИЦ “Курчатовский институт”, Россия). Растворы готовили на бидистиллированной воде.

Культивирование клеток *P. megaterium* осуществляли в два этапа в жидкой питательной среде LB, pH 7.6; при температуре 30°C и на качалке с режимом 180 об/мин [20]. На первом этапе клетки растили 14–16 ч в 10 мл питательной среды, затем пересевали переносом по 1 мл в 100 мл питательной среды и выдерживали до достижения оптического поглощения 1.0–1.2 при длине волны 650 нм (около 5 ч). По окончании культивирования полученную суспензию клеток перемещали в пробирки объемом 50 мл и центрифугировали на центрифуге 5804R (Eppendorf, Германия), ротор F-34-6-38, при температуре 4–5°C в течение 30 мин при 6000 об/мин (5934 g). Осадок клеток ресуспендировали в буферном растворе объемом 10 мл (pH 8.0, 0.02 М Tris-HCl с добавлением 55 мМ NaCl) и замораживали аликвоты по 1.5 мл при температуре –70°C. Однократное замораживание и оттаивание не влияло на концентрацию живых клеток в пределах погрешности эксперимента. Непосредственно перед проведением экспериментов суспензию клеток размораживали, центрифугировали 7 мин при 6000 об/мин (4118 g) на центрифуге Minispin (Eppendorf) и ресуспендировали осажденные клетки в том же буферном растворе.

Бактериолитическую активность лизоцима (скорость ферментативного лизиса клеток) определяли турбидиметрическим методом по падению поглощения при длине волны 650 нм и температуре 37°C [29, 30]. В течение времени проведения эксперимента клетки содержали при температуре 4–5°C. Измерение активности лизоцима проводили в спектрофотометрической кювете объемом 1 мл и длиной оптического пути 1 см на двухлучевом спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония). При измерении начальное поглощение суспензии в реакционной смеси подбирали как 0.35–0.40. Для *P. megaterium* поглощение суспензии бактерий при

длине волны 650 нм в интервале значений от 0.0 до 0.9 пропорционально количеству клеток. Поглощение 0.4 соответствует концентрации живых клеток 1.5×10^8 КОЕ в мл (определено пересевом на чашки Петри на твердую агаризованную среду). Измерения активности проводили при pH 8.0 в буфере 0.02 М Tris-HCl с добавлением 55 мМ NaCl, если не указано иное. Концентрация фермента в реакционной смеси была 0.5 мкг в мл. Скорость лизиса клеток *P. megaterium* прямо пропорциональна концентрации фермента при его концентрации от 0 до 7 мкг в мл. Перед внесением фермента регистрировали фоновые процессы самопроизвольного лизиса в течение 120–150 с. Начальную скорость лизиса определяли в интервале 15–120 с после добавления фермента. При расчете активности делали поправку на фоновое изменение поглощения без фермента. Все используемые в работе добавки, кроме фермента, не влияли на фоновый лизис клеток в исследованном диапазоне их концентраций. pH растворов всех добавок доводили до значения pH буфера, в котором проводились измерения. Каждое экспериментальное значение в работе измеряли не менее 5 раз, результаты представлены как среднее и погрешность, рассчитанная по Стьюденту для доверительного интервала 0.9. В случае, если на графике не указана погрешность, она не превышала 15% от значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлена зависимость скорости лизиса бактериальных клеток *P. megaterium* в присутствии лизоцима от pH и ионной силы. Максимальная скорость лизиса наблюдается при pH 8.0 и концентрации добавленной соли NaCl 45–65 мМ.

Аналогичная “куполообразная” зависимость (но с другим значением pH оптимума) характерна для скорости лизиса клеток *Escherichia coli* лизоцимом [29, 31]. Падение скорости ферментативного лизиса при увеличении ионной силы объясняется замедлением осмотического разрыва клеток [29, 32]. Уменьшение скорости ферментативного лизиса клеток *P. megaterium* и *E. coli* при низкой ионной силе связано с непродуктивной (ингибирующей активностью) сорбцией лизоцима на клетках [32]. Для дальнейшего исследования ферментативного лизиса клеток *P. megaterium* в присутствии лизоцима был выбран буферный раствор pH 8.0 0.02 М Tris-HCl с добавлением 55 мМ NaCl, в котором скорость процесса была максимальной.

Согласно литературным данным, антибактериальное действие куриного и человеческого лизоцима, человеческого интерлейкина-2 на клетки *E. coli* существенно усиливается в присутствии глутамата и аргинина [15, 16, 31]. Глицин также увеличивает антибактериальное действие куриного лизоцима, но меньше влияет на активность человеческого лизоцима и совсем не изменяет анти-

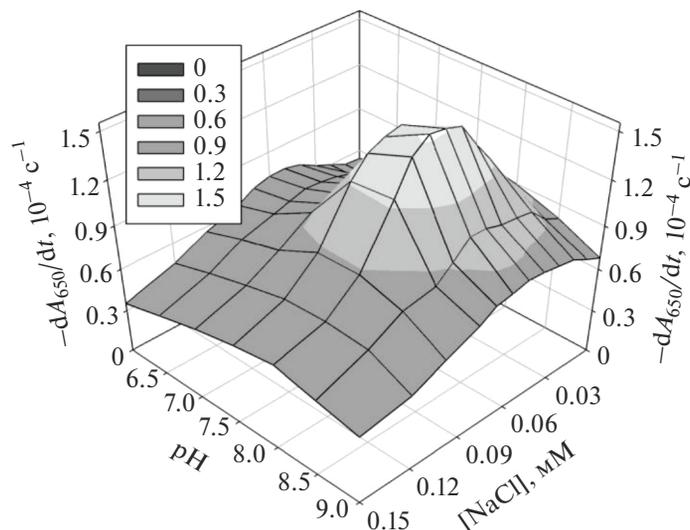


Рис. 1. Влияние pH и ионной силы раствора на активность фермента. Буферный раствор 0.01 М MES, 0.01 М Tris-HCl с различными значениями pH и различными количествами добавленной соли NaCl.

Fig. 1. The influence of the pH and ionic strength of the solution on enzyme activity. Buffer solution 0.01 М Mes, 0.01 М Tris-HCl with different pH values and various amounts of NaCl salt added.

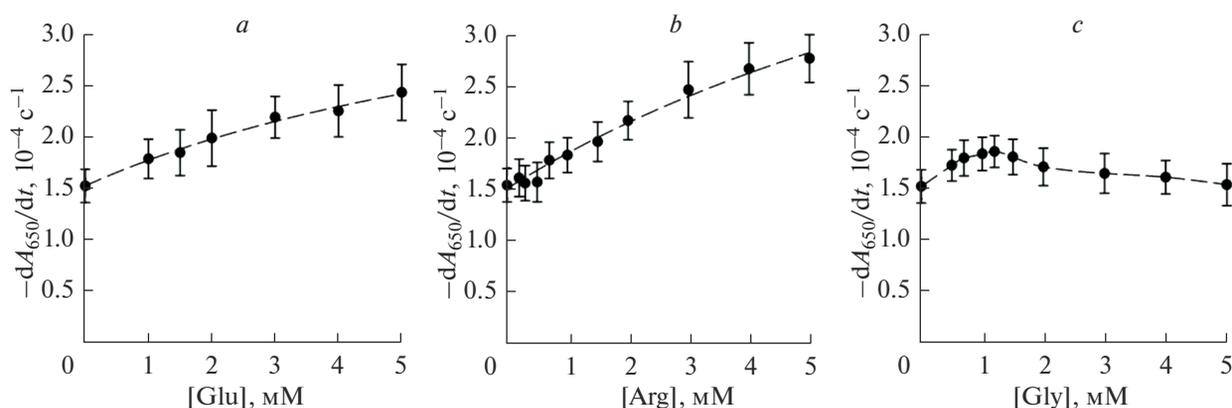


Рис. 2. Зависимость активности фермента (скорости ферментативного лизиса клеток *P. megaterium* в присутствии лизоцима) от концентрации свободных аминокислот. *a* – активность в присутствии Glu, *b* – активность в присутствии Arg, *c* – активность в присутствии Gly.

Fig. 2. The dependence of the activity of the enzyme (the speed of the enzymatic lysis of the cells *P. megaterium* in the presence of lysozyme) on the concentration of free amino acids. *a* – activity in the presence of glutamate; *b* – activity in the presence of arginine; *c* – activity in the presence of glycine.

бактериальную активность интерлейкина-2 [15, 31]. Как следует из рис. 2, активность лизоцима при действии на бактерии *P. megaterium* монотонно увеличивается при добавлении глутамата и аргинина, возрастая в 1.6 и 1.8 раз соответственно в присутствии 5 мМ каждого фактора.

Глицин в концентрации до 5 мМ не влияет на активность лизоцима по отношению к *P. megaterium* в пределах погрешности эксперимента. Таким образом, глутамат и аргинин потенциально способны усиливать действие лекарственных композиций на основе лизоцима, а также, вероятно, могут вли-

ять на собственный лизоцим иммунной системы, повышая устойчивость организма к бактериальным инфекциям. Известно, что композиция глутамат – аргинин также улучшает выживаемость эукариотических клеток в различных условиях, может быть лекарством при острой печеночной энцефалопатии и средством для заживления ран [33–35]. В связи со всем вышесказанным медицинские препараты, содержащие глутамат и аргинин, потенциально могут быть полезными при самых разных инфекционных и неинфекционных заболеваниях.

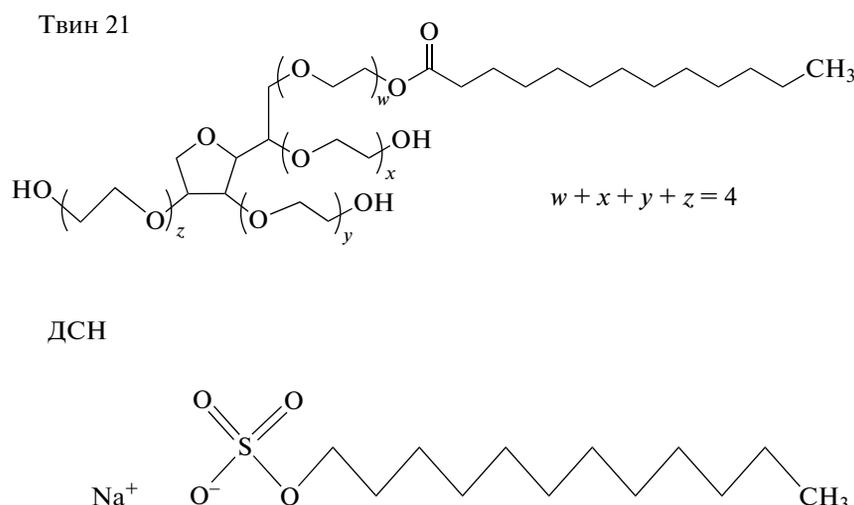


Рис. 3. Структурные формулы ДСН и Твин-21.
Fig. 3. Structural formulas of surfactants (SDS, Tween-21).

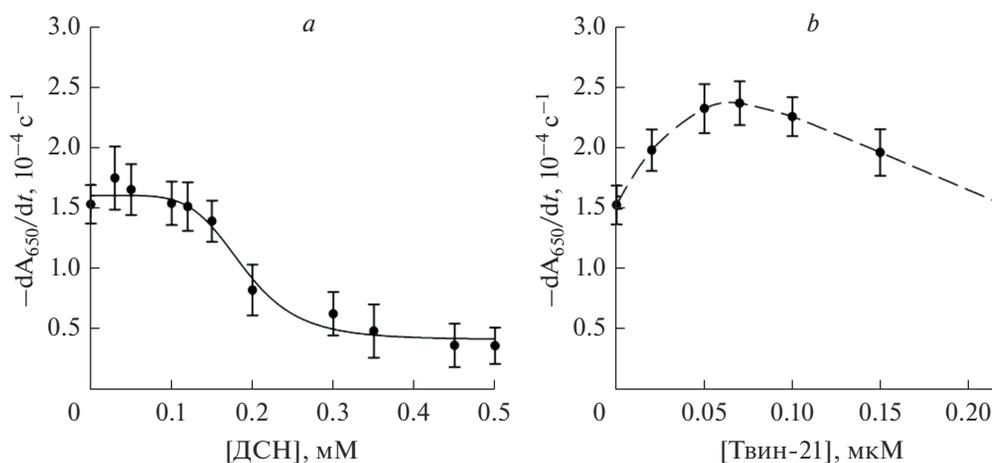


Рис. 4. Зависимость активности фермента (скорости ферментативного лизиса клеток *P. megaterium* в присутствии лизоцима) от ДСН и Твин-21. *a* – активность в присутствии ДСН, *b* – активность в присутствии Твин-21.
Fig. 4. The dependence of enzyme activity (the speed of enzymatic lysis of the cells *P. megaterium* in the presence of lysozyme) on SDS and Tween-21 concentration. *a* – activity in the presence of SDS, *b* – activity in the presence of Tween-21.

В литературе описан ферментативный лизис бактерий другого семейства, а именно *Lactobacillus plantarum* в присутствии двух разных поверхностно активных веществ, а именно анионного додецилсульфата натрия (ДСН) и неионогенного полисорбата Твин-21 [17]. Твин 21 и ДСН имеют схожую гидрофобную часть молекулы, что, возможно, и объясняет существенное влияние этих ПАВ на активность лизоцима, при этом гидрофильные радикалы принципиально отличаются (рис. 3).

Для *P. megaterium* мы наблюдаем ингибирование лизоцима в присутствии ДСН и сложную зависимость активности от концентрации Твин-21, что повторяет вид кривых для *L. plantarum* [17],

подтверждая гипотезу о специфическом влиянии данных ПАВ на лизоцим и наличии у фермента гидрофобных центров связывания определенных эффекторов (рис. 4).

Ингибирование лизоцима в присутствии ДСН, возможно, объясняется тем, что ПАВ, связываясь с ферментом гидрофобной частью, экспонирует на поверхности белка свою отрицательно заряженную группу, ухудшая тем самым продуктивное связывание лизоцима с отрицательно заряженной поверхностью бактерии. Гипотетически лизоцим может иметь ранее неизученный механизм регуляции активности с помощью лигандов с гидрофобным радикалом, в частности ПАВ. Помимо фундаментального интереса, фе-

номен активации лизоцима в присутствии Твин-21, вероятно, можно использовать для разработки дезинфицирующих и даже лекарственных средств на основе композиций лизоцима и ПАВ, так как Твин-21 можно применять в составе медицинских препаратов [36, 37]. Факт подавления действия лизоцима в присутствии ДСН также требует очень пристального внимания, так как ДСН под вторым своим названием лаурилсульфат натрия является популярным компонентом многих шампуней и зубных паст, но при этом может вызывать воспалительные процессы [38–40].

Таким образом, в работе показано, что антимикробное действие лизоцима по отношению к спорообразующим бактериям *P. megaterium* семейства Bacillaceae усиливается в присутствии глутамата, аргинина и Твин-21. Возможно, данные вещества могут усиливать действие лизоцима и на другие бактерии данного семейства, в том числе на антибиотикорезистентные опасные патогены. Лизоцим может применяться в качестве лекарственного средства, а также является важным компонентом иммунной системы, поэтому обнаружение данных веществ – активаторов весьма перспективно для разработки новых медицинских препаратов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в МГУ имени М.В. Ломоносова в рамках государственного задания “Изучение резистентности бактерий к антибиотикам на основе получения рекомбинантных бета-лактамаз, определения их структуры и взаимодействия с субстратами и ингибиторами методами математического моделирования и ферментативной кинетики, разработки антибактериальных соединений и новых лекарственных форм, методов молекулярной диагностики антибиотикорезистентности бактерий и определения антибиотиков в объектах окружающей среды и продуктах питания для создания новых подходов эффективного преодоления резистентности”. Номер ЦИТИС: 123032300028-0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Dyar O.J., Huttner B., Schouten J., Pulcini C. What is antimicrobial stewardship? *Clin. Microbiol. Infect.*, 2017, 23(11), 793–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.08.026>
2. Karam G., Chastre J., Wilcox M.H., Vincent J.L. Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. *Crit. Care*, 2016, 20(1), 136. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1320-7>
3. Nikolaidis I., Favini-Stabile S., Dessen A. Resistance to antibiotics targeted to the bacterial cell wall. *Protein Sci.*, 2014, 23, 243–259. <https://doi.org/10.1002/pro.2414>
4. Nikaido H., Pages J.-M. Broad Specificity Efflux pumps and Their Role in Multidrug Resistance of Gram-Negative Bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2012, 36(2), 340–363. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00290.x>
5. Roca I., Akova M., Baquero F., Carlet J., Cavaleri M., Coenen S., Cohen J., Findlay D., Gyssens I., Heure O.E., Kahlmeter G., Kruse H., Laxminarayan R., Liébana E., López-Cerero L., MacGowan A., Martins M., Rodríguez-Baño J., Rolain J.-M., Segovia C., Sigauque B., Tacconelli E., Wellington E., Vila J. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes New Infect.*, 2015, 6, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2015.02.007>
6. Nikaido H. Multidrug Resistance in Bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, 2009, 78(1), 119–146. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>
7. Griswold K.E., Bement J.L., Teneback C.C., Scanlon T.S., Wargo M.J., Leclair L.W. Bioengineered lysozyme in combination therapies for *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *Bioengineered*, 2014, 5(2), 143–147. <https://doi.org/10.4161/bioe.28335>
8. Ferraboschi P., Ciceri S., Grisenti P. Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics*, 2021, 10(12), 1534. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121534>
9. Vollmer W., Blanot D., de Pedro M.A. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2008, 32(2), 149–167. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x>
10. Strominger, J.L., and Ghuysen J.-M. Mechanisms of Enzymatic Bacteriolysis. *Science*, 1967, 156(3772), 213–221. <https://doi.org/10.1126/science.156.3772.213>
11. Jiang L., Li Y., Wang L., Guo J., Liu W., Meng G., Zhang L., Li M., Cong L., Sun M. Recent Insights Into the Prognostic and Therapeutic Applications of Lysozymes. *Front. Pharmacol.*, 2021, 12, 767642. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.767642>
12. Wu T.T., Jiang Q.Q., Wu D., Hu Y.Q., Chen S.G., Ding T., Ye X.Q., Liu D.H., Chen J.Ch. What is new in lysozyme research and its application in food industry? A review. *Food Chem.*, 2019, 274, 698–709. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.017>
13. Иванов Р.А., Соболева О.А., Смирнов С.А., Левашов П.А. Влияние поверхностно-активных веществ различной природы на бактериолитическую активность лизоцима. *Биоорг. химия*, 2015, 41(3), 292–298.
14. Шнитко А.В., Чернышева М.Г., Смирнов С.А., Левашов П.А., Бадун Г.А. Плурионики и Бридж-35 уменьшают бактериолитическую активность лизоцима. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия*, 2020, 61(2), 114–118.
15. Левашов П.А., Матолыгина Д.А., Овчинникова Е.Д., Атрошенко Д.Л., Савин С.С., Белогурова Н.Г., Смирнов С.А., Тишков В.И., Левашов А.В. Влияние различных эффекторов на бактериолитическую активность интерлейкина-2 человека и лизоцима куриного яйца. *Acta Naturae*, 2017, 9(2), 87–92.
16. Levashov P.A., Matolygina D.A., Ovchinnikova E.D., Adamova I.Y., Gasanova D.A., Smirnov S.A., Nelyub V.A., Belogurova N.G., Tishkov V.I., Ereemeev N.L. Levashov A.V. The bacteriolytic activity of native and covalently immobilized lysozyme against gram-positive and gram-negative

- bacteria is differentially affected by charged amino acids and glycine. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(3), 510–518. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12591>
17. Lu W.-J., Smirnov S.A., Levashov P.A. General characteristics of the influence of surfactants on the bacteriolytic activity of lysozyme based on the example of enzymatic lysis of *Lactobacillus plantarum* cells in the presence of Tween 21 and SDS. *BBRC*, 2021, 575, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.08.060>
 18. Vary P.S., Biedendieck R., Fuerch T., Meinhardt F., Rohde M., Deckwer W.-D., Jahn D. *Bacillus megaterium* – from simple soil bacterium to industrial protein production host. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, 76(5), 957–967. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1089-3>
 19. Grage K., McDermott P., Rehm B.H.A. Engineering *Bacillus megaterium* for production of functional intracellular materials. *Microb. Cell Fact.*, 2017, 16(1), 211. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0823-5>
 20. Stancu M.M. Biosurfactant production by a *Bacillus megaterium* strain. *Open Life Sci.*, 2020, 15(1), 629–637. <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0068>
 21. Chiang C., Bennett R.E. Purification and properties of penicillin amidase from *Bacillus megaterium*. *J. Bacteriol.*, 1967, 93(1), 302–308. <https://doi.org/10.1128/jb.93.1.302-308.1967>
 22. Bocchi M.B., Cianni L., Perna A., Vitiello R., Greco T., Maccauro G., Perisano C. A rare case of *Bacillus megaterium* soft tissues infection. *Acta Biomed.*, 2020, 91(14-S), e2020013. <https://doi.org/10.23750/abm.v91i14-s.10849>
 23. Crisafulli E., Aredano I., Valzano I., Burgazzi B., Andranì F., Chetta A. Pleuritis with pleural effusion due to a *Bacillus megaterium* infection. *Respirol. Case Rep.*, 2019, 7(1), e00381. <https://doi.org/10.1002/rcr2.381>
 24. Duncan K.O., Smith T.L. Primary cutaneous infection with *Bacillus megaterium* mimicking cutaneous anthrax. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2011, 65, e60–e61. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2011.02.024>
 25. Guo F.P., Fan H.W., Liu Z.Y., Yang Q.W., Li Y.J., Li T.Sh. Brain abscess caused by *Bacillus megaterium* in an adult patient. *Chin. Med. J.* 2015; 128(11), 1552–1554. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.157697>
 26. López A.C., Minnaard J., Pérez P.F., Alippi A.M. In vitro interaction between *Bacillus megaterium* strains and Caco-2 cells. *Int. Microbiol.*, 2013, 16(1), 27–33. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.177>
 27. Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2010, 23(2), 382–398. <https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09>
 28. Loong S.K., Teoh B.T., Johari J., Khor Ch.S., Abd-Jamil J., Nor'e S.S., Samsudin N.I., Azizan N.S., Yaacob Ch.N., CheMatSeri A.A., Mahfodz N.H., AbuBakar S. Penicillin-Susceptible, Oxidase-Negative, Nonhemolytic, Nonmotile *Bacillus megaterium* in Disguise of *Bacillus anthracis*. *Case Rep. Infect. Dis.*, 2017, 2578082. <https://doi.org/10.1155/2017/2578082>
 29. Levashov P.A., Sedov S.A., Shipovskov S., Levashov A.V. Quantitative turbidimetric assay of enzymatic Gram-negative bacteria lysis. *Anal. Chem.*, 2010, 82(5), 2161–2163. <https://doi.org/10.1021/ac902978u>
 30. Матольгина Д.А., Душутина Н.С., Овчинникова Е.Д., Еремеев Н.Л., Белогурова Н.Г., Атрошенко Д.Л., Смирнов С.А., Савин С.С., Тишков В.И., Левашов А.В., Левашов П.А. Единый подход для расчета скорости ферментативного лизиса живых бактериальных клеточных субстратов турбидиметрическим методом. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия*, 2018, 59(2), 125–131.
 31. Rastriga N.V., Klimov D.A., Gasanova D.A., Levashov P.A. Comparison of the individual and combined actions of charged amino acids and glycine on the lysis of *Escherichia coli* cells by human and chicken lysozyme, *Process Biochem.*, 2023, 125, 190–197. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.12.024>
 32. Sedov S.A., Belogurova N.G., Shipovskov S., Levashov A.V., Levashov P.A. Lysis of *Escherichia coli* cells by lysozyme: discrimination between adsorption and enzyme action. *Colloids Surf. B*, 2011, 88(1), 131–133. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.021>
 33. Kheddo P., Golovanov A.P., Melody K.T., Uddin S., van der Walle C.F., Dearman R.J. The effects of arginine glutamate, a promising excipient for protein formulation, on cell viability: Comparisons with NaCl. *Toxicol. In Vitro*. 2016, 33, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.02.002>
 34. Tobe B.A. The metabolism of the volatile amines. II. Observations on the use of L-arginine-L-glutamate in the therapy of acute hepatic encephalopathy. *Can. Med. Assoc. J.*, 1961, 85(10), 591–603.
 35. Kwon K.C., Won J.G., Seo J.H., Kwon O.S., Kim E.H., Kim M.-S., Park S.-W. Effects of arginine glutamate (RE:pair) on wound healing and skin elasticity improvement after CO₂ laser irradiation. *J. Cosmet. Dermatol.*, 2022, 21, 5037–5048. <https://doi.org/10.1111/jocd.14957>
 36. Di Marzio L., Marianecchi C., Petrone M., Rinaldi F., Carafa M. Novel pH-sensitive non-ionic surfactant vesicles: comparison between Tween 21 and Tween 20. *Colloids Surf. B*. 2011, 82(1):18–24. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.08.004>
 37. Aonofriesei F. Polysorbate 21 Can Modulate the Antibacterial Potential of Two Pyrazol Derivatives. *Biomolecules*, 2022, 12(12), 1819. <https://doi.org/10.3390/biom12121819>
 38. Brown R.S., Smith L., Glascoe A.L. Inflammatory reaction of the anterior dorsal tongue presumably to sodium lauryl sulfate within toothpastes: a triple case report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2018, 125(2), e17–e21. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.11.017>
 39. Löffler H., Becker D., Brasch J., Geier J. German Contact Dermatitis Research Group (DKG). Simultaneous sodium lauryl sulphate testing improves the diagnostic validity of allergic patch tests. Results from a prospective multicentre study of the German Contact Dermatitis Research Group (Deutsche Kontaktallergie-Gruppe, DKG). *Br. J. Dermatol.*, 2005, 152(4), 709–719. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2004.06465.x>
 40. Petersen L.J., Lyngholm A.M., Arendt-Nielsen L. A novel model of inflammatory pain in human skin involving topical application of sodium lauryl sulfate. *Inflamm. Res.*, 2010, 59, 775–781. <https://doi.org/10.1007/s00011-010-0189-1>

Enzymatic Lysis of Bacteria *Priestia megaterium* by Lysozyme**S. V. Iuzhakov^a, A. Yu. Yakimov^a, N. V. Rastriga^a, D. A. Gasanova^a,
D. A. Klimov^a, S. A. Smirnov^a, and P. A. Levashov^{a, #}**^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*[#]*e-mail: levashov@yahoo.com*

Abstract—It is shown that the bacteriolytic activity of lysozyme in relation to living cells of *Priestia megaterium* in the presence of 5 mM glutamate increases by 1.6 times, in the presence of 5 mM arginine—by 1.8 times, and in the presence of 0.07 μM surfactant Tween-21—by 1.5 times. The listed activating additives can potentially be considered as promising components of medicinal or disinfectants, both in combination with exogenous lysozyme and in the option of enhancing the action of endogenous lysozyme in the immune system.

Keywords: bacteriolytic activity, lysozyme, bacterial lysis, lysozyme activators, *Priestia megaterium*