

УДК 577.112;615.919;579.234

Цитотоксины кобр: структурная организация и антибактериальная активность

П. В. Дубовский, Ю. Н. Уткин*

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

*E-mail: utkin@mx.ibch.ru

Поступила в редакцию 08.04.2014

РЕФЕРАТ Кардиотоксины (цитотоксины, ЦТ) – это выделенные из яда кобр β -структурные белки из 59–61 аминокислотного остатка, антипараллельные цепи которых организованы в виде трех петель. В отличие от нейротоксинов, имеющих такую же пространственную укладку, ЦТ амфифильны. Это обусловлено тем, что окончания их петель сформированы преимущественно гидрофобными аминокислотными остатками, которые окаймляет пояс положительно заряженных остатков лизина и аргинина. Сходным распределением аминокислотных остатков характеризуются линейные (без дисульфидных связей) катионные цитолитические пептиды из ядов других змей и насекомых, которые в настоящее время рассматривают в качестве прототипов соединений, обладающих антибактериальной и противоопухолевой активностью. В представленном обзоре суммированы данные об антибактериальной активности ЦТ и проведено сравнение с активностью линейных пептидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА антибактериальная активность, липополисахарид, пептидогликан, плазматическая мембрана, трехпетлевые кардиотоксины (цитотоксины), цитолитические катионные пептиды.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ АМП – антимикробный пептид; ГАГ – глюкозаминогликаны; КЛ – кардиолипид; ЛПС – липополисахаридный слой; ЛТК – липотейхоевая кислота; РСА – рентгеноструктурный анализ; ФГ – фосфатидилглицерин; ФЭ – фосфатидилэтаноламин; ЦТ – цитотоксин (кардиотоксин) из яда кобр; ЯМР – ядерный магнитный резонанс.

ВВЕДЕНИЕ

Цитолитические пептиды входят в состав ядов змей и насекомых. В качестве структурного мотива они содержат протяженные гидрофобные участки, окаймленные положительно заряженными остатками лизина и аргинина [1]. Цитолитические пептиды могут быть линейными [2–7] или содержать дисульфидные связи [8]. В последнем случае они могут быть только β -структурными [9–12] или содержать и β -структурные, и α -спиральные участки [13, 14]. Интерес к цитолитическим пептидам обусловлен тем, что некоторые из них обладают одновременно антибактериальной и антипролиферативной активностью [15–18]. На основе таких пептидов активно конструируют пептиды с улучшенным терапевтическим индексом [19–23]. В этом случае обычно используют принцип комбинирования различных мотивов в одном пептиде – вызывающих слияние мембран, цитолитических и способствующих проникновению в клетку. Однако системному использованию таких

пептидов препятствует их неустойчивость к протеолизу в кровяном русле [24, 25]. Поэтому, на наш взгляд, интерес будут представлять именно пептиды, обладающие компактной структурой, стабилизированной одной или несколькими дисульфидными связями.

К цитотоксинам (кардиотоксинам, ЦТ) относятся трехпетлевые токсины из яда кобр [12, 26–28], вызывающие гибель различных типов клеток вследствие повреждения плазматической мембраны. Исследование механизма взаимодействия ЦТ с модельными липидными мембранами показало, что он зависит от типа токсина, Р или S [29, 30]. К Р-типу относят ЦТ с остатком Pro30, к S-типу – с остатком Ser28 на конце второй петли (*таблица*). Данные о взаимодействии ЦТ с модельными фосфолипидными мембранами свидетельствуют о том, что эти токсины дестабилизируют липидный бислой мембран, содержащих анионные фосфолипиды [30, 31]. Поэтому очевидно, что объектом атаки ЦТ в живой клетке является плазматическая

Кардиотоксины: свойства и конформационные особенности

Вид кобры, <i>Naja</i>	Аббревиатура	Альтернативные названия	Идентификатор ¹	I/II ²	S/P ³	HTL ⁴	Положительный заряд (нейтр. рН)	Метод	PDB-код ⁵
<i>N. mossambica</i>	M1	CTX: Ib, VII CT-1	P01467	I	P	3.4	8	ЯМР	2CCX
	M3	CTX VII4 CT-4	P01470	II	S	1.0	10	РСА	1CDT
<i>N. atra</i>	A1	CTX:-1, I CT:-1(CX1)	P60304	II	S	12.5	7	ЯМР	2CDX
	A2	CTX:-2, II CT:1A, -2(CX2)	P01442	II	S	12.9	8	ЯМР	1CRF 1CRE
	A3	CTX:-3, III CT-3	P60301	II	P	11.7	9	ЯМР	2CRT, 2CRS
								ЯМР	1I02
								РСА	1H0J
								РСА	1XT3
	A4	CTX:-4, IV CT:-4	P01443	II	S	12.9	9	ЯМР	1KBT 1KBS
A4b	CTX:-A4b; -T CT: D-1; -5	P07525	II	S	9.8	9	ЯМР	1CHV	
A6	CTX:6, N CT:-6, N	P80245	I	P	9.3	8	РСА	1UG4	
<i>N. oxiana</i>	CTII (ЦТII)	CT-2	P01441	II	P	16.3	10	ЯМР	1CB9, 1CCQ
								ЯМР	1FFJ
	CTI (ЦТI)	CT-1	P01451	II	S	8.9	6	ЯМР	1RL5 1ZAD
<i>N. pallida</i>	Tγ	CTX: гамма CT-1	P01468	I	P	3.4	9	ЯМР	1CXO
								РСА	1TGX

¹Код аминокислотной последовательности в базе данных белковых структур Swiss-Prot (www.uniprot.org).

²Классификация ЦТ на группы I и II в зависимости от наличия в петле I последовательности двух остатков Pro (группа I) или одиночного Pro (группа II).

³ЦТ S- и P-типа в зависимости от наличия в окончании петли II остатков S28 и P30 соответственно.

⁴Для расчета использованы остатки 5–11, 24–37, 46–50 и шкала гидрофобности Kyte-Doolittle, большее значение HTL соответствует большей гидрофобности.

⁵База данных белковых структур PDB (www.rcsb.org/pdb/home/home.do).

мембрана (или мембраны органелл клетки), содержащая такие фосфолипиды. Взаимодействие ЦТ с компонентами поверхностной мембраны эукариотических клеток приводит к нарушению ее барьерных свойств и/или проникновению ЦТ в клетку и взаимодействию с органеллами, что приводит к гибели клетки [32–35]. Предполагается, что для подобного сценария в мембране должен присутствовать анионный гликолипид-сульфатид [36]. С другой стороны, мембраны бактериальных клеток практически полностью состоят из анионных фосфолипидов [37] и, следовательно, должны быть гораздо более уязвимы для ЦТ. Показать, так ли это – задача данного обзора.

Все молекулы ЦТ содержат такие структурные и функциональные мотивы, как мембраносвязываю-

щий мотив и окаймляющий его пояс заряженных остатков, а также кластеры консервативных полярных остатков [12]. Можно ожидать, что эффективность данных мотивов на определенных этапах внедрения ЦТ в бактериальную клетку, а также последовательность их участия в процессе взаимодействия с клеткой будут определять активность токсина. Рассмотрим вначале структурную организацию молекулы ЦТ.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЦТ

Структурная организация молекул ЦТ, в исследование которой существенный вклад был внесен сотрудниками Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

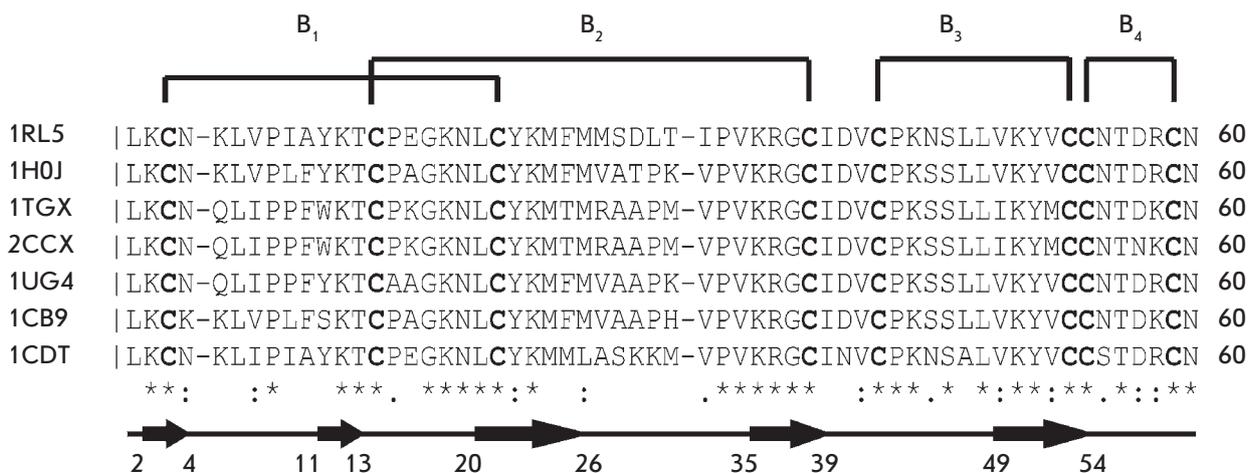


Рис. 1. Выравнивание аминокислотных последовательностей (остатки цистеинов набраны жирным шрифтом) ЦТ, пространственная структура которых определена методами ЯМР или рентгеноструктурного анализа (см. таблицу). Код соответствующей структуры в PDB-банке приведен слева. Под последовательностями звездочками, двоеточиями и точками обозначены остатки: консервативные, близкие и более отдаленные по свойствам соответственно. Дисульфидные связи (B₁–B₄) обозначены квадратными скобками над последовательностями. Внизу указана вторичная структура: участки антипараллельных цепей обозначены стрелками, под которыми указаны границы (номера остатков) их формирования

РАН, обсуждалась в ряде работ [30, 38–40] и обзоров [12, 23, 27]. Здесь мы рассмотрим ее кратко. ЦТ характеризуются высоким сходством аминокислотных последовательностей. Выравнивание аминокислотных последовательностей ЦТ, пространственная структура которых была определена методами рентгеновской дифракции или ЯМР, приведено на рис. 1. В таблице указана сопутствующая информация (источник, краткие наименования, заряд этих токсинов и т.д.).

Все ЦТ – это β-структурные белки, имеющие трехпетлевую укладку [41] (рис. 2). Консервативными элементами в их пространственной структуре являются четыре дисульфидные связи и восемь формирующих их остатков цистеина (рис. 1). Следует отметить важную структурообразующую роль остатка Asn60, локализованного в непосредственной близости от последнего из цистеинов, консервативного во всех ЦТ. Боковая цепь данного остатка формирует три водородных связи в гидрофобном ядре молекулы.

Петли ЦТ сформированы тяжами антипараллельной β-структуры (рис. 2). Размеры β-листов: малого (формируемого двумя тяжами петли I) и большого (образованного обоими тяжами петель II и III), а также их закрутка сходны у различных ЦТ. Отличия между структурами различных ЦТ наблюдаются в участках с нерегулярной структурой – в окончаниях петель I и II. В ЦТ группы I (к этой группе относят ЦТ с двумя остатками Pro в оконечности петли I) эта

петля изогнута (рис. 2A) и принимает форму банана (banana-twist) [42]. Это достигается за счет двух остатков Pro в окончании петли I, первый из которых (Pro8) находится в *цис*-конфигурации, и поворота типа VIa (стабилизируется водородными связями: 10 HN...O=C 7 и NH боковой цепи остатка Gln5 с C=O остатка 7). В ЦТ группы II (к этой группе относятся ЦТ с одним остатком Pro8 в оконечности петли I) эта петля более вытянута (рис. 2A).

Интересной особенностью ЦТ является Ω-образная форма окончания петли II (рис. 2A). Методом спектроскопии ЯМР показано, что здесь локализована молекула связанной воды с большим временем жизни в связанном состоянии [43]. Она может формировать до трех водородных связей: с одним из амидных протонов петли II и двумя карбонильными группами полипептидного остова этой части молекулы.

Структура петли III во всех ЦТ наиболее консервативна. Начало ее формируют остатки 40–45 (нумерация приведена для ЦТ из 60 аминокислотных остатков), формирующие кросс-поворот с правой закруткой (рис. 2A). Он соединяет внешние полипептидные цепи трехтяжевого β-слоя. Остатки 46–49 в окончании петли III формируют β-поворот типа I. Остатки 49–54 формируют тяж антипараллельной структуры с остатками 20–26. Интересно отметить, что протяженность этого заключительного тяжа строго одинакова во всех известных структурах ЦТ [12].

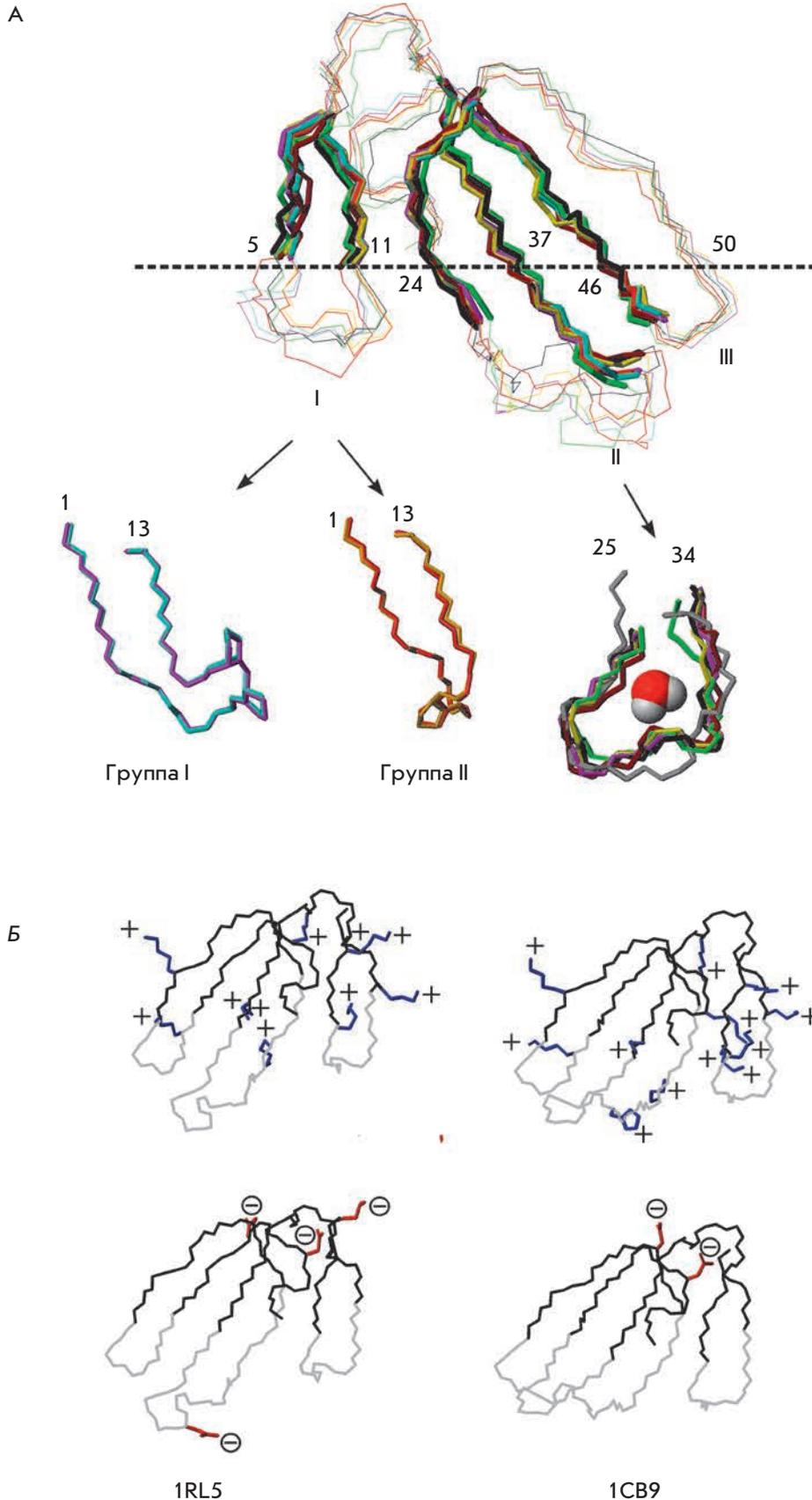


Рис. 2. Детализация пространственной структуры ЦТ. А – суперпозиция структур цитохсинов, перечисленных на рис. 1 (для деталей см. также таблицу), по элементам вторичной структуры (нити антипараллельной β -структуры утолщены). Петли пронумерованы римскими цифрами. Пунктирной линией показана граница раздела мембрана–вода, установленная методом ЯМР, в модельной системе [38]. Рядом с линией приведены номера аминокислотных остатков, которые оказываются на этой границе (по данным [38]). Суперпозиция по остаткам первой и второй петель приведена внизу набора (только для кристаллических структур из набора). Для петли I приведены суперпозиции ЦТ, формирующие группу I (характеризуются наличием двух остатков Pro в оконечности петли) или II (одиночный остаток Pro в оконечности петли). Показаны тяжелые атомы боковой цепи остатков Pro. В центре петли II показана молекула воды (формирование ею водородных связей: детали см. в тексте). Б – распределение положительных (остатки Lys, Arg, His, вверх, концевые группы остатков помечены знаком «+», синий цвет) и отрицательных (остатки Asp, Glu, вниз, концевые группы боковых цепей этих остатков помечены знаком «-» в круге, красный цвет) зарядов на примере структур ЦТ2 *N. oxiana* (слева) и ЦТ1 *N. oxiana* (справа). PDB-код наборов указан снизу (приведена структура № 1 из набора 20 депонированных структур). Остатки полипептидного остова, формирующие мембранный мотив, показаны серым цветом

Окончания петель играют основную роль во взаимодействии ЦТ с детергентными мицеллами и липидными мембранами [38, 44]. Они формируют мембраносвязывающий мотив ЦТ (рис. 2А). Гидрофобность остатков, формирующих этот мотив, может служить основой для классификации ЦТ (таблица, колонка НТЛ) [23], более тонкой, чем предложенное ранее разделение ЦТ на S- и P-типы [29].

В целом положительный заряд молекулы ЦТ варьирует от четырех до 12 [23]. Различие обусловлено изменением соотношения отрицательно заряженных аминокислотных остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот и положительно заряженных остатков лизина и аргинина (рис. 2Б). Последние опосредуют взаимодействие ЦТ с полианионными гликополимерами клеточной поверхности животных клеток, глюкозаминогликанами (ГАГ) [45]. Распределение зарядов в молекуле ЦТ определяет соответствующую константу взаимодействия [46].

Очевидно, что биологическое действие ЦТ на различные клетки реализуется в результате: 1) взаимодействия с компонентами клеточной оболочки (если таковая имеется) и плазматической мембраны; 2) проникновения внутрь клетки; 3) последующего взаимодействия с клеточными органеллами.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦТ

Яды змей и насекомых издавна рассматривались в качестве источника различных биологически активных соединений [47–55], в том числе и антибактериальных. Указанием на то, что в состав яда входят антибактериальные соединения, служит низкая частота инфицирования ран, вызванных укусами змей [56]. Предполагалось, что такая активность необходима для защиты самих змей от бактерий, которыми могут быть инфицированы поедаемые ими жертвы [57].

Исследование цельных ядов ряда змей выявило их антибактериальную активность [58, 59]. Так, яды некоторых африканских и азиатских кобр (род *Naja*) и некоторых австралийских элапидов (*Notechis scutatus*, *Pseudechis australis*) обладают очень заметным антибактериальным эффектом, особенно в отношении бактерии *Aeromonas hydrophila* [59]. Исключение представляют яды одной азиатской (*N. oxiana*) и одной африканской (*N. melanoleuca*) кобр, не обладающие такой активностью. Наиболее устойчивой к действию всех ядов оказалась грамотрицательная бактерия *Escherichia coli*. Менее устойчивыми были грамотрицательная *Pseudomonas aeruginosa* и грамположительная *Bacillus subtilis*. Наиболее восприимчивыми к ядам оказались грамположительный кокк *Staphylococcus aureus* и грамотрицательная бактерия *A. hydrophila*. Из приведенных данных видно, что

действию яда подвержены как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии. В более раннем исследовании [57] было высказано предположение, что антибактериальной активностью обладает оксидаза L-аминокислот, которая содержится в яде и представляет собой белок с молекулярной массой ~140 кДа. Позднее антибактериальную активность обнаружили у ряда оксидаз из ядов различных змей (см., например, [60, 61]).

Исследование антибактериальной активности цельных ядов насекомых и змей в отношении сравнительно устойчивой бактерии *E. coli* выявило возрастание эффективности в ряду: *Crotalus adamanteus* < *Vipera russellii* << *N. naja sputatrix* < *Apis mellifera* (медоносная пчела) [62]. При этом согласно данным электронной микроскопии воздействию подвергается именно плазматическая мембрана. Исследование антибактериальной активности целого ряда ядов змей, скорпионов и пчелы в отношении грамотрицательной бактерии *Burkholderia pseudomallei* показало, что яды змей *C. adamanteus*, *Daboia russellii russellii*, *Agkistrodon halys*, *P. australis*, *Bungarus candidus* и *Pseudechis guttatus* обладают высокой активностью, сравнимой с активностью хлорамфеникола и цефтазидима [63]. Столь высокую активность объясняют присутствием в яде белков, обладающих ферментативной активностью, – оксидазы L-аминокислот и фосфолипазы А2. Считается, что в результате окислительной активности оксидазы L-аминокислот генерируется пероксид водорода, который убивает бактерии. Добавление перехватчиков пероксида водорода, в частности каталазы, устраняло антибактериальную активность фермента [64]. Фосфолипаза А2 расщепляет фосфолипиды, вызывая пермеабиллизацию мембран [65].

Первое сообщение об антибактериальной активности ЦТ появилось в 1968 г. [66]. Сообщалось, что ЦТ, выделенный из яда ошейниковой кобры *Hemachatus haemachatus* (семейство Elapidae), в концентрации более 50 мкг/мл подавлял *S. aureus*. При этом аминокислотная последовательность ЦТ еще не была установлена. Известно было лишь то, что белок имеет молекулярную массу ~7 кДа и содержит четыре дисульфидных связи.

В дальнейшем была получена более детальная информация об антибактериальной активности ЦТ. Так, в частности, установлено, что ЦТ Р4 (аминокислотная последовательность неизвестна) из *N. nigricollis* активен в отношении ряда грамположительных бактерий: *B. subtilis*, *Micrococcus flavus*, *Sarcina lutea* [67]. Минимальные ингибирующие концентрации находились в диапазоне 1.6–6.25 мкг/мл. В отношении грамотрицательных бактерий и других микроорганизмов (дрожжей, грибов) данный ЦТ оказался не-

активным. Можно предположить, что мишенью для ЦТ служит бактериальная мембрана, содержащая анионные фосфолипиды в значительных количествах. Многие цитолитические пептиды, такие, как мелиттин [68], латарцины [69, 70], ваприны [71, 72], кателецидины [73], способны разрушать мембраны в сходном диапазоне концентраций. Другой ЦТ, а именно ЦТЗ из *N. atra* (иначе называется АЗ, *таблицца*), проявлял активность в отношении не только грамположительных (*S. aureus*), но и грамотрицательных микроорганизмов (*E. coli*) [74], хотя ранее отмечалось отсутствие активности цельного яда *N. atra* по отношению к *E. coli* [61]. Возможно, эти расхождения объясняются особенностями штаммов *E. coli*, использованных в цитированных работах. Такие различия могут касаться только липополисахаридной оболочки этих бактерий (ее внешней О-антигенной части, состоящей из разветвленных полисахаридов). В работе Чена и соавт. [74] приведены электронные снимки бактерий до и после взаимодействия с ЦТЗ. Видно, что токсин вызывает характерные повреждения плазматической мембраны: выпячивания, пузыри, разрывы и, следовательно, проникает в липополисахаридный слой (ЛПС). Это может происходить за счет замещения ионов Ca^{2+} на фосфатных группах липида А вследствие взаимодействия заряженных боковых цепей остатков лизина токсина с фосфатными группами липида А ЛПС и вызванным этим разрыхлением слоя [75]. Альтернативным механизмом проникновения антимикробных пептидов через ЛПС является «саморегулируемый захват» (self-promoted uptake), характерный для линейных (без дисульфидных связей) АМП, например, цекропинов [76, 77]. Связывание этих пептидов с ЛПС способствует их проникновению к плазматическим мембранам и увеличивает способность пермеабиллизировать мембраны. В случае ЦТЗ какая-то часть молекул остается связанной с ЛПС, обеспечивая другой части прохождение к плазматической мембране. Это показано в опытах с вытеканием флуоресцентного красителя из липосом, сформированных из фосфолипидов, состав которых соответствовал составу фосфолипидов плазматической мембраны изучаемых бактерий [78]. Предварительная инкубация ЦТЗ с ЛПС уменьшала вытекание красителя. Таким образом, клеточная стенка грамотрицательных бактерий является главным препятствием для поступления ЦТ к плазматической мембране. Высокая доля анионных фосфолипидов в плазматической мембране способствует ее разрушению молекулами ЦТ. С плазматической мембраной связаны важные клеточные функции, такие, как дыхание, транспорт, осморегуляция, синтез липидов и другие, а нарушение ее целостности приводит к гибели клетки [74, 78].

Взаимодействие ЦТЗ с оболочкой грамположительных бактерий (в основном с липотейхоевой кислотой (ЛТК), не имеющей полисахаридной части) также наблюдали в работе Чена и соавт. [74]. Предварительная инкубация ЦТЗ с ЛТК уменьшала вытекание красителя из липосом, сформированных из анионных фосфолипидов (фосфатидилглицерин (ФГ): кардиолипин (КЛ), 6 : 4), имитирующих плазматическую мембрану *B. subtilis*. Эффективная концентрация ЦТЗ (при которой происходит гибель 50% бактерий) приблизительно на порядок меньше (~0.9 мкМ), чем при действии этого токсина на *E. coli*. Это свидетельствует, вероятно, о том, что большая часть молекул ЦТЗ не связана с плазматической мембраной этих бактерий, а находится в водном растворе и/или на внешней мембране (ЛПС), которая представляет серьезную преграду для молекул ЦТ. Таким образом, молекулы ЦТ являются слишком большими и конформационно-жесткими для преодоления этого барьера.

Как обсуждалось выше, антибактериальное действие ЦТ могло быть обусловлено их мембранной активностью. Для оценки механизма разрушающего действия ЦТ на мембраны Као и соавт. [79] анализировали взаимодействие ЦТЗ *N. atra* и токсина гамма *N. nigricollis* с модельными мембранами *E. coli* (фосфатидилэтаноламин (ФЭ)/ФГ, 75/25 моль/моль) и *S. aureus* (ФГ/КЛ, 60/40 моль/моль). Токсин гамма с одинаковой эффективностью разрушал как везикулы ФЭ/ФГ, так и ФГ/КЛ. При этом ЦТЗ был более эффективен в отношении везикул ФГ/КЛ. Фузогенная активность токсинов коррелировала с их способностью разрушать мембраны. Так, ЦТЗ, в отличие от токсина гамма, вызывал более сильное слияние мембран с повышенным содержанием кардиолипина. Приведенные данные свидетельствуют о взаимосвязи фузогенной и антибактериальной активности ЦТ.

Следует отметить попытки создания на основе аминокислотных последовательностей ЦТ антимикробных пептидов меньшего размера, но более активных, чем у исходного пептида. Ранее сообщалось, что пептиды длиной 7–12 остатков из петли I ЦТ4 *N. mossambica* обладают токсичностью *in vivo*, хотя и меньшей, чем у исходного токсина [80]. 14-членный циклический (с одной дисульфидной связью) пептид L1AD3 с аминокислотной последовательностью петли I из ЦТЗ *N. atra* в микромолярных концентрациях способен вызывать апоптоз лейкозных Т-клеток [81, 82]. В водном растворе пептид имеет конформацию β -шпильки, как и соответствующий фрагмент в составе исходного ЦТ. Хотя об антибактериальной активности этих коротких аналогов не сообщается, можно предположить, что β -структурный аналог обладает такой активностью. Действительно, имеется ряд β -структурных антимикробных пептидов с одной

дисульфидной связью, обладающих широким спектром активности (например, [83]). Компактность этих катионных пептидов позволяет им проникать через ЛПС грамотрицательных бактерий и дестабилизировать плазматическую мембрану за счет благоприятного баланса заряд/гидрофобность. Мы полагаем, что после появления интереса к антибактериальной активности ЦТ конструирование антимикробных пептидов на основе их аминокислотных последовательностей не заставит себя долго ждать.

Интересно отметить, что с использованием компьютерных методов анализа установлена эволюционная взаимосвязь между токсинами животных ядов и антибактериальными белками [84]. Вполне вероятно, что токсины животных в ходе эволюции сохранили антибактериальные функции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антибактериальная активность ЦТ широко варьирует у различных представителей этого семейства пептидов. Из представленных в данном обзоре данных ясно, что в проявлении активности пептида исключительно важную роль играет проникновение через

слой пептидогликана, липосахарида бактерий. Это подтверждается недавним исследованием сравнительной активности пяти различных ЦТ в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий [85], показавшим, что активность определяется аминокислотными остатками, не принадлежащими мембраносвязывающему мотиву ЦТ. Вероятно, понять закономерности взаимодействия ЦТ, пространственная структура которых определяется обилием дисульфидных связей, с полимерами, формирующими внешнюю мембрану и пептидогликановый слой бактерий, окажется проще, чем подвижных линейных пептидов, в которых дисульфидных связей нет. Мы полагаем, что следующим этапом будет создание пептидов на основе аминокислотной последовательности ЦТ. Определенные шаги в этом направлении уже сделаны, а один из пептидов L1AD3 [81, 82] может использоваться в терапии лейкозов. Вероятно, число таких примеров со временем будет увеличиваться. ●

*Работа поддержана РФФИ
(грант № 13-04-02128).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kini R.M., Evans H.J. // *Int. J. Pept. Prot. Res.* 1989. V. 34. P. 277–286.
- Landon C., Meudal H., Boulanger N., Bulet P., Vovelle F. // *Biopolymers.* 2006. V. 81. P. 92–103.
- Dubovskii P.V., Volynsky P.E., Polyansky A.A., Chupin V.V., Efremov R.G., Arseniev A.S. // *Biochemistry.* 2006. V. 45. P. 10759–10767.
- Bhattacharjya S., Domadia P.N., Bhunia A., Malladi S., David S.A. // *Biochemistry.* 2007. V. 46. P. 5864–5874.
- Dubovskii P.V., Volynsky P.E., Polyansky A.A., Karpunin D.V., Chupin V.V., Efremov R.G., Arseniev A.S. // *Biochemistry.* 2008. V. 47. P. 3525–3533.
- Abbassi F., Lequin O., Piesse C., Goasdoue N., Foulon T., Nicolas P., Ladram A. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 16880–16892.
- Legrand B., Laurencin M., Sarkis J., Duval E., Moret L., Hubert J.F., Cohen M., Vie V., Zatyiny-Gaudin C., Henry J., Baudi-Floc'h M., Bondon A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. V. 1808. P. 106–116.
- Wang G., Li X., Wang Z. // *Nucleic Acids Res.* 2009. V. 37. P. D933–937.
- Bauer F., Schweimer K., Kluver E., Conejo-Garcia J.R., Forssmann W.G., Rosch P., Adermann K., Sticht H. // *Protein Sci.* 2001. V. 10. P. 2470–2479.
- Powers J.P.S., Rozek A., Hancock R.E.W. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. V. 1698. P. 239–250.
- Sayed-Ahmad A., Kaznessis Y.N. // *PloS One.* 2009. V. 4. № 3. e4799.
- Konshina A.G., Dubovskii P.V., Efremov R.G. // *Curr. Protein Pept. Sci.* 2012. V. 13. P. 570–584.
- Yount N.Y., Kupferwasser D., Spisni A., Dutz S.M., Ramjan Z.H., Sharma S., Waring A.J., Yeaman M.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. P. 14972–14977.
- Dubovskii P.V., Vassilevski A.A., Samsonova O.V., Egorova N.S., Kozlov S.A., Feofanov A.V., Arseniev A.S., Grishin E.V. // *FEBS J.* 2011. V. 278. P. 4382–4393.
- Mader J.S., Hoskin D.W. // *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2006. V. 15. P. 933–946.
- Hoskin D.W., Ramamoorthy A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. V. 1778. P. 357–375.
- Schweizer F. // *Eur. J. Pharmacol.* 2009. V. 625. P. 190–194.
- Riedl S., Zweytick D., Lohner K. // *Chem. Phys. Lipids.* 2011. V. 164. P. 766–781.
- Fazio M.A., Jouvencal L., Vovelle F., Bulet P., Miranda M.T., Daffre S., Miranda A. // *Biopolymers.* 2007. V. 88. P. 386–400.
- Haney E.F., Hunter H.N., Matsuzaki K., Vogel H.J. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V. 1788. P. 1639–1655.
- Feliu L., Oliveras G., Cirac A.D., Besalu E., Roses C., Colomer R., Bardaji E., Pianas M., Puig T. // *Peptides.* 2010. V. 31. P. 2017–2026.
- Fadnes B., Uhlin-Hansen L., Lindin I., Rekdal O. // *BMC Cancer.* 2011. V. 11. P. 116.
- Dubovskii P.V., Konshina A.G., Efremov R.G. // *Curr. Med. Chem.* 2014. V. 21. P. 270–287.
- Nguyen L.T., Chau J.K., Perry N.A., de Boer L., Zaat S.A., Vogel H.J. // *PloS One.* 2010. V. 5. № 9. e12684.
- Verardi R., Traaseth N.J., Shi L., Porcelli F., Monfregola L., De Luca S., Amodeo P., Veglia G., Scaloni A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. V. 1808. P. 34–40.
- Dufton M.J., Hider R.C. // *Pharmacol. Ther.* 1988. V. 36. P. 1–40.
- Kumar T.K., Jayaraman G., Lee C.S., Arunkumar A.I., Sivaraman T., Samuel D., Yu C. // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1997. V. 15. P. 431–463.
- Kini R.M., Doley R. // *Toxicol.* 2010. V. 56. P. 855–867.
- Chien K.Y., Chiang C.M., Hseu Y.C., Vyas A.A., Rule G.S., Wu W. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 14473–14483.

30. Dubovskii P.V., Lesovoy D.M., Dubinnyi M.A., Konshina A.G., Utkin Y.N., Efremov R.G., Arseniev A.S. // *Biochem. J.* 2005. V. 387. P. 807–815.
31. Dubinnyi M.A., Lesovoy D.M., Dubovskii P.V., Chupin V.V., Arseniev A.S. // *Solid State Nucl. Magn. Reson.* 2006. V. 29. P. 305–311.
32. Feofanov A.V., Sharonov G.V., Dubinnyi M.A., Astapova M.V., Kudelina I.A., Dubovskii P.V., Rodionov D.I., Utkin Y.N., Arseniev A.S. // *Biochemistry (Mosc.)*. 2004. V. 69. P. 1148–1157.
33. Feofanov A.V., Sharonov G.V., Astapova M.V., Rodionov D.I., Utkin Y.N., Arseniev A.S. // *Biochem. J.* 2005. V. 390. P. 11–18.
34. Wang C.H., Wu W.G. // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. P. 3169–3174.
35. Wu M., Ming W., Tang Y., Zhou S., Kong T., Dong W. // *Am. J. Chin. Med.* 2013. V. 41. P. 643–663.
36. Wu P.L., Chiu C.R., Huang W.N., Wu W.G. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. V. 1818. P. 1378–1385.
37. Epand R.M., Rotem S., Mor A., Berno B., Epand R.F. // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 14346–14352.
38. Dubovskii P.V., Dementieva D.V., Bocharov E.V., Utkin Y.N., Arseniev A.S. // *J. Mol. Biol.* 2001. V. 305. P. 137–149.
39. Dubovskii P.V., Lesovoy D.M., Dubinnyi M.A., Utkin Y.N., Arseniev A.S. // *Eur. J. Biochem.* 2003. V. 270. P. 2038–2046.
40. Tjong S.C., Chen T.S., Huang W.N., Wu W.G. // *Biochemistry*. 2007. V. 46. P. 9941–9952.
41. Galat A., Gross G., Drevet P., Sato A., Menez A. // *FEBS J.* 2008. V. 275. P. 3207–3225.
42. Chen T.S., Chung F.Y., Tjong S.C., Goh K.S., Huang W.N., Chien K.Y., Wu P.L., Lin H.C., Chen C.J., Wu W.G. // *Biochemistry*. 2005. V. 44. P. 7414–7426.
43. Dementieva D.V., Bocharov E.V., Arseniev A.S. // *Eur. J. Biochem.* 1999. V. 263. P. 152–162.
44. Dauplais M., Neumann J.M., Pinkasfeld S., Menez A., Roumestand C. // *Eur. J. Biochem.* 1995. V. 230. P. 213–220.
45. Vyas A.A., Pan J.J., Patel H.V., Vyas K.A., Chiang C.M., Sheu Y.C., Hwang J.K., Wu W.G. // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 9661–9670.
46. Vyas K.A., Patel H.V., Vyas A.A., Wu W.G. // *Biochemistry*. 1998. V. 37. P. 4527–4534.
47. Pal S.K., Gomes A., Dasgupta S.C., Gomes A. // *Indian J. Exp. Biol.* 2002. V. 40. P. 1353–1358.
48. de Lima D.C., Abreu A.P., de Freitas C.C., Santos D.O., Borges R.O., Dos Santos T.C., Cabral M.R., Rodrigues C.R., Castro H.C. // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2005. V. 2. P. 39–47.
49. Koh D.C., Armugam A., Jeyaseelan K. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2006. V. 63. P. 3030–3041.
50. Samy P.R., Gopalakrishnakone P., Thwin M.M., Chow T.K., Bow H., Yap E.H., Thong T.W. // *J. Appl. Microbiol.* 2007. V. 102. P. 650–659.
51. Gomes A., Bhattacharjee P., Mishra R., Biswas A.K., Dasgupta S.C., Giri B. // *Indian J. Exp. Biol.* 2010. V. 48. P. 93–103.
52. Kapoor V.K. // *Indian J. Exp. Biol.* 2010. V. 48. P. 228–237.
53. King G.F. // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2011. V. 11. P. 1469–1484.
54. Lazarev V.N., Govorun V.M. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2010. V. 46. P. 803–814.
55. Koh C.Y., Kini R.M. // *Toxicol.* 2012. V. 59. № 4. P. 497–506.
56. Talan D.A., Citron D.M., Overturf G.D., Singer B., Froman P., Goldstein E.J. // *J. Infect. Dis.* 1991. V. 164. P. 195–198.
57. Thomas R.G., Pough F.H. // *Toxicol.* 1979. V. 17. P. 221–228.
58. Glaser H.S.R. // *Copeia*. 1948. P. 245–247.
59. Stiles B.G., Sexton F.W., Weinstein S.A. // *Toxicol.* 1991. V. 29. P. 1129–1141.
60. Okubo B.M., Silva O.N., Migliolo L., Gomes D.G., Porto W.F., Batista C.L., Ramos C.S., Holanda H.H., Dias S.C., Franco O.L., Moreno S.E. // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 3. e33639.
61. Rima M., Accary C., Haddad K., Sadek R., Hraoui-Bloquet S., Desfontis J.C., Fajloun Z. // *Infect. Disord. Drug. Targets*. 2013. V. 13. P. 337–343.
62. Stocker J.F., Traynor J.R. // *J. Appl. Microbiol.* 1986. V. 61. P. 383–388.
63. Samy P.R., Pachiappan A., Gopalakrishnakone P., Thwin M.M., Hian Y.E., Chow V.T., Bow H., Weng J.T. // *BMC Infect. Dis.* 2006. V. 6. P. 100.
64. Lee M.L., Tan, N.H., Fung S.Y., Sekaran S.D. // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2011. V. 153. P. 237–242.
65. Samy P.R., Gopalakrishnakone P., Ho B., Chow V.T. // *Biochimie*. 2008. V. 90. P. 1372–1388.
66. Aloof-Hirsch S., de Vries A., Berger A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1968. V. 154. P. 53–60.
67. Mollmann U., Gutsche W., Maltz L., Ovadia M. // *Toxicol.* 1997. V. 35. P. 487–487.
68. Raghuraman H., Chattopadhyay A. // *Biosci. Rep.* 2007. V. 27. P. 189–223.
69. 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.
70. Vassilevski A.A., Kozlov S.A., Zhmak M.N., Kudelina I.A., Dubovskii P.V., Shatursky O.Y., Arseniev A.S., Grishin E.V. // *Rus. J. Bioorgan. Chem.* 2007. V. 33. P. 376–382.
71. Torres A.M., Wong H.Y., Desai M., Mochhala S., Kuchel P.W., Kini R.M. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 40097–40104.
72. Nair D.G., Fry B.G., Alewood P., Kumar P.P., Kini R.M. // *Biochem. J.* 2007. V. 402. P. 93–104.
73. Wang Y., Hong J., Liu X., Yang H., Liu R., Wu J. Wang A., Lin D., Lai R. // *PLoS One*. 2008. V. 3. № 9. e3217.
74. Chen L.W., Kao P.H., Fu Y.S., Lin S.R., Chang L.S. // *Toxicol.* 2011. V. 58. № 1. P. 46–53.
75. Bhunia A., Domadia P.N., Torres J., Hallock K.J., Ramamoorthy A., Bhattacharjya S. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 3883–3895.
76. Piers K.L., Brown M.H., Hancock R.E. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994. V. 38. P. 2311–2316.
77. Arcidiacono S., Soares J.W., Meehan A.M., Marek P., Kirby R. // *J. Pept. Sci.* 2009. V. 15. P. 398–403.
78. Chen L.W., Kao P.H., Fu Y.S., Hu W.P., Chang L.S. // *Peptides*. 2011. V. 32. № 8. P. 1755–1763.
79. Kao P.H., Lin S.R., Hu W.P., Chang L.S. // *Toxicol.* 2012. V. 60. P. 367–377.
80. Marchot P., Bougis P.E., Ceard B., van Rietschoten J., Rochat H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988. V. 153. P. 642–647.
81. Smith C.A., Hinman C.L. // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2004. V. 18. P. 204–220.
82. Smith C.A., Hinman C.L. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2004. V. 432. P. 88–101.
83. Shenkarev Z.O., Balandin S.V., Trunov K.I., Paramonov A.S., Sukhanov S.V., Barsukov L.I., Arseniev A.S., Ovchinnikova T.V. // *Biochemistry*. 2011. V. 50. P. 6255–6265.
84. Kaplan N., Mörpurgo N., Linal M. // *J. Mol. Biol.* 2007. V. 369. P. 553–566.
85. Dubovskii P.V., Vorontsova O.V., Utkin Y.N., Arseniev A.S., Efremov R.G., Feofanov A.V. // *Mendeleev Communications*. Submitted.