



УДК 592-114:577.112.017

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ. ЧАСТЬ 1. СТРОЕНИЕ, БИОСИНТЕЗ И ЭВОЛЮЦИЯ

© 2016 г. С. В. Баландин, Т. В. Овчинникова[#]ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 16.10.2015 г. Принята к печати 23.10.2015 г.

Антимикробные пептиды и белки (АМП) относятся к числу наиболее значимых компонентов иммунной системы многоклеточных организмов. Для беспозвоночных, составляющих подавляющее большинство видового разнообразия живого мира, роль АМП особенно важна ввиду того, что эти животные лишены адаптивного иммунитета. АМП животного происхождения – рибосомально синтезируемые молекулы, которые, как правило, обладают положительным зарядом и амфифильными свойствами. Они могут проявлять активность в отношении бактерий, мицелиальных и дрожжевых грибов, простейших, оболочечных вирусов, а также могут играть роль медиаторов иммунной системы. Поиск и исследование защитных факторов беспозвоночных позволяет лучше понять закономерности функционирования врожденного иммунитета у млекопитающих и человека и дает ключ к разработке новых лекарственных средств. Первая часть обзора посвящена рассмотрению особенностей строения, биосинтеза, регуляции экспрессии и молекулярной эволюции АМП беспозвоночных.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, врожденный иммунитет, пептидные антибиотики, дефенсины.

DOI: 10.7868/S0132342316030052

1. ВВЕДЕНИЕ

Эндогенные АМП – эволюционно древние факторы врожденного иммунитета многоклеточных организмов, играющие ключевую роль в их защите от инфекции. Сходные по строению и защитным функциям пептиды были выделены из тканей беспозвоночных и позвоночных животных, а также растений [1–3]. Вся длительная эволюция многоклеточных организмов протекала в непрерывном контакте с патогенной микрофлорой, и наличие эффективных защитных механизмов было необходимым условием их выживания. Однако адаптивный иммунитет появился в процессе эволюции лишь у позвоночных [4], и, таким образом, существует менее чем у 2% видов многоклеточных организмов. Даже те животные, которые обладают способностью вырабатывать антитела, в первые минуты и часы взаимодействия с патогеном вынуждены полагаться только на врожденные меха-

низмы антимикробной защиты. Наряду с прямым антимикробным действием АМП способны участвовать в регуляции иммунных процессов и регенерации тканей [5]. Фундаментальные исследования АМП тесно связаны с их важным прикладным значением. Природные пептиды могут стать прототипами новых антибиотиков широкого спектра действия, способных решить проблему резистентности к существующим антимикробным средствам. Развитие резистентности патогенов к АМП в значительной степени затруднено, поскольку требует внесения серьезных изменений в структуру и электрофизиологические свойства их клеточной мембраны [6]. Являясь факторами, повышающими проницаемость мембраны, АМП усиливают действие традиционно используемых антибиотиков и могут быть использованы в комбинации с ними [7].

Каждый биологический вид вырабатывает свой уникальный набор АМП, позволяющий ему успешно бороться с патогенной микрофлорой занимаемой им экологической ниши. Разные АМП отличаются спектрами антимикробной активности и механизмами действия и способны взаимно дополнять и усиливать друг друга. Так, список пептидов, выделенных из *Drosophila melanogaster*, включает представителей нескольких структурно

Сокращения: АМП – антимикробные пептиды; МИК – минимальная ингибирующая концентрация; ЛПС – липополисахарид; ПАМР – патогенассоциированные молекулярные паттерны; ALF – антилиполисахаридные факторы; MGD – дефенсины мидии *Mytilus galloprovincialis*; АВФ – антибактериальные факторы круглых червей.

[#] Автор для связи (тел.: +7 (495) 336-44-44; факс: +7 (495) 336-43-33; эл. почта: ovch@ibch.ru).

родственных семейств, которые могут быть разбиты на три группы в соответствии с основной направленностью их антимикробного действия [8]: 1) активные преимущественно в отношении грамположительных бактерий (дефенсины, андропин); 2) действующие в основном на грамотрицательные бактерии (цекропины, аттацины, дрозацин, диптеридин); 3) противогрибковые (дрозомицин, мечниковин).

2. СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И СПЕКТР БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АМП БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Большинство АМП беспозвоночных – положительно заряженные амфифильные молекулы, состоящие из генетически кодируемых *L*-аминокислот, которые, как правило, не подвергаются иным посттрансляционным модификациям, кроме образования дисульфидных связей и амидирования *C*-концевого аминокислотного остатка. Длина полипептидной цепи варьирует в широких пределах, однако в большинстве случаев укладывается в диапазон от 15 до 40 а.о. Известны 5–10-членные антимикробные олигопептиды [9, 10], а также антимикробные некаталитические белки размером до 150 а.о. [11–15], которые обычно рассматривают в одном ряду с классическими АМП. В некоторых случаях зрелая молекула АМП образуется путем объединения с помощью дисульфидной связи фрагментов разных полипептидных цепей [16–18]. Среди немногочисленных посттрансляционных модификаций АМП чаще всего встречается амидирование *C*-концевого аминокислотного остатка с помощью бифункционального фермента – пептидилглицин α -амидирующей монооксигеназы (КФ 1.14.17.3; КФ 4.3.2.5) [19]. Амидирование является результатом специфического расщепления молекулы-предшественника по остатку глицина после его гидроксирования. Такая модификация увеличивает важный для функционирования суммарный положительный заряд молекулы и повышает устойчивость пептида к действию карбоксипептидаз [20]. У ряда пептидов наблюдается циклизация *N*-концевого глутамина с образованием пироглутаминовой кислоты и уменьшением суммарного положительного заряда на единицу [21, 22]. К числу сравнительно редких модификаций АМП относится гликозилирование по остаткам серина или треонина, наиболее характерное для пролин- и глицинбогатых АМП насекомых [13, 23–27]. Известны единичные случаи гидроксирования остатков аргинина, лизина, фенилаланина, триптофана [28, 29] и бромирования остатков триптофана у АМП морских организмов [18, 28, 30, 31]. Эти модификации, как правило, не влияют на антимикробную активность и, скорее

всего, призваны обеспечить устойчивость пептидов к протеолизу [32].

Согласно базе данных APD (<http://aps.unmc.edu/AP>), к настоящему времени открыто около 2600 природных АМП, и не менее трети из них составляют АМП беспозвоночных. На основании сходства первичной структуры АМП объединяют в семейства. Пептиды разных семейств, между которыми не наблюдается существенной гомологии аминокислотной последовательности, тем не менее, могут проявлять признаки конвергенции на уровне пространственной структуры и (или) аминокислотного состава, что позволяет группировать такие семейства в классы [33]. Обычно среди АМП животного происхождения выделяют три основных класса:

- 1) цистеинсодержащие пептиды, стабилизированные внутримолекулярными дисульфидными связями;
- 2) линейные α -спиральные пептиды;
- 3) линейные пептиды, обогащенные остатками определенных аминокислот.

Дополняют эту классификацию АМП смешанного типа, содержащие домены с различающейся структурой. В таблице собраны краткие сведения о большинстве семейств и отдельных наиболее известных представителях АМП беспозвоночных, сгруппированных по классам. Далее по тексту при упоминании названий АМП будут даваться номера (№№) соответствующих записей в таблице.

2.1. Цистеинсодержащие АМП, стабилизированные внутримолекулярными дисульфидными связями

Наиболее известными семействами АМП, входящими в состав этого класса, являются дефенсины (№ 8) и β -шпилечные пептиды (№№ 1, 3, 7, 16, 17). Наличие остатков цистеина, задействованных в образовании внутримолекулярных дисульфидных связей, оказывает существенное влияние на физико-химические и биологические свойства молекул пептидов. Циклизация придает структуре компактность и конформационную жесткость, устойчивость к изменению полярности среды, ионной силы, температуры и, вследствие этого, обеспечивает стабильное взаимодействие пептидных молекул друг с другом (например, в составе трансмембранных пор) и с молекулярными мишенями, а также увеличивает время их жизни в присутствии протеиназ. Такая структура характерна для большинства АМП морских беспозвоночных, вероятно, из-за высокой концентрации солей в среде их обитания, которая составляет в среднем 0.6 М [32]. Остатки цистеина, стабилизирующие конформацию молекулы, в свою очередь, оказываются “законсервированными” в процессе эволюции, их

Краткая характеристика АМП беспозвоночных

№	АМП /семейство	Источник	Структура*	Актив-ность**	Дополнительные сведения	Ссыл-ки***
Цистеинсодержащие пептиды, стабилизированные внутримолекулярными дисульфидными связями						
1	Андроктонин (androctonin)	Гемоциты скорпиона <i>Androctonus australis</i>	25 а.о., 4Cys, $\beta\beta$	G+, G–, F,	Гомология с α -конотоксином SII	[34]
2	Антилипополисахаридные факторы (ALF)	Гемоциты ракообразных и мечехвостов <i>Tachypleus tridentatus</i> и <i>Limulus polyphemus</i>	114–124 а.о., 2Cys, $\alpha\beta\beta\beta\beta\alpha$	G+, G–, F, V	Несколько подсемейств с различными pI и спектрами активности; антимикробная активность наблюдается только у катионных ALF	[35]
3	Ареницины-1, -2 (arenicins)	Целоциты полихет <i>Arenicola marina</i>	21 а.о., 2Cys, $\beta\beta$	G+, G–, F, H	–	[36]
4	Аурелин (aurelin)	Мезоглея сцифоидной медузы <i>Aurelia aurita</i>	40 а.о., 6Cys, $\alpha\alpha$	G+, G–	Гомология с блокаторами K ⁺ -каналов из анемон (BgK, ShK)	[37]
5	Большие дефенсины (big defensins)	Гемоциты мечехвоста <i>Tachypleus tridentatus</i> ; двустворчатые моллюски, ланцетник <i>Branchiostoma japonicum</i>	79–94 а.о., два домена: 1) гидрофобный $\beta\alpha\alpha\beta$, 2) 6Cys $\beta\beta\beta\alpha\beta$	G+, G–, F	Сходство укладки C-концевого домена с β -дефенсинами позвоночных	[35]
6	Бутинин (buthinin)	Гемоциты скорпиона <i>Androctonus australis</i>	34 а.о., 6Cys	G+, G–	Гомология с дефенсинами (№ 8) и блокаторами K ⁺ -каналов из яда скорпионов	[34]
7	Гомезин (gomesin)	Гемоциты паука <i>Acanthoscurria gomesiana</i>	18 а.о., 4Cys, pGlu, C-амид, $\beta\beta$	G+, G–, F, P, T	–	[22]
8	Дефенсины (defensins) а) Антибактериальные, в том числе MGD, ABF б) Противогрибковые: – дрозомицин (drosomycin) – гелиомицин (heliomicin) – термицины (termicins)	Гемолимфа насекомых, гемоциты скорпионов, клещей и моллюсков, псевдоцеломическая жидкость круглых червей Гемолимфа <i>Drosophila melanogaster</i> Гемолимфа табачной листовёртки <i>Heliothis virescens</i> Гемоциты и слюнные железы термитов	38–43 а.о., 6/8Cys, (C-амид), $\alpha\beta\beta$ 44 а.о., 8Cys, $\beta\alpha\beta\beta$ 36 а.о., 6Cys, C-амид, $\alpha\beta\beta$ 36 а.о., 6Cys, C-амид, $\alpha\beta\beta$	G+, (G–) F F, (G+)	Отдельные представители получили собственные имена: сапесины (sapescins), формицин (phormicin), роялизины (royalisins) В противоположность дрозомицину и антибактериальным дефенсинам, гелиомицин сохраняет активность в растворах с высокой ионной силой	[35] [38, 39] [40, 41] [42–44]
9	Мацины (macins): гидрамацин, нейромацин, митимацин, теромацин и др.	Энтодерма кишечнорастных, мезотелий и нервная ткань моллюсков и олигохет	54–78 а.о., 6/8/12Cys, $\beta\alpha\alpha\beta\beta$ (кноттин)	G+, G–	Нейромацин участвует в регенерации нервной ткани у пиявок	[45]
10	Микроплюзин (microplusin), хебреин (hebraein)	Гемолимфа клещей <i>Boophilus microplus</i> , <i>Amblyomma hebraeum</i>	90–110 а.о., 6Cys, $\alpha\alpha\alpha\alpha$, His-богатые N- и C-концевые неупорядоченные участки	G+, F	Cu ²⁺ -хелатирующая активность; гомологичные последовательности найдены у других видов клещей	[46]

Таблица. (Продолжение)

№	АМП /семейство	Источник	Структура*	Актив-ность**	Дополнительные сведения	Ссыл-ки***
11	Митикузин (myticusin)	Гемоциты мидии <i>Mytilus coruscus</i>	104 а.о., 10Cys	G+, (G-, F)	Пространственная структура не исследована, нет гомологов среди известных АМП	[47]
12	Митилины (mytilins)	Гемолимфа мидии <i>Mytilus edulis</i>	32–34 а.о., 8Cys, $\alpha\beta\beta$	G+, V, (G-)	Сходство укладки цепи с CS $\alpha\beta$ -дефенсинами (№ 8)	[48]
13	Митимицин (mytomicin)	Гемоциты мидии <i>Mytilus edulis</i>	54 а.о., 12Cys	F	Предположительно, имеет двухдоменную структуру, нет гомологов среди известных АМП	[49]
14	Митицины (myticins)	Гемоциты мидии <i>Mytilus galloprovincialis</i>	40 а.о., 8Cys	G+, V, (G-, F)	Пространственная структура не исследована	[50]
15	Скарабейцин (scarabaecin)	Гемолимфа жука-носорога <i>Oryctes rhinoceros</i>	36 а.о., 2Cys, $\alpha\beta\beta$	F	Сходство с хитинсвязывающими доменами белков животных и растений на уровне пространственной структуры	[51]
16	Танатин (thanatin)	Гемолимфа клопа-щитника <i>Podisus maculiventris</i>	21 а.о., 2Cys, $\beta\beta$	G+, G-, F	Гомология с бревининами амфибий	[52]
17	Тахиплезины (tachyplesins) и полифемузины (polyphemusins)	Гемоциты мечехвостов <i>Tachypleus tridentatus</i> и <i>Limulus polyphemus</i>	17–18 а.о., 4Cys, $\beta\beta$	G+, G-, F, V, P, T, H	Сродство к ЛПС и хитину, сильный гемолитический эффект	[53, 54]
18	Тахистатины (tachystatins)	Гемоциты мечехвоста <i>Tachypleus tridentatus</i>	41–44 а.о., 6Cys, $\beta\beta\beta$	G+, G-, F, (H)	По первичной и пространственной структурам, а также хитинсвязывающим свойствам подобны агатоксинам пауков	[55, 56]
19	Тахицитин (tachycitin)	Гемоциты мечехвоста <i>Tachypleus tridentatus</i>	73 а.о., 10Cys, C-амид, два домена: 1) $\beta\beta\beta$, 2) $\beta\beta\alpha$	G+, G-, F	Гомология C-концевого домена с хитинсвязывающими доменами хитиназ и других белков; амидирование важно для проявления антибактериальной активности	[57]
Линейные α -спиральные пептиды						
20	Андропин (andropin)	Железы мужской репродуктивной системы <i>Drosophila melanogaster</i>	32 а.о.	(G+)	Активность повышается с увеличением ионной силы среды	[58]
21	Аноплин (anoplin)	Яд одиночной осы <i>Anoplius samariensis</i>	10 а.о., C-амид	G+, (G-)	Гомология с мастопараном X	[9]
22	Вермипептиды (vermipeptides)	Дождевой червь <i>Eisenia fetida</i>	5–7 а.о., Ac-N	(G+, G-)	Низкая активность (МИК 20–40 мкМ)	[10]
23	Галоцидин (halocydin)	Гемоциты асцидии <i>Halocynthia aurantium</i> (подтип Tunicata)	18 а.о. + 15 а.о. (дисульфидная связь), $\alpha+\alpha$	G+, G-	Ковалентный гетеродимер. N-Концевой трипептид Trp-Leu-Asn длинной цепи (18 а.о.) обеспечивает активность как димера, так и мономера	[17]
24	Дицинтаурин (dicynthaurin)	Гемоциты асцидии <i>Halocynthia aurantium</i> (подтип Tunicata)	30 а.о. + 30 а.о. (дисульфидная связь), $\alpha+\alpha$	G+, G-	Ковалентный гомодимер. Активности мономера и димера равны; теряет активность в растворах с высокой ионной силой	[16]

Таблица. (Продолжение)

№	АМП /семейство	Источник	Структура*	Актив-ность**	Дополнительные сведения	Ссыл-ки***
25	Клаванины (clavanins), клаваспирин (clavaspirin)	Гемоциты асцидии <i>Styela clava</i> (подтип Tunicata)	23 а.о., His- и Phe-богатые (клаваспирин His-богатый), C-амид	G+, G-, F, (H)	Сходство белка-предшественника с препропептидами амфибий; рН-зависимый механизм действия; клаваспирин отличается высокой гемолитической активностью; остатки Phe не влияют на антимикробную активность; активны в растворах с высокой ионной силой	[59]
26	Крабролин (crabrolin)	Яд шершня <i>Vespa crabro</i>	13 а.о., C-амид	(G+, G-, H)	Гомология с мастопаранами (№ 30)	[60]
27	Купиеннины (cupiennins)	Яд паука <i>Cupiennius salei</i>	25 а.о., C-амид	G+, G-, H	—	[61]
28	Латарцины (latarcins)	Яд паука <i>Lachesana tarabaevi</i>	20–28 а.о., (C-амид)	G+, G-, (F, H)	—	[62]
29	Ликотоксины (lycotoxins)	Яд паука <i>Lycosa carolinensis</i>	25–27 а.о., (C-амид)	G+, G-, H	Гомология с магейнином лягушки <i>Xenopus laevis</i>	[63]
30	Мастопараны (mastoparans)	Яды различных видов ос	14 а.о., C-амид	G+, G-, F, V, P, T, H	—	[64]
31	Мелиттин (melittin)	Яд медоносной пчелы <i>Apis mellifera</i>	26 а.о., C-амид, два α -спиральных сегмента, разделенных остатком Pro	G+, G-, F, V, P, T, H	—	[64, 65]
32	Морицины (moricins)	Гемолимфа тутового шелкопряда <i>Bombyx mori</i> и других чешуекрылых	42 а.о., протяженная α -спираль из 8 витков, включающая амфифильный и гидрофобный участки	G+, G-, (F)	—	[66]
33	Оксиопинины (oxyopinins)	Яд паука-волка <i>Oxyopes kitabensis</i>	37–48 а.о.	G+, G-, H	Гомология с дермасептинами амфибий	[67]
34	Опистопорины (opistoporin)	Яд скорпиона <i>Opisththalmus carinatus</i>	44 а.о.	G-, F, H, (G+)	—	[68]
35	Понерицины (ponericins)	Яд муравьев <i>Pachycondylas goeldii</i>	24–31 а.о., (C-амид), единая или разделенная Gly/Pro-шарниром α -спираль	G+, G-, F, (H)	Три подсемейства: G, W и L, имеющие гомологию с цекропинами (№ 40), мелиттином (№ 31) и дермасептинами амфибий соответственно	[69]
36	Спинигерин (spinigerin)	Термит <i>Pseudacanthotermes spiniger</i>	25 а.о.	G+, G-, F	—	[70]
37	Стиелины (styelins)	Гемоциты асцидии <i>Styela clava</i> (подтип Tunicata)	31–32 а.о., C-амид, Phe-богатые, 6-бромотриптофан, дигидроксиаргинин, дигидроксизин, 3,4-дигидроксибензилаланин	G+, G-, H	Гомология с цекропинами насекомых (№ 40) и плевродидином камбалы <i>Pseudopleuronectes americanus</i> ; активны в растворах с высокой ионной силой	[28, 59]
38	Стомоксин (stomoxun)	Кишечник кровососущей мухи <i>Stomoxys calcitrans</i>	42 а.о.	G+, G-, F, P	Активен в отношении возбудителей трипаносомоза	[71]

Таблица. (Продолжение)

№	АМП /семейство	Источник	Структура*	Актив-ность**	Дополнительные сведения	Ссыл-ки***
39	Хадрурин (hadrurin)	Яд скорпиона <i>Hadrurus aztecus</i>	41 а.о.	G+, G-, H	—	[72]
40	Цекропины (cescropins), в т.ч. саркотоксины I (sarcotoxins I)	Гемолимфа насекомых из отрядов двукрылых, чешуекрылых, жесткокрылых	31–39 а.о., C-амид, единая или разделенная Gly/Pro-шарниром α-спираль	G-, (G+, F)	Тр в положении 1 или 2 у цекропинов чешуекрылых; более широкий спектр активности у цекропинов двукрылых	[35]
41	Цекропин P1 (cescropin P1) и гомологи	Круглые черви (<i>Ascaris suum</i> и др.)	31 а.о., единая α-спираль, включающая амфифильный и гидрофобный участки	G-, (G+)	Ранее ошибочно относили к эндогенным АМП свиньи	[73]
42	Центроцины (centrocins)	Целомоциты морского ежа <i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	12aa + 30aa (дисульфидная связь), бромтриптофан	G+, G-, F	Ковалентные гетеродимеры	[18]
43	Цератотоксины (ceratotoxins)	Репродуктивные органы плодовой мухи <i>Ceratitis capitata</i>	29–36 а.о.	G+, G-	Гомология с плевроцидином камбалы <i>Pseudopleuronectes</i>	[74]
Линейные пептиды, обогащенные остатками определенных аминокислот						
44	АФР	Гемолимфа серой мясной мухи <i>Sarcophaga peregrina</i>	67 а.о., Gly- и His-богатый	F	—	[75]
45	Абаецины (abaecins)	Гемолимфа медоносной пчелы <i>Apis mellifera</i> , шмеля <i>Bombus pascuorum</i>	34 а.о., Pro-богатые	G-, (G+)	—	[76]
46	Акалолептины (acaloleptins)	Гемолимфа жука-дровосека <i>Acalolepta luxuriosa</i>	71 а.о., Gly-богатые	G-	—	[77]
47	Акантоскуррин (acanthoscurrin)	Гемоциты паука <i>Acanthoscurria gomesiana</i>	130/132 а.о., 73% Gly	G-, F	—	[15]
48	Антибактериальный 6.5-кДа белок	Гемоциты зеленого краба <i>Carcinus maenas</i>	6.5 кДа, Pro-богатый	G+, G-	—	[78]
49	Апидецины (apidaecins)	Гемолимфа медоносной пчелы <i>Apis mellifera</i> , шмелей, ос	17–20 а.о., Pro-богатые	G-	—	[79]
50	Астацидин-2 (astacidin-2)	Гемоциты речного рака <i>Pacifastacus leniusculus</i>	14 а.о., Pro-богатый	G+, G-	—	[80]
51	Аттацины (attacins)	Гемолимфа насекомых отрядов чешуекрылых и двукрылых	~200 а.о., Gly-богатые, три гидрофобные области в N-концевой части цепи	G-	Два подсемейства: основные (pI 9) и нейтральные (pI 7); Pro-богатый продомен (MPAC)	[11, 81–85]
52	Гелиоцин (heliocin)	Гемолимфа табачной листовертки <i>Heliothis virescens</i>	22 а.о., Pro-богатый, pGlu, O-glyc	G-	—	UniProt P83427
53	Гемиптерицин (hemiptericin)	Гемолимфа клопа-солдатика <i>Pyrrhocoris apterus</i>	133 а.о., Gly-богатый	G-	Каждый третий остаток заряжен, число положительных зарядов лишь незначительно превышает число отрицательных	[13]

Таблица. (Продолжение)

№	АМП /семейство	Источник	Структура*	Актив-ность**	Дополнительные сведения	Ссыл-ки***
54	Гименоптецин (hymenoptecin)	Гемолимфа медоносной пчелы <i>Apis mellifera</i>	93 а.о., Gly-богатый	G+, G–	–	[21]
55	Гловерины (gloverins)	Гемолимфа <i>Hyalophora gloveri</i> и др. чешуекрылых	14 кДа, 18% Gly, образуют α -спирали в гидрофобном окружении	G–	–	[14, 86–88]
56	Диптерицины (diptericins)	Гемолимфа насекомых отряда двукрылых (Diptera)	9 кДа, 82 а.о., C-амид, (O-glyc), два домена: 1) 15 а.о., Pro-богатый, 2) 67 а.о., Gly-богатый; неупорядоченная структура	G–	Pro-богатый домен гомологичен апидецинам, Gly-богатый домен определяет спектр активности; гликозилирование не влияет на активность	[89–92]
57	Дрозозин (drosocin)	Гемолимфа <i>Drosophila melanogaster</i>	19 а.о., Pro-богатый, O-glyc	G–	–	[93]
58	Колеоптерицины (coleoptericsins)	Гемолимфа жуков <i>Zophobas atratus</i> , <i>Allomyrina dichotoma</i>	72 а.о., Gly-богатые	G–, (G+)	–	[94]
59	Лебоцины (lebocins)	Гемолимфа тутового шелкопряда <i>Bombyx mori</i> и других чешуекрылых	32 а.о., Pro-богатые, O-glyc	G–, (G+)	–	[95–97]
60	Люмбрицины (lumbrikins), в т.ч. PP-1	Кожная слизь олигохет <i>Lumbricus rubellus</i> и др.	59–65 а.о., 12–15% Pro, 12–14% AAA	G+, G–, F, (H)	–	[98]
61	Метальниковины (metalnikiowins)	Гемолимфа древесного клопа <i>Palomena prasina</i>	15–16 а.о., Pro-богатые	G–	–	[99]
62	Мечниковин (metchnikowin)	Гемолимфа <i>Drosophila melanogaster</i>	26 а.о., Pro-богатый	G+, G–, F	–	[100]
63	Пиррокоризин (pyrrhocoricin)	Гемолимфа клопа-солдатика <i>Pyrrhocoris apterus</i>	20 а.о., Pro-богатый, O-glyc	G–	–	[13]
64	Риноцерозин (rhinocerosin)	Гемолимфа жука-носорога <i>Oryctes rhinocerus</i>	72 а.о., Gly-богатый	G+, G–	–	[101]
65	Саркотоксины II (sarcotoxins II)	Гемолимфа серой мясной мухи <i>Sarcophaga peregrina</i>	28 кДа, два домена: 1) Pro-богатый, 2) Gly-богатый	G–	Гомология с аттацинами (№ 51); в отличие от них, Pro-богатый участок не отщепляется в ходе процессинга)	[102]
66	Тенецин-3 (tenecin-3)	Гемолимфа мучного хрущака <i>Tenebrio molitor</i>	78 а.о., 80% Gly+His+Gln, неупорядоченная структура	F	–	[103, 104]
67	Формецины (formaecins)	Гемолимфа муравья <i>Myrmecia gulosa</i>	16 а.о., 30% Pro, O-glyc	G–	–	[26]
68	Холотрицин-2 (holotricin-2)	Гемолимфа хруща <i>Holotrichia diomphalia</i>	72 а.о., Gly-богатый	G–	–	[12]
69	Холотрицин-3 (holotricin-3)	Хрущ <i>Holotrichia diomphalia</i>	84 а.о., 63% Gly, His-богатый	F	–	[105]

Таблица. (Окончание)

№	АМП /семейство	Источник	Структура*	Актив-ность**	Дополнительные сведения	Ссыл-ки***
АМП смешанного типа, содержащие домены с различной структурой						
70	Арасин-1 (arasin-1)	Гемоциты краба-паука <i>Hyas araneus</i>	37 а.о., два домена: 1) Pro-богатый 2) 4Cys, Pro-богатый	G+, G–, F	Удаление Cys-содержащего C-концевого домена не снижает антимикробной активности	[106]
71	Гиастатин (hyastatin)	Гемоциты краба-паука <i>Hyas araneus</i>	114 а.о., C-амид; три домена: 1) Gly-богатый, 2) Pro/Arg-богатый, 3) 6Cys	G+, G–, F	–	[107]
72	Каллинектин (callinectin)	Гемоциты голубого краба <i>Callinectes sapidus</i>	32 а.о., 4Cys, Pro-богатый, C-амид, три варианта окислительной модификации Trp	G–	Гомология с арасином-1 (№ 70)	[29]
73	Крустины (crustins), в том числе карцинин (carcinin)	Ракообразные; насекомые отряда перепончатокрылых (Hymenoptera)	56–201 а.о., 1–3 домена: обязательный C-концевой 12Cys WAP-домен (+дополнительные WAP, Gly-, Cys-, Pro/Arg-, AAA-богатые)	G+, (G–, F)	Несколько подсемейств с различной доменной организацией; обладают активностью ингибиторов протеиназ; антимикробная активность карцинина возрастает с повышением ионной силы среды	[35]
74	Пенеидины (penaeidins)	Гемоциты креветок семейства Penaeidae	47–67 а.о., (pGlu), (C-амид); два домена: 1) Pro-богатый, 2) 6Cys, α -спираль	G+, F, (G–)	Гомология C-концевого домена с растительными хитинсвязывающими белками; отсутствие амидирования снижает только антибактериальную активность	[108]
75	Скорпин (scorpine)	Яд скорпиона <i>Pandinus imperator</i>	75 а.о., два домена: 1) α -спираль, цекропинподобный, 2) 6Cys, дефенсинподобный	G+, P	–	[109]

* Указаны элементы первичной и пространственной структуры: длина цепи в аминокислотных остатках (а.о.), число остатков цистеина (nCys), число и порядок расположения α -спиральных и β -складчатых фрагментов, наличие C-концевой амидной группы (C-амид), N-концевого пироглутамата (pGlu), ацетилированной N-концевой аминогруппы (Ac-N), гликозилированных остатков серина и треонина (O-glyc), кластера ароматических аминокислот (AAA); в скобки заключены обозначения элементов структуры, встречающихся лишь у части представителей семейства.

** Приведены данные об активности в отношении следующих мишеней: грамположительные (G+) и грамотрицательные (G–) бактерии, грибы (F), простейшие (P), вирусы (V), опухолевые клетки (T), эритроциты млекопитающих (H); скобками обозначена низкая или нехарактерная для большинства представителей данного семейства активность в отношении указанной группы мишеней.

*** Приведены ссылки на обзорные статьи и ключевые экспериментальные работы.

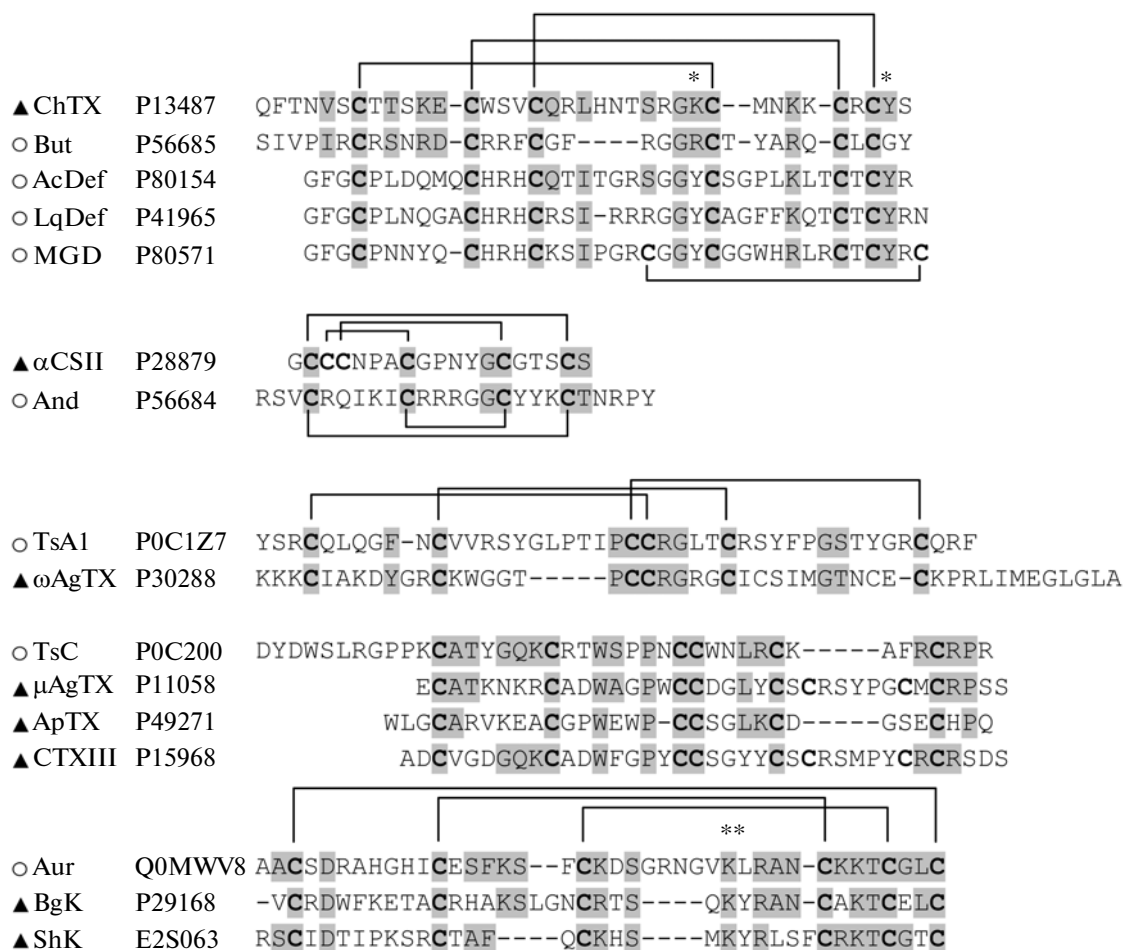


Рис. 1. Сходство структуры представителей цистеинсодержащих АМП (○) и токсинов (▲). Сокращения: ChTX – харриблотоксин А из скорпиона *Leiurus quinquestriatus hebraeus*; But – бутинин из скорпиона *Androctonus australis* (№ 6 в табл. 1); AcDef, LqDef и MGD – дефенсины из стрекозы *Aeshna cyanea*, скорпиона *Leiurus quinquestriatus hebraeus* и мидии *Mytilus galloprovincialis* (№ 8); αCSII – α-конотоксин SII из моллюска *Conus striatus*; And – андроктонин из скорпиона *Androctonus australis* (№ 1); TsA1 и TsC – тахистатины А1 и С из мечехвоста *Tachypleus tridentatus* (№ 18); ωAgTX и μAgTX – ω-агатоксин IVA и μ-агатоксин II из паука *Agelenopsis aperta*; ApTX – аптотоксин VII из паука *Aptostichus schlingeri*; CTXIII – куртатоксин III из паука *Hololena curta*; Aur – аурелин из медузы *Aurelia aurita* (№ 4); BgK и ShK – токсины из морских анемонов *Bunodosoma granulifera* и *Stichodactyla helianthus*. Указаны идентификаторы записей в базе данных UniProt. Звездочками обозначены функциональные диады харриблотоксина и токсинов анемонов, показана аранжировка дисульфидных связей.

замена на другие аминокислоты либо изменение расстояния между соседними остатками цистеина с высокой вероятностью влечет за собой радикальное изменение свойств молекулы, поэтому сравнительно редко закрепляется в генотипе.

Одинаковые цистеиновые мотивы могут роднить АМП с пептидами и доменами крупных белков, относящимися к другим функциональным классам. Наибольший интерес с эволюционной точки зрения представляет гомология представителей некоторых цистеинсодержащих АМП и пептидных компонентов животных ядов. Например, дефенсины членистоногих (№ 8) сходны с харриблотоксинами скорпионов [34, 110], андроктонин из гемоцитов скорпиона *Androctonus australis*

(№ 1) – с α-конотоксином SII из моллюска *Conus striatus* [34], тахистатины из гемоцитов мечехвоста *Tachypleus tridentatus* (№ 18) – с рядом нейротоксинов пауков [55, 56], аурелин из мезоглеи сцифоидной медузы *Aurelia aurita* (№ 4) – с блокаторами калиевых каналов (BgK, ShK) из яда морских анемонов [37] (рис. 1). Гомология аминокислотных последовательностей в перечисленных случаях может свидетельствовать о дивергентном развитии структур от общего предшественника.

Семейство дефенсинов и дефенсинподобные пептиды

Дефенсины (№ 8) – наиболее широко распространенное в живой природе семейство АМП.

Представители этого семейства встречаются и у позвоночных, и у беспозвоночных животных, растений, грибов [111–113], дефенсинподобные пептиды найдены у миксобактерий [114]. Молекулы дефенсинов содержат три или четыре внутримолекулярные дисульфидные связи и формируют двойной или тройной β -лист, образованный антипараллельными тяжами, а также, в некоторых случаях, N - или C -концевой α -спиральный участок (рис. 2а). Для дефенсинов беспозвоночных характерно наличие N -концевой α -спирали, в связи с чем их также называют $C\alpha\beta$ -пептидами (cysteine-stabilized α -helix and β -sheet) [113]. Данная структура является эволюционно консервативным шаблоном пространственной укладки полипептидной цепи, по которому построены многие пептиды и домены белков животного и растительного происхождения.

Сравнительный анализ аминокислотных последовательностей и спектров антимикробной активности дефенсинов беспозвоночных позволяет выделить несколько подсемейств этих молекул. К *первому подсемейству* можно отнести антибактериальные дефенсины эволюционно “молодых” отрядов насекомых (перепончатокрылых, жесткокрылых, двукрылых, полужесткокрылых, чешуекрылых), содержащие шесть остатков цистеина. *Второе подсемейство* составляют дефенсины стрекоз, клещей, скорпионов и двустворчатых моллюсков, также содержащие шесть остатков цистеина и проявляющие антибактериальные свойства. Они имеют выраженное сходство с хариботоксинами (рис. 1) и в целом более консервативны, чем представители первого подсемейства, несмотря на большую эволюционную удаленность тех видов беспозвоночных, из которых они были выделены. *Еще два подсемейства* образованы антибактериальными дефенсинами моллюсков (MGD) и круглых червей (ABF), содержащими по восемь остатков цистеина. *В отдельное подсемейство* выделяют противогрибковые дефенсины насекомых.

Расположением остатков цистеина, а также аранжировкой дисульфидных связей дефенсины беспозвоночных отличаются от α - и β -дефенсинов позвоночных. Ряд структурных характеристик свидетельствует о большей эволюционной близости между дефенсинами членистоногих и β -дефенсинами, чем между α - и β -дефенсинами [115–117].

Трехмерные структуры дефенсинов насекомых отряда двукрылых включают три типа различно организованных участков [118] (рис. 2а):

- 1) малоупорядоченный N -концевой фрагмент, соединенный дисульфидной связью с первой β -цепью;
- 2) α -спиральный фрагмент, соединенный двумя дисульфидными связями со второй β -цепью;
- 3) двойной антипараллельный β -складчатый лист.

Предполагается, что все пептиды семейства дефенсинов построены по такой схеме.

Особое место среди дефенсинов первого подсемейства занимают дефенсины пчелы (*роялизин*) и шмеля, имеющие протяженный амидированный C -концевой участок [119, 120]. Ряд дефенсинов двустворчатых моллюсков, например, дефенсины мидии *Mytilus galloprovincialis* (MGD) [121], а также антибактериальные факторы (ABF) из круглых червей *Ascaris suum* и *C. elegans* [122], помимо шести консервативных остатков цистеина содержат два дополнительных, образующих четвертую дисульфидную связь. Наличие четвертой дисульфидной связи, а также повышенное содержание гидрофобных ароматических остатков делают структуру MGD более компактной и, вероятно, более стабильной в растворах с высокой ионной силой.

Большинство дефенсинов насекомых в концентрациях 0.1–10 мкМ подавляют рост грамположительных бактерий. Требуются на один-два порядка более высокие концентрации для проявления их активности в отношении грамотрицательных бактерий и еще более высокие — для подавления роста низших грибов. Этим дефенсины насекомых отличаются от дефенсинов позвоночных, которые являются в целом более универсальными антимикробными агентами [111]. В концентрациях, близких к МИК, дефенсины насекомых не вызывают лизиса эритроцитов млекопитающих и дрожжевых клеток. Активность дефенсинов существенно снижается в растворах с высокой ионной силой и, особенно, в присутствии ионов кальция [123]. Лишь небольшое число дефенсинов насекомых обладают противогрибковой активностью. Первыми представителями этого подсемейства стали *дрозомицин* из гемолимфы мухи *Drosophila melanogaster* [38] и *гелиомицин* из гемолимфы бабочки *Heliothis virescens* [40]. В структуре этих пептидов присутствует дополнительная β -цепь, образованная удлиненным N -концевым участком молекулы (рис. 2б); у дрозомицина четвертая дисульфидная связь соединяет эту цепь с C -концевым участком [39, 41]. Однако наличие данного структурного элемента не является общим признаком противогрибковых дефенсинов и не объясняет специфичности их действия. Так, *термицины*, выделенные из гемоцитов и слюнных желез термитов, сочетают противогрибковый спектр активности со структурой типичных антибактериальных дефенсинов “древнего” типа [42–44].

К дефенсинподобным пептидам относят, в первую очередь, семейство *митилинов* моллюсков (№ 12) и “*большие дефенсины*” беспозвоночных (№ 5). “*Большие дефенсины*”, обнаруженные в гемоцитах мечехвоста *Tachypleus tridentatus*, нескольких видов двустворчатых моллюсков и ланцетника [124–126], состоят из двух функцио-

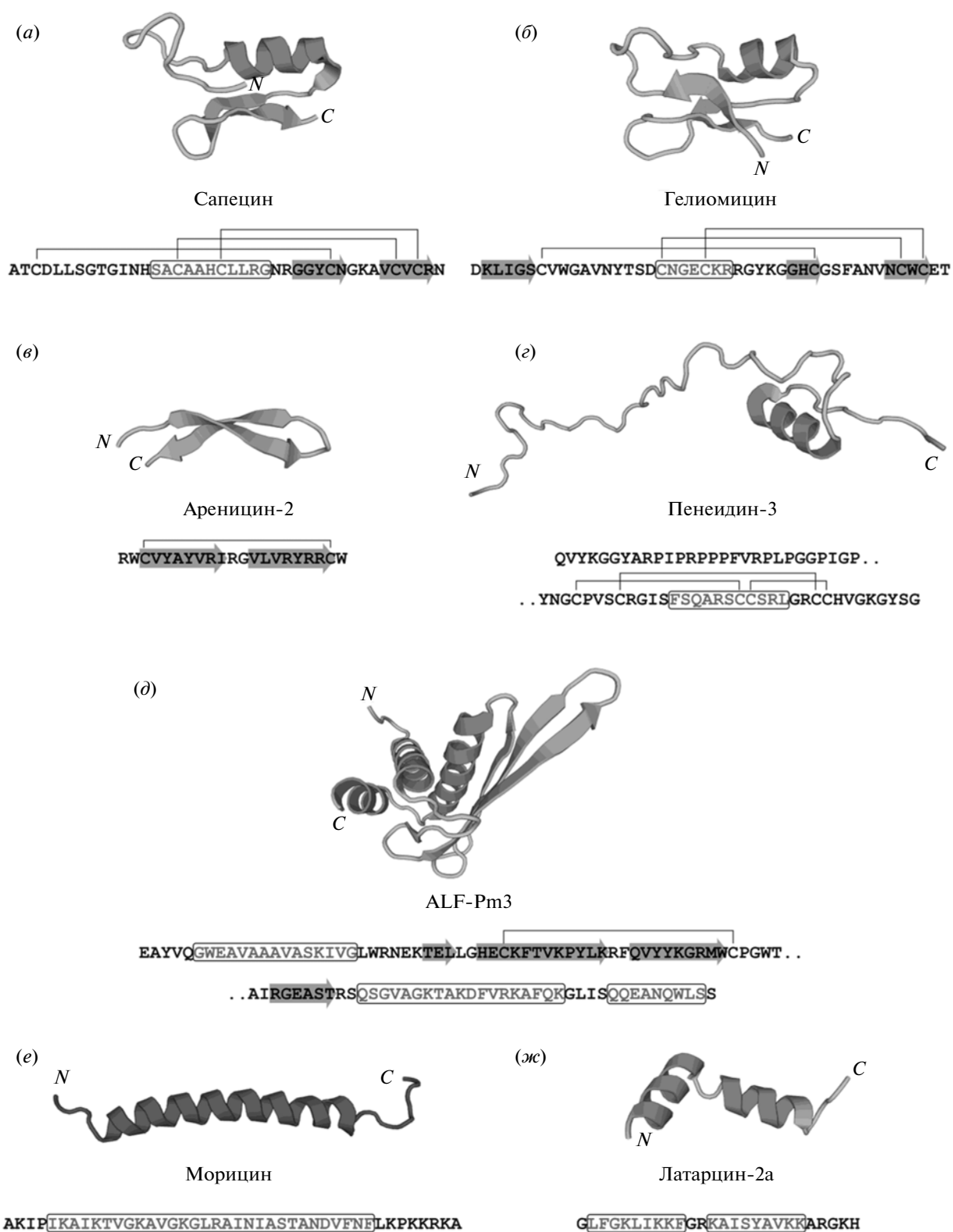


Рис. 2. Первичная и пространственная структура АМП разных семейств. Показаны представители (а) антибактериальных (сапецин из мухи *Sarcophaga peregrina*; PDB ID 1L4V) и (б) противогрибковых (гелиомицин; 1I2U) дефенсинов насекомых, (в) β-шпильчатых пептидов (ареницин-2; 2JN1), (г) пенеидинов (пенеидин-3 из креветки *Litopenaeus vannamei*; 1UEO), (д) антилипополисахаридных факторов (ALF-Pm3 из креветки *Penaeus monodon*; 2JOB), (е) линейных пептидов с единой (морицин; 1KV4) и (ж) разделенной “шарниром” (латарцин-2а; 2G9P) α-спиралью. Отмечены N- и C-концевые аминокислотные остатки. Обозначены участки первичной структуры, принимающие α-спиральную (светлые прямоугольники) и β-складчатую (темные стрелки) конформацию, показана аранжировка дисульфидных связей.

нальных доменов, кодируемых разными экзонами. С-Концевой домен по аранжировке дисульфидных связей и пространственной структуре близок β -дефенсинам позвоночных [127]. Более гидрофобный и слабоосновный N-концевой домен в растворе образует глобулу, включающую две α -спирали и двойной β -лист, а в липидном окружении принимает вытянутую α -спиральную конформацию [128]. Отщепленный трипсином С-концевой домен действует преимущественно на грамотрицательные бактерии, в то время как N-концевой домен более активен в отношении грамположительных бактерий. Такое важное для многих АМП свойство, как способность к связыванию ЛПС, наблюдается лишь у целой молекулы.

Гипотеза о существовании единого предшественника в молекулярной эволюции дефенсинов и дефенсинподобных молекул стимулировала поиск пептидов этих семейств у представителей множества групп живых организмов. Особый интерес в этом отношении представляет опубликованная структура плектасина – АМП из сапрофитного гриба *Pseudoplectania nigrella* отдела аскомицетов [129]. Плектасин обладает выраженным сходством на уровне первичной структуры с “древними” дефенсинами беспозвоночных (до 50–55% гомологии) и сохраняет характерный для рассматриваемых молекул CS α β -мотив. Ряд работ посвящен вопросу эволюционного родства между дефенсинами беспозвоночных и позвоночных животных, а также растений и грибов [116, 117, 130]. Близкое сходство С-концевого домена “больших дефенсинов” с β -дефенсинами позвоночных дало повод предположить, что вторые произошли от первых (или подобных им молекул) по механизму перетасовки экзонов (exon shuffling) [131].

Семейство β -шпилечных пептидов

В эту немногочисленную группу цистеинсодержащих АМП входят пептиды длиной от 17 до 25 а.о., образующие двойной β -складчатый лист, антипараллельные цепи которого соединены β -изгибом и одной (танатин [52], ареницины-1 и -2 [36]) или двумя (тахиплезины [53], полифемузины [54], андроктонин [34], гомезин [22], NZ17000 [132]) внутримолекулярными дисульфидными связями [133] (№№ 1, 3, 7, 16, 17; рис. 2в). β -Шпилечные пептиды привлекают внимание разработчиков лекарственных средств сочетанием высокой антимикробной активности в отношении широкого спектра микроорганизмов (грамположительных и грамотрицательных бактерий, мицелиальных и дрожжевых грибов), малых размеров молекулы и относительной дешевизны получения, а также большей, по сравнению с линейными АМП, протеолитической устойчивостью. При этом танатин и андроктонин изначально обладают низкой гемолитической активностью, которая у других предста-

вителей группы может быть снижена путем проведения аминокислотных замен [134]. Показано, что танатин и его производные способны подавлять рост патогенных штаммов со множественной лекарственной устойчивостью, в том числе на модели *in vivo* и в биопленках [135–138]. Спектр активности β -шпилечных АМП не ограничивается микроорганизмами: обнаружена активность аналогов полифемузина II в отношении ВИЧ [139], а также противоопухолевая активность тахиплезинов и гомезина [140].

Семейство антилипополисахаридных факторов (ALF)

Выделенные из амебоцитов мечехвостов *Limulus polyphemus* и *Tachypleus tridentatus* белковые факторы, препятствующие коагуляции гемолимфы в присутствии ЛПС [141], в настоящее время рассматриваются в качестве АМП широкого спектра действия, в том числе против бактерий, грибов и вирусов [35]. Гомологичные последовательности были обнаружены в ДНК креветок, крабов, речных раков [142–144]. Антилипополисахаридные факторы (ALF) – небольшие белки с молекулярной массой 10–12 кДа, структура которых включает группу из трех α -спиралей, соседствующую с β -складчатым участком, сформированным из четырех β -тяжей [145, 146] (№ 2; рис. 2д). Второй и третий β -тяжи соединены единственной имеющейся в молекуле дисульфидной связью, образуя обогащенный заряженными аминокислотными остатками ЛПС-связывающий домен. ALF имеют амфифильную структуру с сильно гидрофобным N-концевым участком. Большинство из них являются катионными белками, ЛПС-связывающие и антимикробные свойства которых напрямую зависят от величины заряда. В этой структурной группе встречаются и отрицательно заряженные молекулы, обладающие низкой аффинностью к ЛПС и лишенные антимикробной активности. Их биологическая роль пока остается неизвестной [147].

2.2. Линейные α -спиральные АМП

Исследование этого класса АМП у беспозвоночных началось с открытия **цекропина** из гемолимфы куколки гигантского шелкопряда *Hyalophora cecropia* [148] (№ 40). С тех пор были определены последовательности десятков цекропинов насекомых отрядов двукрылых, чешуекрылых и жесткокрылых [35]. Полипептидная цепь цекропинов в гидрофобном окружении приобретает структуру, включающую 1) неупорядоченный катионный N-концевой участок, 2) центральную амфипатическую α -спираль, 3) глицин-пролиновый “шарнир” и 4) гидрофобную С-концевую α -спираль [149, 150]. Спиральная структура цекропина P1 из круглого паразитического червя *Ascaris suum*

(№ 41) не содержит “шарнира”, однако и в ней можно выделить два разнородных участка: амфифильный, длиной 4–5 витков, и гидрофобный, длиной 1–2 витка [151]. Цекропины активны преимущественно в отношении грамотрицательных бактерий. Гомологичные пептиды, названные **стиелинами** (№ 37), выделены из гемоцитов асцидии *Styela clava*, относящейся к хордовым животным подтипа оболочников [59]. Отличительным признаком стиелина D является наличие нескольких модифицированных аминокислотных остатков. В отличие от большинства α -спиральных пептидов стиелины сохраняют активность в растворах с высокими концентрациями солей и в широком диапазоне pH. Немодифицированный синтетический стиелин D в таких же условиях теряет антимикробные свойства [28].

К числу пептидов, принимающих сходную с цекропинами конформацию, но не обладающих существенной гомологией с ними, относятся **морицины** [66] (№ 32; рис. 2e) и **цеработоксины** [74] (№ 43) насекомых, **клаванины** и **клаваспирин** оболочников [59] (№ 25) и ряд других АМП. Особое место в структурной классификации занимают АМП, молекулы которых образованы отдельными линейными субъединицами, соединенными дисульфидными связями: **галоцидин**, **дицинтаурин**, **центроцины** [16–18] (№№ 23, 24, 42). Входящие в их состав пептидные цепи также склонны к образованию α -спиральной конформации.

Антимикробные свойства были обнаружены у многих линейных α -спиральных мембранолитических пептидов, выделенных из ядовитых желез членистоногих [9, 60–64, 67–69, 72, 152] (№№ 21, 26–31, 33–35, 39). Хотя антимикробные свойства этих универсальных мембранолитиков, возможно, не являются определяющими в спектре их активностей, они представляют несомненный интерес в качестве ближайших структурно-функциональных аналогов АМП, специализирующихся на выполнении иммунных функций. Сравнительный анализ этих двух типов молекул позволяет выявить структурные основы селективности антимикробного действия. К универсальным мембранолитическим токсинам относится **мелиттин** (№ 31), основной компонент пчелиного яда, ставший, наряду с цекропинами и магейнином-2, “золотым стандартом” в исследовании механизмов образования трансмембранных пор [64, 65]. Молекула мелиттина разделена остатком пролина на два α -спиральных участка – гидрофобный и гидрофильный. Такая организация молекулы придает ей выраженные антимикробные и гемолитические свойства. Химически синтезированные гибриды “цекропин-мелиттин” наследуют высокую антимикробную активность мелиттина, но сохраняют присущую цекропинам избирательность в отношении мембран прокариот [153].

2.3. Линейные АМП, обогащенные остатками определенных аминокислот

К данному классу чаще всего относят АМП с высоким содержанием пролина или глицина, не имеющие упорядоченной пространственной структуры. Известны АМП, обогащенные остатками фенилаланина (упомянутые выше стиелины (№ 37) и клаванины (№ 25)) и гистидина (клаванины, клаваспирин (№ 25)), однако эти пептиды способны образовывать α -спираль и обычно рассматриваются в одном ряду с пептидами, для которых характерна α -спиральная конформация. Содержание пролина у АМП рассматриваемого класса может составлять более 25%. Остатки пролина нередко соседствуют с остатками аргинина и лизина, а также образуют дублеты или триплеты. Сказанное справедливо в равной мере и для пролинсодержащих кателицидинов млекопитающих – PR-39, бактенецинов, профенинов. Последние отличаются от пептидов беспозвоночных большими размерами и не имеют с ними существенной гомологии [154]. Первый обогащенный пролином АМП был выделен из гемолимфы медоносной пчелы *Apis mellifera* и получил название **апидецина**, его гомологи были обнаружены у шмелей и ос [79] (№ 49). Вместе с гомологичными им **метальниковидами** (№ 61), **пиррокорорицином** (№ 63), **дрозоцином** (№ 57), **формецинами** (№ 67), **гелиоцином** (№ 52) они составляют первое из двух структурных подсемейств [66, 155]. Второе подсемейство представлено **абаецинами**, **лебоцинами**, а также **мечниковином** [66, 154, 155] (№№ 45, 59, 62). Абаецины и лебоцины имеют более длинную, чем у апидецинов, последовательность, С-концевая часть которой гомологична мечниковину, а N-концевая обладает некоторым сходством с апидецинподобными пептидами. Абаецины можно рассматривать как связующее звено между двумя подсемействами, существование которого является доказательством единого происхождения всех названных молекул.

Апидецинподобные пептиды оказывают антимикробное действие в основном на грамотрицательные бактерии. Пептидам подсемейства абаецина свойственна меньшая селективность. Мечниковин активен в отношении грибов и грамположительных бактерий. Характерной особенностью некоторых пролинбогатых пептидов является наличие в их составе гликозильных фрагментов, присоединенных к остаткам треонина и необходимых для нормального функционирования АМП. Примером такого пептида является дрозоцин, активность которого в отсутствие дисахаридной группы Gal(β 1 \rightarrow 3) GalNAc(α 1 \rightarrow O) уменьшается в 5–10 раз [25]. Посттрансляционной модификации подвергаются также пиррокорорин, формецины, гелиоцины и лебоцины. Однако, в отличие от дрозоцина и формецинов, синтетический O-гликозилированный пиррокорорин менее активен, чем его синтетиче-

ский негликозилированный аналог [26, 156]. Апи-децинподобные пептиды относятся к группе самых сильнодействующих АМП, значения их МИК нередко составляют менее 1 мкМ.

Обогащенные пролином АМП встречаются также у ракообразных [78, 80] (№№ 48, 50) и кольчатых червей [157, 158] (№ 60). Фрагменты аминокислотной последовательности, содержащие большое число остатков пролина, встречаются в составе АМП, имеющих смешанную структуру, в частности, в цистеинсодержащих пенеидинах (№ 74), арасине-1 (№ 70) и обогащенных глицином диптерицинах (№ 56) и саркотоксинах II (№ 65). Во всех указанных примерах, за исключением арасина-1, эти фрагменты локализованы в *N*-концевой части молекулы. В составе зрелых молекул глицинбогатых аттацинов (№ 51) отсутствуют обогащенные пролином участки, однако их отщепляемые *N*-концевые продомены содержат остатки пролина и аргинина и обладают сходством с представителями группы апидецина по первичной структуре [27]. Один из них, продомен аттацина С, получивший название МРАС (*M*aturated *P*ro-domain of *A*ttacin *C*) и являющийся близким гомологом гелиоцина (№ 52), был выделен из гемолимфы *Drosophila melanogaster* в свободном состоянии. Наряду с самостоятельной активностью в отношении грамотрицательных бактерий МРАС обнаружил способность к синергизму с цекропином А дрозофилы. Подобно гелиоцину, МРАС содержит пироглутаминовую кислоту в качестве *N*-концевого остатка и гликозилирован по остатку треонина [27].

АМП, обогащенные глицином, являются небольшими белками с молекулярной массой 8–30 кДа. Некоторые из них, как уже было сказано, характеризуются одновременно высоким содержанием пролина. Почти все известные сегодня глицинбогатые АМП были выделены из гемолимфы насекомых нескольких отрядов: чешуекрылых (аттацины, № 51; Gloverины, № 55), двукрылых (диптерицины, № 56; аттацины, № 51; саркотоксины-II, № 65), жесткокрылых (колеоптерицины, № 58; холотрицины, №№ 68, 69; акалолептины, № 46; риноцерозин, № 64; тенецин-3, № 66), перепончатокрылых (гименоптецин, № 54), полужесткокрылых (гемиптерицин, № 53). Большинство из них, за исключением гименоптецина, риноцерозина, колеоптерицина *Allomyrina dichotoma*, активны лишь в отношении грамотрицательных бактерий. Диптерицины (№ 56) могут быть гликозилированы по остаткам треонина, расположенным как в пролинбогатой, так и в глицинбогатой области, но отсутствие этой модификации у искусственных аналогов не влияет на антимикробную активность [159].

В отдельное структурно родственное семейство можно выделить глицинбогатые белки насекомых, обладающие противогрибковым действием: *AFP*,

тенецин-3, *холотрицин-3* (№№ 44, 66, 69). Их молекулы обогащены не только глицином, но и гистидином, однако лишены при этом сходства с еще одной группой гистидинбогатых пептидов беспозвоночных – клаванинами (№ 25). По содержанию гистидина (15–20%) и по спектру активности эти вещества можно считать ближайшими аналогами гистатинов – фунгистатических АМП из слюны человека [160].

Противогрибковой и антибактериальной активностью обладает *акантоскуррин* – АМП из гемолимфы тарантула *Acanthoscurria gomesiana* (№ 47). Из-за преобладания в составе остатков глицина (73%) акантоскуррин демонстрирует значительный уровень гомологии с холотрицином-3, на 63% состоящим из остатков этой же аминокислоты. Однако сходство в данном случае едва ли можно назвать существенным: акантоскуррин не содержит гистидина, его положительный заряд (+8 при pH 7.0) обеспечивается сильноосновными аргинином и лизином, в последовательности гораздо больше гидрофобных остатков.

2.4. АМП смешанного типа, содержащие домены с различной структурой

Ниже будут рассмотрены два наиболее многочисленных семейства АМП беспозвоночных, не вписывающихся в традиционную структурную классификацию.

Семейство пенеидинов

Из гемоцитов нескольких видов креветок было выделено семейство АМП, названных *пенеидинами*, насчитывающее в настоящее время около 40 представителей [108, 161] (№ 74). Молекулы пенеидинов состоят из обогащенной пролином *N*-концевой части и консервативного *C*-концевого фрагмента, содержащего шесть остатков цистеина, замкнутых в порядке 1–3, 2–5, 4–6 (рис. 2г). Средняя часть *C*-концевого домена имеет конформацию амфифильной α -спирали, тесно связанной с предшествующим и следующим за ней участками цепи [162, 163]. Наблюдается сходство первичной структуры *C*-концевого фрагмента пенеидинов и хитинсвязывающих доменов растительных белков, при этом способность пенеидинов образовывать комплекс с хитином подтверждена экспериментально [164]. Менее консервативный, обогащенный пролином *N*-концевой участок обладает гомологией с 6.5-кДа белком из гемоцитов зеленого краба *Carcinus maenas* [78] (№ 48). Пенеидины проявляют активность в отношении нитчатых грибов и грамположительных бактерий и, за редким исключением, не действуют на грамотрицательные бактерии. Двухдоменная архитектура молекулы натолкнула исследователей на мысль о вероятной двойственности механизма действия пе-

неидинов, наподобие той, которая наблюдается у “большого дефенсина” из *Tachypleus tridentatus* (см. выше) [124]. В ходе проверки этой гипотезы было показано, что отдельно взятый синтетический *N*-концевой домен одного из пенидинов полностью лишен антимикробной активности, в то время как другой обладает активностью полного размера пептида [165].

Семейство крустинов

Крустины – крупнейшее семейство АМП ракообразных, включающее около 50 представителей (№ 73). Название “*крустины*” было дано этим веществам в связи с тем, что до недавнего времени их обнаруживали только у ракообразных (Crustacea) [35]. Первым из них был открыт *карцинин* или *крустин Ст1*, выделенный из гемолимфы зеленого краба *Carcinus maenas*. Пептид имеет молекулярную массу 11.5 кДа и содержит 12 остатков цистеина [166]. Узкая направленность антимикробного действия этого белка, ограниченная грамположительными бактериями, обитающими в море, кажется особенно необычной ввиду того, что большую часть морской микрофлоры составляют грамотрицательные бактерии. Объяснить это можно тем, что активность карцинина лишь дополняет спектр активности других защитных факторов, и он играет роль функционального заместителя лизоцима. Оптимальными условиями для его функционирования являются концентрированные солевые растворы. С понижением концентрации соли уменьшается и антимикробная активность, что прямо противоположно зависимости, установленной для большинства других АМП.

При анализе библиотек кДНК креветок, лангустов, речных раков и некоторых других беспозвоночных были выявлены транскрипты, отвечающие за синтез близких гомологов карцинина [167, 168]. В 2012 г. гомологичные последовательности были идентифицированы в геномах насекомых отряда перепончатокрылых, что указывает на более широкую распространенность крустинов [169]. По сравнению с другими АМП крустины имеют более сложную структуру. Общим для всех крустинов является наличие катионного *C*-концевого домена, содержащего двенадцать остатков цистеина, – так называемого WAP-домена (Whey Acidic Protein), обнаруженного ранее у млекопитающих сначала в составе некоторых белковых ингибиторов протеиназ, а затем и в антимикробных белках [170]. В *N*-концевой области крустинов могут располагаться глицин-, пролин/аргинин- и цистеинбогатые домены, второй WAP-домен, либо участок, обогащенный ароматическими аминокислотами. Доменный состав молекулы стал основой для классификации крустинов, в соответствии с которой они подразделяются на пять групп [35]. АМП этого семейства действуют пре-

имущественно на грамположительные бактерии и имеют умеренно высокие МИК. В то же время, встречаются представители с высокой активностью в отношении грамотрицательных бактерий. Способность иммунной системы креветки *Litopenaeus vannamei* противостоять инфекции снижается при подавлении экспрессии гена крустина [171]. Многие белки данного структурного семейства являются ингибиторами протеиназ, однако этот тип активности, по-видимому, не связан с антимикробными свойствами.

3. БИОСИНТЕЗ И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АМП БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

В отличие от многих АМП, выделенных из бактерий и грибов и являющихся продуктами вторичного метаболизма, АМП животного происхождения синтезируются непосредственно на рибосомах. Подавляющее большинство известных АМП животных синтезируется в виде пре- или препробелков, процессинг которых приводит к образованию одной или нескольких молекул активных пептидов. Продомены в составе белков-предшественников располагаются между последовательностями сигнального и зрелого пептида, либо занимают *C*-концевой участок молекулы, и имеют, как правило, отрицательный заряд. Примером более сложной организации предшественника служат апицеины (№ 49): вслед за сигнальной последовательностью идут многочисленные (до 12) тандемные повторы, включающие последовательности нескольких изоформ зрелого АМП, консервативного анионного фрагмента и сайта расщепления из двух остатков аргинина [172].

Похожее строение белка-предшественника наблюдается у магейнинов – α -спиральных пептидов из кожного покрова шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* [173]. Функция продоменов предположительно состоит в нейтрализации токсичности и участии в процессах созревания и транспортировки зрелого пептида. Расщепление пептидной связи между продоменом и зрелым пептидом осуществляют субтилизин/фуриноподобные про-белок-конвертазы.

Небольшую группу АМП составляют фрагменты белков, выполняющих свою самостоятельную функцию в организме. Из числа АМП беспозвоночных к ним относятся производные гемоцианина [174, 175] и гистонов [176, 177]. Эти белки можно рассматривать в качестве “депо” АМП в тканях, позволяющих организму быстро мобилизовать свои защитные ресурсы путем активации специфических протеаз [174] или за счет неферментативной фрагментации [178].

Гены, кодирующие АМП одного типа, нередко присутствуют в геноме в количестве нескольких копий. Наличие генных кластеров принято объяс-

нять механизмом молекулярной эволюции, основанным на дубликации и дивергенции генов [179]. Эти процессы могли приводить к появлению природных “комбинаторных библиотек” пептидов, причем в процессе филогенеза происходила селекция вариантов, наиболее эффективных в текущих условиях обитания. Такой механизм должен был позволить относительно быстро (в масштабах биологической эволюции) адаптировать молекулы “защиты и агрессии” к новым мишеням. Аналогичная модификация антибиотиков, синтезируемых нерибосомальным путем, потребовала бы внесения изменений в сложные мультиферментные комплексы. Возможно, этим объясняется тот факт, что генетически кодируемые антибиотики получили распространение именно у многоклеточных организмов, уступающих патогенным бактериям и грибам в скорости смены поколений и численности популяций. Следующий шаг на пути увеличения гибкости адаптационных механизмов был сделан позвоночными, обогатившими свой арсенал лимфоцитарным иммунитетом с присущей ему селекцией клонов защитных молекул во временных рамках онтогенеза.

У беспозвоночных встречаются три основных типа экспрессии генов АМП [180]:

1) конститутивный синтез в тканях здорового организма, который обычно сопровождается накоплением защитных факторов в гранулах специализированных клеток;

2) локальная индукция в ответ на антигенную стимуляцию;

3) системная индукция, при которой происходит секреция защитных молекул в гемолимфу.

Основным местом конститутивного синтеза АМП у большинства беспозвоночных являются гемоциты. У насекомых АМП синтезируются в ходе иммунного ответа в жировом теле, функциональном аналоге печени позвоночных, и оттуда поступают в гемолимфу. У беспозвоночных, как и у позвоночных животных, выявлена способность к локальному иммунному ответу, в процессе которого контактирующие с патогеном клетки эпителия начинают синтезировать защитные факторы. На выполнении функции защитных и регенеративных факторов местного действия специализируется, в частности, АМП семейства мацинов, найденные у кишечнополостных, кольчатых червей и моллюсков [45] (№ 9).

В отличие от лимфоцитарного иммунитета, основанного на тонкой адаптации организма к каждому антигену, система врожденного иммунитета сфокусирована на сравнительно небольшом числе высококонсервативных структур, являющихся молекулярными маркерами различных групп патогенных микроорганизмов. Эти структуры получили название патогенассоциированных молекулярных паттернов или PAMP. К ним можно отнести пепти-

догликаны грамположительных и грамотрицательных бактерий, ЛПС, тейхоевые кислоты, флагеллин, маннаны и глюканы грибов, хитин, эргостеролы, двухцепочечную РНК.

Механизмы регуляции иммунного ответа у беспозвоночных наиболее детально изучены на примере *Drosophila melanogaster* [181]. Основными сигнальными путями, обеспечивающими индукцию синтеза защитных факторов у этого насекомого, являются Toll/Dif- и Imd/Relish-пути. В отличие от Toll-подобных рецепторов (TLR) млекопитающих, непосредственно взаимодействующих с патогенами, Toll-рецепторы беспозвоночных активируются цитокином Spaetzle [182]. Запуск Toll/Dif-сигнального пути может происходить при взаимодействии PAMP с секретируемыми или трансмембранными пептидогликанраспознающими белками (PGRP-SA, PGRP-SD) и “белками, связывающими грамотрицательные бактерии” (GNBP-1, GNBP-3). Последние, вопреки закрепившемуся в литературе названию, обеспечивают реакцию дрозофилы на пептидогликан грамположительных бактерий и β -глюканы грибов. Интересно отметить, что представители семейства PGRP, обнаруженные у млекопитающих, выполняют не сигнальную, а самостоятельную эффекторную функцию. Активированный Toll-рецептор индуцирует внутриклеточный сигнальный каскад, включающий фосфорилирование киназой Pelle белка Cactus, ингибирующего транскрипционный фактор Dif. После расщепления Cactus убиквитин-протеасомной системой происходит транслокация Dif из цитоплазмы в ядро с последующей индукцией экспрессии множества генов, в том числе генов АМП. Белок Dif гомологичен транскрипционному фактору Dorsal, участвующему в эмбриональном развитии дрозофилы, а также напоминает транскрипционный фактор NF- κ B, сайты связывания которого присутствуют в промоторных областях генов иммунной системы млекопитающих.

Второй сигнальный путь Imd/Relish опосредован внутриклеточным белком Imd, передающим сигналы от пептидогликансвязывающих белков PGRP-LC и PGRP-LE в ядро клетки [183]. В роли фактора, активирующего транскрипцию генов защитных белков, выступает белок Relish, еще один представитель семейства транскрипционных факторов NF- κ B. В качестве наиболее близкого аналога данной системы у млекопитающих обычно называют сигнальный путь, опосредованный рецепторами фактора некроза опухоли (TNFR).

Наблюдаемая консервативность структуры цитоплазматической мембраны и клеточной стенки микроорганизмов, а также входящих в их состав PAMP наводит на мысль о том, что сохранение их в неизменном виде критически важно для поддержания биологической конкурентоспособности и

патогенности микроорганизмов. Благодаря медленной эволюции этих структур врожденные защитные механизмы продолжали оставаться эффективными на протяжении всей истории развития животного мира и не утратили своего важного значения даже с появлением лимфоцитарного иммунитета.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения. СПб. Наука, 1999.
2. Cruz J., Ortiz C., Guzmán F., Fernández-Lafuente R., Torres R. // *Curr. Med. Chem.* 2014. V. 21. P. 2299–2321.
3. Nawrot R., Barylski J., Nowicki G., Broniarczyk J., Buchwald W., Goździcka-Józefiak A. // *Folia Microbiol. (Praha)*. 2014. V. 59. P. 181–196.
4. Hsu E. // *Curr. Opin. Immunol.* 2011. V. 23. P. 156–162.
5. Mansour S.C., Pena O.M., Hancock R.E.W. // *Trends Immunol.* 2014. V. 35. P. 443–450.
6. Peschel A., Sahl H.-G. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2006. V. 4. P. 529–536.
7. Cassone M., Orvos L. // *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2010. V. 8. P. 703–716.
8. Imler J.-L., Bulet P. // *Chem. Immunol. Allergy*. 2005. V. 86. P. 1–21.
9. Konno K., Hisada M., Fontana R., Lorenzi C.C., Naoki H., Itagaki Y., Miwa A., Kawai N., Nakata Y., Yasuhara T., et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. V. 1550. P. 70–80.
10. Wang C., Sun Z., Liu Y., Zhang X., Xu G. // *Eur. J. Soil Biol.* 2007. V. 43. P. S127–S134.
11. Hultmark D., Engstrom A., Andersson K., Steiner H., Bennich H., Boman H.G. // *EMBO J.* 1983. V. 2. P. 571–576.
12. Lee S.Y., Moon H.J., Kurata S., Kurama T., Natori S., Lee B.L. // *J. Biochem. (Tokyo)*. 1994. V. 115. P. 82–86.
13. Cociancich S., Dupont A., Hegy G., Lanot R., Holder F., Hetru C., Hoffmann J.A., Bulet P. // *Biochem. J.* 1994. V. 300 (Pt 2). P. 567–575.
14. Axen A., Carlsson A., Engstrom A., Bennich H. // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1997. V. 247. P. 614–619.
15. Lorenzini D.M., da Silva P.I.J., Fogaca A.C., Bulet P., Daffre S. // *Dev. Comp. Immunol.* 2003. V. 27. P. 781–791.
16. Lee I.H., Lee Y.S., Kim C.H., Kim C.R., Hong T., Menzel L., Boo L.M., Pohl J., Sherman M.A., Waring A., et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. V. 1527. P. 141–148.
17. Jang W.S., Kim K.N., Lee Y.S., Nam M.H., Lee I.H. // *FEBS Lett.* 2002. V. 521. P. 81–86.
18. Li C., Haug T., Moe M.K., Styrvold O.B., Stensvåg K. // *Dev. Comp. Immunol.* 2010. V. 34. P. 959–968.
19. Eipper B.A., Milgram S.L., Husten E.J., Yun H.Y., Mains R.E. // *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* 1993. V. 2. P. 489–497.
20. Yamada K., Natori S. // *Biochem. J.* 1994. V. 298. Pt 3. P. 623–628.
21. Casteels P., Ampe C., Jacobs F., Tempst P. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 7044–7054.
22. Silva P.I., Daffre S., Bulet P. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 33464–33470.
23. Bulet P., Hegy G., Lambert J., van Dorsselaer A., Hoffmann J.A., Hetru C. // *Biochemistry (Mosc.)*. 1995. V. 34. P. 7394–7400.
24. Hara S., Yamakawa M. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 29923–29927.
25. Bulet P., Urge L., Ohresser S., Hetru C., Otvos L. // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1996. V. 238. P. 64–69.
26. Mackintosh J.A., Veal D.A., Beattie A.J., Gooley A.A. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 6139–6143.
27. Rabel D., Charlet M., Ehret-Sabatier L., Cavicchioli L., Cudic M., Otvos L., Bulet P. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 14853–14859.
28. Taylor S.W., Craig A.G., Fischer W.H., Park M., Lehrer R.I. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 38417–38426.
29. Noga E.J., Stone K.L., Wood A., Gordon W.L., Robinette D. // *Dev. Comp. Immunol.* 2011. V. 35. P. 409–415.
30. Tasiemski A., Schikorski D., Le Marrec-Croq F., Pontoire-Van Camp C., Boidin-Wichlacz C., Sautière P.-E. // *Dev. Comp. Immunol.* 2007. V. 31. P. 749–762.
31. Li C., Haug T., Styrvold O.B., Jørgensen T.Ø., Stensvåg K. // *Dev. Comp. Immunol.* 2008. V. 32. P. 1430–1440.
32. Sperstad S.V., Haug T., Blencke H.-M., Styrvold O.B., Li C., Stensvåg K. // *Biotechnol. Adv.* 2011. V. 29. P. 519–530.
33. Boman H.G. // *Annu. Rev. Immunol.* 1995. V. 13. P. 61–92.
34. Ehret-Sabatier L., Loew D., Goyffon M., Fehlbaum P., Hoffmann J.A., van Dorsselaer A., Bulet P. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. P. 29537–29544.
35. Tassanakajon A., Somboonwiwat K., Amparyup P. // *Dev. Comp. Immunol.* 2015. V. 48. P. 324–341.
36. Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V., Krasnosdembskaya A.D., Markelov M.L., Frolova E.I., Leonova Y.F., Tagaev A.A., Krasnodembsky E.G., Kokryakov V.N. // *FEBS Lett.* 2004. V. 577. P. 209–214.
37. Shenkarev Z.O., Pantelev P.V., Balandin S.V., Gizatullina A.K., Altukhov D.A., Finkina E.I., Kokryakov V.N., Arseniev A.S., Ovchinnikova T.V. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. V. 429. P. 63–69.
38. Fehlbaum P., Bulet P., Michaut L., Lagueux M., Broekaert W.F., Hetru C., Hoffmann J.A. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 33159–33163.
39. Landon C., Sodano P., Hetru C., Hoffmann J., Ptak M. // *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* 1997. V. 6. P. 1878–1884.
40. Lamberty M., Ades S., Uttenweiler-Joseph S., Brookhart G., Bushey D., Hoffmann J.A., Bulet P. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 9320–9326.

41. *Lamberty M., Caille A., Landon C., Tassin-Moindrot S., Hetru C., Bulet P., Vovelle F.* // *Biochemistry (Mosc.)*. 2001. V. 40. P. 11995–12003.
42. *Lamberty M., Zachary D., Lanot R., Bordereau C., Robert A., Hoffmann J.A., Bulet P.* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 4085–4092.
43. *Da Silva P., Jouvensal L., Lamberty M., Bulet P., Caille A., Vovelle F.* // *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* 2003. V. 12. P. 438–446.
44. *Bulmer M.S., Crozier R.H.* // *Mol. Biol. Evol.* 2004. V. 21. P. 2256–2264.
45. *Jung S., Sönnichsen F.D., Hung C.-W., Tholey A., Boidin-Wichlacz C., Haeusgen W., Gelhaus C., Desel C., Podschun R., Waetzig V., et al.* // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 14246–14258.
46. *Silva F.D., Rezende C.A., Rossi D.C.P., Esteves E., Dyszy F.H., Schreier S., Gueiros-Filho F., Campos C.B., Pires J.R., Daffre S.* // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. P. 34735–34746.
47. *Liao Z., Wang X., Liu H., Fan M., Sun J., Shen W.* // *Fish Shellfish Immunol.* 2013. V. 34. P. 610–616.
48. *Roch P., Yang Y., Toubiana M., Aumelas A.* // *Dev. Comp. Immunol.* 2008. V. 32. P. 227–238.
49. *Sonthe M., Toubiana M., Pallavicini A., Venier P., Roch P.* // *Mar. Biotechnol. N. Y. N.* 2011. V. 13. P. 857–867.
50. *Mitta G., Hubert F., Noel T., Roch P.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1999. V. 265. P. 71–78.
51. *Hemmi H., Ishibashi J., Tomie T., Yamakawa M.* // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 22820–22827.
52. *Fehlbaum P., Bulet P., Chernysh S., Briand J.P., Roussel J.P., Letellier L., Hetru C., Hoffmann J.A.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1996. V. 93. P. 1221–1225.
53. *Nakamura T., Furunaka H., Miyata T., Tokunaga F., Muta T., Iwanaga S., Niwa M., Takao T., Shimonishi Y.* // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 16709–16713.
54. *Miyata T., Tokunaga F., Yoneya T., Yoshikawa K., Iwanaga S., Niwa M., Takao T., Shimonishi Y.* // *J. Biochem. (Tokyo)*. 1989. V. 106. P. 663–668.
55. *Osaki T., Omotezako M., Nagayama R., Hirata M., Iwanaga S., Kasahara J., Hattori J., Ito I., Sugiyama H., Kawabata S.* // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 26172–26178.
56. *Fujitani N., Kawabata S., Osaki T., Kumaki Y., Demura M., Nitta K., Kawano K.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 23651–23657.
57. *Suetake T., Aizawa T., Koganesawa N., Osaki T., Kobashigawa Y., Demura M., Kawabata S.-I., Kawano K., Tsuda S., Nitta K.* // *Protein Eng.* 2002. V. 15. P. 763–769.
58. *Samakovlis C., Kylsten P., Kimbrell D.A., Engström A., Hultmark D.* // *EMBO J.* 1991. V. 10. P. 163–169.
59. *Lehrer R.I., Andrew Tincu J., Taylor S.W., Menzel L.P., Waring A.J.* // *Integr. Comp. Biol.* 2003. V. 43. P. 313–322.
60. *Krishnakumari V., Nagaraj R.* // *J. Pept. Res. Off. J. Am. Pept. Soc.* 1997. V. 50. P. 88–93.
61. *Kuhn-Nentwig L., Muller J., Schaller J., Walz A., Dathe M., Nentwig W.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 11208–11216.
62. *Kozlov S.A., Vassilevski A.A., Feofanov A.V., Surovoy A.Y., Karpunin D.V., Grishin E.V.* // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 20983–20992.
63. *Yan L., Adams M.E.* // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 2059–2066.
64. *Moreno M., Giralte E.* // *Toxins.* 2015. V. 7. P. 1126–1150.
65. *Raghuraman H., Chattopadhyay A.* // *Biosci. Rep.* 2007. V. 27. P. 189–223.
66. *Yi H.-Y., Chowdhury M., Huang Y.-D., Yu X.-Q.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014. V. 98. P. 5807–5822.
67. *Corzo G., Villegas E., Gómez-Lagunas F., Possani L.D., Belokoneva O.S., Nakajima T.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 23627–23637.
68. *Moerman L., Bosteels S., Noppe W., Willems J., Clynen E., Schoofs L., Thevissen K., Tytgat J., Van Eldere J., Van Der Walt J., et al.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 2002. V. 269. P. 4799–4810.
69. *Orivel J., Redeker V., Le Caer J.P., Krier F., Revol-Junelles A.M., Longeon A., Chaffotte A., Dejean A., Rossier J.* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 17823–17829.
70. *Lee K.H., Shin S.Y., Hong J.E., Yang S.-T., Kim J.I., Hahn K.-S., Kim Y.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 309. P. 591–597.
71. *Boulanger N., Munks R.J.L., Hamilton J.V., Vovelle F., Brun R., Lehane M.J., Bulet P.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 49921–49926.
72. *Torres-Larios A., Gurrola G.B., Zamudio F.Z., Possani L.D.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 2000. V. 267. P. 5023–5031.
73. *Pillai A., Ueno S., Zhang H., Lee J.M., Kato Y.* // *Biochem. J.* 2005. V. 390. P. 207–214.
74. *Bessin Y., Saint N., Marri L., Marchini D., Molle G.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. V. 1667. P. 148–156.
75. *Iijima R., Kurata S., Natori S.* // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 12055–12061.
76. *Casteels P., Ampe C., Riviere L., Van Damme J., Elicone C., Fleming M., Jacobs F., Tempst P.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1990. V. 187. P. 381–386.
77. *Imamura M., Wada S., Koizumi N., Kadotani T., Yaoi K., Sato R., Iwahana H.* // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 1999. V. 40. P. 88–98.
78. *Schnapp D., Kemp G.D., Smith V.J.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1996. V. 240. P. 532–539.
79. *Li W.-F., Ma G.-X., Zhou X.-X.* // *Peptides.* 2006. V. 27. P. 2350–2359.
80. *Jiravanichpaisal P., Lee S.Y., Kim Y.-A., Andrén T., Söderhäll I.* // *Dev. Comp. Immunol.* 2007. V. 31. P. 441–455.
81. *Asling B., Dushay M.S., Hultmark D.* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1995. V. 25. P. 511–518.
82. *Sugiyama M., Kuniyoshi H., Kotani E., Taniai K., Kadono-Okuda K., Kato Y., Yamamoto M., Shimabukuro M., Chowdhury S., Xu J.* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1995. V. 25. P. 385–392.
83. *Kang D., Lundström A., Steiner H.* // *Gene.* 1996. V. 174. P. 245–249.
84. *Dushay M.S., Roethele J.B., Chaverri J.M., Dulek D.E., Syed S.K., Kitami T., Eldon E.D.* // *Gene.* 2000. V. 246. P. 49–57.

85. *Kishimoto K., Fujimoto S., Matsumoto K., Yamano Y., Morishima I.* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 32. P. 881–887.
86. *Mackintosh J.A., Gooley A.A., Karuso P.H., Beattie A.J., Jardine D.R., Veal D.A.* // *Dev. Comp. Immunol.* 1998. V. 22. P. 387–399.
87. *Lundström A., Liu G., Kang D., Berzins K., Steiner H.* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 32. P. 795–801.
88. *Zhu Y., Johnson T.J., Myers A.A., Kanost M.R.* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2003. V. 33. P. 541–559.
89. *Dimarcq J.L., Keppi E., Dunbar B., Lambert J., Reichhart J.M., Hoffmann D., Rankine S.M., Fothergill J.E., Hoffmann J.A.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1988. V. 171. P. 17–22.
90. *Wicker C., Reichhart J.M., Hoffmann D., Hultmark D., Samakovlis C., Hoffmann J.A.* // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 22493–22498.
91. *Ishikawa M., Kubo T., Natori S.* // *Biochem. J.* 1992. V. 287 (Pt 2). P. 573–578.
92. *Cudic M., Bulet P., Hoffmann R., Craik D.J., Otvos L.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1999. V. 266. P. 549–558.
93. *Bulet P., Dimarcq J.L., Hetru C., Lagueux M., Charlet M., Hegy G., Van Dorsselaer A., Hoffmann J.A.* // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 14893–14897.
94. *Bulet P., Cociancich S., Dimarcq J.L., Lambert J., Reichhart J.M., Hoffmann D., Hetru C., Hoffmann J.A.* // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 24520–24525.
95. *Hara S., Yamakawa M.* // *Biochem. J.* 1995. V. 310 (Pt 2). P. 651–656.
96. *Furukawa S., Taniai K., Ishibashi J., Hara S., Shono T., Yamakawa M.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. V. 238. P. 769–774.
97. *Liu G., Kang D., Steiner H.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. V. 269. P. 803–807.
98. *Li W., Li S., Zhong J., Zhu Z., Liu J., Wang W.* // *Peptides.* 2011. V. 32. P. 1146–1150.
99. *Chernysh S., Cociancich S., Briand J.-P., Hetru C., Bulet P.* // *J. Insect Physiol.* 1996. V. 42. P. 81–89.
100. *Levashina E.A., Ohresser S., Bulet P., Reichhart J.M., Hetru C., Hoffmann J.A.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1995. V. 233. P. 694–700.
101. *Yang J., Yamamoto M., Ishibashi J., Taniai K., Yamakawa M.* // *Eur. J. Biochem. FEBS.* 1998. V. 255. P. 734–738.
102. *Ando K., Okada M., Natori S.* // *Biochemistry (Mosc.).* 1987. V. 26. P. 226–230.
103. *Lee Y.J., Chung T.J., Park C.W., Hahn Y., Chung J.H., Lee B.L., Han D.M., Jung Y.H., Kim S., Lee Y.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. V. 218. P. 6–11.
104. *Lee Y.T., Kim D.H., Suh J.Y., Chung J.H., Lee B.L., Lee Y., Choi B.S.* // *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1999. V. 47. P. 369–376.
105. *Lee S.Y., Moon H.J., Kurata S., Natori S., Lee B.L.* // *Biol. Pharm. Bull.* 1995. V. 18. P. 1049–1052.
106. *Stensvag K., Haug T., Sperstad S.V., Rekdal O., Indrevoll B., Styrvold O.B.* // *Dev. Comp. Immunol.* 2008. V. 32. P. 275–285.
107. *Sperstad S.V., Haug T., Vasskog T., Stensvåg K.* // *Mol. Immunol.* 2009. V. 46. P. 2604–2612.
108. *Tassanakajon A., Amparyup P., Somboonwiwat K., Supungul P.* // *Mar. Biotechnol. N. Y. N.* 2011. V. 13. P. 639–657.
109. *Conde R., Zamudio F.Z., Rodriguez M.H., Possani L.D.* // *FEBS Lett.* 2000. V. 471. P. 165–168.
110. *Bontems F., Roumestand C., Gilquin B., Menez A., Toma F.* // *Science.* 1991. V. 254. P. 1521–1523.
111. *Bulet P., Stöcklin R., Menin L.* // *Immunol. Rev.* 2004. V. 198. P. 169–184.
112. *Lacerda A.F., Vasconcelos E.A.R., Pelegrini P.B., Grossi de Sa M.F.* // *Front. Microbiol.* 2014. V. 5. P. 116.
113. *Dias R. de O., Franco O.L.* // *Peptides.* 2015. V. 72. P. 64–72.
114. *Zhu S.* // *Immunogenetics.* 2007. V. 59. P. 949–954.
115. *Xiao Y., Hughes A.L., Ando J., Matsuda Y., Cheng J.-F., Skinner-Noble D., Zhang G.* // *BMC Genomics.* 2004. V. 5. P. 56.
116. *Rodriguez de la Vega R.C., Possani L.D.* // *Trends Genet. TIG.* 2005. V. 21. P. 330–332.
117. *Zhu S.* // *Mol. Immunol.* 2008. V. 45. P. 828–838.
118. *Cornet B., Bonmatin J.M., Hetru C., Hoffmann J.A., Ptak M., Vovelle F.* // *Struct. Lond. Engl.* 1993. 1995. V. 3. P. 435–448.
119. *Fujiwara S., Imai J., Fujiwara M., Yaeshima T., Kawashima T., Kobayashi K.* // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 11333–11337.
120. *Rees J.A., Moniatte M., Bulet P.* // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1997. V. 27. P. 413–422.
121. *Yang Y.S., Mitta G., Chavanieu A., Calas B., Sanchez J.F., Roch P., Aumelas A.* // *Biochemistry (Mosc.).* 2000. V. 39. P. 14436–14447.
122. *Kato Y., Aizawa T., Hoshino H., Kawano K., Nitta K., Zhang H.* // *Biochem. J.* 2002. V. 361. P. 221–230.
123. *Cociancich S., Ghazi A., Hetru C., Hoffmann J.A., Letellier L.* // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 19239–19245.
124. *Saito T., Kawabata S., Shigenaga T., Takayenoki Y., Cho J., Nakajima H., Hirata M., Iwanaga S.* // *J. Biochem. (Tokyo).* 1995. V. 117. P. 1131–1137.
125. *Rosa R.D., Santini A., Fievet J., Bulet P., Destoumieux-Garçon D., Bachère E.* // *PLoS One.* 2011. V. 6. P. e25594.
126. *Teng L., Gao B., Zhang S.* // *Fish Shellfish Immunol.* 2012. V. 32. P. 572–577.
127. *Kouno T., Fujitani N., Mizuguchi M., Osaki T., Nishimura S., Kawabata S., Aizawa T., Demura M., Nitta K., Kawano K.* // *Biochemistry (Mosc.).* 2008. V. 47. P. 10611–10619.
128. *Kouno T., Mizuguchi M., Aizawa T., Shinoda H., Demura M., Kawabata S., Kawano K.* // *Biochemistry (Mosc.).* 2009. V. 48. P. 7629–7635.
129. *Mygind P.H., Fischer R.L., Schnorr K.M., Hansen M.T., Sonksen C.P., Ludvigsen S., Raventos D., Buskov S., Christensen B., Maria L. et al.* // *Nature.* 2005. V. 437. P. 975–980.
130. *Froy O.* // *Trends Microbiol.* 2005. V. 13. P. 314–319.
131. *Zhu S., Gao B.* // *Dev. Comp. Immunol.* 2013. V. 39. P. 79–84.
132. *Matthew S.K., Nikolaj S.* 2007. <http://www.google.com/patents/WO2006097110A3>
133. *Panteleev P.V., Bolosov I.A., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.* // *Acta Naturae.* 2015. V. 7. P. 37–47.

134. *Panteleev P.V., Bolosov I.A., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.* // J. Pept. Sci. Off. Publ. Eur. Pept. Soc. 2015. V. 21. P. 105–113.
135. *Pagès J.-M., Dimarcq J.-L., Quenin S., Hetru C.* // Int. J. Antimicrob. Agents. 2003. V. 22. P. 265–269.
136. *Wu G., Li X., Fan X., Wu H., Wang S., Shen Z., Xi T.* // Peptides. 2011. V. 32. P. 1139–1145.
137. *Wu G., Wu P., Xue X., Yan X., Liu S., Zhang C., Shen Z., Xi T.* // Peptides. 2013. V. 45. P. 73–77.
138. *Hou Z., Da F., Liu B., Xue X., Xu X., Zhou Y., Li M., Li Z., Ma X., Meng J. et al.* // Antimicrob. Agents Chemother. 2013. V. 57. P. 5045–5052.
139. *Fujii N., Tamamura H.* // Curr. Opin. Investig. Drugs Lond. Engl. 2000. 2001. V. 2. P. 1198–1202.
140. *Paredes-Gamero E.J., Martins M.N.C., Cappabianco F.A.M., Ide J.S., Miranda A.* // Biochim. Biophys. Acta. 2012. V. 1820. P. 1062–1072.
141. *Tanaka S., Nakamura T., Morita T., Iwanaga S.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1982. V. 105. P. 717–723.
142. *Gross P.S., Bartlett T.C., Browdy C.L., Chapman R.W., Warr G.W.* // Dev. Comp. Immunol. 2001. V. 25. P. 565–577.
143. *Sun C., Xu W.-T., Zhang H.-W., Dong L.-P., Zhang T., Zhao X.-F., Wang J.-X.* // Fish Shellfish Immunol. 2011. V. 30. P. 295–303.
144. *Zhu L., Lan J.-F., Huang Y.-Q., Zhang C., Zhou J.-F., Fang W.-H., Yao X.-J., Wang H., Li X.-C.* // Fish Shellfish Immunol. 2014. V. 36. P. 172–180.
145. *Hoess A., Watson S., Siber G.R., Liddington R.* // EMBO J. 1993. V. 12. P. 3351–3356.
146. *Yang Y., Boze H., Chemardin P., Padilla A., Moulin G., Tassanakajon A., Pugnière M., Roquet F., Destoumieux-Garzón D., Gueguen Y. et al.* // Biopolymers. 2009. V. 91. P. 207–220.
147. *Rosa R.D., Vergnes A., de Lorgeril J., Goncalves P., Perazzolo L.M., Sauné L., Romestand B., Fievet J., Gueguen Y., Bachère E. et al.* // PLoS One. 2013. V. 8. P. e67937.
148. *Hultmark D., Steiner H., Rasmuson T., Boman H.G.* // Eur. J. Biochem. FEBS. 1980. V. 106. P. 7–16.
149. *Holak T.A., Engström A., Kraulis P.J., Lindeberg G., Bennich H., Jones T.A., Gronenborn A.M., Clore G.M.* // Biochemistry (Mosc.). 1988. V. 27. P. 7620–7629.
150. *Iwai H., Nakajima Y., Natori S., Arata Y., Shimada I.* // Eur. J. Biochem. FEBS. 1993. V. 217. P. 639–644.
151. *Sipos D., Andersson M., Ehrenberg A.* // Eur. J. Biochem. FEBS. 1992. V. 209. P. 163–169.
152. *Kuhn-Nentwig L.* // Cell. Mol. Life Sci. CMLS. 2003. V. 60. P. 2651–2668.
153. *Boman H.G., Wade D., Boman I.A., Wählin B., Merrifield R.B.* // FEBS Lett. 1989. V. 259. P. 103–106.
154. *Otvos L.* // Cell. Mol. Life Sci. CMLS. 2002. V. 59. P. 1138–1150.
155. *Scocchi M., Tossi A., Gennaro R.* // Cell. Mol. Life Sci. CMLS. 2011. V. 68. P. 2317–2330.
156. *Hoffmann R., Bulet P., Urge L., Otvös L.* // Biochim. Biophys. Acta. 1999. V. 1426. P. 459–467.
157. *Cho J.H., Park C.B., Yoon Y.G., Kim S.C.* // Biochim. Biophys. Acta. 1998. V. 1408. P. 67–76.
158. *Wang X., Wang X., Zhang Y., Qu X., Yang S.* // Biotechnol. Lett. 2003. V. 25. P. 1317–1323.
159. *Winans K.A., King D.S., Rao V.R., Bertozzi C.R.* // Biochemistry (Mosc.). 1999. V. 38. P. 11700–11710.
160. *Oppenheim F.G., Xu T., McMillian F.M., Levitz S.M., Diamond R.D., Offner G.D., Troxler R.F.* // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 7472–7477.
161. *Song Y.-L., Li C.-Y.* // J. Mar. Sci. Technol.-Taiwan. 2014. V. 22. P. 1–8.
162. *Yang Y., Poncet J., Garnier J., Zatylny C., Bachère E., Aumelas A.* // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 36859–36867.
163. *Cuthbertson B.J., Yang Y., Bachère E., Büllsbach E.E., Gross P.S., Aumelas A.* // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 16009–16018.
164. *Destoumieux D., Muñoz M., Cosseau C., Rodriguez J., Bulet P., Comps M., Bachère E.* // J. Cell Sci. 2000. V. 113 (Pt 3). P. 461–469.
165. *Cuthbertson B.J., Büllsbach E.E., Fievet J., Bachère E., Gross P.S.* // Biochem. J. 2004. V. 381. P. 79–86.
166. *Relf J.M., Chisholm J.R., Kemp G.D., Smith V.J.* // Eur. J. Biochem. FEBS. 1999. V. 264. P. 350–357.
167. *Bartlett T.C., Cuthbertson B.J., Shepard E.F., Chapman R.W., Gross P.S., Warr G.W.* // Mar. Biotechnol. N. Y. N. 2002. V. 4. P. 278–293.
168. *Smith V.J., Dyrinda E.A.* // Mol. Immunol. 2015.
169. *Zhang Z., Zhu S.* // Dev. Comp. Immunol. 2012. V. 38. P. 262–274.
170. *Hagiwara K., Kikuchi T., Endo Y., Huqun, Usui K., Takahashi M., Shibata N., Kusakabe T., Xin H., Hoshi S., et al.* // J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2003. V. 170. P. 1973–1979.
171. *Shockey J.E., O'Leary N.A., de la Vega E., Browdy C.L., Baatz J.E., Gross P.S.* // Dev. Comp. Immunol. 2009. V. 33. P. 668–673.
172. *Casteels-Josson K., Capaci T., Casteels P., Tempst P.* // EMBO J. 1993. V. 12. P. 1569–1578.
173. *Terry A.S., Poulter L., Williams D.H., Nutkins J.C., Giovannini M.G., Moore C.H., Gibson B.W.* // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 5745–5751.
174. *Destoumieux-Garzon D., Saulnier D., Garnier J., Jouffrey C., Bulet P., Bachere E.* // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. P. 47070–47077.
175. *Lee S.Y., Lee B.L., Söderhäll K.* // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 7927–7933.
176. *Patat S.A., Carnegie R.B., Kingsbury C., Gross P.S., Chapman R., Schey K.L.* // Eur. J. Biochem. FEBS. 2004. V. 271. P. 4825–4833.
177. *Chaurasia M.K., Palanisamy R., Bhatt P., Kumaresan V., Gnanam A.J., Pasupuleti M., Kasi M., Harikrishnan R., Arockiaraj J.* // Microbiol. Res. 2015. V. 170. P. 78–86.
178. *Garland M.A., Stillman J.H., Tomanek L.* // J. Exp. Biol. 2015. V. 218. P. 388–403.
179. *Andersson D.I., Jerlström-Hultqvist J., Näsvall J.* // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2015. V. 7. pii: a017996.
180. *Uvell H., Engstrom Y.* // Trends Genet. TIG. 2007. V. 23. P. 342–349.
181. *Imler J.-L.* // Dev. Comp. Immunol. 2014. V. 42. P. 3–15.
182. *Valanne S., Wang J.-H., Rämetsä M.* // J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2011. V. 186. P. 649–656.
183. *Myllymäki H., Valanne S., Rämetsä M.* // J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2014. V. 192. P. 3455–3462.

Antimicrobial Peptides of Invertebrates Part I. Structure, Biosynthesis and Evolution**S. V. Balandin, T. V. Ovchinnikova****Phone: +7 (495) 336-44-44; fax: +7 (495) 336-43-33; e-mail: ovch@ibch.ru**Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia*

Antimicrobial peptides and proteins (AMPs) are among the most important components of the immune system of multicellular organisms. For invertebrates constituting the vast majority of species diversity of the living world, the role of AMPs is of particular importance due to the fact that these animals lack acquired immunity. The AMPs of animal origin are ribosomally synthesized molecules that tend to have a positive net charge and amphipathic properties. They can act against bacteria, yeast and filamentous fungi, protozoa, and enveloped viruses. AMPs can also play a role of mediators of the immune response. Search and investigation of invertebrate host defense peptides allow us to gain a better understanding of mechanisms of the innate immunity of humans and other mammals, giving a clue to the development of new medicines. The first part of the review focuses on structural features, biosynthesis, regulation of gene expression, and molecular evolution of invertebrate AMPs.

Keywords: antimicrobial peptides, innate immunity, peptide antibiotics, defensins