

УДК 571.27, 577.181.7
©Гришин, Соколов

ДЕФЕНЗИНЫ – ЕСТЕСТВЕННЫЕ ПЕПТИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ

Д.В. Гришин, Н.Н. Соколов*

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н.Ореховича Российской академии медицинских наук,
119121 Москва, ул. Погодинская, 10; эл. почта: molbiol_ibm@inbox.ru

Целью данного обзора является общая характеристика дефензинов из разных биологических источников, представляющих эволюционно наиболее древнее семейство антимикробных пептидов. В статье даны общие представления о функциональных и структурных особенностях дефензинов как основных компонентов первой линии защиты организма высших эукариот от инфекционных агентов. В обзоре рассмотрены не только настоящее положение дел, но и перспективы получения рекомбинантных антимикробных пептидов биомедицинского назначения.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, дефензины, механизм бактерицидного действия дефензинов, рекомбинантные пептидные антибиотики.

ВВЕДЕНИЕ

Дефензины (от англ. defense – защита) – катионные пептиды иммунной системы, образующие, наряду с лактоферрицином, кателицидином, гистатином и некоторыми другими иммунными протеинами, целую систему антимикробных пептидов (АМП). Впервые дефензины были охарактеризованы в 1956 году Робертом Скарнесом и Деннисом Уотсоном как лейкины иммунных клеток [1]. Позже, в серии работ Джон Шпицнагель показал, что данные пептиды относятся к одному молекулярному семейству, которое он определил как семейство катионных антимикробных протеинов, и только в 1985 году Майкл Селстед с соавторами [2] дал им современное название – дефензины.

Данные белки играют ключевую роль в обеспечении неспецифической первой линии защиты организмов-представителей различных таксономических групп от разнообразных инфекционных агентов. Они обладают небольшим молекулярным весом 2-6 кДа. Обычно дефензины медленно присоединяются к наружной клеточной мембране микроорганизма и интегрируются

в неё, формируя губительные порообразные разрывы в клеточной оболочке патогена [3].

АМП представляют эволюционно наиболее консервативную и древнюю противоифекционную систему, которая эффективно противодействует широкому кругу патогенных бактерий, грибов и даже вирусов у различных многоклеточных организмов. Подтверждением этих слов служит то, что дефензины широко распространены, в том числе, и у растений. Растительные дефензины – это также семейство небольших (около 5 кДа), богатых цистеиновыми остатками основных пептидов, экспрессирующихся почти в каждом органе растения, включая листья, корни, клубни, органы цветения, плоды и семена [2, 4, 5]. Основываясь на антимикробном действии, наблюдаемом на патогенных грибах, дефензины растений могут быть, условно, разделены на две большие группы – морфогенные и неморфогенные. Морфогенные дефензины растений приводят к редукции роста грибных гифов с одновременным увеличением числа ветвей, тогда как неморфогенные

дефензины растений лишь замедляют рост грибов, но не индуцируют заметных морфологических изменений [6, 7].

Дефензины рептилий, птиц, животных и человека, по отличиям в структуре, подразделяют на три группы: альфа-дефензины, бета-дефензины и тета-дефензины; при этом, основным местом расположения дефензинов животных являются поверхность эпителиальных клеток слизистых оболочек, кожных покровов, а также гранулы нейтрофилов и клетки Панета [8, 9].

Продукция АМП может быть как конститутивной, так и индуцибельной. Биосинтез дефензинов запускается преимущественно молекулярными структурами, ассоциированными с патогенами инфекционных агентов, а также посредством цитокиновой системы.

Дефензины альфа и бета, дифференцированные в конце 80-х гг. XX века, не являются редкостью для человека и животных. Имеется множество типов дефензинов альфа и бета (α -def-1; α -def-3; α -def-4; α -def-6; β -def-1; β -def-2; β -def-4 и т.п.), которые в многоклеточном организме, в целом, выполняют более или менее сходные антибиотические функции: они обладают широким спектром бактерицидного действия, направленного против бактерий, грибов и даже некоторых вирусов [10-13].

Дефензины-тета (Θ), в свою очередь, обнаружены лишь недавно у некоторых представителей царства животных. Это антибактериальные пептиды, действующие как облигатные порины на клеточную стенку бактерий. Среди приматов данный класс пептидов сохранился в активном состоянии только у обезьян старого света, остальные же приматы, в том числе и человек, эволюционно его утратили в той или иной степени. Тут следует отметить, что человеческий геном, всё-таки, содержит гены дефензинов-тета, однако открытая рамка считывания прервана стоп-кодоном, образовавшимся в теле гена вследствие точковой мутации, что препятствует успешной трансляции белка, с чем связывают повышенную лабильность человека к ряду инфекций, которые принято называть антропогенными [14].

Несмотря на совокупность положительных качеств, одним из основных недостатков многих дефензинов является их невысокая адресность и низкая амфифильность, что препятствует свободной адгезии данных пептидов на богатой липидами

поверхности клеточных стенок бактерий, что оказывает негативное влияние на антимикробный эффект [15].

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕФЕНЗИНОВ

Гены пептидного семейства дефензинов у человека в основном расположены на хромосоме 8 (8p22-23), кроме того, они также обнаруживаются и у других представителей высших эукариот на хромосомах 4, 6 и 20. Следует отметить, что если гены альфа- и тета-дефензинов имеют по 3 экзона, то гены, кодирующие бета-дефензины, включают всего лишь две экзонные последовательности.

Зрелые белковые молекулы самих дефензинов отличаются высоким содержанием положительно заряженных остатков аргинина и лизина, а также наличием до шести цистеиновых остатков, образующих три внутримолекулярных дисульфидных мостика (рис. 1). При этом весьма интересным фактом является то, что дисульфидные связи не играют особой роли в формировании бактерицидных качеств дефензинов. Предполагается, что они призваны функционально стабилизировать молекулу данных антимикробных пептидов от деградации протеазами организма.

Несмотря на то, что дефензины могут значительно отличаться друг от друга по своей структуре, в их аминокислотных последовательностях прослеживаются мотивы с существенной гомологией (рис. 2).

2. МЕХАНИЗМЫ ЭКСПРЕССИИ ДЕФЕНЗИНОВ В ЖИВОТНЫХ КЛЕТКАХ

Триггерные механизмы, запускающие биосинтез дефензинов, можно, условно, разделить на провоспалительные и антигенные. Как уже отмечалось, дефензины разных классов продуцируются разными клетками макроорганизма: нейтрофилами, лейкоцитами, клетками кровяного и выстилающего эпителия. Между тем, в основе индукции и тех, и других дефензинов лежат схожие рецепторопосредованные механизмы.

Биосинтез дефензинов может быть инициирован как медиаторами воспаления или, иначе, провоспалительными цитокинами, так и антигенными детерминантами самих микроорганизмов [16, 17] (рис. 3).

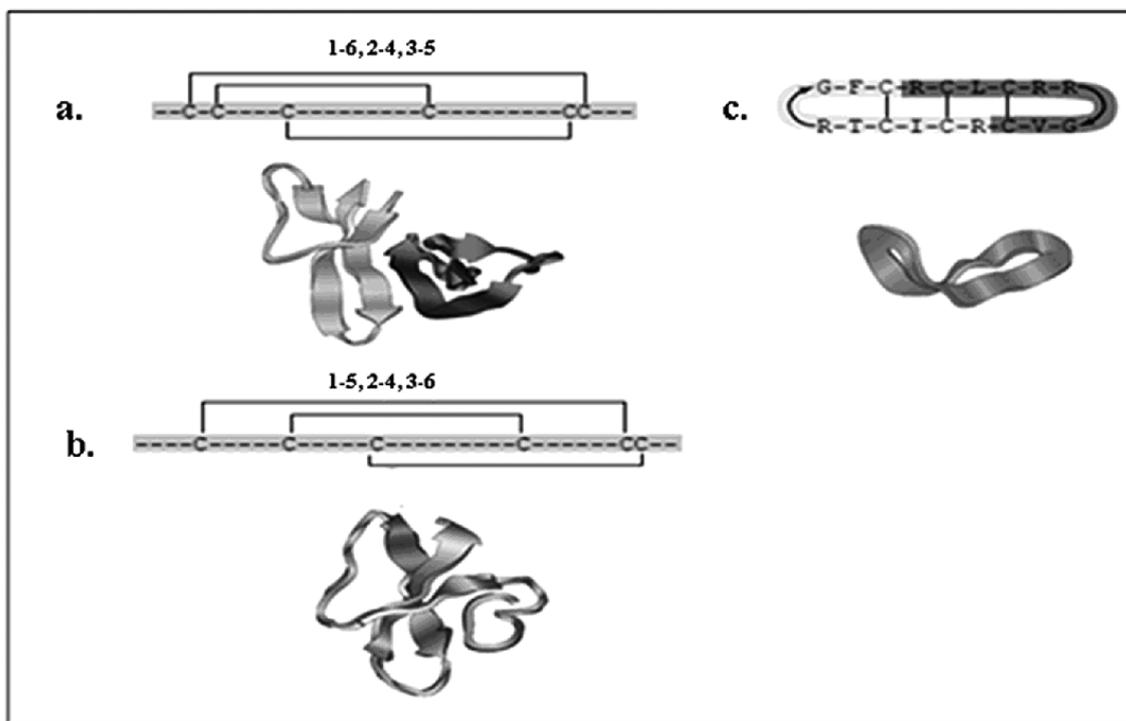


Рисунок 1. Структурные особенности дефензинов: а. - дефензины-альфа; в. - дефензины-бета; с. - дефензины-тета.



Рисунок 2. Гомологические мотивы в аминокислотных последовательностях разных классов дефензинов (адаптировано из J. Immunology, 2007, 179(2)).

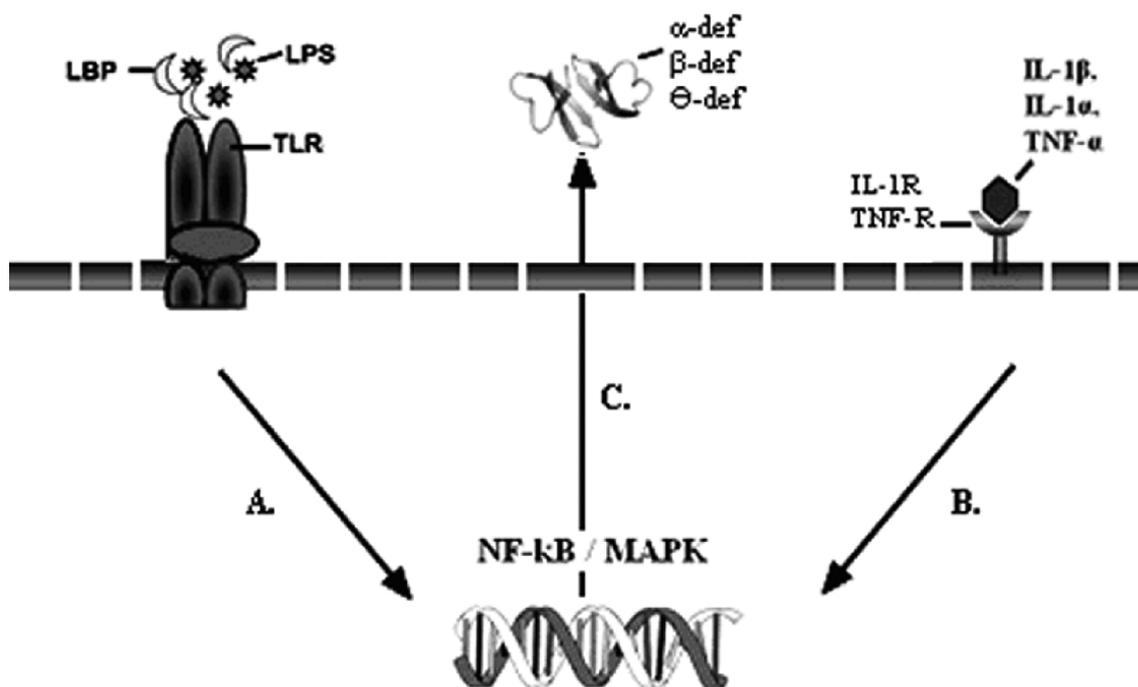


Рисунок 3. Основные механизмы биосинтеза дефензинов. А. - провоспалительные механизмы; В. - антигенные механизмы; С. - экспрессия дефензинов.

“Цепная реакция”, запускаемая такими медиаторами воспаления, как интерлейкины и фактор некроза опухолей (IL-1 β , IL-1 α , TNF- α), базируется на их взаимодействии с поверхностными клеточными рецепторами IL-1R и TNF-R. Именно по такому механизму, например, продуцируются дефензины бета в эпителиальных клетках толстого кишечника, при этом в данный процесс вовлекается универсальный фактор транскрипции NF- κ B, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла [18-20] (рис. 3).

Другим, не менее важным механизмом, приводящим к экспрессии разных классов дефензинов является антигенный механизм, который основывается на взаимодействии компонентов микробной клетки (липополисахарид, флагеллин и т.п.) с толл-подобными рецепторами (англ. Toll-like receptor, TLR). Аффинное взаимодействие TLR с липополисахаридами бактерий приводит к активации ряда белков MAPK-каскада. При этом одним из ключевых участников данного каскада является киназа IRAK4, которая, опосредованно, через адаптерные белки TIRAP/TRIF/TRAM, формирует передачу сигнала, приводящего к выработке

клетками цитокинов и дефензинов, а также к активации других генов, находящихся под контролем фактора транскрипции NF- κ B, в ответ на проникновение в организм инфекционных агентов. Интересно отметить, что взаимодействие липополисахарида с TLR 2, 4, 6 в большинстве случаев индуцирует экспрессию дефензинов-бета [21-23], в то время как связывание того же липополисахарида с активным центром TLR9 и других рецепторов данного класса преимущественно стимулирует выработку дефензинов тета и альфа [24, 25].

3. МЕХАНИЗМЫ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЕФЕНЗИНОВ

В основе противомикробной защиты дефензинов лежат процессы неокислительного порообразования. Бактерицидная активность этих молекул зависит от особенностей строения и состояния бактериальной стенки, уровня амфифильности молекулы, значений pH окружающей среды, концентрации самого антимикробного пептида и концентрации ионов солей в окружающей среде [26].

Наиболее адекватной моделью, соответствующей современным представлениям об электростатических и пространственных

взаимодействиях антимикробных пептидов с мембраной инфекционных агентов можно назвать модель Шая-Мацузаки-Хуанга (Shai-Matsuzaki-Huang) [27]. Согласно этой модели, взаимодействие антимикробного катионного пептида с бактериальной мембраной представляет три последовательных шага. Это кумуляция молекул пептидного катионита на внешней поверхности бактериальной мембраны за счёт электростатических взаимосвязей, интеграция пептида в липидный бислой мембраны и дестабилизация мембраны с нарушением её целостности. Положительный заряд молекулы АМП способствует возникновению электростатических связей между заряженным положительно пептидом и такими отрицательно

заряженными поверхностными компонентами мембраны, как липополисахариды (LPS) грамотрицательных бактерий, липотейхоевые кислоты и лизофосфатидилглицерол грамположительных бактерий (рис. 4). Погружаясь в липидный бислой, катионные пептиды смещают липиды, что ведёт к превышению предельных значений нормальных напряжений и, как следствие, разрыву контактного участка мембраны [28-31]. При образовании поры, возникает трансмембранный канал, напоминающий по форме "цилиндрическую бочку", через которую клетка активно теряет ценные протоплазматические ионы, что влечёт за собой нарушение осмотического гомеостаза и, как следствие, гибель бактериальной клетки ввиду осмотического шока [3, 32].

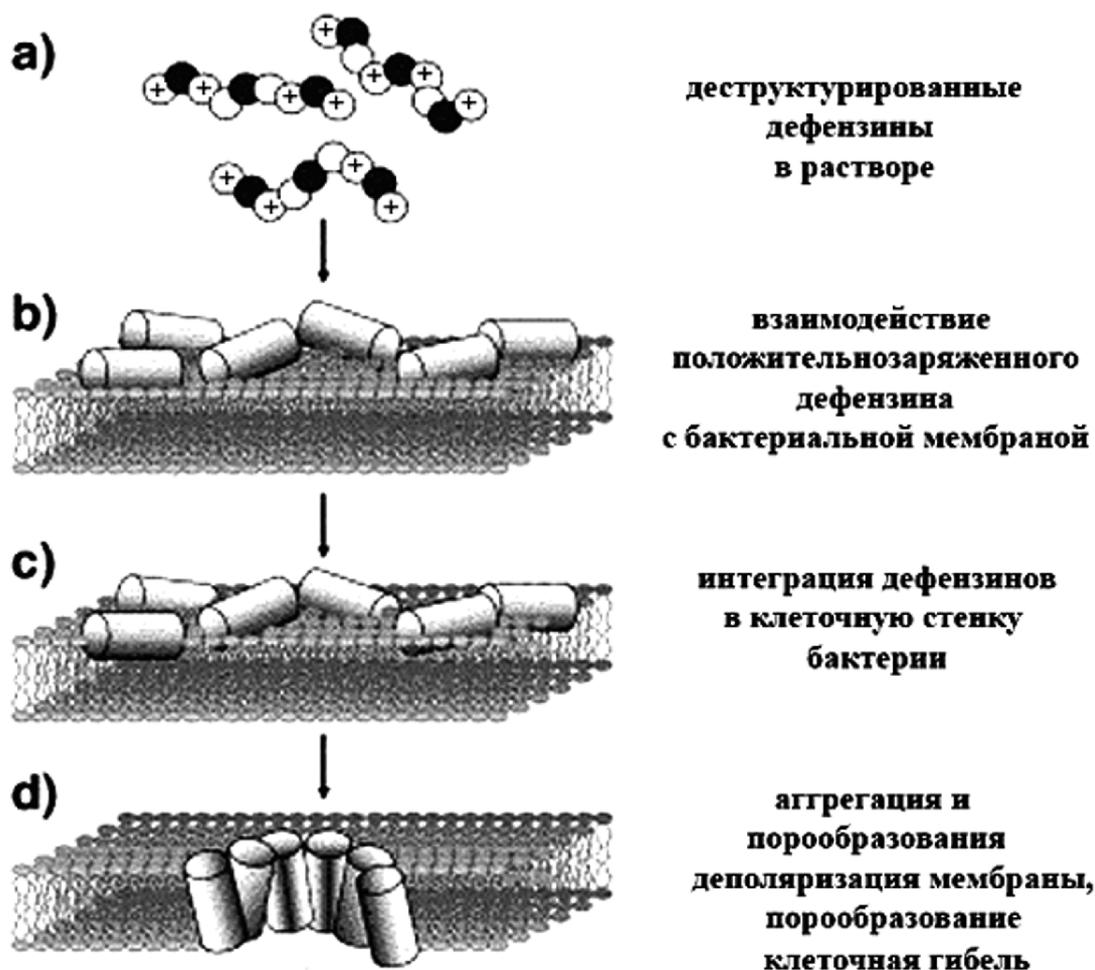


Рисунок 4. Модель Шая-Мацузаки-Хуанга. **а.**- деструктурированные дефензины в растворе; **в.** - взаимодействие положительнозаряженного дефензина с бактериальной мембраной бактерии; **с.** - "погружение" дефензинов в клеточную стенку бактерии; **д.**- агрегация и порообразование, деполяризация мембраны, порообразование, ведущие к деполяризации мембраны, осмотическому шоку и клеточной гибели.

4. ПЕРСПЕКТИВЫ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Разработка новых рекомбинантных пептидных антибиотиков с улучшенными свойствами направлена на расширение спектра эффективных и безопасных антибиотических средств для лечения и профилактики ряда бактериальных инфекций человека и животных.

В настоящее время известен целый ряд пептидных антибиотических средств. К наиболее распространенным пептидным антибиотикам, использующимся и по сей день, можно отнести полимиксины, являющиеся продуктами жизнедеятельности грамположительных почвенных азотфиксирующих бактерий *Paenibacillus polymyxa* [33]. Это сложный комплекс циклических пептидов, действующих преимущественно на грибы-фитопатогены и грамотрицательную микрофлору. К ним чувствительны кишечная палочка, энтеробактерии, шигеллы, бруцеллы и некоторые формы кокков. Бактерицидный эффект обусловлен прямым влиянием на проницаемость цитоплазматической мембраны. Адсорбируясь на её фосфолипидных компонентах, полимиксины, подобно катионным детергентам, вызывают лизис микроорганизмов. При приёме внутрь, полимиксины медленно разрушаются, что позволяет использовать их при некоторых

кишечных инфекциях. Инфицированные раны, ожоги, абсцессы, тяжелые гнойно-воспалительные процессы, вызванные смешанной флорой, лечат обычно растворами и мазями на основе данных антибиотиков.

Однако нельзя не отметить, что целый ряд негативных моментов не позволяет перейти к широкомасштабному использованию данных антибиотиков. Это связано, прежде всего, с тем, что полимиксины обладают выраженным нефротоксическим действием, что проявляется у 20% пациентов в первые несколько дней терапии в виде протеинурии, гематурии и повышения уровня креатинина в сыворотке крови. При высокой концентрации полимиксина в сыворотке наблюдаются олигурия и тубулярный некроз. Возможны также неврологические нарушения, аллергические реакции и дисбактериоз, в связи с чем они редко используются для лечения генерализованных инфекций у детей и лиц с ослабленным иммунитетом.

Помимо всего прочего, полимиксины являются сложными молекулами (рис. 5), которые невозможно получить вне микроорганизма *P. polymyxa* [34]. При этом бактерии *P. polymyxa* сами по себе являются весьма капризной продуцирующей системой. Данный комплекс негативных моментов заставляет научное сообщество продолжать поиск и конструирование *in silico* и/или *in vitro* новых более рентабельных пептидных антибиотиков с менее выраженным токсическим действием и с большей бактерицидной избирательностью.

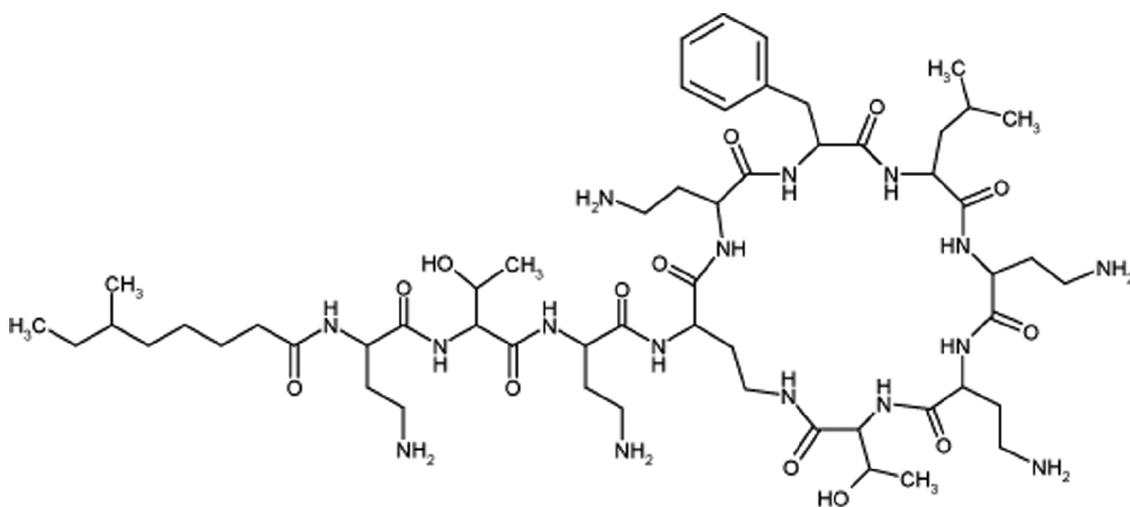


Рисунок 5. Структура полимиксина В включает остатки редких карбоновых кислот (L- α , γ -диаминобутировая кислота, (+)-6-метилоктаноил и 6-метилгептаноил) (адаптировано из "Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия", 2000, 2(3)).

По нашему мнению, наиболее перспективными в качестве кандидатных, безопасных и физиологичных пептидных антибиотиков для лечения и профилактики заболеваний, вызванных такими болезнетворными микроорганизмами как: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Cryptococcus neoformans*, *Clostridium innocuum* и многими другими [35], могут стать дефензины-альфа и -тета высших эукариот, что связано, прежде всего, с наличием у них широкого спектра бактерицидного действия, направленного против бактерий и грибов [11], а также с их способностью, в отличие от полимиксинов и бета-дефензинов, более или менее свободно экспрессироваться в эукариотических и прокариотических системах [36-39].

Между тем, несмотря на высокую аутологичность, основным барьером на пути свободного использования дефензинов- α/Θ млекопитающих в качестве эффективных антибиотических средств является факт того, что они обладают, недостаточной бактерицидной адресностью и весьма низкой амфифильностью, препятствующей быстрой адгезии этих молекул на поверхности клеточных стенок бактерий, что, в результате, снижает антимикробный эффект [15]. В рамках этого, не безынтересно отметить, что науке также известны белки, потенциально способные нивелировать изложенные негативные моменты. Речь, в данном случае, идёт о белках, образующихся также в клетках высших эукариотических организмов, принадлежащих к разным таксономическим группам (*Cyprinus*, *Xiphosura* и др.), обладающих способностью специфически связываться с липополисахаридами, липотейхоевыми кислотами, а также с их всевозможными карбогидратными комплексами. Подобные белки можно обобщённо назвать лектиноподобными амфифильными белками.

Наибольший интерес, с точки зрения планируемой нами научной работы, представляют отдельные функциональные домены данных белков, связывающиеся с липотейхоевыми кислотами (LTABD – lipoteichoic acid binding domain), а также функциональные домены белков, избирательно взаимодействующие с липополисахаридами (LPSBD – lipopolysaccharide binding domain). К LTABD можно отнести функциональные домены некоторых лектиноподобных полипептидов (маннозосвязывающий лектин (MBL)), L-фиколин, H-фиколин и тому подобные [40, 41].

Ряд исследований показывает, что, например, L-фиколин и подобные ему LTAB-белки, способны специфично взаимодействовать с липотейхоевой кислотой (LTA), являющейся облигатным компонентом клеточной оболочки всех грамположительных бактерий [42, 43]. Целым рядом исследователей также были охарактеризованы белки, обладающие высокой степенью избирательности связывания с липополисахаридами грамотрицательных бактерий [44-46].

Каким же образом данные белки могут быть полезны при создании рекомбинантных пептидных антибиотиков и улучшении их свойств? Ответ прост: полезные свойства данных белков планируется использовать в рамках принципиально нового и оригинального подхода, который, как предполагается, будет в состоянии нивелировать негативный момент, связанный с низкой селективностью и не высокой амфифильностью дефензинов альфа и тета. Этот подход заключается в создании гибридных белков, на основе fusion-технологии, иначе называемой технологией слитных генно-инженерных конструкций [47-52]. При этом, в нашем случае, целью является объединение, в единой “рамке”, двух функциональных последовательностей: как собственно дефензина, так и того или иного амфифильного домена (LTABD и/или LTABP) (рис. 6). Амфифильный домен потенциально способен избирательно адресовать генно-инженерно объединённый с ним дефензин к поверхности болезнетворных бактерий, за счёт специфического аффинного связывания либо с липополисахаридами грамотрицательных бактерий, либо с остатками липотейхоевых кислот грамположительных бактерий, присутствующих в клеточной стенке данных микроорганизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

На основании изложенного материала, очевидно, что дефензины являются уникальными природными антимикробными пептидами, на оптимизацию которых “молекулярная эволюция” затратила сотни миллионов лет. Последние десятилетия биомедицинская наука незаслуженно обходила своим вниманием данные соединения, в виду имеющихся у них некоторых структурно-функциональных особенностей. Однако современный уровень такой науки как биотехнология, позволяет решить большинство этих недостатков.

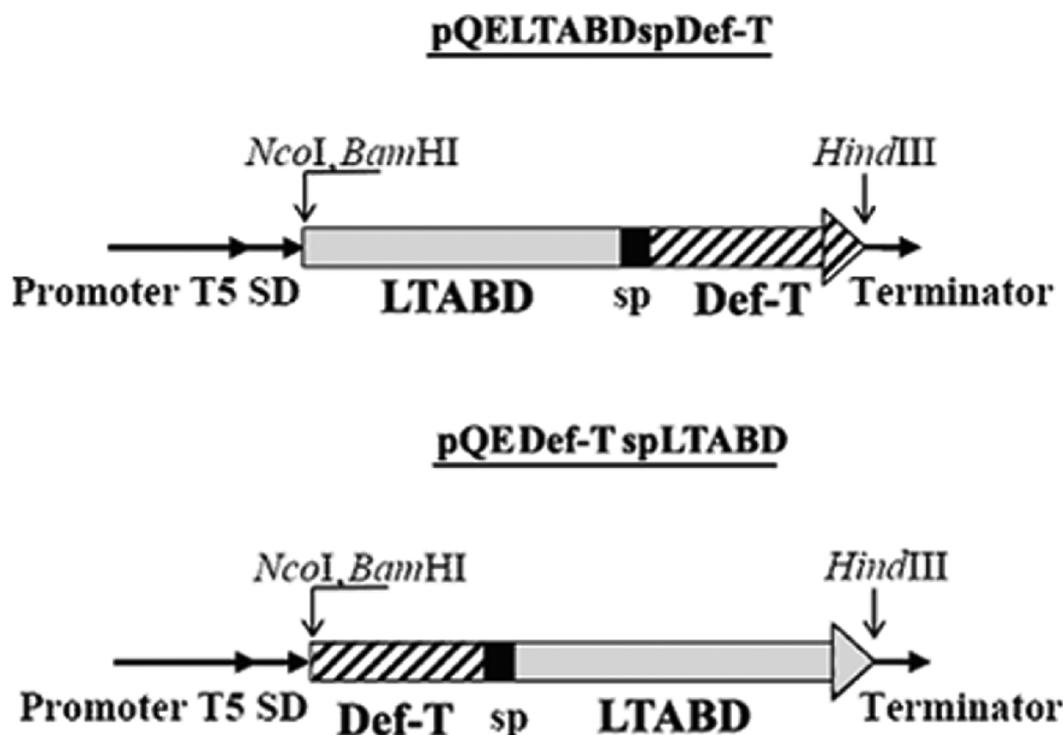


Рисунок 6. Схемы разрабатываемых нами генно-инженерных конструкций pQELTABDspDef-T, pQEDef-TspLTABD: Promoter T5 - промотор бактериофага T5; SD - последовательность Шайна-Дальгарно; LTABD - нуклеотидная последовательность, кодирующая белковый домен, специфически связывающийся с остатками липотейхоевых кислот; Def-T - нуклеотидная последовательность, кодирующая дефензин; sp - нуклеотидная последовательность, кодирующая межгенный спейсер для пространственного разделения разнофункциональных белковых доменов; Terminator - терминатор транскрипции.

Освещая данную тематику, мы задаёмся целью создания новых рекомбинантных антибиотических средств на основе дефензинов. Для достижения заданных целей нами планируется решение ряда основополагающих задач, связанных с улучшением биомедицинских качеств данных белков, а также с оптимизацией технологии получения подобных соединений в рекомбинантном виде. На пути этих исследований встанут также сопутствующие задачи проектирования и создания генно-инженерных конструкций, определяющих эффективный биосинтез рекомбинантных гибридных белков, объединяющих в себе свойства наиболее дефицитных для человеческого организма классов дефензинов, а также амфифильных доменов белков, полученных из различных биологических источников; создание стабильного штамма-продуцента данных белковых конструкций; получение спектра целевых рекомбинантных дефензинов и исследование их физико-химических свойств и биомедицинской активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Skarnes R.C., Watson D.W. (1957) *Bacteriol. Rev.*, **21**(4), 273–294.
2. Ganz T., Selsted M.E., Szklarek D., Harwig S.S., Daher K., Bainton D.F., Lehrer R.I. (1985) *J. Clin. Invest.*, **76**(4), 1427–1435.
3. Wimley W.C., Selsted M.E., White S.H. (1994) *Protein Sci.*, **3**(9), 1362–1373.
4. Bruix M., Jimenez M.A., Santoro J., Gonzalez C., Colilla F.J., Mendez E. (1993) *Biochemistry*, **32**, 715–724.
5. Kragh K.M., Nielsen J.E., Nielsen K.K., Dreboldt S., Mikkelsen J.D. (1995) *Mol. Plant Microb. Interact.*, **8**(3), 424–434.
6. Broekaert W.F., Terras F.R., Cammue B.P., Osborn R.W. (1995) *Plant Physiol.*, **108**(4), 1353–1358.
7. Aerts A.M., Francois I.E., Cammue B.P., Thevissen K. (2008) *Cell Mol. Life Sci.*, **65**(13), 2069–2079.
8. Ganz T. (2004) *C. R. Biol.*, **327**(6), 539–549.
9. De Smet K., Contreras R. (2005) *Biotechnol Lett.*, **27**(18), 1337–1347.
10. Brogden K.A., Ackermann M., McCray P.B., Tack B.F. (2003) *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **22**(5), 465–478.

11. Schneider J.J., Unholzer A., Schaller M., Schäfer-Korting M., Korting H.C. (2005) *J. Mol. Med. (Berl.)*, **83**, 587–595.
12. Jarczak J., Kościuczuk E.M., Lisowski P., Strzalkowska N., Józwiak A., Horbańczuk J., Krzyżewski J., Zwierzchowski L., Bagnicka E. (2013) *Hum. Immunol.*, **74**(9), 1069–1079.
13. Routsias J.G., Karagounis P., Parvulesku G., Legakis N.J., Tsakris A. (2010) *Peptides*, **31**, 1654–1660.
14. Tongaonkar P., Tran P., Roberts K., Schaal J., Osapay G., Tran D., Ouellette A.J., Selsted M.E. (2011) *J. Leukoc Biol.*, **89**(2), 283–290.
15. Selsted M.E. (2004) *Curr. Protein Pept. Sci.*, **5**(5), 365–371.
16. Cobo E.R., Chadee K. (2013) *Pathogens*, **2**, 177–192.
17. O'Neil D.A., Porter E.M., Elewaut D., Anderson G.M., Eckmann L., Ganz T., Kagnoff M.F. (1999) *J. Immunol.*, **163**, 6718–6724.
18. Witthoft T., Pilz C.S., Fellermann K., Nitschke M., Stange E.F., Ludwig D. (2005) *Dig. Dis. Sci.*, **50**, 1252–1259.
19. Zilbauer M., Jenke A., Wenzel G., Postberg J., Heusch A., Phillips A.D., Noble-Jamieson G., Torrente F., Salvestrini C., Heuschkel R., Wirth S. (2010) *PLoS One*, **5** (10), e15389.
20. Chen X.M., O'Hara S.P., Nelson J.B., Splinter P.L., Small A.J., Tietz P.S., Limper A.H., LaRusso N.F. (2005) *J. Immunol.*, **175**, 7447–7456.
21. Funderburg N., Lederman M.M., Feng Z., Drage M.G., Jadowsky J., Harding C.V., Weinberg A., Sieg S.F. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 18631–18635.
22. Barabas N., Röhrl J., Holler E., Hehlhans T. (2013) *Immunobiology*, **218**(7), 1005–1011.
23. Vora P., Youdim A., Thomas L.S., Fukata M., Tesfay S.Y., Lukasek K., Michelsen K.S., Wada A., Hirayama T., Arditi M. (2004) *J. Immunol.*, **173**, 5398–5405.
24. Foureau D.M., Mielcarz D.W., Menard L.C., Schulthess J., Werts C., Vasseur V., Ryffel B., Kasper L.H., Buzoni-Gatelx D. (2010) *J. Immunol.*, **184**(12), 7022–7029.
25. Hsu G.-J., Tzang B.-Sh., Tsai Ch., Chiu Ch., Huang Ch.-Y., Hsu T. (2011) *Chinese J. Physiol.*, **54**(5), 367–376.
26. Miyakawa Y., Ratnakar P., Rao A.G., Costello M.L. (1996) *Infect. Immun.*, **64**(3), 926–932.
27. Huang H.W. (2000) *Biochemistry*, **39**, 8347–8352.
28. Matsuzaki K. (1999) *Biochim. Biophys. Acta*, **1462**(1–2), 1–10.
29. Shai Y. (1999) *Biochim. Biophys. Acta*, **1462**(1–2), 55–70.
30. Yang L., Weiss T.M., Lehrer R.I., Huang H.W. (2000) *Biophys. J.*, **79**(4), 2002–2009.
31. Chen L., Gao L., Fang W., Golubovic L. (2012) *Commun. Comput. Phys.*, **11**(3), 709–725.
32. Zasloff M. (2002) *Nature*, **415** (6870), 389–395.
33. Tupinamba G., Da Silva A.J., Alviano C.S., Souto-Padron T., Seldin L., Alviano D.S. (2008) *J. Appl. Microbiol.*, **105**(4), 1044–1053.
34. Щетинин Е.В. (2000) *Клин. микробиол. антимикр. химиотер.*, **2**(3), 68–73.
35. Tran D., Tran P.A., Tang Y.Q., Yuan J., Cole T., Selsted M.E. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 3079–3084.
36. Pazgier M., Lubkowski J. (2006) *Protein Expr Purif.*, **49**(1), 1–8.
37. Wang A., Su Y., Cheng T., Zou Z., Wang J. (2008) *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao.*, **24**(2), 291–296.
38. Wang A., Wang S., Shen M., Chen F., Zou Z., Ran X., Cheng T., Su Y., Wang J. (2009) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **84**(5), 877–884.
39. Figueredo S., Mastroianni J.R., Tai K.P., Ouellette A.J. (2010) *Methods Mol. Biol.*, **618**, 47–60.
40. Lynch N.J., Roscher S., Hartung T., Morath S., Maennel D.N., Kuraya M., Fujita T., Schwaebler W.J. (2004) *J. Immunol.*, **172**(2), 1198–1202.
41. Aoyagi Y., Adderson E., Rubens C.E., Bohnsack J.F., Min J.G., Matsushita M., Fujita T., Okuwaki Y., Takahashi S. (2008) *Infect. Immun.*, **76**(1), 179–188.
42. Adhya M., Singha B., Chatterjee B.P. (2006) *Indian J. Biochem. Biophys.*, **43**(2), 94–97.
43. Yu X.Q., Kanost M.R. (2002) *Eur. J. Biochem.*, **269**(7), 1827–1834.
44. Juan T.S., Hailman E., Kelley M.J., Busse L.A., Davy E., Empig C.J., Narhi L.O., Wright S.D., Lichenstein H.S. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 5219–5224.
45. Larrick J.W., Hirata M., Balint R.F., Lee J., Zhong J., Wright S.C. (1995) *Infect. Immun.*, **63**, 1291–1297.
46. Chen S.C., Yen C.H., Yeh M.S., Huang C.J., Liu T.Y. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 9631–9639.
47. Гришин Д.В. (2009) *Антибиот. химиотер.*, **54**(5–6), 3–7.
48. Гришин Д.В., Никитин А.В. (2009) *Естественные и технические науки*, **5**, 131–133.
49. Boado R.J., Pardridge W.M. (2010) *J. Drug Target.*, **18**(3), 205–211.
50. Boado R.J., Zhang Y., Xia C.F., Wang Y., Pardridge W.M. (2008) *Bioconjug Chem.*, **19**(3), 731–739.
51. Kreitman R.J. (2001) *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2**(9), 1282–1293.
52. Leal M.T., Camacho A.G., Teixeira L.H., Bargieri D.Y., Soares I.S., Tararam C.A., Rodrigues M.M. (2013) *Clin Vaccine Immunol.*, **20**(9), 1418–1425.

Поступила: 18. 12. 2012.

DEFENSINS – NATURAL PEPTIDE ANTIBIOTICS OF HIGHER EUKARIOTES

D.V. Grishin, N.N. Sokolov

Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences
(IBMC RAMS), Pogodinskaya ul., 10, Moscow, 119121 Russia; e-mail: molbiol_ibm@inbox.ru

The goal of this review is to characterize defensins representing an evolutionary the most ancient family of antimicrobial peptides. It gives general information on functional and structural features of defensins as the main components of the first-line defense of higher eukaryote organisms against infectious agents. The review considers not only current situation in the defensin research but also perspectives of creation of recombinant antimicrobial peptides of biomedical application.

Key words: antimicrobial peptides, defensins, mechanism of bactericidal action of defensins, recombinant antimicrobial peptides.