

ПЕДИОЦИН-ПОДОБНЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ БАКТЕРИЙ

Обзор

© 2019 С.В. Баландин, Э.В. Шереметьева, Т.В. Овчинникова*

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, Россия;
электронная почта: ovch@ibch.ru*

Поступила в редакцию 06.08.2018

После доработки 11.10.2018

Принята к публикации 11.10.2018

Бактериоцины – антимикробные пептиды бактерий, являющиеся, в отличие от классических пептидных антибиотиков, продуктами рибосомальной синтеза и, как правило, обладающие узким спектром антибактериальной активности в отношении родственных продуцентам видов. Педиоцин-подобные бактериоцины (PLB) относят к подклассу Na бактериоцинов грамположительных бактерий. PLB проявляют высокую активность в отношении патогенных бактерий родов *Listeria* и *Enterococcus*. Молекулярной мишенью для PLB служит мембранный маннозо-фосфотрансферазный комплекс (Man-PTS). PLB могут синтезироваться симбиотической микробиотой человека и участвовать в поддержании гомеостаза в пищеварительном тракте и на поверхности эпителия, контактирующего с внешней средой. На основе PLB может быть создана новая группа антибиотиков узкого спектра действия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антимикробные пептиды, бактериоцины, педиоцин-подобные пептиды, антибиотикорезистентность, маннозо-фосфотрансфераза.

DOI: 10.1134/S0320972519050026

Бактериоцины – рибосомально синтезируемые антимикробные пептиды бактериального происхождения [1]. Активность этих соединений наиболее выражена в отношении видов бактерий, родственных продуцентам, хотя известно небольшое число бактериоцинов с широким спектром действия [2, 3]. Интерес к бактериоцинам связан с потенциальной возможностью их применения в медицине, животноводстве и пищевой промышленности в качестве новых антибиотиков и консервантов [1, 4–6]. Примером использования бактериоцинов для консервации пищевых продуктов служит полувекковая история применения лантибиотика низина, до настоящего времени не утратившего своей эффективности [7, 8]. Важнейшим фактором, определяющим актуальность исследова-

ний в области медицинского применения бактериоцинов, является глобальное распространение патогенных штаммов, резистентных к лекарственным средствам, используемым в клинической практике в настоящее время. В отличие от пептидных антибиотиков, биосинтез которых осуществляется нерибосомальным путем (полимиксинов, грамицидинов), ни один из бактериоцинов пока не нашел применения в качестве лекарственного средства. Высокая селективность действия отличает большинство бактериоцинов от классических антибиотиков и антимикробных пептидов животного происхождения [9]. Исследование механизмов такой селективности открывает путь к разработке лекарственных средств, избирательно действующих на патогенные микроорганизмы и не подавляющих жизнедеятельность нормальной микробиоты, колонизирующей организм человека [10, 11]. Еще одним преимуществом подобной селективности является снижение риска развития кросс-резистентности к антимикробным агентам других классов. Использование лекарственных средств узкого спектра действия, наряду с организацией системы строгого контроля применения антибиотиков, позволит хотя бы частично решить

Принятые сокращения: PLB – педиоцин-подобные бактериоцины; а.о. – аминокислотные остатки; МИК – минимальная ингибирующая концентрация; Man-PTS – маннозо-фосфотрансферазный комплекс; PTS – фосфоенолпируват:углевод-фосфотрансферазная система; EI – фермент I PTS; HPr – гистидин-содержащий переносчик фосфата PTS; EII – фермент II PTS; EIIA, EIIB, EIIC, EIID – субъединицы фермента II PTS.

* Адресат для корреспонденции.

проблему распространения полирезистентных штаммов.

В настоящее время классификация бактериоцинов по источнику получения (природному продуценту) вытеснена структурной классификацией [1]. Пептиды, независимо от происхождения, подразделяют на два класса: I) бактериоцины, содержащие посттрансляционные модификации (лантибиотики, лассо-пептиды, сактибиотики, тиопептиды и др.) и II) немодифицированные бактериоцины и бактериоцины с минимальными посттрансляционными модификациями, к числу которых можно отнести циклизацию за счет пептидной связи, образование дисульфидных связей, формилирование *N*-концевого метионина. Некоторые авторы относят к бактериоцинам более крупные термолabile молекулы, выделяя их в дополнительные классы: III) белки с молекулярной массой >30 кДа и IV) белки, ковалентно связанные с небелковым (липидным, углеводным) компонентом [12, 13]. Бактериоцины класса II включают следующие подклассы: IIa — педиоцин-подобные линейные пептиды, IIb — двухкомпонентные системы, IIc — циклические бактериоцины, IId — бактериоцины с линейной структурой, не включенные в другие подклассы, IIe — микроцин E492-подобные пептиды [1].

Отличительным признаком педиоцин-подобных бактериоцинов (PLB, *pediocin-like bacteriocins*) является наличие последовательности YGNG(V/L), называемой «педиоциновым боксом» («*pediocin box*») и, как правило, входящей в состав более крупного мотива, стабилизированного дисульфидной связью и расположенного в *N*-концевой части молекулы: YGNG(V/L)XCX(K/N)XXC, где X — любые полярные (заряженные или незаряженные) аминокислотные остатки (а.о.) [14, 15] (рис. 1).

Первый охарактеризованный бактериоцин подкласса IIa, давший название всей группе пептидов, педиоцин AcH — был выделен из штамма *Pedococcus acidilactici* H в 1988 г. [16]. Однако первым представителем подкласса, первичная структура которого была определена, стал лейкоцин A [17]. Аминокислотная последовательность педиоцина AcH была опубликована лишь в 1992 г. [18] вслед за публикацией первичной структуры педиоцина PA-1, выделенного из штамма *Pedococcus acidilactici* PAC-1.0 [19] (рис. 1, a). Сравнение структур показало, что педиоцины AcH и PA-1 идентичны друг другу. Педиоцин PA-1/AcH — единственный известный представитель подкласса, синтезируемый разными видами бактерий (причем двух разных родов — *Pedococcus* и *Lactobacillus*) [20].

В настоящее время идентифицировано >50 бактериоцинов IIa подкласса. Большинство из них

вырабатываются молочнокислыми бактериями родов *Lactobacillus*, *Pedococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Weissella* [20]. Кроме того, бактериоцины IIa подкласса были найдены у таких бактерий, как *Bifidobacterium bifidum* [21], *Bifidobacterium infantis* [22], *Bacillus coagulans* [23], *Listeria innocua* [24]. Продуценты PLB встречаются в пищевых продуктах, в желудочно-кишечном тракте человека и животных, на поверхности растений. Большое число генов, кодирующих PLB, идентифицировано в нуклеотидных последовательностях при секвенировании геномов микроорганизмов, составляющих микробиом человека [25].

PLB привлекают внимание благодаря своей высокой активности, проявляемой в наномолярном диапазоне концентраций, а также низкой токсичности для человека [26]. Пептиды этого класса известны в первую очередь своей способностью подавлять рост бактерий рода *Listeria*, в т.ч. патогенных штаммов, вызывающих тяжелые пищевые и оппортунистические инфекции [27]. Несмотря на то что резистентность листерий к классическим антибиотикам не получила еще широкого распространения, тенденция к этому прослеживается [28, 29], что повышает интерес к поиску резервных антилистериозных средств. Потенциальными мишенями для PLB могут быть и другие пищевые грамположительные патогены [30]. Среди грамположительных бактерий, чувствительных к PLB, наибольшую опасность представляют ванкомицин-резистентные энтерококки (VRE) — возбудители тяжелых нозокомиальных инфекций [31, 32]. У нескольких представителей подкласса выявлена активность в отношении бактерий рода *Campylobacter* — грамтрицательных возбудителей заболеваний домашней птицы, способных вызывать острые кишечные инфекции с синдромом общей интоксикации у человека (кампилобактериозы) [5], однако в настоящее время достоверность первоначальных сведений об активности этих соединений поставлена под сомнение [33, 34]. Кроме того, у некоторых PLB обнаружена противовирусная активность [35, 36].

Согласно классификации Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), молочнокислые бактерии имеют статус «общепризнанно безопасных» (generally recognized as safe, GRAS), что делает вырабатываемые ими пептиды привлекательными объектами биотехнологического производства. К достоинствам PLB, наряду с высокой биологической активностью и термостабильностью, можно отнести и то, что их биосинтез не требует участия ферментов, осуществляющих посттрансляционные модификации.

Это делает возможным получение рекомбинантных аналогов данных пептидов в наиболее экономичных прокариотических системах, например, в *E. coli* [37]. Альтернативой очищенным препаратам в некоторых случаях могут стать микроорганизмы-пробиотики в качестве формы доставки этих веществ в организм человека и сельскохозяйственных животных [27, 31, 38–40].

КЛАССИФИКАЦИЯ PLB

В основе современной классификации PLB лежит гомология их первичной структуры [20, 41, 42]. С увеличением числа известных представителей подкласса постепенно меняется вид филогенетического древа, построенного на основе установленных структур. Наиболее широкой известностью пользуется классификация

Название (англ.)	Продуцент	Идентификатор	1	10	20	30	40
Pediocin PA-1 (AcH)	<i>Pc. acidilactici</i>	P29430.2	KYYGNGV	TCGKHS	CSVDWGKATTC	IINN	GAMAWATGGHQGNHKC
Coagulin	<i>B. coagulans</i>	AAG28763.1	KYYGNGV	TCGKHS	CSVDWGKATTC	IINN	GAMAWATGGHQGTHKC
Sakacin P	<i>Lb. sakei</i>	P35618.2	KYYGNGV	HCGKHS	CTVDWGTAIGN	IGNNAANWATGGNAGWNK	
Sakacin X	<i>Lb. sakei</i>	AAP44569.1	KYYGNGV	HCGKHS	CTVDWGTAIGN	IGNNAANWATGGNAGWNK	
Listeriocin 743A	<i>Ls. innocua</i>	AAK19401.1	KSYGNGV	QCNK	KKCVVDWGS	AISTIGNNSAANWATGGAAGWKS	
Enterocin HF	<i>E. faecium</i>	P86183.2	KYYGNGV	SCNKK	GCVDWGKAI	GIIGNNAANLTTGGKAGWK	
Piscicolin 126	<i>C. maltaromaticum</i>	P80569.2	KYYGNGV	SCNKN	GCVDWSKAI	GIIGNNAANLTTGGAAGWNK	
Avicin A	<i>E. avium</i>	ACZ36002.1	TYYGNGV	SCNKK	GCVDWGKAI	SIIGNNSAANLATGGAAGWKS	
Enterocin CRL35	<i>E. mundtii</i>	AAQ95741.1	KYYGNGV	SCNKK	GCVDWGKAI	GIIGNNSAANLATGGAAGWKS	
Mundticin	<i>E. mundtii</i>	P80925.1	KYYGNGV	SCNKK	GCVDWGKAI	GIIGNNSAANLATGGAAGWKS	
Leucocin C	<i>Ln. mesenteroides</i>	P81053.2	KNYGNGV	HCTK	KKGCVDWGYAW	TNIANNSV-MNGLTGGNAGWHN	
Ubericin A	<i>S. uberis</i>	A9Q0M7.1	KTVNYG	NGLYCN	QKKCWVNWSE	TATTVNNSI-MNGLTGGNAGWHS	GGRA
Weissellin A	<i>W. paramesenteroides</i>	B3A0N4.1	KNYGNGV	YCNK	HKCSVDWATF	SANIANNSVAMAGLTGGNAGNK	
Enterocin A	<i>E. faecium</i>	Q47784	TTHSGKY	YGNGVY	CTKNKCT	VDAKATTCIAGMSIGGFLGGAIP--GKC	
Bavaricin MN	<i>Lb. sakei</i>	P80493.2	TKYYG	NGVY	CNSK	KCWVDWGQAAGGIGQTVVXGWLGGAIIP--GK	
Divercin V41	<i>C. divergens</i>	CAA11804.1	TKYYG	NGVY	CNSK	KCWVDWQAAGGIGQTVVXGWLGGAIIP--GK	
Divergin M35	<i>C. divergens</i>	P84962.1	TKYYG	NGVY	CNSK	KCWVDWGTAQGCID--VVIGQLGGGIFGK	GKC
Mesentericin Y105	<i>Ln. mesenteroides</i>	P38577.2	KYYGNGV	HCTK	SGCSVNWGE	AASAGIHRLANGNGFW	
Leucocin A	<i>Ln. gelidum</i>	AAA68003.1	KYYGNGV	HCTK	SGCSVNWGE	AASAGVHRLANGNGFW	
Leucocin B (B-Ta11a)	<i>Ln. carnosum</i>	Q53446.1	KYYGNGV	HCTK	SGCSVNWGE	AASAGVHRLANGNGFW	
Plantaricin C19	<i>Lb. plantarum</i>	Q7M173	KYYG	NGLS	CSK	KGCVTWNWQA	FSCGVN
Plantaricin 423	<i>Lb. plantarum</i>	AAL09346.1	KYYGNGV	TCGK	HSCS	VNWQA	FSCSVSHLANFHGK
Bacteriocin SkgA2	<i>Lb. ruminis</i>	CDC59691.1	SRYYG	NGV	TCG	KHKCTVNWQA	AWTCGVNRLANFHGNC
Sakacin G	<i>Lb. sakei</i>	Q8KWU5	KYYGNGV	SC	NSHGC	SVNWQA	AWTCGVNHLANGHGV
Bacteriocin 31	<i>E. faecalis</i>	Q47778	ATYYG	NGLY	CNK	QK--CWVDWNKASREIGKII	VNGVQHGPWAPR
Bacteriocin SRCAM 602	<i>Pb. polymyxa</i>	P86393.1	ATYYG	NGLY	CNK	QKHYYT	VVDWNKASREIGKITVNGVQH
Dura(n)cin GL	<i>E. durans</i>	YP_006961011.1	ATYYG	NGVY	CNK	QE--CWVDWNKASKEIGKII	VNGVQHGPWAPR
Hiracin JM79	<i>E. hirae, E. faecium</i>	Q0Z8B6.1	ATYYG	NGLY	CNK	EK--CWVDWNQAKGEIGKII	VNGVNHGPWAPRR
Bacteriocin MC4-1	<i>E. faecalis</i>	ABW08100.1	ATYYG	NGVY	CNK	QK--CWNWQA	WSEGVKRWGDNLF
Enterocin SE-K4	<i>E. faecalis</i>	BAC20326.1	ATYYG	NGVY	CNK	QK--CWVDWSR	ARSEIIDR
Penocin A	<i>Pc. pentosaceus</i>	Q03HX9	KYYGNGV	HCG	KKT--	CYVDWQA	TASIGKII
Carnobacteriocin BM1	<i>C. maltaromaticum</i>	P38579.1	AISY	NGVY	CN	KEKCVWNKAENQAITG	VIGGWASSLAGMGH
Bacteriocin SRCAM 1580	<i>B. circulans</i>	P86394.1	VNYG	NGV	CS	KTKCSVNWGIITHQAFR-VTSGV	ASG
Carnobacteriocin B2	<i>C. maltaromaticum</i>	P38580.1	VNYG	NGV	CS	KTKCSVNWQA	FQERYTAGINSFVSGV
Lactococcin MMFII	<i>Lc. lactis</i>	P83002.1	TSY	NGV	H	CNKS	KCWIDVSELETYKAGTVSNPKDILW
Curvacin A (Sakacin A)	<i>Lb. curvatus, Lb. sakei</i>	P0A311.1	ARSY	NGVY	CN	NKKCVN	NRGEATQSIIGGMISGWASLAGM
Enterocin P	<i>E. faecium</i>	O30434.1	ATRSY	NGVY	CN	NSKCVN	WGEAKENIAGIVISGWASLAGMGH
Bacteriocin E50-52	<i>E. faecium</i>	P85148.1	TTKNY	NGV	CNS	VNWCCGNVWASCN	LATGCAAWLCKLA
Bacteriocin SRCAM 37	<i>Pb. polymyxa</i>	P86395.1	FVY	NGV	TS	ILVQAQFLVNGQRRFF	YTPDK
Acidocin A	<i>Lb. acidophilus</i>	Q48496	KTYG	NGV	H	CTK	SLWGVRLKNVPGTL

Рис. 1. Первичная структура представителей бактериоцинов IIa подкласса. Рамкой выделен педиоциновый бокс, отмечен дополнительный остаток треонина в педиоциновом боксе ацидоцина А, подчеркнуты остатки цистеина. Использованы сокращенные названия родов бактерий: B. – *Bacillus*, C. – *Carnobacterium*, E. – *Enterococcus*, Lb. – *Lactobacillus*, Lc. – *Lactococcus*, Ln. – *Leuconostoc*, Ls. – *Listeria*, Pb. – *Paenibacillus*, Pc. – *Pediococcus*, S. – *Streptococcus*, W. – *Weissella*

Nissen-Meyer et al., разделивших 28 известных на момент публикации бактериоцинов подкласса IIa на четыре подгруппы [41]. В более поздней работе Cui Y. et al. состав этих подгрупп был дополнен новыми пептидами, а пять пептидов с принципиально новой структурой были выделены в дополнительные четыре подгруппы [20]. При этом подгруппам II, III и IV в данной работе соответствуют подгруппы 4, 2 и 3 по классификации Nissen-Meyer et al., а общее число описанных структур возросло до 50.

Некоторые бактериальные антимикробные пептиды, обладающие очевидным эволюционным родством с PLB, не были включены в данный подкласс ввиду отсутствия в их структуре педиоцинового бокса. К ним относятся, в частности, энтероцин В и карнобактериоцин А, вырабатываемые теми же штаммами, из которых были выделены энтероцин А и карнобактериоцин В2. Эволюционное родство между данными парами пептидов подтверждается гомологией лидерной последовательности и С-концевой части полипептидной цепи [43].

СТРУКТУРА PLB

Первичная структура известных PLB включает от 25 (мутацин F-59.1) до 58 (ацидоцин А) а.о. Бактериоцины этого класса не содержат посттрансляционных модификаций, за исключением дисульфидных связей. К настоящему времени определена пространственная структура пяти природных PLB: лейкоцина А [44], карнобактериоцина В2 [45], сакацина Р [46], курвацина А [47] и энтероцина HF [48] (рис. 2, б–е). Кроме того, была исследована третичная структура искусственных аналогов сакацина Р [46], лейкоцина А [49] и педиоцина PA-1 [50] (рис. 2, а). Исследования проводили методом ЯМР-спектроскопии в средах, имитирующих мембранное окружение: в растворе трифторэтанола (TFE) и мицеллах додецилфосфохолина (DPC).

Как и многие другие антимикробные пептиды, PLB в водном растворе не имеют упорядоченной пространственной структуры, однако в гидрофобном окружении или на границе раздела двух фаз приобретают стабильную, отчетливо выраженную конформацию. Несмотря на различия в деталях, можно выделить ряд признаков, общих для всех исследованных структур. Катионный гидрофильный N-концевой участок образует тройной антипараллельный β-складчатый лист, стабилизированный одной дисульфидной и несколькими водородными связями. Консервативный педиоциновый бокс соответствует первому β-изгибу. β-Складчатый участок

лейкоцина А и сакацина Р характеризуется умеренно выраженной амфифильностью [44, 46]. Соответствующая область курвацина А имеет несколько менее «правильную» β-складчатую укладку, чем у лейкоцина А и сакацина Р [47]. Исключение составляет карнобактериоцин В2, N-концевая часть которого не упорядочена [45].

Вариабельная гидрофобная С-концевая часть молекулы состоит из упорядоченного участка, включающего одну или две (у курвацина А) амфифильные α-спирали, и неупорядоченного участка. Между двумя этими участками наблюдается резкий изгиб цепи, делающий всю С-концевую часть молекулы похожей на шпильку. У педиоцина PA-1/AcH и некоторых других бактериоцинов подкласса IIa (коагулина, сакацина G, плантарицина 423, диверцина V41, дивергицина M35, энтероцина А) имеется вторая дисульфидная связь, соединяющая середину α-спиральной области с неупорядоченным С-концевым участком [41]. Большое количество гидрофобных остатков и амфифильная структура С-концевой части PLB, хорошо заметная на проекции Шиффера–Эдмундсона, указывают на то, что именно эта часть пептида погружается в липидный бислой мембраны [13]. В структуре курвацина А присутствуют два спиральных участка – небольшой гидрофильный, находящийся в середине молекулы, и более протяженный амфифильный С-концевой.

Между N-концевой и С-концевой частями молекулы расположен шарнирный участок, обеспечивающий их взаимную подвижность и относительную функциональную независимость. В структуре курвацина А имеется дополнительный шарнир между двумя α-спиральными фрагментами [47]. Таким образом, рассмотренные здесь пространственные структуры демонстрируют высокую степень сходства, и только у карнобактериоцина В2 и курвацина А имеются заметные отличия от остальных установленных структур в N-концевой и С-концевой области соответственно.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ PLB

За три десятилетия, прошедших со времени открытия педиоцина PA-1/AcH, проведена большая работа, посвященная выявлению ключевых а.о., детерминирующих антимикробную активность и специфичность действия PLB. В большинстве подобных экспериментов объектами становились педиоцин PA-1/AcH, лейкоцин А, сакацин Р, карнобактериоцин В2.

Предметом исследования являлись не только антимикробные свойства PLB, но и взаимо-

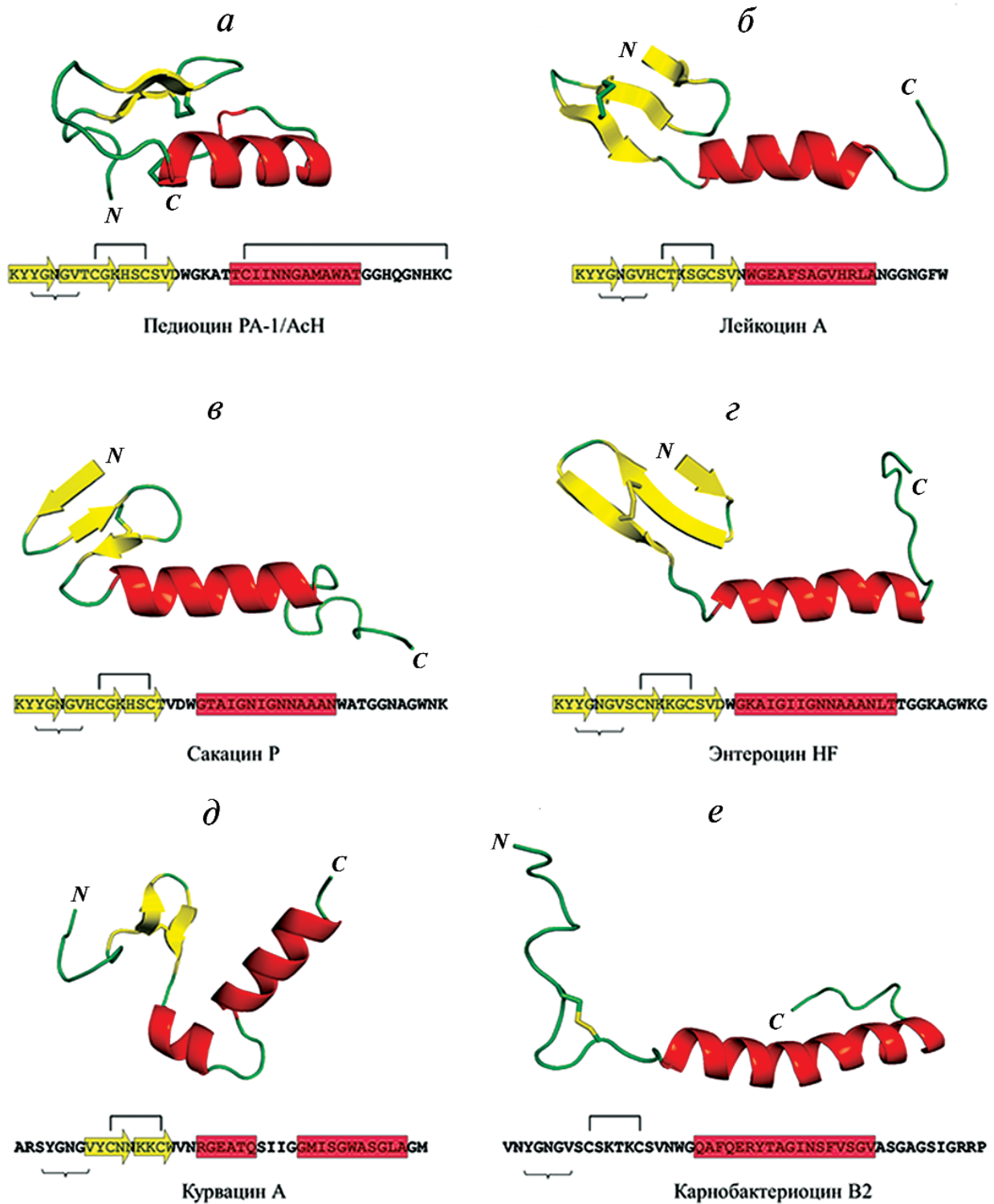


Рис. 2. Пространственная структура представителей подкласса IIa бактериоцинов грамположительных бактерий. Приведены: *а* – первичная структура педиоцина PA-1/AcH из бактерий *Pediococcus* и *Lactobacillus* (UniProt P29430.2) и пространственная структура его искусственного аналога с заменой M31L (PDB 5UKZ); *б* – структуры лейкоцина А из *Leuconostoc gelidum* (P34034.1, 1CW6), *в* – сакацина Р из *Lactobacillus sakei* (P35618.2, 1OG7), *г* – энтероцина HF из *Enterococcus faecium* (P86183.2, 2N4K), *д* – курвацина А из *Lactobacillus curvatus* (P0A311.1, 2A2B), *е* – карнобактериоцина В2 из *Carnobacterium maltaromaticum* (P38580.1, 1CW5). Стрелками обозначены участки структуры, обладающие β -складчатой конформацией, прямоугольниками – спиральные фрагменты; показана аранжировка дисульфидных связей; фигурными скобками отмечено расположение педиоцинового бокса.

С цветным вариантом рис. 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: www.elibrary.ru

действие этих пептидов со следующими структурами и системами: липидным бислоем [51, 52], белками иммунитета [53], собственным *C*-концевым фрагментом и фрагментами других PLB [54–56], системой посттрансляционного процессинга и секреции [57]. Полученные данные позволяют сформулировать закономерности, общие для всех или большинства известных PLB.

1) *N*-Концевой педиоциновый бокс YGNG(V/L) чрезвычайно важен для проявления антимикробной активности. Аминокислотные замены в этой области пептида в большинстве случаев полностью лишают его антимикробных свойств [58, 59], хотя некоторые типы замен все же допустимы [51, 60]. Известно лишь два природных пептида, в структуре которых наблюдается отклонение от указанной выше формулы педиоцинового бокса – ацидоцин А [61] и бактериоцин OR-7 [62]. Интересно отметить, что в обоих случаях речь идет не об аминокислотной замене, а о более значительном нарушении консервативной структуры – встраивании остатка треонина между первым остатком глицина и аспарагином (YGTNGV). Данные пептиды заметно отличаются по своей первичной структуре от большинства PLB, что стало основанием для вынесения их в отдельную группу [20].

2) *N*-Концевая часть бактериоцина несет положительный заряд, обеспечивающий электростатическое притяжение на первоначальном этапе взаимодействия с мембраной бактерий и липидным бислоем липосом [63]. Тем не менее между величиной заряда и антибактериальной активностью не выявлено прямой зависимости [59, 64]. Так, например, замена H12K в структуре сакацина Р не оказывает заметного влияния на его антимикробные свойства, замена T20K повышает активность, а добавление дополнительного *N*-концевого остатка лизина или замена D17N приводят к значительному снижению активности [64]. Кроме того, консервативная мутация D17E, увеличивающая расстояние между карбоксильной группой боковой цепи и пептидным остовом за счет наличия дополнительной метиленовой группы в боковой цепи, оказывает более выраженное негативное влияние на уровень активности, чем замена D17N, подтверждая предположение, что заряженные остатки не просто вносят вклад в суммарный заряд молекулы, но могут участвовать в комплементарных взаимодействиях с рецептором. Показано также, что при изменении заряда молекулы активность в отношении различных штаммов может изменяться в разной степени.

3) Структура *N*-концевой части молекулы почти всех известных PLB стабилизирована ди-

сульфидной связью. Исключением служат бактериоцины OR-7 (несет один Cys), L-1077 и 37 (не содержат Cys), существенно отличающиеся от большинства других PLB своей аминокислотной последовательностью [20]. Восстановление дисульфидных связей в той или иной мере снижает антибактериальную активность PLB. Известно, что представители группы педиоцина PA-1 утрачивают ее почти полностью, в то время как пептиды, родственные мезэнтерицину Y105, в значительной степени сохраняют свои антибиотические свойства [65]. В последнем случае наличие активности может объясняться спонтанным рефолдингом добавляемых к тест-культуре пептидов. Химическая модификация остатков Cys или замена их на остатки Ser у лейкоцина А [66] и мезэнтерицина Y105 [67] делает эти пептиды неактивными. Было показано, что для сохранения *N*-концевой пространственной структуры лейкоцина А достаточно силы нековалентных гидрофобных или π -стэкинг-взаимодействий между алифатическими или ароматическими остатками аллилглицина, норвалина, фенилаланина, замещающими в полипептидной цепи остатки Cys. Полученные аналоги лишь немногим менее активны, чем природный пептид, и при этом устойчивы к действию восстановителей [66, 68]. Однако попытка повторить данные результаты в экспериментах с педиоцином PA-1 не увенчались успехом – лишенный ковалентно замкнутого *N*-концевого цикла пептид полностью утрачивал активность [68]. Таким образом, на антибактериальные свойства PLB влияет не только наличие цикла в *N*-концевой части молекулы, но и детали его химического строения. Так, карбоциклический аналог лейкоцина А, содержащий вместо дисульфидной связи более прочную ковалентную связь между атомами углерода, отличается от исходного пептида в ~10 раз более высоким значением минимальной ингибирующей концентрации (МИК) [66].

4) *C*-Концевая часть бактериоцинов подкласса IIa характеризуется высокой эволюционной изменчивостью, однако ее присутствие в составе молекулы является обязательным условием сохранения биологической активности. Как показали эксперименты с укороченными аналогами мезэнтерицина Y105, синтетический *C*-концевой фрагмент длиной 23 а.о., включающий в себя всю амфифильную α -спиральную область данного пептида, не обладает собственной антимикробной активностью [67]. Более того, удаление даже одного *C*-концевого остатка (Trp) приводит к росту значений МИК на четыре порядка. Это резко контрастирует со свойствами α -спиральных антимикробных пептидов животных, аминокислотные последовательности

ти которых могут быть укорочены до фрагментов длиной 15–20 а.о. без существенной потери активности в отношении бактерий [69–73]. Важной функциональной особенностью С-концевой части PLB является то, что именно она определяет спектр действия пептида [13], что было продемонстрировано в экспериментах по созданию гибридных молекул путем комбинирования N-концевых и С-концевых частей разных бактериоцинов подкласса Па [74].

Исследование укороченных аналогов педиоцина PA-1 показало, что ни один из 30 химически синтезированных фрагментов, включающих все возможные 15-членные последовательности, содержащиеся в структуре данного пептида (от 1–15 до 30–44), не обладает антимикробной активностью в отношении индикаторного штамма *Lactobacillus sake* NCDO 2714 в концентрации до 100 мкМ включительно [54]. Некоторые из протестированных фрагментов, а именно те из них, которые соответствуют средней и С-концевой части пептида, в концентрации 5 мкМ ингибируют действие полноразмерного педиоцина PA-1 и, в меньшей степени, других PLB – энтероцина А, курвацина А, сакацина Р, лейкоцина А. Значение МИК возрастает в 2–20 раз, причем, наиболее выраженным эффектом обладает фрагмент 20–34. Конкурентное ингибирование действия бактериоцина его С-концевым фрагментом указывает на то, что соответствующая область полноразмерного пептида принимает участие во взаимодействии с рецептором. С этими результатами согласуются данные о том, что N-концевой 15-членный фрагмент энтероцина CRL35 (концентрация в работе не указана) усиливает действие полноразмерного пептида, взятого в концентрации 500 нМ, на *Listeria innocua* 7, тогда как фрагменты из средней и С-концевой областей аналогичной длины ингибируют его [75]. Авторы подчеркивают, что эффект от добавления укороченных фрагментов проявляется в уменьшении значения КОЕ после инкубации с пептидом и изменении трансмембранной разности потенциалов, при этом значения МИК остаются на исходном уровне. Как и в случае с педиоцином PA-1, ни один из протестированных фрагментов не обладает собственной активностью в концентрации до 100 мкМ.

5) Вторая дисульфидная связь, встречающаяся в С-концевой части некоторых PLB, не является необходимым элементом структуры, но наличие такой связи расширяет спектр их активности [76], а также поднимает верхнюю границу температурного диапазона, в котором активность сохраняется [77]. Исследование PLB с одной и двумя дисульфидными связями с помощью КД-спектроскопии и моделирование их структуры мето-

дом молекулярной динамики показало, что вторая дисульфидная связь стабилизирует α -спиральную конформацию и амфифильность данного участка цепи при повышенной температуре [78]. В аминокислотной последовательности природных PLB вместо С-концевой пары цистеинов могут находиться остатки триптофана, которые участвуют в π -стэкинг-взаимодействиях друг с другом и тем самым стабилизируют «шпильку» в этой области молекулы [79].

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ PLB

Первые работы по исследованию действия бактериоцинов класса Па на бактериальные клетки явно указывали на то, что эти вещества относятся к числу мембранотропных агентов, вызывающих образование пор, диссипацию трансмембранного потенциала и истощение запасов АТФ, потерю неорганических ионов, аминокислот и других низкомолекулярных соединений [80–82]. Как и в случае с другими антимикробными пептидами [83], диссипация трансмембранной разности потенциалов может происходить в присутствии сублетальных концентраций бактериоцина [84]. Большинство предпринимавшихся в разное время попыток объяснить антимикробное действие PLB укладываются в рамки одной из трех моделей: 1) формирование трансмембранных пор в результате низкоспецифичного связывания с липидным бислоем; 2) формирование или активация белковых трансмембранных каналов за счет высокоспецифичного лиганд-рецепторного взаимодействия; 3) формирование трансмембранных пор после связывания с белковым рецептором (гибридная модель) [4, 13].

Первоначально считалось, что связывание несущих положительный заряд бактериоцинов Па класса с мембраной осуществляется исключительно за счет электростатического притяжения и не требует наличия специфического рецептора [63, 80, 85, 86]. Было показано, что повышение содержания анионных фосфолипидов в составе мембраны увеличивает аффинность к ней бактериоцина [86]. Согласно данной модели, PLB способны самостоятельно формировать поры в мембране. Между консервативным гидрофильным N-концевым и варибельным С-концевым участками находится «шарнир», обеспечивающий возможность изменения угла между этими двумя частями молекулы [53]. После связывания N-концевого участка с поверхностью мембраны С-концевая часть пептида погружается в гидрофобную область липидного бислоя. Избирательность антимикробного действия оп-

ределяется не наличием специфических молекулярных структур (паттернов) на поверхности мембраны клетки-мишени, а составом ее липидного бислоя, влияющим на эффективность последующего внедрения С-концевого участка молекулы PLB [46, 47]. Популяризации вышеописанной модели способствовала публикация результатов первых экспериментов с педиоцином PA-1 и везикулами, построенными из липидов *L. monocytogenes*, свидетельствовавших о том, что белковый компонент мембраны не играет сколько-нибудь существенной роли в образовании поры [80].

Позже появились данные об отсутствии активности у all-*D* энантиомера лейкоцина А, которые указывали на стереоспецифичную природу его взаимодействия с клеткой-мишенью [55]. Появились свидетельства того, что высокая чувствительность бактерий к PLB, добавляемым в наномолярном диапазоне концентраций, связана с оперонами и генами, кодирующими мембранный рецептор белковой природы. Было установлено, что таким рецептором служит маннозо-фосфотрансферазный комплекс (Man-PTS), осуществляющий фосфорилирование и трансмембранный транспорт ряда углеводов и родственных соединений [87–89]. Гены, отвечающие за синтез Man-PTS, находятся под контролем σ^{54} (RpoN)-зависимых промоторов. Чувствительность к бактериоцинам подкласса IIa обеспечиваются ассоциированные с мембраной субъединицы Man-PTS ЕПС и ЕПД, как было показано в экспериментах по гетерологической экспрессии их генов [90]. Было высказано предположение, что N-концевая часть PLB связывается с внеклеточной петлей субъединицы ЕПС, после чего С-концевой участок взаимодействует с трансмембранным сегментом рецептора, формируя в комплексе с ним трансмембранный канал [56, 78, 91].

Третья из перечисленных выше моделей совмещает отдельные элементы первых двух. В соответствии с ней, связывание PLB с рецептором служит промежуточным этапом перед встраиванием пептидных молекул в липидный бислой, в котором они олигомеризуются и образуют пору. В пользу предположения о том, что Man-PTS служит лишь мишенью для докинга, но не участвует в формировании поры, свидетельствуют эксперименты с гибридными конструкциями, секретлируемыми в периплазму *E. coli* и содержащими периплазматический домен интегрального мембранного белка EtpM, способный закрепляться в цитоплазматической мембране [92]. Синтезируемые гибридные белки содержали последовательность PLB, которая экспонирована на поверхности цитоплазматической мемб-

раны со стороны периплазмы. Известно, что клетки *E. coli* обладают устойчивостью к большинству бактериоцинов грамположительных бактерий вследствие малой проницаемости внешней мембраны [93, 94] и того факта, что комплексы Man-PTS данной бактерии принадлежат к группам II и III, структурно отличающимся от Man-PTS группы I, имеющих у листерий [95]. Тем не менее индукция синтеза описанной выше конструкции приводила к гибели клетки-продуцента. По всей вероятности, иммобилизация пептида на поверхности мембраны путем гибридизации с периплазматическим доменом резко повышает его локальную концентрацию и вероятность встраивания С-концевой части в липидный бислой [92]. Данная модель дает ответ на вопрос, почему бактерии, лишённые Man-PTS группы I, а также липосомы могут становиться мишенями для PLB при добавлении последних в высоких (микромольных) концентрациях. Вместе с тем, о структуре пор, образуемых PLB в мембране, как в присутствии рецептора, так и в его отсутствие, в настоящее время ничего не известно.

Наряду с повышением проницаемости мембраны заслуживает внимания способность PLB затруднять транспорт жизненно важных моносахаридов внутрь клетки. Рост клеток, обладающих иммунитетом к PLB, хотя и не прекращается, но замедляется в присутствии этих веществ, если единственный углевод в составе питательной среды – глюкоза или манноза [90]. Очевидно, что данный эффект является следствием ингибирования нормальной транспортной функции Man-PTS белком иммунитета или самим бактериоцином.

Высокая специфичность взаимодействия PLB с субъединицей ЕПС Man-PTS обуславливает риск быстрого развития резистентности к данному подклассу бактериоцинов. Один из механизмов выработки резистентности, подтвержденный экспериментально, состоит в селекции штаммов, отличающихся пониженным уровнем экспрессии Man-PTS [96, 97]. Однако известны случаи развития резистентности при нормальном или повышенном уровне синтеза данного белкового комплекса [97–100]. Описанные исключения демонстрируют, насколько значительным может быть влияние таких параметров мембраны, как ее липидный состав, вязкость, поверхностный заряд на пептид-липидное взаимодействие и, в конечном счете, на чувствительность клетки к бактериоцину. Изменениями этих параметров, по-видимому, объясняется резистентность к PLB в низких концентрациях, тогда как мутации или пониженный уровень экспрессии Man-PTS обеспечивают резистент-

ность к пептидам и в более высоких концентрациях [98, 100].

Man-PTS КАК РЕЦЕПТОР ДЛЯ PLB

Фосфоенолпируват:углевод-фосфотрансферная система (PTS) – ассоциированный с цитоплазматической мембраной бактерий и архей белковый комплекс, осуществляющий транспорт внутрь клетки и сопряженное с ним фосфорилирование ряда моно- и дисахаридов, их производных и многоатомных спиртов [101–105]. Комплексы и отдельные компоненты PTS обнаружены у большого числа представителей разных типов бактерий, однако распределение структурных вариантов между видами характеризуется высокой степенью неоднородности: наиболее богатыми арсеналами PTS отличаются молочнокислые бактерии и энтеробактерии, в то время как некоторые другие группы бактерий (например, цианобактерии) этой системы полностью лишены [106]. Структура комплекса включает три части: фермент I (EI), гистидинсодержащий переносчик фосфата (HPr) и фермент II (EII). Последний состоит из трех (EIIA, EIIB и EIIC) или четырех (EIIA, EIIB, EIIC, EIID) компонентов, которые могут быть доменами одного белка или отдельными белковыми субъединицами [102]. Белки EI, HPr и субъединицы EIIA и EIIB локализованы в цитоплазме, а субъединицы EIIC и EIID пронизывают мембрану [102]. Именно EII отвечает за субстратную специфичность комплекса и определяет принадлежность PTS к тому или иному семейству.

Выделяют четыре суперсемейства PTS, не обладающих гомологией между собой: 1) Glc-Fru-Lac (переносчики глюкозы, фруктозы, лактозы); 2) Asc-Gat (переносчики аскорбата и галактитола); 3) Man (переносчики маннозы); 4) Dha (переносчики дигидроксиацетона) [107, 108]. Внутри каждого из них наблюдается значительная эволюционная изменчивость структуры и субстратной специфичности. В геноме бактерий одного вида может содержаться множество разных генов EII. У *E. coli* гены, кодирующие общие для разных вариантов PTS компоненты, собраны в оперон *pts*, а гены, отвечающие за субстратную специфичность комплекса, в большинстве своем локализованы в одном опероне с генами, обеспечивающими катаболизм данного субстрата [102].

Основной механизм функционирования PTS состоит в последовательном переносе фосфата от фосфоенолпирувата по цепи, образованной цитоплазматическими компонентами EI, HPr,

EIIA и EIIB, к молекулам субстрата, которые проникают в цитоплазму путем облегченной диффузии с помощью EIC/EIID. Трансмембранный транспорт может осуществляться в обоих направлениях, однако фосфорилирование субстрата, по-видимому, снижает его аффинность к переносчику, что делает процесс необратимым [105]. Ранее предполагалось, что молекула субстрата движется по каналу, сформированному EIC/EIID [102], но недавние исследования кристаллической структуры субъединиц EIC переносчиков диацетилхитобиозы [109] и мальтозы [110, 111] из *Bacillus cereus* и переносчика аскорбиновой кислоты из *E. coli* [112] указывают на то, что PTS, относящиеся к суперсемейству Glc-Fru-Lac, функционируют по принципу «лифта» или «подъемника» («elevator car»): подвижный C-концевой домен EIC образует комплекс с молекулой переносимого вещества на одной стороне мембраны и, сохраняя собственную конформацию, за счет изменения своего положения относительно статичного N-концевого домена перемещается на другую сторону мембраны, где происходит отщепление субстрата [110, 111]. N-концевой домен отвечает за димеризацию EIC [110].

Вторая, не менее важная функция PTS, заключается в регуляции метаболизма [105]. Известно, что PTS участвует в регуляции обмена углеводов, азотсодержащих соединений, фосфатов и координации транспорта ионов калия, а также влияет на процесс хемотаксиса по направлению к питательным субстратам, формирование биопленок и вирулентность ряда патогенных штаммов. PTS играет роль центра, обрабатывающего информацию об энергетическом статусе клетки и наличии питательных субстратов в окружающей среде, а также координирующего процессы катаболизма разных соединений. Фосфатные группы присоединяются с образованием высокоэнергетической связи к остаткам гистидина и реже цистеина компонентов комплекса. Это приводит к тому, что реакции переноса фосфата характеризуются обратимостью (необратимо лишь фосфорилирование субстрата), вследствие чего фосфорилирование или дефосфорилирование любого из компонентов влияет на состояние системы в целом [103]. Этим бактериальные PTS отличаются от большинства эукариотических регуляторных каскадов, где фосфорилирование по остаткам тирозина, серина, треонина сопровождается потерей энергии и лишь изменяет каталитическую активность ферментов, не делая их донорами фосфатной группы [113].

При наличии в окружающей среде субстрата, распознаваемого и транспортируемого PTS,

компоненты EI, HPr, EII по цепочке передают ему свои фосфатные группы, в результате чего доля фосфорилированной формы этих компонентов в клетке падает. Это служит сигналом для перестройки ферментативного аппарата с целью преимущественной утилизации данного источника энергии и подавления иных путей катаболизма. Передача сигнала от компонентов PTS осуществляется путем прямого фосфорилирования или зависящего от фосфорилирования белок-белкового взаимодействия с факторами транскрипции и другими белками (например, с белком CsrA у бактерий рода *Bacillus* [114]).

В противоположной ситуации, когда PTS-субстраты в среде отсутствуют, происходит насыщение системы фосфорилированными компонентами, что служит сигналом к использованию альтернативных источников энергии, например, путем активации аденилатциклазы у энтеробактерий [103].

Комплексы суперсемейства Man-PTS, вопреки закрепившемуся в литературе наименованию, обеспечивают транспорт и фосфорилирование не только маннозы, но также глюкозы и некоторых других углеводов [115]. Углевод-специфичный фермент EII в составе Man-PTS построен из трех или четырех субъединиц: EIIAB + EIIC + EIID или EIIA + EIIB + EIIC + EIID [102]. Это единственный тип PTS, в котором содержится субъединица EIID [107]. Трехмерная структура пермеаз Man-PTS и механизм их функционирования не исследованы. Гены белков данного семейства обнаруживаются преимущественно у представителей двух эволюционно отдаленных друг от друга типов бактерий: грамположительных Firmicutes и грамотрицательных Proteobacteria [95]. Такая картина распределения генов могла сформироваться вследствие их горизонтального переноса [115]. Общим свойством большинства носителей генов *Man-PTS* является их способность в качестве симбионтов заселять поверхность эпителия животных и человека. В некоторых случаях гены *Man-PTS* соседствуют с генами секретируемых бактериями ферментов, обеспечивающих расщепление полисахаридов. Сравнительный анализ первичных структур более чем 80 пар белков EIIC и EIID системы Man-PTS показал, что филогенетические деревья двух семейств белков полностью повторяют друг друга. При этом белки разных семейств из одного вида бактерии занимают одинаковое положение в соответствующем дереве, что служит свидетельством параллельной эволюции EIIC и EIID [95]. В каждом из двух деревьев можно выделить три обособленные ветви, что позволяет разделить все семейство Man-PTS на три группы. Было показа-

но, что рецепторами для PLB служат лишь белки, составляющие группу I. Внутри группы аффинность к бактериоцинам и соответствующие значения МИК значительно варьируют: 1) наиболее высокой чувствительностью обладают представители родов *Enterococcus*, *Listeria*, *Carnobacterium* (низкие значения МИК); 2) средняя чувствительность характерна для видов, относящихся к *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Clostridium*; 3) низкой чувствительностью отличаются штаммы *Streptococcus* и *Leuconostoc* (очень высокие значения МИК) [95, 116, 117]. Интересно отметить, что у бактерий, способных продуцировать бактериоцины подкласса IIa, обнаруживаются белки Man-PTS именно I группы – факт, биологическое значение которого еще предстоит выяснить [95].

При сравнении аминокислотных последовательностей белков EIIC и EIID, представляющих разные ветви филогенетического дерева, были выявлены три области, отличающие группу I от двух других групп: 1) « α -область» в N-концевой части EIIC; 2) « β -область» в C-концевой части EIIC; 3) « γ -область» в структуре EIID [95]. В составе функционально активного комплекса эти области, предположительно, экспонированы на внешней стороне мембраны бактерии.

Интересен тот факт, что пермеазы EIIC/EIID служат мишенью не только для PLB, но и для бактериоцинов других классов, например, лактококцина А (класс IIc) и микроцина E492 (класс IIe), а также «входными воротами» для некоторых бактериофагов [91, 102, 118].

ИММУНИТЕТ БАКТЕРИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ

Защита вырабатывающих бактериоцины штаммов от летального действия продуктов собственного синтеза осуществляется путем коэкспрессии генов иммунитета, локализованных в тех же оперонах, кодирующих небольшие цитозольные белки размером 90–120 а.о. [90, 119, 120]. Основу пространственной структуры данных белков составляют четыре антипараллельных α -спиральных участка. Многообразие белков, обеспечивающих самозащиту продуцента, соответствует структурному разнообразию самих PLB. Активность белков иммунитета характеризуется специфичностью как по отношению к PLB, так и по отношению к мембранному рецептору. Исследование ингибирующей активности гибридных иммунных белков, полученных путем присоединения различных C-концевых участков к одному и тому же N-концевому фрагменту, в отношении природных [121] и гибридных [53]

PLB, а также изучение пространственной структуры иммунных белков [122, 123] показало, что именно С-концевая последовательность отвечает за специфическое распознавание молекулы бактериоцина. На основании этого был сделан вывод о том, что С-концевая часть иммунного белка самостоятельно или в комплексе с рецептором взаимодействует с С-концевой (вариативной, определяющей антимикробный спектр) частью PLB. Формирование тройного комплекса «рецептор—PLB—белок иммунитета» было впоследствии подтверждено экспериментально [90]. Комплекс образуется лишь в том случае, если пептид атакует бактериальную мембрану с внешней стороны.

В одной из недавних работ были опубликованы данные о проведении гетерологической экспрессии рецепторов Man-PTS ЕП из четырех разных видов бактерий, чувствительных к педиоцину PA-1, в штамме *Lactobacillus plantarum* W903, мутантном по Man-PTS ЕП и устойчивом к действию данного пептида [124]. Каждый из полученных штаммов приобретал чувствительность к PA-1, однако только один из них (штамм, экспрессирующий ЕП из *Lactobacillus plantarum* WQ081) становился устойчивым к PA-1 при одновременной экспрессии гена иммунитета *pedB*. На следующем этапе в этой же системе была проведена экспрессия шести гибридных вариантов рецептора, полученных путем комбинации субъединиц ЕПС или ЕПД из Man-PTS *Lactobacillus plantarum* WQ081 (рецептора, взаимодействующего с иммунным белком PedB) с дополняющими их субъединицами ЕПД или ЕПС из трех других видов бактерий, рецепторы которых не способны взаимодействовать с PedB. Гибридные рецепторы успешно выполняли функцию мишени для педиоцина PA-1, однако ни в одном из шести случаев коэкспрессия PedB не обеспечивала защиты от антибактериального действия пептида. Таким образом, был сделан вывод о том, что во взаимодействии комплекса Man-PTS и педиоцина с белком иммунитета участвуют обе субъединицы рецептора.

Несмотря на то что попытки воспроизвести образование комплекса белка иммунитета с молекулой PLB без участия Man-PTS в экспериментах *in vitro* не привели к желаемому результату, косвенные данные указывают на то, что такое взаимодействие в принципе возможно [85, 125, 126]. Вероятным условием для прямого связывания является упорядоченная конформация молекулы бактериоцина, которую пептид приобретает лишь после встраивания в липидный бислой [44]. В пользу этой гипотезы свидетельствуют результаты уже упоминавшегося эксперимента по экспрессии летального для бактерии-продуцен-

та гибридного белка EtpM-Ent35 [92]. В данной работе коэкспрессия гена иммунитета (*munC*) к энтероцину CRL35 обеспечивала выживание бактериальных клеток. Как отмечалось выше, в описанной экспериментальной модели отсутствует специфический рецептор, из чего следует, что белок MunC блокирует пору, напрямую взаимодействуя с молекулами бактериоцина. В отличие от бактериоцина, иммобилизованного на внешней стороне мембраны, белок иммунитета накапливается в цитоплазме и не способен к самостоятельной транслокации. Следовательно, для проявления его ингибирующей активности пора уже должна быть сформирована. Нетрудно заметить, что эти результаты противоречат фактам, полученным на других модельных объектах и свидетельствующим о важности участия субъединиц рецептора в связывании белка иммунитета. Таким образом, вопрос о роли рецептора в механизме инактивации бактериоцина в настоящее время остается открытым.

РАЗРАБОТКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ ЦЕННЫХ АНАЛОГОВ PLB

Изучение PLB дает в руки исследователей новую перспективную модель для создания антибиотиков узкого спектра действия. В литературе описаны попытки изменения структуры PLB с целью повышения антимикробной активности, расширения спектра действия, повышения устойчивости в биологических средах. В отличие от многих других антимикробных пептидов, PLB не проявляют активности в отношении клеток млекопитающих — этим объясняется отсутствие публикаций, посвященных разработке аналогов бактериоцинов данного подкласса с пониженной токсичностью, а также противоопухолевых средств на их основе [1]. Хотя тестирование педиоцина PA-1 на культурах клеток обезьяны и человека показало, что этот пептид в концентрации 10–20 мкг/мл, многократно превышающей антибактериальные МИК, обладает определенными токсическими свойствами [127], другие PLB (в частности, карнобактериоцины VM1 и B2 [128]), не проявляют даже такого уровня цитотоксичности. Высокая специфичность действия природных пептидов, являющаяся результатом длительной биологической эволюции, практически исключает возможность добиться существенного повышения активности в отношении тех штаммов, для которых значения МИК находятся в низком наномолярном и пиколярном диапазоне. Большинство попыток точечного мутагенеза приводят к снижению активности [59, 60, 129]. Тем не менее с помощью

насыщающего NNK-мутагенеза отдельных участков аминокислотной последовательности были получены мутанты энтероцина А, обладающие повышенной активностью в отношении ванкомицин-резистентных энтерококков [32]. Некоторые успехи были достигнуты за счет повышения положительного заряда пептида [130]. Но, по-видимому, более эффективным подходом к получению привлекательных в прикладном аспекте PLB является одновременная замена сразу нескольких аминокислотных остатков. Примером подобных исследований служат работы по гибридизации структуры педиоцина PA-1 с другими PLB методом ДНК-шаффлинга [131]. Гибридизация PLB с антимикробными пептидами других классов позволяет создавать новые молекулы с измененной видоспецифичностью действия. Так, гибридный полипептид, состоящий из полноразмерных цепей PLB энтероцина (*N*-концевая часть гибрида) и бактериоцина MscV, относящегося к подклассу II_d, сочетает способность исходных молекул ингибировать рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [132].

Важным направлением исследований является получение аналогов PLB, более стабильных в желудочно-кишечном тракте и во внутренней среде организма [14]. Общепринятые подходы, такие как модификация сайтов расщепления трипсином, введение неканонических а.о. и *D*-изомеров аминокислот, ограниченно применимы при работе с бактериоцинами подкласса II_a вследствие их высокой чувствительности к любым изменениям структуры. Стереоспецифический характер взаимодействия с мембранным рецептором обуславливает отсутствие активности *D*-энантиомеров [55]. Устойчивость PLB может быть повышена путем введения дополнительной ковалентной связи или остатков, стабилизирующих шпильку в *C*-концевой области молекулы посредством нековалентных взаимодействий [77–79].

Падение антимикробной активности может быть связано не только с протеолитическим расщеплением PLB, но и с окислением входящих в их состав остатков метионина под действием кислорода воздуха. Так, окислению подвержен M31 в структуре педиоцина PA-1 [133]. Мутации M31A, M31L, M31I делают пептид устойчивым к окислению ценой лишь незначительной потери активности. Кроме того, 4–8-кратное возрастание МИК наблюдается и при окислении карно-бактериоцина VM1 [134]. В этом случае стабильный аналог был получен путем замены остатка метионина на валин [135].

За годы исследований PLB было предложено несколько гипотез, описывающих механизмы, с

помощью которых эти пептиды могут проявлять свой антимикробный эффект, а также предпринят ряд попыток объяснить иммунитет к ним со стороны бактерий-продуцентов. В настоящее время можно считать неоспоримой роль Man-PTS как рецептора, обуславливающего чувствительность к PLB. Тем не менее липидный состав мембраны также вносит значительный вклад в эффективность порообразования на поздних стадиях этого процесса. Известно, что в высоких (микромольных) концентрациях PLB способны вести себя как классические мембранолитические антимикробные пептиды широкого спектра действия, что заставляет с осторожностью подходить к анализу литературных данных, касающихся видоспецифичности бактериоцинов этого класса. Нейтрализация токсичности PLB белками иммунитета происходит, по-видимому, лишь в гидрофобном окружении после внедрения молекул пептида в липидный бислой; при этом роль рецептора в механизме нейтрализации остается под вопросом.

PLB ингибируют рост ряда важных микроорганизмов, вызывающих заболевания человека и животных. Наиболее перспективным прикладным направлением в исследованиях PLB является разработка антимикробных агентов для борьбы с листериозами и инфекциями, вызываемыми резистентными штаммами энтерококков. Преимущество этих соединений, по сравнению с обычными антибиотиками, состоит в том, что они в минимальной степени затрагивают жизнедеятельность нормальной микрофлоры [27, 136, 137]. Молекулы PLB, построенные из протеиногенных *L*-аминокислот, легко расщепляются в организме, не давая токсичных и аккумулирующихся метаболитов [136]. При этом период их полужизни в желудочно-кишечном тракте достаточен для достижения антимикробного эффекта.

Число публикаций, посвященных исследованиям эффективности антибиотического действия PLB на моделях *in vivo*, в настоящее время невелико. В частности, на модели листериоза у мышей показано, что пероральное введение педиоцина PA-1 подавляет развитие патогена в желудочно-кишечном тракте и замедляет его транслокацию в печень и селезенку [27]. Сходные данные на аналогичной модели были получены для энтероцина CRL35 [138]. Заслуживают внимания данные по активности включенного в липосомы бактериоцина E50–52, ингибирующего внутримикрофагальный рост *Mycobacterium tuberculosis* и продлевающего срок жизни мышей на модели острого туберкулеза [139]. Полученные результаты вселяют надежду на то, что исследования в данной области увенчаются созда-

нием препаратов, способных занять свою уникальную нишу среди используемых в клинике антимикробных средств.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 19-14-00326).

Вклад авторов. С.В. Баландин участвовал в сборе и анализе литературных данных, осуществил планирование и написание первой версии рукописи; Э.В. Шереметьева участвовала в сборе и анализе литературных данных; Т.В. Овчин-

никова сформировала концепцию исследования, обеспечила его координацию и финансирование, проанализировала собранные литературные данные и подготовила рукопись к публикации. Все авторы утвердили окончательную версию обзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cotter, P.D., Ross, R.P., and Hill, C. (2013) Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, 95–105, doi: 10.1038/nrmicro2937.
- Kemperman, R., Kuipers, A., Karsens, H., Nauta, A., Kuipers, O., and Kok, J. (2003) Identification and characterization of two novel clostridial bacteriocins, circularin A and closticin 574, *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 1589–1597, doi: 10.1128/AEM.69.3.1589-1597.2003.
- Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Pereygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Borzenkov, V.N., Levchuk, V.P., Svetoch, O.E., Kovalev, Y.N., Stepanshin, Y.G., Siragusa, G.R., Seal, B.S., and Stern, N.J. (2008) Diverse antimicrobial killing by *Enterococcus faecium* E 50–52 bacteriocin, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 1942–1948, doi: 10.1021/jf073284g.
- Cotter, P.D., Hill, C., and Ross, R.P. (2005) Bacteriocins: developing innate immunity for food, *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 777–788, doi: 10.1038/nrmicro1273.
- Svetoch, E.A., and Stern, N.J. (2010) Bacteriocins to control *Campylobacter* spp. in poultry – a review, *Poult. Sci.*, **89**, 1763–1768, doi: 10.3382/ps.2010-00659.
- Desriac, F., Defer, D., Bourgougnon, N., Brillet, B., Le Chevalier, P., and Fleury, Y. (2010) Bacteriocin as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: inventory and potential applications as an aquaculture probiotic, *Mar. Drugs*, **8**, 1153–1177, doi: 10.3390/md8041153.
- Gharsallaoui, A., Oulahal, N., Joly, C., and Degraeve, P. (2016) Nisin as a food preservative: part 1: physicochemical properties, antimicrobial activity, and main uses, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **56**, 1262–1274, doi: 10.1080/10408398.2013.763765.
- Shin, J.M., Gwak, J.W., Kamarajan, P., Fenno, J.C., Rickard, A.H., and Kapila, Y.L. (2016) Biomedical applications of nisin, *J. Appl. Microbiol.*, **120**, 1449–1465, doi: 10.1111/jam.13033.
- Panteleev, P.V., Balandin, S.V., Ivanov, V.T., and Ovchinnikova, T.V. (2017) A therapeutic potential of animal β -hairpin antimicrobial peptides, *Curr. Med. Chem.*, **24**, 1724–1746, doi: 10.2174/0929867324666170424124416.
- Maxson, T., and Mitchell, D.A. (2016) Targeted treatment for bacterial infections: prospects for pathogen-specific antibiotics coupled with rapid diagnostics, *Tetrahedron*, **72**, 3609–3624, doi: 10.1016/j.tet.2015.09.069.
- Melander, R.J., Zurawski, D.V., and Melander, C. (2018) Narrow-spectrum antibacterial agents, *Medchemcomm*, **9**, 12–21, doi: 10.1039/c7md00528h.
- Klaenhammer, T.R. (1993) Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 39–85, doi: 10.1111/j.1574-6976.1993.tb00012.x.
- Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L.M., and Prevost, H. (2006) The continuing story of class IIa bacteriocins, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **70**, 564–582, doi: 10.1128/MMBR.00016-05.
- Papagianni, M., and Anastasiadou, S. (2009) Pediocins: the bacteriocins of pediococci. sources, production, properties and applications, *Microb. Cell Fact.*, **8**, 3, doi: 10.1186/1475-2859-8-3.
- Rios Colombo, N.S., Chalon, M.C., Navarro, S.A., and Bellomio, A. (2018) Pediocin-like bacteriocins: new perspectives on mechanism of action and immunity, *Curr. Genet.*, **64**, 345–351, doi: 10.1007/s00294-017-0757-9.
- Bhunja, A.K., Johnson, M.C., and Ray, B. (1988) Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*, *J. Appl. Bacteriol.*, **65**, 261–268, doi: 10.1111/j.1365-2672.1988.tb01893.x.
- Hastings, J.W., Sailer, M., Johnson, K., Roy, K.L., Vederas, J.C., and Stiles, M.E. (1991) Characterization of leucocin A-UAL 187 and cloning of the bacteriocin gene from *Leuconostoc gelidum*, *J. Bacteriol.*, **173**, 7491–7500, doi: 10.1128/jb.173.23.7491-7500.1991.
- Motlagh, A.M., Bhunia, A.K., Szostek, F., Hansen, T.R., Johnson, M.C., and Ray, B. (1992) Nucleotide and amino acid sequence of pap-gene (pediocin AcH production) in *Pediococcus acidilactici* H, *Lett. Appl. Microbiol.*, **15**, 45–48, doi: 10.1111/j.1472-765x.1992.tb00721.x.
- Henderson, J.T., Chopko, A.L., and van Wassenaar, P.D. (1992) Purification and primary structure of pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC-1.0, *Arch. Biochem. Biophys.*, **295**, 5–12, doi: 10.1016/0003-9861(92)90480-k.
- Cui, Y., Zhang, C., Wang, Y., Shi, J., Zhang, L., Ding, Z., Qu, X., and Cui, H. (2012) Class IIa bacteriocins: diversity and new developments, *Int. J. Mol. Sci.*, **13**, 16668–16707, doi: 10.3390/ijms131216668.
- Yildirim, Z., and Johnson, M.G. (1998) Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454, *J. Food Prot.*, **61**, 47–51, doi: 10.4315/0362-028x-61.1.47.
- Cheikhoussef, A., Cheikhoussef, N., Chen, H., Zhao, J., Tang, J., Zhang, H., and Chen, W. (2010) Bifidin I – A new bacteriocin produced by *Bifidobacterium infantis* BCRC 14602: purification and partial amino acid sequence, *Food Control*, **21**, 746–753, doi: 10.1016/j.foodcont.2009.11.003.
- Le Marrec, C., Hyronimus, B., Bressollier, P., Verneuil, B., and Urdaci, M.C. (2000) Biochemical and genetic characterization of coagulatin, a new antilisterial bacteriocin in the

- pediocin family of bacteriocins, produced by *Bacillus coagulans* 1(4), *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 5213–5220, doi: 10.1128/aem.66.12.5213-5220.2000.
24. Kalmokoff, M.L., Banerjee, S.K., Cyr, T., Hefford, M.A., and Gleeson, T. (2001) Identification of a new plasmid-encoded sec-dependent bacteriocin produced by *Listeria innocua* 743, *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 4041–4047, doi: 10.1128/aem.67.9.4041-4047.2001.
 25. Zheng, J., Ganzle, M.G., Lin, X.B., Ruan, L., and Sun, M. (2015) Diversity and dynamics of bacteriocins from human microbiome, *Environ. Microbiol.*, **17**, 2133–2143, doi: 10.1111/1462-2920.12662.
 26. Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., and Chikindas, M.L. (2001) Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation, *Int. J. Food Microbiol.*, **71**, 1–20, doi: 10.1016/s0168-1605(01)00560-8.
 27. Dabour, N., Zihler, A., Kheadr, E., Lacroix, C., and Fliss, I. (2009) In vivo study on the effectiveness of pediocin PA-1 and *Pediococcus acidilactici* UL5 at inhibiting *Listeria monocytogenes*, *Int. J. Food Microbiol.*, **133**, 225–233, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.005.
 28. Charpentier, E., and Courvalin, P. (1999) Antibiotic resistance in *Listeria* spp., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 2103–2108, doi: 10.1128/aac.43.9.2103.
 29. Bertsch, D., Mueller, M., Weller, M., Uruty, A., Lacroix, C., and Meile, L. (2014) Antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance gene transfer analysis of foodborne, clinical, and environmental *Listeria* spp. isolates including *Listeria monocytogenes*, *Microbiologyopen*, **3**, 118–127, doi: 10.1002/mbo3.155.
 30. Cintas, L.M., Casaus, P., Fernandez, M.F., and Hernandez, P.E. (1998) Comparative antimicrobial activity of enterocin L50, pediocin PA-1, nisin A and lactocin S against spoilage and foodborne pathogenic bacteria, *Food Microbiol.*, **15**, 289–298, doi: 10.1006/fmic.1997.0160.
 31. Millette, M., Cornut, G., Dupont, C., Shareck, F., Archambault, D., and Lacroix, M. (2008) Capacity of human nisin- and pediocin-producing lactic acid bacteria to reduce intestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci, *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 1997–2003, doi: 10.1128/aem.02150-07.
 32. McClintock, M.K., Kaznessis, Y.N., and Hackel, B.J. (2016) Enterocin A mutants identified by saturation mutagenesis enhance potency towards vancomycin-resistant enterococci, *Biotechnol. Bioeng.*, **113**, 414–423, doi: 10.1002/bit.25710.
 33. Jimenez, J.J., Borrero, J., Gutiez, L., Arbulu, S., Herranz, C., Cintas, L.M., and Hernandez, P.E. (2014) Use of synthetic genes for cloning, production and functional expression of the bacteriocins enterocin A and bacteriocin E 50–52 by *Pichia pastoris* and *Kluyveromyces lactis*, *Mol. Biotechnol.*, **56**, 571–583, doi: 10.1007/s12033-014-9731-7.
 34. Arbulu, S., Jimenez, J.J., Gutiez, L., Cintas, L.M., Herranz, C., and Hernandez, P.E. (2015) Cloning and expression of synthetic genes encoding the broad antimicrobial spectrum bacteriocins SRCAM 602, OR-7, E-760, and L-1077, by recombinant *Pichia pastoris*, *Biomed. Res. Int.*, 767183, doi: 10.1155/2015/767183.
 35. Wachsman, M.B., Castilla, V., de Ruiz Holgado, A.P., de Torres, R.A., Sesma, F., and Coto, C.E. (2003) Enterocin CRL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication *in vitro*, *Antiviral Res.*, **58**, 17–24, doi: 10.1016/s0166-3542(02)00099-2.
 36. Todorov, S.D., Wachsman, M., Tome, E., Dousset, X., Destro, M.T., Dicks, L.M.T., Franco, B.D.G., de M., Vaz-Velho, M., and Drider, D. (2010) Characterisation of an antiviral pediocin-like bacteriocin produced by *Enterococcus faecium*, *Food Microbiol.*, **27**, 869–879, doi: 10.1016/j.fm.2010.05.001.
 37. Lohans, C.T., and Vederas, J.C. (2012) Development of class IIa bacteriocins as therapeutic agents, *Int. J. Microbiol.*, 386410, doi: 10.1155/2012/386410.
 38. Corr, S.C., Li, Y., Riedel, C.U., O'Toole, P.W., Hill, C., and Gahan, C.G.M. (2007) Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 7617–7621, doi: 10.1073/pnas.0700440104.
 39. Dobson, A., Cotter, P.D., Ross, R.P., and Hill, C. (2012) Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**, 1–6, doi: 10.1128/aem.05576-11.
 40. O'Shea, E.F., Cotter, P.D., Stanton, C., Ross, R.P., and Hill, C. (2012) Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid, *Int. J. Food Microbiol.*, **152**, 189–205, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.025.
 41. Nissen-Meyer, J., Rogne, P., Oppegard, C., Haugen, H.S., and Kristiansen, P.E. (2009) Structure-function relationships of the non-lanthionine-containing peptide (class II) bacteriocins produced by gram-positive bacteria, *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **10**, 19–37, doi: 10.2174/1389201097-87048661.
 42. Zouhir, A., Hammami, R., Fliss, I., and Hamida, J.B. (2010) A new structure-based classification of gram-positive bacteriocins, *Protein J.*, **29**, 432–439, doi: 10.1007/s10930-010-9270-4.
 43. Casaus, P., Nilsen, T., Cintas, L.M., Nes, I.F., Hernandez, P.E., and Holo, H. (1997) Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* T136 which can act synergistically with enterocin A, *Microbiology*, **143**, 2287–2294, doi: 10.1099/00221287-143-7-2287.
 44. Fregeau Gallagher, N.L., Sailer, M., Niemczura, W.P., Nakashima, T.T., Stiles, M.E., and Vederas, J.C. (1997) Three-dimensional structure of leucocin A in trifluoroethanol and dodecylphosphocholine micelles: spatial location of residues critical for biological activity in type IIa bacteriocins from lactic acid bacteria, *Biochemistry*, **36**, 15062–15072, doi: 10.1021/bi971263h.
 45. Wang, Y., Henz, M.E., Gallagher, N.L., Chai, S., Gibbs, A.C., Yan, L.Z., Stiles, M.E., Wishart, D.S., and Vederas, J.C. (1999) Solution structure of carnobacteriocin B2 and implications for structure-activity relationships among type IIa bacteriocins from lactic acid bacteria, *Biochemistry*, **38**, 15438–15447, doi: 10.1021/bi991351x.
 46. Uteng, M., Hauge, H.H., Markwick, P.R.L., Fimland, G., Mantzilas, D., Nissen-Meyer, J., and Muhle-Goll, C. (2003) Three-dimensional structure in lipid micelles of the pediocin-like antimicrobial peptide sakacin P and a sakacin P variant that is structurally stabilized by an inserted C-terminal disulfide bridge, *Biochemistry*, **42**, 11417–11426, doi: 10.1021/bi034572i.
 47. Haugen, H.S., Fimland, G., Nissen-Meyer, J., and Kristiansen, P.E. (2005) Three-dimensional structure in lipid micelles of the pediocin-like antimicrobial peptide curvacin A, *Biochemistry*, **44**, 16149–16157, doi: 10.1021/bi051215u.
 48. Arbulu, S., Lohans, C.T., van Belkum, M.J., Cintas, L.M., Herranz, C., Vederas, J.C., and Hernandez, P.E. (2015) Solution structure of enterocin HF, an antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* M3K31, *J. Agric. Food Chem.*, **63**, 10689–10695, doi: 10.2210/pdb2n4k/pdb.
 49. Sit, C.S., Lohans, C.T., van Belkum, M.J., Campbell, C.D., Miskolzie, M., and Vederas, J.C. (2012) Substitution of a conserved disulfide in the type IIA bacteriocin, leucocin A, with L-leucine and L-serine residues: effects on activity and three-dimensional structure, *Chembiochem*, **13**, 35–38, doi: 10.1002/cbic.201100634.

50. Bedard, F., Hammami, R., Zirah, S., Rebuffat, S., Fliss, I., and Biron, E. (2018) Synthesis, antimicrobial activity and conformational analysis of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1 and analogs thereof, *Sci. Rep.*, **8**, 9029, doi.org/10.1038/s41598-018-27225-3.
51. Fimland, G., Pirneskoski, J., Kaewsrichan, J., Jutila, A., Kristiansen, P.E., Kinnunen, P.K.J., and Nissen-Meyer, J. (2006) Mutational analysis and membrane-interactions of the beta-sheet-like N-terminal domain of the pediocin-like antimicrobial peptide sakacin P, *Biochim. Biophys. Acta*, **1764**, 1132–1140, doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.04.007.
52. Haugen, H.S., Kristiansen, P.E., Fimland, G., and Nissen-Meyer, J. (2008) Mutational analysis of the class IIa bacteriocin curvacin A and its orientation in target cell membranes, *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 6766–6773, doi.org/10.1128/aem.01068-08.
53. Johnsen, L., Fimland, G., and Nissen-Meyer, J. (2005) The C-terminal domain of pediocin-like antimicrobial peptides (class IIa bacteriocins) is involved in specific recognition of the C-terminal part of cognate immunity proteins and in determining the antimicrobial spectrum, *J. Biol. Chem.*, **280**, 9243–9250, doi: 10.1074/jbc.m412712200.
54. Fimland, G., Jack, R., Jung, G., Nes, I.F., and Nissen-Meyer, J. (1998) The bactericidal activity of pediocin PA-1 is specifically inhibited by a 15-mer fragment that spans the bacteriocin from the center toward the C-terminus, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 5057–5060.
55. Yan, L.Z., Gibbs, A.C., Stiles, M.E., Wishart, D.S., and Vederas, J.C. (2000) Analogues of bacteriocins: antimicrobial specificity and interactions of leucocin A with its enantiomer, carnobacteriocin B2, and truncated derivatives, *J. Med. Chem.*, **43**, 4579–4581, doi: 10.1021/jm000416n.
56. Haugen, H.S., Fimland, G., and Nissen-Meyer, J. (2011) Mutational analysis of residues in the helical region of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1, *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 1966–1972, doi: 10.1128/aem.02488-10.
57. Oppgaard, C., Fimland, G., Anonsen, J.H., and Nissen-Meyer, J. (2015) The pediocin PA-1 accessory protein ensures correct disulfide bond formation in the antimicrobial peptide pediocin PA-1, *Biochemistry*, **54**, 2967–2974, doi: 10.1021/acs.biochem.5b00164.
58. Quadri, L.E., Yan, L.Z., Stiles, M.E., and Vederas, J.C. (1997) Effect of amino acid substitutions on the activity of carnobacteriocin B2. Overproduction of the antimicrobial peptide, its engineered variants, and its precursor in *Escherichia coli*, *J. Biol. Chem.*, **272**, 3384–3388, doi: 10.1074/jbc.272.6.3384.
59. Miller, K.W., Schamber, R., Osmanagaoglu, O., and Ray, B. (1998) Isolation and characterization of pediocin AcH chimeric protein mutants with altered bactericidal activity, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1997–2005.
60. Tominaga, T., and Hatakeyama, Y. (2006) Determination of essential and variable residues in pediocin PA-1 by NNK scanning, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 1141–1147, doi: 10.1128/aem.72.2.1141-1147.2006.
61. Kanatani, K., Oshimura, M., and Sano, K. (1995) Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 1061–1067.
62. Stern, N.J., Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Perelygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Pokhilenko, V.D., Levchuk, V.P., Svetoch, O.E., and Seal, B.S. (2006) Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50**, 3111–3116, doi: 10.1128/aac.00259-06.
63. Chen, Y., Ludescher, R.D., and Montville, T.J. (1997) Electrostatic interactions, but not the YGNGV consensus motif, govern the binding of pediocin PA-1 and its fragments to phospholipid vesicles, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 4770–4777.
64. Kazazic, M., Nissen-Meyer, J., and Fimland, G. (2002) Mutational analysis of the role of charged residues in target-cell binding, potency and specificity of the pediocin-like bacteriocin sakacin P, *Microbiology*, **148**, 2019–2027, doi: 10.1099/00221287-148-7-2019.
65. Simon, L., Fremaux, C., Cenatiempo, Y., and Berjeaud, J.M. (2002) Sakacin G, a new type of antilisterial bacteriocin, *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 6416–6420, doi: 10.1128/aem.68.12.6416-6420.2002.
66. Derksen, D.J., Stymiest, J.L., and Vederas, J.C. (2006) Antimicrobial leucocin analogues with a disulfide bridge replaced by a carbocycle or by noncovalent interactions of allyl glycine residues, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 14252–14253, doi: 10.1021/ja066203q.
67. Fleury, Y., Dayem, M.A., Montagne, J.J., Chaboisseau, E., Le Caer, J.P., Nicolas, P., and Delfour, A. (1996) Covalent structure, synthesis, and structure-function studies of mesentericin Y 105(37), a defensive peptide from gram-positive bacteria *Leuconostoc mesenteroides*, *J. Biol. Chem.*, **271**, 14421–14429, doi: 10.1074/jbc.271.24.14421.
68. Derksen, D.J., Boudreau, M.A., and Vederas, J.C. (2008) Hydrophobic interactions as substitutes for a conserved disulfide linkage in the type IIa bacteriocins, leucocin A and pediocin PA-1, *Chembiochem*, **9**, 1898–1901, doi: 10.1002/cbic.200800272.
69. Mor, A., and Nicolas, P. (1994) The NH₂-terminal alpha-helical domain 1–18 of dermaseptin is responsible for antimicrobial activity, *J. Biol. Chem.*, **269**, 1934–1939.
70. Skerlavaj, B., Gennaro, R., Bagella, L., Merluzzi, L., Risso, A., and Zanetti, M. (1996) Biological characterization of two novel cathelicidin-derived peptides and identification of structural requirements for their antimicrobial and cell lytic activities, *J. Biol. Chem.*, **271**, 28375–28381, doi: 10.1074/jbc.271.45.28375.
71. Shin, S.Y., Park, E.J., Yang, S.T., Jung, H.J., Eom, S.H., Song, W.K., Kim, Y., Hahm, K.S., and Kim, J.I. (2001) Structure-activity analysis of SMAP-29, a sheep leukocytes-derived antimicrobial peptide, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **285**, 1046–1051, doi: 10.1006/bbrc.2001.5280.
72. Xiao, Y., Dai, H., Bommineni, Y.R., Soulages, J.L., Gong, Y.-X., Prakash, O., and Zhang, G. (2006) Structure-activity relationships of fowlicidin-1, a cathelicidin antimicrobial peptide in chicken, *FEBS J.*, **273**, 2581–2593, doi: 10.1111/j.1742-4658.2006.05261.x.
73. Zhang, Y., Zhao, H., Yu, G.-Y., Liu, X.-D., Shen, J.-H., Lee, W.-H., and Zhang, Y. (2010) Structure-function relationship of king cobra cathelicidin, *Peptides*, **31**, 1488–1493, doi: 10.1016/j.peptides.2010.05.005.
74. Fimland, G., Blingsmo, O.R., Sletten, K., Jung, G., Nes, I.F., and Nissen-Meyer, J. (1996) New biologically active hybrid bacteriocins constructed by combining regions from various pediocin-like bacteriocins: C-terminal region is important for determining specificity, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 3313–3318.
75. Saavedra, L., Minahk, C., de Ruiz Holgado, A.P., and Sesma, F. (2004) Enhancement of the enterocin CRL35 activity by a synthetic peptide derived from the NH₂-terminal sequence, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**, 2778–2781, doi: 10.1128/aac.48.7.2778-2781.2004.
76. Richard, C., Canon, R., Naghmouchi, K., Bertrand, D., Prevost, H., and Drider, D. (2006) Evidence on correlation between number of disulfide bridge and toxicity of class IIa bacteriocins, *Food Microbiol.*, **23**, 175–183, doi: 10.1016/j.fm.2005.02.001.
77. Fimland, G., Johnsen, L., Axelsson, L., Brurberg, M.B., Nes, I.F., Eijsink, V.G., and Nissen-Meyer, J. (2000) A C-ter-

- minal disulfide bridge in pediocin-like bacteriocins renders bacteriocin activity less temperature dependent and is a major determinant of the antimicrobial spectrum, *J. Bacteriol.*, **182**, 2643–2648, doi: 10.1128/jb.182.9.2643-2648.2000.
78. Kaur, K., Andrew, L.C., Wishart, D.S., and Vederas, J.C. (2004) Dynamic relationships among type IIa bacteriocins: temperature effects on antimicrobial activity and on structure of the C-terminal amphipathic alpha helix as a receptor-binding region, *Biochemistry*, **43**, 9009–9020, doi: 10.1021/bi036018e.
 79. Fimland, G., Eijsink, V.G.H., and Nissen-Meyer, J. (2002) Mutational analysis of the role of tryptophan residues in an antimicrobial peptide, *Biochemistry*, **41**, 9508–9515, doi: 10.1021/bi025856q.
 80. Chikindas, M.L., Garcia-Garcera, M.J., Driessen, A.J., Ledebroer, A.M., Nissen-Meyer, J., Nes, I.F., Abee, T., Konings, W.N., and Venema, G. (1993) Pediocin PA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.0, forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 3577–3584.
 81. Bruno, M.E., and Montville, T.J. (1993) Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 3003–3010.
 82. Minahk, C.J., Farias, M.E., Sesma, F., and Morero, R.D. (2000) Effect of enterocin CRL35 on *Listeria monocytogenes* cell membrane, *FEMS Microbiol. Lett.*, **192**, 79–83, doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09362.x.
 83. Wu, M., Maier, E., Benz, R., and Hancock, R.E. (1999) Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*, *Biochemistry*, **38**, 7235–7242, doi: 10.1021/bi9826299.
 84. Minahk, C.J., Dupuy, F., and Morero, R.D. (2004) Enhancement of antibiotic activity by sub-lethal concentrations of enterocin CRL35, *J. Antimicrob. Chemother.*, **53**, 240–246, doi: 10.1093/jac/dkh079.
 85. Venema, K., Kok, J., Marugg, J.D., Toonen, M.Y., Ledebroer, A.M., Venema, G., and Chikindas, M.L. (1995) Functional analysis of the pediocin operon of *Pediococcus acidilactici* PAC1.0: PedB is the immunity protein and PedD is the precursor processing enzyme, *Mol. Microbiol.*, **17**, 515–522, doi: 10.1111/j.1365-2958.1995.mmi_17030515.x.
 86. Chen, Y., Ludescher, R.D., and Montville, T.J. (1998) Influence of lipid composition on pediocin PA-1 binding to phospholipid vesicles, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3530–3532.
 87. Ramnath, M., Beukes, M., Tamura, K., and Hastings, J.W. (2000) Absence of a putative mannose-specific phosphotransferase system enzyme IIAB component in a leucocin A-resistant strain of *Listeria monocytogenes*, as shown by two-dimensional sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3098–3101, doi: 10.1128/aem.66.7.3098-3101.2000.
 88. Dalet, K., Briand, C., Cenatiempo, Y., and Hechard, Y. (2000) The *RpoN* gene of *Enterococcus faecalis* directs sensitivity to subclass IIa bacteriocins, *Curr. Microbiol.*, **41**, 441–443, doi: 10.1007/s002840010164.
 89. Dalet, K., Cenatiempo, Y., Cossart, P., Hechard, Y., and European Listeria Genome Consortium (2001) A sigma(54)-dependent PTS permease of the mannose family is responsible for sensitivity of *Listeria monocytogenes* to mesentericin Y105, *Microbiology*, **147**, 3263–3269, doi: 10.1099/00221287-147-12-3263.
 90. Diep, D.B., Skaugen, M., Salehian, Z., Holo, H., and Nes, I.F. (2007) Common mechanisms of target cell recognition and immunity for class II bacteriocins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 2384–2389, doi: 10.1073/pnas.0608775104.
 91. Kjos, M., Salehian, Z., Nes, I.F., and Diep, D.B. (2010) An extracellular loop of the mannose phosphotransferase system component IIC is responsible for specific targeting by class IIa bacteriocins, *J. Bacteriol.*, **192**, 5906–5913, doi: 10.1128/jb.00777-10.
 92. Barraza, D.E., Rios Colombo, N.S., Galvan, A.E., Acuna, L., Minahk, C.J., Bellomio, A., and Chalon, M.C. (2017) New insights into enterocin CRL35: mechanism of action and immunity revealed by heterologous expression in *Escherichia coli*, *Mol. Microbiol.*, **105**, 922–933, doi: 10.1111/mmi.13746.
 93. Stevens, K.A., Sheldon, B.W., Klapes, N.A., and Klaenhammer, T.R. (1991) Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 3613–3615.
 94. Chalon, M.C., Acuna, L., Morero, R.D., Minahk, C.J., and Bellomio, A. (2012) Membrane-active bacteriocins to control *Salmonella* in foods: are they the definite hurdle? *Food Res. Int.*, **45**, 735–744, doi: 10.1016/j.foodres.2011.08.024.
 95. Kjos, M., Nes, I.F., and Diep, D.B. (2009) Class II one-peptide bacteriocins target a phylogenetically defined subgroup of mannose phosphotransferase systems on sensitive cells, *Microbiology*, **155**, 2949–2961, doi: 10.1099/mic.0.030015-0.
 96. Opsata, M., Nes, I.F., and Holo, H. (2010) Class IIa bacteriocin resistance in *Enterococcus faecalis* V583: the mannose PTS operon mediates global transcriptional responses, *BMC Microbiol.*, **10**, 224, doi: 10.1186/1471-2180-10-224.
 97. Kjos, M., Borrero, J., Opsata, M., Birri, D.J., Holo, H., Cintas, L.M., Snipen, L., Hernandez, P.E., Nes, I.F., and Diep, D.B. (2011) Target recognition, resistance, immunity and genome mining of class II bacteriocins from gram-positive bacteria, *Microbiology*, **157**, 3256–3267, doi: 10.1099/mic.0.052571-0.
 98. Vadyvaloo, V., Hastings, J.W., van der Merwe, M.J., and Rautenbach, M. (2002) Membranes of class IIa bacteriocin-resistant *Listeria monocytogenes* cells contain increased levels of desaturated and short-acyl-chain phosphatidylglycerols, *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 5223–5230, doi: 10.1128/aem.68.11.5223-5230.2002.
 99. Tessema, G.T., Moretro, T., Kohler, A., Axelsson, L., and Naterstad, K. (2009) Complex phenotypic and genotypic responses of *Listeria monocytogenes* strains exposed to the class IIa bacteriocin sakacin P, *Appl. Environ. Microbiol.*, **75**, 6973–6980, doi: 10.1128/aem.00608-09.
 100. Masias, E., Dupuy, F.G., da Silva Sanches, P.R., Farizano, J.V., Cilli, E., Bellomio, A., Saavedra, L., and Minahk, C. (2017) Impairment of the class IIa bacteriocin receptor function and membrane structural changes are associated to enterocin CRL35 high resistance in *Listeria monocytogenes*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 1770–1776, doi: 10.1016/j.bbagen.2017.03.014.
 101. Kundig, W., Ghosh, S., and Roseman, S. (1964) Phosphate bound to histidine in a protein as an intermediate in a novel phospho-transferase system, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **52**, 1067–1074, doi: 10.1073/pnas.52.4.1067.
 102. Postma, P.W., Lengeler, J.W., and Jacobson, G.R. (1993) Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria, *Microbiol. Rev.*, **57**, 543–594.
 103. Deutscher, J., Francke, C., and Postma, P.W. (2006) How phosphotransferase system-related protein phosphorylation regulates carbohydrate metabolism in bacteria, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **70**, 939–1031, doi: 10.1128/mmbr.00024-06.
 104. Deutscher, J., Ake, F.M.D., Derkaoui, M., Zebre, A.C., Cao, T.N., Bouraoui, H., Kentache, T., Mokhtari, A., Milohanic, E., and Joyet, P. (2014) The bacterial phospho-

- enolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system: regulation by protein phosphorylation and phosphorylation-dependent protein-protein interactions, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **78**, 231–256, doi: 10.1128/mmbr.00001-14.
105. Galinier, A., and Deutscher, J. (2017) Sophisticated regulation of transcriptional factors by the bacterial phosphoenolpyruvate: sugar phosphotransferase system, *J. Mol. Biol.*, **429**, 773–789, doi: 10.1016/j.jmb.2017.02.006.
 106. Saier, M.H., and Paulsen, I.T. (1999) Paralogous genes encoding transport proteins in microbial genomes, *Res. Microbiol.*, **150**, 689–699, doi: 10.1016/s0923-2508(99)00123-0.
 107. Saier, M.H., Hvorup, R.N., and Barabote, R.D. (2005) Evolution of the bacterial phosphotransferase system: from carriers and enzymes to group translocators, *Biochem. Soc. Trans.*, **33**, 220–224, doi: 10.1042/bst0330220.
 108. Nguyen, T.X., Yen, M.-R., Barabote, R.D., and Saier, M.H. (2006) Topological predictions for integral membrane permeases of the phosphoenolpyruvate: sugar phosphotransferase system, *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **11**, 345–360, doi: 10.1159/000095636.
 109. Cao, Y., Jin, X., Levin, E.J., Huang, H., Zong, Y., Quick, M., Weng, J., Pan, Y., Love, J., Punta, M., Rost, B., Hendrickson, W.A., Javitch, J.A., Rajashankar, K.R., and Zhou, M. (2011) Crystal structure of a phosphorylation-coupled saccharide transporter, *Nature*, **473**, 50–54, doi: 10.1038/nature09939.
 110. McCoy, J.G., Ren, Z., Stanevich, V., Lee, J., Mitra, S., Levin, E.J., Poget, S., Quick, M., Im, W., and Zhou, M. (2016) The structure of a sugar transporter of the glucose EIIC superfamily provides insight into the elevator mechanism of membrane transport, *Structure*, **24**, 956–964, doi: 10.1016/j.str.2016.04.003.
 111. Ren, Z., Lee, J., Moosa, M.M., Nian, Y., Hu, L., Xu, Z., McCoy, J.G., Ferreon, A.C.M., Im, W., and Zhou, M. (2018) Structure of an EIIC sugar transporter trapped in an inward-facing conformation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 5962–5967, doi: 10.1073/pnas.1800647115.
 112. Luo, P., Yu, X., Wang, W., Fan, S., Li, X., and Wang, J. (2015) Crystal structure of a phosphorylation-coupled vitamin C transporter, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 238–241, doi: 10.1038/nsmb.2975.
 113. Stock, J.B., Ninfa, A.J., and Stock, A.M. (1989) Protein phosphorylation and regulation of adaptive responses in bacteria, *Microbiol. Rev.*, **53**, 450–490.
 114. Fujita, Y. (2009) Carbon catabolite control of the metabolic network in *Bacillus subtilis*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 245–259, doi: 10.1271/bbb.80479.
 115. Zuniga, M., Comas, I., Linaje, R., Monedero, V., Yebra, M.J., Esteban, C.D., Deutscher, J., Perez-Martinez, G., and Gonzalez-Candelas, F. (2005) Horizontal gene transfer in the molecular evolution of mannose PTS transporters, *Mol. Biol. Evol.*, **22**, 1673–1685, doi: 10.1093/molbev/msi163.
 116. Eijsink, V.G., Skeie, M., Middelhoven, P.H., Brurberg, M.B., and Nes, I.F. (1998) Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3275–3281.
 117. Diep, D.B., Godager, L., Brede, D., and Nes, I.F. (2006) Data mining and characterization of a novel pediocin-like bacteriocin system from the genome of *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745, *Microbiology*, **152**, 1649–1659, doi: 10.1099/mic.0.28794-0.
 118. Erni, B. (2006) The mannose transporter complex: an open door for the macromolecular invasion of bacteria, *J. Bacteriol.*, **188**, 7036–7038, doi: 10.1128/jb.01074-06.
 119. Fimland, G., Eijsink, V.G.H., and Nissen-Meyer, J. (2002) Comparative studies of immunity proteins of pediocin-like bacteriocins, *Microbiology*, **148**, 3661–3670, doi: 10.1099/00221287-148-11-3661.
 120. Fimland, G., Johnsen, L., Dalhus, B., and Nissen-Meyer, J. (2005) Pediocin-like antimicrobial peptides (class IIa bacteriocins) and their immunity proteins: biosynthesis, structure, and mode of action, *J. Pept. Sci.*, **11**, 688–696, doi: 10.1002/psc.699.
 121. Johnsen, L., Fimland, G., Mantzilas, D., and Nissen-Meyer, J. (2004) Structure-function analysis of immunity proteins of pediocin-like bacteriocins: C-terminal parts of immunity proteins are involved in specific recognition of cognate bacteriocins, *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 2647–2652, doi: 10.1128/aem.70.5.2647-2652.2004.
 122. Sprules, T., Kawulka, K.E., and Vederas, J.C. (2004) NMR solution structure of ImB2, a protein conferring immunity to antimicrobial activity of the type IIa bacteriocin, carnobacteriocin B2, *Biochemistry*, **43**, 11740–11749, doi: 10.1021/bi048854+.
 123. Johnsen, L., Dalhus, B., Leiros, I., and Nissen-Meyer, J. (2005) 1.6-angstroms crystal structure of EntA-im. A bacterial immunity protein conferring immunity to the antimicrobial activity of the pediocin-like bacteriocin enterocin A, *J. Biol. Chem.*, **280**, 19045–19050, doi: 10.22101/pdb2bl8/pdb.
 124. Zhou, W., Wang, G., Wang, C., Ren, F., and Hao, Y. (2016) Both IIC and IID components of mannose phosphotransferase system are involved in the specific recognition between immunity protein PedB and bacteriocin-receptor complex, *PLoS One*, **11**, e0164973, doi: 10.1371/journal.pone.0164973.
 125. Nissen-Meyer, J., Havarstein, L.S., Holo, H., Sletten, K., and Nes, I.F. (1993) Association of the lactococcin A immunity factor with the cell membrane: purification and characterization of the immunity factor, *J. Gen. Microbiol.*, **139**, 1503–1509, doi: /10.1099/00221287-139-7-1503.
 126. Quadri, L.E., Sailer, M., Terebiznik, M.R., Roy, K.L., Vederas, J.C., and Stiles, M.E. (1995) Characterization of the protein conferring immunity to the antimicrobial peptide carnobacteriocin B2 and expression of carnobacteriocins B2 and BM1, *J. Bacteriol.*, **177**, 1144–1151, doi: 10.1128/jb.177.5.1144-1151.1995.
 127. Murinda, S.E., Rashid, K.A., and Roberts, R.F. (2003) *In vitro* assessment of the cytotoxicity of nisin, pediocin, and selected colicins on simian virus 40-transfected human colon and vero monkey kidney cells with trypan blue staining viability assays, *J. Food Prot.*, **66**, 847–853, doi: 10.4315/0362-028x-66.5.847.
 128. Jasniewski, J., Cailliez-Grimal, C., Chevalot, I., Milliere, J.-B., and Revol-Junelles, A.-M. (2009) Interactions between two carnobacteriocins Cbn BM1 and Cbn B2 from *Carnobacterium maltaromaticum* CP5 on target bacteria and Caco-2 cells, *Food Chem. Toxicol.*, **47**, 893–897, doi: 10.1016/j.fct.2009.01.025.
 129. Ju, X., Chen, X., Du, L., Wu, X., Liu, F., and Yuan, J. (2015) Alanine-scanning mutational analysis of durancin GL reveals residues important for its antimicrobial activity, *J. Agric. Food Chem.*, **63**, 6402–6409, doi: 10.1021/acs.jafc.5b02114.
 130. Song, D.F., Li, X., Zhang, Y.H., Zhu, M.Y., and Gu, Q. (2014) Mutational analysis of positively charged residues in the N-terminal region of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1, *Lett. Appl. Microbiol.*, **58**, 356–361, doi: 10.1111/lam.12197.
 131. Tominaga, T., and Hatakeyama, Y. (2007) Development of innovative pediocin PA-1 by DNA shuffling among class IIa bacteriocins, *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 5292–5299, doi: 10.1128/aem.00558-07.
 132. Acuna, L., Picariello, G., Sesma, F., Morero, R.D., and Bellomio, A. (2012) A new hybrid bacteriocin, Ent35-MccV, displays antimicrobial activity against pathogenic gram-positive and gram-negative bacteria, *FEBS Open Bio*, **2**, 12–19, doi: 10.1016/j.fob.2012.01.002.

133. Johnsen, L., Fimland, G., Eijsink, V., and Nissen-Meyer, J. (2000) Engineering increased stability in the antimicrobial peptide pediocin PA-1, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 4798–4802, doi: 10.1128/aem.66.11.4798-4802.2000.
134. Quadri, L.E., Sailer, M., Roy, K.L., Vederas, J.C., and Stiles, M.E. (1994) Chemical and genetic characterization of bacteriocins produced by *Carnobacterium piscicola* LV17B, *J. Biol. Chem.*, **269**, 12204–12211.
135. Jasniewski, J., Cailliez-Grimal, C., Gelhaye, E., and Revol-Junelles, A.-M. (2008) Optimization of the production and purification processes of carnobacteriocins Cbn BM1 and Cbn B2 from *Carnobacterium maltaromaticum* CP5 by heterologous expression in *Escherichia coli*, *J. Microbiol. Methods*, **73**, 41–48, doi: 10.1016/j.mimet.2008.01.008.
136. Bernbom, N., Jelle, B., Brogren, C.-H., Vogensen, F.K., Norrung, B., and Licht, T.R. (2009) Pediocin PA-1 and a pediocin producing *Lactobacillus plantarum* strain do not change the HMA rat microbiota, *Int. J. Food Microbiol.*, **130**, 251–257, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.003.
137. Umu, O.C.O., Bauerl, C., Oostindjer, M., Pope, P.B., Hernandez, P.E., Perez-Martinez, G., and Diep, D.B. (2016) The potential of class II bacteriocins to modify gut microbiota to improve host health, *PLoS One*, **11**, e0164036, doi: 10.1371/journal.pone.0164036.
138. Salvucci, E., Saavedra, L., Hebert, E.M., Haro, C., and Sesma, F. (2012) Enterocin CRL35 inhibits *Listeria monocytogenes* in a murine model, *Foodborne Pathog. Dis.*, **9**, 68–74, doi: org/10.1089/fpd.2011.0972.
139. Sosunov, V., Mischenko, V., Eruslanov, B., Svetoch, E., Shakina, Y., Stern, N., Majorov, K., Sorokoumova, G., Selishcheva, A., and Apt, A. (2007) Antimycobacterial activity of bacteriocins and their complexes with liposomes, *J. Antimicrob. Chemother.*, **59**, 919–925, doi: org/10.1093/jac/dkm053.

PEDIOCIN-LIKE ANTIMICROBIAL PEPTIDES OF BACTERIA

S. V. Balandin, E. V. Sheremeteva, and T. V. Ovchinnikova*

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, 117997 Moscow, Russia;
E-mail: ovch@ibch.ru*

Received August 6, 2018

Revised October 11, 2018

Accepted October 11, 2018

Bacteriocins are bacterial antimicrobial peptides that, unlike classical peptide antibiotics, are products of ribosomal synthesis and usually have a narrow spectrum of antibacterial activity against species closely related to the producers. Pediocin-like bacteriocins (PLBs) belong to the class IIa of the bacteriocins of Gram-positive bacteria. PLBs are highly active against pathogenic bacteria of the genera *Listeria* and *Enterococcus*. The molecular target for PLBs is a membrane mannose-phosphotransferase complex. PLBs could be synthesized by a symbiotic human microbiota and participate in maintaining homeostasis in various compartments of the digestive tract and on the surface of epithelial tissues contacting with the external environment. The structure of PLBs could be used as a template for engineering of a new group of narrow-spectrum antibiotics.

Keywords: antimicrobial peptides, bacteriocins, pediocin-like peptides, antibiotic resistance, mannose-phosphotransferase