

Эндогенные пептидные антибиотики как факторы иммунитета животных

П. В. Погребной

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины
252040, Киев, ул. Васильковская, 45

Обзор включает современные данные о продукции пептидных антибиотиков у животных различных филогенетических групп. Кратко рассмотрены наиболее полно изученные классы пептидных антибиотиков, условия их продукции и механизмы бактерицидного действия. Пептидные антибиотики характеризуются как важные антимикробные и регуляторные факторы локального иммунного ответа организма.

Антимикробные пептиды как компоненты врожденного иммунитета животных были идентифицированы около 15 лет назад. Актуальность темы способствовала быстрому развитию исследований в данном направлении, и на сегодняшний день сформировалась целая область иммунологии, связанная с изучением аутокринных пептидных антибиотиков животных и их роли в неприобретенной иммунологической реактивности организма. Известно несколько десятков антимикробных пептидов животного происхождения, большинство из которых (около 50) продуцируется в тканях личинок и имаго насекомых, синтез многих приурочен к железистому эпителию амфибий, и лишь несколько молекул данного класса обнаружено в тканях млекопитающих (см. обзоры [1—3]).

В отличие от классических антибиотиков, продуцируемых микроорганизмами, которые синтезируются в результате цепи ферментативных превращений предшественника, пептидные антибиотики животных кодируются последовательностями ДНК и синтезируются считыванием с РНК матрицы в виде препротсина. Результатом дальнейшего процессинга последнего является зрелый активный пептид длиной обычно 20—40 аминокислотных остатков (а. о.). Процессинг пептидных антибиотиков разных классов может происходить как внутри клетки, так и вне ее [4—7]. Молекулы известных пептидных антибиотиков содержат гидрофобные

последовательности и в физиологических условиях несут положительный заряд, что обуславливает взаимодействие с бактериальной мембраной и, по-видимому, важно для осуществления цитолитической функции [8].

Пептидные антибиотики обладают широким спектром бактерицидного и фунгицидного действия, будучи при этом инертными по отношению к клеткам хозяина. Их синтез требует гораздо меньших энергетических затрат, чем синтез других эффекторных молекул иммунитета, например IgM, а малые размеры молекул позволяют легко диффундировать в ткани. Благодаря этим свойствам пептидные антибиотики представляют собой важное звено в системе врожденного иммунитета организма, особенно с учетом необходимости постоянного контроля над естественной микрофлорой, а также защиты слизистых оболочек от внешних патогенов. Кроме того, эффекторные молекулы этого класса являются едва ли не единственным средством защиты в случаях, когда классические иммунные механизмы оказываются почему-либо неэффективными, в частности, у насекомых при метаморфозе или в нервной ткани млекопитающих.

Хотя на текущий момент не существует единой и стройной классификации пептидных антибиотиков (да она и вряд ли возможна), среди них выделяется несколько наиболее полно исследованных групп, объединяющих пептиды, сходные по структуре, происхождению и механизмам действия.

Цекропины — пептиды из 31—39 а. о., для которых характерен сильно основной N-конец, содержащий длинную гидрофобную последовательность в С-концевой области и формирующие обычно две α -спирали, соединенные шарнирным участком [9]. С-концевой аминокислотный остаток модифицирован амидной группой. Цекропины были очищены из иммунной гемолимфы гигантского шелкопряда *Hyalophora cecropia* [10], а также других представителей *Lepidoptera* и *Diptera* [11—13]. В дальнейшем было показано, что синтез цекропинов насекомых индуцируется бактериальной инфекцией [14]. Заслуживает внимания консервативность аминокислотной последовательности цекропинов из насекомых различных филогенетических групп. Единственный известный цекропин млекопитающих, P1 из тонкого кишечника свиньи, также близок по первичной структуре к цекропинам насекомых, но, в отличие от них, лишен шарнирной последовательности. Молекула P1 формирует одну спираль, а не две [15], причем введение остатка пролина в позицию 22 молекулы P1 по аналогии с цекропинами насекомых приводит к значительному снижению антибактериальной активности [8].

Все цекропины исключительно активны по отношению к грам-отрицательным и некоторым грам-положительным бактериям (*Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus*), но неэффективны против стафилококков и большинства видов рода *Bacillus*. Наиболее восприимчивы к действию цекропинов мутантные штаммы (например, *Escherichia coli* D22) с повышенной проницаемостью клеточной оболочки. О роли последней в резистентности бактерий к цекропинам свидетельствует также усиление литического эффекта цекропинов в присутствии 0,5 мМ ЭДТА [16].

Антимикробные пептиды слизистых оболочек амфибий. Первые два представителя этого семейства пептидов выделены в 1987 году из кожи африканской шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* [17]. Эти пептиды, состоящие из 23 а. о. и различающиеся лишь по двум положениям, были названы магаининами I и II. Впоследствии из кожных и гастроэнтеральных желез *Xenopus* были очищены и другие представители семейства магаининов: PGLa, фрагмент предшественника ксенопсина XPF, пептид из железистого эпителия желудка PGQ и ряд пептидов, высвобождающихся, по-видимому, в результате процессинга различных известных белков [4, 18]. Имеются данные о продукции пептидных антибиотиков у лягушек родов *Rana* (бревинин), *Bombina* (бомбинин) и *Phylomedusa* (дермасептин) [19—21]. Близки к пептидным антибиотикам дан-

ной группы и самые низкомолекулярные из известных пептидных антибиотиков (темпорины), очищенные из лягушки *Rana temporaria* и представляющие собой продукт ограниченного протеолиза гистона H2A [22]. Все перечисленные пептидные антибиотики, в отличие от многочисленных токсинов, присутствующих в слизистых выделениях амфибий и также секретируемых гранулярными кожными железами, в физиологических концентрациях ареактивны по отношению к клеткам эукариот, но ингибируют рост бактерий и грибов, а также способны индуцировать осмотический лизис простейших [4, 21, 23].

Пептид с подобными свойствами, проявляющий значительную гомологию с аминокислотной последовательностью бомбининов, недавно очищен из гемолимфы насекомого *Podisus maculiventris* (Hemiptera) [24]. По литическому действию на микроорганизмы он превосходит все известные антимикробные пептиды насекомых, активен как против грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, так и по отношению к грибам и получил название «танатин» (*tanatol* — смерть). Молекула танатина состоит из 21 а. о. и образует в С-концевой области катионную петлю, стабилизированную дисульфидной связью, что важно для осуществления цитотоксической функции.

Пептиды семейства магаининов имеют похожие аминокислотные последовательности, кодируются генами подобной организации и происходят от сходных предшественников. Магаинины хранятся в кожных железах и секретируются в недопроцессированном виде — активная форма пептида образуется в результате протеолиза уже на поверхности кожи [17]. В то же время в эпителии желудка *X. laevis* обнаружена новая разновидность многоядерных гранулоцитов, в которых антимикробные пептиды семейства магаининов: магаинины I и II, PGLa, PGQ и четыре фрагмента предшественника церулеина — CPF хранятся в зрелом виде, что было показано иммуногистохимическими исследованиями [4]. Причем аминокислотные последовательности пептидов из желез желудка оказались идентичными таковым их аналогов, секретируемых кожными железами.

Дефенсины млекопитающих и другие пептиды, богатые цистеином. Пептидные антибиотики этого класса обнаружены при исследовании кислороднезависимой микробицидной активности в азурофильных гранулах макрофагов и полиморфноядерных нейтрофилов кролика, в которых дефенсины составляют до 17 % всего клеточного белка [25, 26]. Вскоре экспрессия генов, кодирующих пептиды этого семейства, была показана в мислоцитах

человека, крысы и морской свинки [27—29]. Это богатые аргинином катионные пептиды, состоящие из 29—34 а. о., шесть из которых цистеины, образующие три внутримолекулярные дисульфидные связи [30]. Несмотря на незначительную гомологию в аминокислотной последовательности, положение упомянутых дисульфидных связей в молекулах дефенсинов различного происхождения высококонсервативно. Подобную структуру имеет и молекула криптидина — пептидного антибиотика, продуцируемого клетками Панета в криптах тонкого кишечника мыши, а также макрофагами в соединительной ткани [31]. Наконец, пептидные антибиотики, подобные дефенсинам, были обнаружены в культуральной среде эмбриональной линии клеток *Sarcophaga peregrina* NIH-Sarc-4 (сапсцин) и в гемолимфе мухи *Phormia terranovaе* через сутки после иммунизации бактериальной суспензией (формицины) [3, 32]. Дефенсины насекомых обладают значительной гомологией с аминокислотной последовательностью дефенсинов млекопитающих и подобно последним имеют три внутримолекулярные дисульфидные связи.

Дефенсины активны по отношению к клеткам прокариот и эукариот, а также к упакованным вирусам, но не действуют на неупакованные вирусы [34]. Добавление летальных для определенного бактериального штамма концентраций дефенсинов приводит к быстрому (в течение 15 мин) лизису протопластов, но не интактных бактериальных клеток, наблюдаемому в световом микроскопе [33]. Эти данные позволяют предположить в качестве мишени для дефенсинов плазматическую мембрану, а не клеточную стенку, как при действии на бактерии лизоцима. По-видимому, фактором, определяющим проявление дефенсинами цитотоксических свойств, является липидный состав плазматической мембраны клетки-мишени.

Так, присутствие в мембране кардиолипина, особенно при значительном содержании фосфатидилэтаноламина и фосфатидилинозитола, необходимо для осуществления цитолитической функции дефенсинами кролика [35]. Хотя дефенсины цитотоксичны и по отношению к клеткам эукариот, поражение ими тканей организма-хозяина минимально в силу того, что дефенсины хранятся в эндоплазматических гранулах эффекторных клеток и высвобождаются только в ответ на стимуляцию внешними факторами (ЛПС клеточной стенки бактерий и медиаторы воспаления), действуют за счет создания локально высокой концентрации и утилизируются на месте.

Гранулоциты жвачных содержат значительное количество необычайно крупных цитоплазматиче-

ских гранул, отличающихся от обычных азурофильных и специфических гранул как морфологически, так и содержимым [36]. Было установлено, что гранулы данного типа содержат несколько структурно отличных от дефенсинов микробицидных катионных пептидов, характеризующихся подобными предшественниками (см. ниже). Кроме того, в гранулах этого типа содержатся β -дефенсины — защитные пептиды, подобные дефенсинам по размеру, катионным свойствам, наличию трех дисульфидных мостиков [37] и β -складчатой укладке молекулы [38].

Продукция β -дефенсинов в ответ на инфекцию либо воспаление было показано также в эпителиальных клетках слизистых оболочек крупного рогатого скота (β -дефенсины LAP и TAP) [39, 40] и человека [41, 42]. Эпителиальные клетки млекопитающих продуцируют цекропин P1 [15] и несколько пептидных антибиотиков, кодируемых генами семейства кателицидинов и имеющих «двойников» в клетках миелоидного ряда.

Кателицидины млекопитающих. Семейство кателицидинов объединяет пропептиды, обнаруженные в нейтрофилах свиньи, овцы, кролика, мыши, крупного рогатого скота и человека, для которых характерен кателиновый домен длиной около 100 а. о., не обладающий микробицидными свойствами. Этот участок молекулы имеет значительную гомологию с ингибиторами тиоловых протеаз семейства цистатина, но характеризуется лишь весьма слабым ингибирующим действием по отношению к катепсину L [43]. Его биологическая функция заключается, по-видимому, в обеспечении транспорта кателицидинов внутри клетки. Существует также предположение о том, что анионная кателиновая последовательность может экранировать участок, соответствующий пептидному антибиотику, предотвращая таким образом аутоцитотоксичность последнего [44]. Кателин-ассоциированные антимикробные пептиды значительно различаются по структуре. Среди них:

пролин-аргинин-богатые пептиды — бактенецины из нейтрофилов крупного рогатого скота [45, 46], PR-39 из тонкого кишечника свиньи [47] и его человеческий аналог LL-37, являющийся продуктом гена FALL-39, который экспрессируется главным образом в яичках и красном костном мозге [48] (недавно было показано также индуцированную воспалением экспрессию гена FALL-39 в кератиноцитах человека [5]);

необычно богатый триптофаном тридекапептид индолицидин из нейтрофилов крупного рогатого скота [49];

протегрины из лейкоцитов свиньи, имеющие

β -складчатую структуру, стабилизированную двумя дисульфидными связями [50].

Выход кателицидинов из гранул сопровождается отщеплением кателин-подобной последовательности вследствие серинового протеолиза. В результате этого высвобождаются N-терминальные участки, обладающие свойствами пептидных антибиотиков [6, 7].

Механизмы действия пептидных антибиотиков. На основании результатов исследований цитотоксической активности пептидных антибиотиков *in vitro* можно сделать вывод о том, что мишенью для большинства из них является плазматическая мембрана.

Одинаковая активность природных пептидов и их синтетических D-энантиомерных аналогов свидетельствует о том, что в осуществление цитотоксического эффекта не вовлечены хиральные структуры [51, 52]. Было предложено несколько возможных моделей действия пептидных антибиотиков на мембраны. Все они свидетельствуют в пользу того, что, несмотря на значительные различия в первичной и вторичной структуре, механизмы действия пептидных антибиотиков разных классов подобны.

Все известные антимикробные пептиды обладают высоким положительным зарядом, в силу чего предпочтительнее взаимодействуют с кислыми фосфолипидными мембранами [8]. Для описания действия цекропина P1, а также магаининов и дермисептина [53, 54] была предложена модель «коврового покрытия», согласно которой молекулы пептидных антибиотиков формируют слой на поверхности мембраны, и дезинтеграция последней происходит за счет нарушения липидной упаковки. По другим данным, цитотоксическое действие цекропинов обусловлено формированием трансмембранных каналов вследствие агрегации молекул пептида [55].

Наиболее приемлемой выглядит гипотеза относительно действия α -спирального магаинина 2 и тахиплезина — антимикробного пептида с антипараллельной β -складчатой структурой [56, 57]. Молекулы пептидов взаимодействуют с мембраной за счет электростатических сил и располагаются на ее поверхности. В силу пептид-пептидных и пептид-липидных взаимодействий формируются короткоживущие трансмембранные поры, после разрушения которых часть молекул пептида оказывается на внутренней поверхности бислоя. Некоторые пептидные антибиотики, например PR-39, способны убивать бактерии без видимого лизиса. Считается, что гибель клеток при действии PR-39 является следствием селективного действия пептида на бел-

ки, необходимые для прохождения цикла репликации ДНК [58].

Большинство пептидных антибиотиков, будучи высокотоксичными *in vitro* [59], в физиологических условиях, тем не менее, не повреждают ткани организма хозяина. Отсутствие аутореактивности достигается благодаря клеточной компартиментализации и специфичности к мишени, отсутствующей в организме хозяина. Многие пептидные антибиотики, например кателицидин человека LL-37, проявляют цитотоксичность в узком диапазоне концентрации солей и лишь в растворах определенного ионного состава, что необходимо для формирования соответствующей укладки молекулы [5]. Кроме того, большинство пептидных антибиотиков хранится в клетке в виде предшественников, структура которых способствует нейтрализации функционально активного участка [6, 45, 60]. Окончательный процессинг происходит лишь в вакуолях (в случае фагоцитов) либо при выходе из клетки [6].

Заключение. Необходимыми условиями эффективности иммунного ответа животных являются его специфичность и быстрота в соотношении со скоростью размножения инфекционных микроорганизмов. Мощный специфический иммунный ответ обеспечивается системой адаптивного иммунитета, но для его развития необходим довольно продолжительный промежуток времени, в течение которого размножение патогена должно быть подавлено другими иммунными механизмами. Угнетение роста патогенных бактерий на ранних стадиях инфекции, по-видимому, достигается благодаря бактерицидному действию пептидных антибиотиков, осуществляющих, с одной стороны, барьерную функцию в слизистых оболочках и коже, с другой — участвующих наряду с бактерицидными катионными белками и ферментами в уничтожении фагоцитируемых микроорганизмов в фаголизосомах нейтрофилов и макрофагов. Особо важна продукция пептидных антибиотиков для организмов с низким уровнем развития адаптивной иммунной системы.

Что касается млекопитающих и человека, то роль эндогенных пептидных антибиотиков в иммунном ответе не ограничивается цитотоксическим действием по отношению к патогенам. Пептидные антибиотики и их предшественники могут быть вовлечены в воспалительные реакции, являясь хемоаттрактантами [61, 62] и оказывая влияние на систему гемостаза и поведение различных популяций клеток через регуляцию активности киназ и ферментных систем [63—65]. Заслуживают внимание сообщения об экспериментальной антираковой активности пептидных антибиотиков различного

происхождения и их синтетических аналогов *in vitro* [66, 67] и *in vivo* по отношению к солидным и асцитным опухолям [68—70]. Вопросу о том, какая из функций молекул, именуемых «пептидными антибиотиками», является первичной, предстоит еще быть выясненным. Не вполне исследованы также закономерности экспрессии антимикробных пептидов в тканях, условия их процессинга и секреции. В то же время широкий спектр биологической активности, относительная простота химического синтеза, низкая токсичность для организма характеризуют пептидные антибиотики как уникальный класс веществ и открывают возможности для их применения в перспективе в качестве терапевтических агентов.

Автор благодарит друга и коллегу А. И. Хобту за помощь в работе над статьей.

П. В. Погребный

Ендогенні пептидні антибіотики як фактори імунітету тварин

Резюме

Огляд містить сучасні дані стосовно продукції пептидних антибіотиків у тваринах різних філогенетичних груп. Коротко розглянуто найповніше вивчені класи пептидних антибіотиків, умови їхньої продукції і механізми бактерицидної дії. Бисвітлюється роль пептидних антибіотиків як важливих антимікробних та регуляторних факторів локальної імунної відповіді організму.

F. V. Pogrebnoj

Peptide antibiotics as a factors of mammalian immunity

Summary

Recent data towards the production of peptide antibiotics in animals of different phylogenetic groups are reviewed. The most fully investigated classes of the peptide antibiotics, the background of their production, and mechanisms of action are briefly described. The review illustrates the key role of the peptide antibiotics as the mediators of local immune response.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zaslhoff M. Antibiotic peptides as mediators of innate immunity // *Curr. Opin. Immunol.*—1992.—4, N 1.—P. 3—7.
2. Boman H. G. Peptide antibiotics and their role in innate immunity // *Annu. Rev. Immunol.*—1995.—13.—P. 61—92.
3. Ganz T., Lehrer R. I. Antimicrobial peptides of vertebrates // *Curr. Opin. Immunol.*—1998.—10, N 1.—P. 41—44.
4. Moore K., Bevins C. L., Brasseur M. M. et al. Antimicrobial peptides in the stomach of *Xenopus laevis* // *J. Biol. Chem.*—1991.—266, N 29.—P. 19851—19857.
5. Gudmundsson G. H., Agerberth B., Odeberg G. et al. The human gene FALL39 and processing of the cathelin precursor to the antibacterial peptide LL-37 in granulocytes // *Ibid.*—1996.—238, N 2.—P. 325—332.

6. Zanetti M., Litteri L., Griffiths G. et al. Stimulus-induced maturation of probactenecins, precursors of neutrophil antimicrobial polypeptides // *Immunology.*—1991.—146, N 12.—P. 4295—4300.
7. Panyutich A., Shi J., Boutz P. L. et al. Porcine polymorphonuclear leukocytes generate extracellular microbicidal activity by elastase-mediated activation of secreted propeptidins // *Infection and Immunity.*—1997.—65, N 3.—P. 978—985.
8. Gazit E., Boman A., Boman H. G., Shai Y. Interaction of the mammalian antibacterial peptide cecropin P1 with phospholipid vesicles // *Biochemistry.*—1995.—34.—P. 11479—11488.
9. Holak T. A., Engstrom A., Kraulis P. J. et al. The solution conformation of the antibacterial peptide cecropin A: a nuclear magnetic resonance and dynamical simulated annealing study // *Ibid.*—1988.—7, N 20.—P. 7620—7629.
10. Hultmark D., Steiner H., Rasmuson T., Boman H. G. Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia* // *Eur. J. Biochem.*—1980.—106, N 1.—P. 7—16.
11. Hara S., Yamakawa M. Moricin, a novel type of antibacterial peptide isolated from the silkworm, *Bombyx mori* // *J. Biol. Chem.*—1995.—270, N 50.—P. 29923—29927.
12. Marchini D., Manetti A. G. O., Rosetto M. et al. cDNA sequence and expression of the ceratotoxin gene encoding an antibacterial sex-specific peptide from the medfly *Ceratitis capitata* (diptera) // *Ibid.*—N 11.—P. 6199—6204.
13. Samakovlis C., Kimbrell D. A., Kylsten P. et al. The immune response in *Drosophila*: pattern of cecropin expression and biological activity // *The EMBO J.*—1990.—9, N 9.—P. 269—276.
14. Brey P. T., Lee W.-J., Yamakawa M. et al. Role of the integumentum in insect immunity: Epicuticular abrasion and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90, N 13.—P. 6275—6279.
15. Lee J.-Y., Boman A., Sun C. et al. Antibacterial peptides from pig intestine: Isolation of a mammalian cecropin // *Ibid.*—1989.—86, N 23.—P. 9159—9162.
16. Fink J., Merrifield R. B., Boman A., Boman H. G. The chemical synthesis of cecropin D and an analog with enhanced antibacterial activity // *J. Biol. Chem.*—1989.—264, N 11.—P. 6260—6267.
17. Zaslhoff M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: Isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1987.—84, N 15.—P. 5449—5453.
18. Giovannini M. G., Poulter L., Gibson B. W., Williams D. H. Biosynthesis and degradation of peptides derived from *Xenopus laevis* prohormones // *Biochem. J.*—1987.—243, N 1.—P. 113—120.
19. Simmaco M., Mignogna G., Barra D., Bossa F. Novel antimicrobial peptides from skin secretions of the european frog *Rana esculenta* // *FEBS Lett.*—1993.—324, N 2.—P. 159—161.
20. Simmaco M., Barra D., Chiarini E. et al. A family of bombinin related peptides from the skin of *Bombina variegata* // *Eur. J. Biochem.*—1991.—199, N 1.—P. 217—222.
21. Mor A., Nguyen V. H., Delfour A. et al. Isolation, amino acid sequence, and synthesis of dermaseptin, a novel antimicrobial peptide of amphibian skin // *Biochemistry.*—1991.—30, N 36.—P. 8824—8830.
22. Simmaco M., Mignogna G., Canofeni S. et al. Temporins, antimicrobial peptides from the European frog *Rana temporaria* // *Eur. J. Biochem.*—1996.—242, N 3.—P. 788—792.
23. Zaslhoff M., Martin B., Chen H.-C. Antimicrobial activity of

- synthetic magainin peptides and several analogues // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—85, N 3.—P. 910—913.
24. Fehlbauer P., Bulet P., Chernysh S. et al. Structure activity analysis of thanatin, a 21-residue inducible insect defense peptide with sequence homology to frog skin antimicrobial peptides // *Ibid.*—1996.—93, N 3.—P. 1221—1225.
 25. Patterson-Delafield J., Martinez R. J., Lehrer R. I. Microbicidal cationic proteins in rabbit alveolar macrophages: a potential host defense mechanism // *Infection and Immunity.*—1980.—30, N 1.—P. 180—192.
 26. Selsted M. E., Brown D. M., DeLange P. J. et al. Primary structures of six antimicrobial peptides of rabbit peritoneal neutrophils // *J. Biol. Chem.*—1985.—260, N 8.—P. 4579.
 27. Ganz T., Selsted M. E., Szklarek D. et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils // *J. Clin. Invest.*—1985.—76, N 4.—P. 1427—1435.
 28. Selsted M. E., Harwig S. S. Purification, primary structure, and antimicrobial activities of a guinea pig neutrophil defensin // *Infection and Immunity.*—1987.—55, N 9.—P. 2281—2286.
 29. Eisenhauer P. B., Harwig S. S., Szklarek D. et al. Purification and antimicrobial properties of three defensins from rat neutrophils // *Ibid.*—1989.—57, N 7.—P. 2021—2027.
 30. Selsted M. E., Harwig S. S. Determination of the disulfide array in the human defensin HNP-2. A covalently cyclized peptide // *J. Biol. Chem.*—1989.—264, N 7.—P. 4003—4007.
 31. Ouellette A. J., Miller S. I., Henschen A. H., Selsted M. E. Purification and primary structure of mouse cryptidin-1, a Paneth cell defensin // *FEBS Lett.*—1992.—304, N 2—3.—P. 146—148.
 32. Matsuyama K., Natori S. Purification of three antibacterial proteins from the culture medium of NIH-Sape-4, an embryonic cell line of *Sarcophaga peregrina* // *J. Biol. Chem.*—1988.—263.—P. 17112—17116.
 33. Lambert J., Keppi E., Dismarq J.-L. et al. Insect immunity: Isolation from immune blood of the dipteran *Phormia teranovae* of two insect antibacterial peptides with sequence homology to rabbit lung macrophage bactericidal peptides // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1989.—86, N 1.—P. 262—267.
 34. Daher K. A., Selsted M. E., Lehrer R. I. Direct inactivation of viruses by human granulocyte defensins // *J. Virol.*—1986.—60, N 3.—P. 1068—1074.
 35. Hristova K., Selsted M., White S. Interactions of monomeric rabbit neutrophil defensins with bilayers: Comparisons with dimeric human defensin HNP-2 // *Biochemistry.*—1996.—35, N 36.—P. 11888—11894.
 36. Baggolini M., Horisberger U., Gennaro R., Dewald B. Identification of three types of granules in neutrophils of ruminants. Ultrastructure of circulating and maturing cells // *Lab. Invest.*—1985.—52, N 2.—P. 151—158.
 37. Selsted M. E., Tang Y.-Q., Morris W. L. et al. Purification, primary structures, and antibacterial activities of β -defensins, a new family of antimicrobial peptides from bovine neutrophils // *J. Biol. Chem.*—1993.—268, N 9.—P. 6641—6648.
 38. Zimmermann G. R., Legault P., Selsted M., Pardi A. Solution structure of bovine neutrophil β -defensin-12: the peptide fold of the β -defensins is identical to that of the classical defensins // *Biochemistry.*—1995.—34, N 41.—P. 13663—13671.
 39. Diamond G., Zasloff M., Eck H. et al. Tracheal antimicrobial peptide, a cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: peptide isolation and cloning of a cDNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88, N 9.—P. 3952—3956.
 40. Schonwetter B. S., Stolzenberg E. D., Zasloff M. Epithelial antibiotics induced at sites of inflammation // *Science.*—1995.—267, N 2504.—P. 1645—1648.
 41. McCray P. B., Bentley L. Human airway epithelia express a beta-defensin // *Amer. J. Respir. Cell and Mol. Biol.*—1997.—16, N 3.—P. 343—349.
 42. Porter E. M., van Dam E., Valore E. V., Ganz T. Broad-spectrum antimicrobial activity of human intestinal defensin 5 // *Infection and Immunity.*—1997.—65, N 6.—P. 2396—2401.
 43. Storici P., Tossi A., Lenarcic B., Romeo D. Purification and structural characterization of bovine cathelicidins, precursors of antimicrobial peptides // *Eur. J. Biochem.*—1996.—238, N 3.—P. 769—776.
 44. Zanetti M., Del Sal G., Storici P. et al. The cDNA of the neutrophil antibiotic Bac5 predicts a pro-sequence homologous to a cysteine proteinase inhibitor that is common to other neutrophil antibiotics // *J. Biol. Chem.*—1993.—268, N 1.—P. 522—526.
 45. Gennaro R., Skerlavaj B., Romeo D. Purification, composition, and activity of two bactericidins, antibacterial peptides of bovine neutrophils // *Infection and Immunity.*—1989.—57, N 10.—P. 3142—3146.
 46. Frank R. W., Gennaro R., Schneider K. et al. Amino acid sequences of two proline-rich bactericidins. Antimicrobial peptides of bovine neutrophils // *J. Biol. Chem.*—1990.—265, N 31.—P. 18871—18874.
 47. Agerberth B., Lee J. Y., Bergman T. Amino acid sequence of PR-39. Isolation from pig intestine of a new member of the family of proline-arginine-rich antibacterial peptides // *Eur. J. Biochem.*—1991.—202, N 3.—P. 849—854.
 48. Agerberth B., Gunne H., Odeberg J. et al. FALL-39, a putative human peptide antibiotic, is cysteine-free and expressed in bone marrow and testis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92, N 1.—P. 195—199.
 49. Selsted M., Novotny M. J., Morris W. L. et al. Isolation of a novel bactericidal tridecapeptide from neutrophils // *J. Biol. Chem.*—1992.—267, N 7.—P. 4292—4295.
 50. Qu X. D., Harwig S. S., Shafer W. M., Lehrer R. I. Proteoglycan structure and activity against *Neisseria gonorrhoeae* // *Infection and Immunity.*—1997.—65, N 2.—P. 636—639.
 51. Wade D., Boman A., Wehlin B. et al. All-D-amino acid-containing channel-forming antibiotic peptides // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1990.—87, N 12.—P. 4761—4765.
 52. Bessale R., Kapitkovsky A., Gorca A. et al. All-D-magainin: chirality, antimicrobial activity and proteolytic resistance // *FEBS Lett.*—1990.—274, N 1—2.—P. 151—155.
 53. Pouny Y., Rapaport D., Mor A. et al. Interaction of antimicrobial dermaseptin and its fluorescently labeled analogues with phospholipid membranes // *Biochemistry.*—1992.—31, N 49.—P. 12416—12423.
 54. Matsuzaki K., Murase O., Tokuda H. et al. Orientational and aggregational states of magainin 2 in phospholipid bilayers // *Ibid.*—1994.—33, N 11.—P. 3342—3349.
 55. Durell S. R., Raghunathan G., Guy H. R. Modeling the ion channel structure of cecropin // *Biophys. J.*—1992.—63, N 6.—P. 1623—1631.
 56. Matsuzaki K., Nakamura A., Murase O. et al. Modulation of magainin2-lipid bilayer interactions by peptide charge // *Biochemistry.*—1997.—36, N 8.—P. 2104—2111.
 57. Matsuzaki K., Yoneyama S., Fujii N. et al. Membrane permeabilization mechanisms of a cyclic antimicrobial peptide, tachyplesin I, and its linear analog // *Ibid.*—N 32.—P. 9799—9806.
 58. Boman H. G., Agerberth B., Boman A. Mechanisms of action on *Escherichia coli* of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine // *Infection and Immunity.*—1993.—61, N 7.—P. 2978—2984.
 59. Van Wetering S., Mannesse-Laseroms S. P., Dijkman J. T.,

- Hiemstra P. S.* Effect of neutrophil serine proteinases and defensins on lung epithelial cells: modulation of cytotoxicity and IL-8 production // *J. Leukocyte Biol.*—1997.—62, N 2.—P. 217—226.
60. *Michaelson D., Rayner J., Couto M., Ganz T.* Cationic defensins arise from charge-neutralized propeptides: a mechanism for avoiding leukocyte autotoxicity? // *Ibid.*—1992.—51, N 6.—P. 634—639.
61. *Verbanac D., Zanetti M., Romeo D.* Chemotactic and protease-inhibiting activities of antibiotic peptide precursors // *FEBS Lett.*—1993.—317, N 3.—P. 255—258.
62. *Chertov O., Michiel D. F., Xu L. et al.* Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils // *J. Biol. Chem.*—1996.—271, N 6.—P. 2935—2940.
63. *Charp P. A., Rice W. G., Raynor R. L. et al.* Inhibition of protein kinase C by defensins, antibiotic peptides from human neutrophils // *Biochem. Pharmacol.*—1988.—37, N 5.—P. 951—956.
64. *Погребной П. В., Хобта А. И., Гарманчук Л. В., Маркеева Н. В.* Ингибирование киназной активности рецептора ЭФР гидрофобным пептидом, секретлируемым клетками A431/1522 // *Эксперим. онкология.*—1997.—19, № 4.—P. 296—299.
65. *Pogrebnoy P. V., Hobta A. I., Soldatkina M. A. et al.* A protein kinase inhibitor from A431 subline overexpressing TGF α possesses antimicrobial activity // *Microbiologica.*—1998.—21, N 3.—P. 269—273.
66. *Cruciani R. A., Barker J. L., Zasloff M. M. et al.* Antibiotic magainins exert cytolytic activity against transformed cell lines through channel formation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88, N 9.—P. 3792—3796.
67. *Ohsaki Y., Gazdar A. F., Chen H. C., Johnson B. E.* Antitumor activity of magainin analogues against human lung cancer cell lines // *Cancer Res.*—1992.—52, N 13.—P. 3534—3538.
68. *Baker M. A., Maloy W. L., Zasloff M., Jacob L. S.* Anticancer efficacy of Magainin2 and analogue peptides // *Ibid.*—1993.—53, N13.—P. 3052—3057.
69. *Moore A. J., Devine D. A., Bibby M. C.* Preliminary experimental anticancer activity of cecropins // *Peptide Res.*—1994.—7, N 5.—P. 265—269.
70. *Soballe P. W., Maloy W. L., Myrka R. J. et al.* Experimental local therapy of human melanoma with lytic magainin peptides // *Int. J. Cancer.*—1995.—60, N 2.—P. 280—284.

Поступила в редакцию 09.06.98