

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

УДК 577.151.45; 577.151.042; 571.27; 579.61

РЕГУЛЯЦИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЛИЗИСА БАКТЕРИЙ: МИШЕНЬ ЭФФЕКТОРА – ЭТО ФЕРМЕНТ ИЛИ СУБСТРАТ?

Николай Владимирович Растрига, Николай Леонидович Еремеев, Дмитрий Анатольевич Климов, Павел Андреевич Левашов

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет

Автор, ответственный за переписку: Павел Андреевич Левашов, levashov@yahoo.com

Аннотация. В данной работе предпринята попытка проанализировать литературные данные относительно эффекторов лизиса бактерий в присутствии ряда бактериолитических ферментов. Несмотря на различия между подобными ферментами, можно выделить некие общие закономерности их действия на сверхсложный субстрат – живую бактериальную клетку, защищенную клеточной стенкой и связанными с ней дополнительными комплексами биополимеров. Из таких ферментов наиболее известны куриный и человеческий лизоцимы, имеющие некоторое структурно различие, но в целом очень похожие по свойствам. Понимание особенностей антибактериального действия тех или иных бактериолитических ферментов, присутствующих как в медицинских препаратах, так и в самом организме, крайне важно для разработки новых подходов в борьбе с бактериальными инфекциями, в том числе антибиотикорезистентными. Более того, отдельные логические и методические подходы, применяемые для изучения бактериолитических ферментов могут быть крайне полезны для изучения и описания других ферментов, которые в реальной биологической ситуации действуют на сложные полимерные субстраты.

Ключевые слова: ферментативный лизис, бактерии, лизоцим, антибактериальная активность

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-3-235-244

Список сокращений: ASA (Accessible Surface Area) – доступная площадь поверхности остатков лизина, далее по тексту (эффективная) площадь выступа остатка лизина (над поверхностью белковой глобулы); ПАВ – поверхностно-активное вещество; КОЕ – колониеобразующие единицы (концентрация живых клеток)

Финансирование. Работа выполнена в МГУ имени М.В. Ломоносова в рамках государственного задания «Изучение резистентности бактерий к антибиотикам на основе получения рекомбинантных бета-лактамаз, определения их структуры и взаимодействия с субстратами и ингибиторами методами математического моделирования и ферментативной кинетики, разработки антибактериальных соединений и новых лекарственных форм, методов молекулярной диагностики антибиотикорезистентности бактерий и определения антибиотиков в объектах окружающей среды и продуктах питания для создания новых подходов эффективного преодоления резистентности». Номер ЦИТИС: 123032300028-0.

Для цитирования: Растрига Н.В., Еремеев Н.Л., Климов Д.А., Левашов П.А. Регуляция ферментативного лизиса бактерий: мишень эффектора – это фермент или субстрат? // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т. 65. № 3. С. 235–244.

SCIENTIFIC REVIEW

REGULATION OF ENZYME-DEPENDENT LYSIS OF MICROBIAL CELLS: IS THE EFFECTOR TARGET ENZYME OR SUBSTRATE?

**Nikolai V. Rastriga, Nikolai L. Eremeev, Dmitry A. Klimov,
Pavel A. Levashov**

Moscow State University named after M.V. Lomonosov, Faculty of Chemistry

Corresponding author : Pavel Andreevich Levashov, levashov@yahoo.com

Abstract. In this work, an attempt was made to analyze the literature data regarding the effectors of bacterial lysis in the presence of various bacteriolytic enzymes. Despite the differences between such enzymes, it is possible to identify certain general patterns of their action on a highly complex substrate – a living bacterial cell protected by a cell wall and additional complexes of biopolymers associated with it. Chicken and human lysozymes are the best known of these enzymes. They have some structural differences, but are generally very similar in properties. Understanding the characteristics of the antibacterial action of bacteriolytic enzymes present both in medications and in the human immune system is extremely important for the development of new approaches to combating bacterial infections, including antibiotic-resistant ones. Moreover, certain logical and methodological approaches used to study bacteriolytic enzymes can be extremely useful for studying and describing other enzymes that affect complex polymer substrates in real biological situations.

Keywords: enzymatic lysis, bacteria, lysozyme, antibacterial activity

List of abbreviations: ASA – Accessible Surface Area, further referred to as the effective area of lysine residue protrusion above protein globule surface; CFU – colony forming units (concentration of living cells).

Financial Support. This work was carried out with the financial support of M.V. Lomonosov Moscow State University: Project 123032300028-0 “Study of bacterial resistance to antibiotics based on the production of recombinant beta-lactamases, determination of their structure and interaction with substrates and inhibitors using methods of mathematical modeling and enzymatic kinetics, development antibacterial compounds and new dosage forms, methods for molecular diagnostics of antibiotic resistance in bacteria and determination of antibiotics in environmental objects and food products to create new approaches to effectively overcome resistance.”

For citation: Rastriga N.V., Eremeev N.L., Klimov D.A., Levashov P.A. Regulation of enzyme-dependent lysis of microbial cells: is the effector target enzyme or substrate? // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2024. T. 65. № 3. S. 235–244.

Бактериолитические ферменты (иногда их называют ферментами-лизинами) в большинстве случаев представляют собой соединения, разрушающие (гидролизующие) пептидогликан – основной структурный компонент клеточной стенки бактерий. Полисахаридная часть пепти-

догликана бактерий, как правило, представляет собой цепи муреина (полисахарида из строго чередующихся остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных между собой $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связью). Карбоксильные группы остатков N-ацетилмурамовой

кислоты образуют амидную связь с олигопептидами (обычно тетрапептидами), состав которых зависит от типа бактерии. Трехмерная структура пептидогликана образуется за счет межпептидных мостиков, чаще всего между конечным (четвертым) аминокислотным остатком одного пептида и третьим остатком другого. Эти остатки могут быть связаны между собой либо непосредственно, либо через короткие пептиды. Таким образом, пептидогликан является, по сути, одной гигантской молекулой сополимера, выдерживающей внутриклеточное осмотическое давление и предотвращающей осмотический шок бактерий [1, 2].

Ферментативный гидролиз тех или иных ковалентных связей пептидогликана приводит к нарушению его прочности и, как следствие, вызывает лизис (разрушение) бактерий. В связи с этим к лизинам относятся гидролазы разной специфичности – гликозидазы, амидазы, пептидазы [3–5]. Бактериолитические ферменты широко распространены в природе и по своему происхождению бывают фаговыми [6–8], бактериальными [9–11], грибными [12, 13], растительными [14, 15] и животными, к наиболее известным из которых относятся гликозидазы – лизоцимы [16–18]. Показано, что прямым бактериолитическим действием обладают и некоторые белки, для которых ферментативная функция ранее не была известна, например компонент системы комплемента C2, интерлейкин-2 и серотрансферрин [19–21]. Пока точно не доказан ферментативный механизм лизиса бактерий в присутствии того или иного белка, поэтому иногда вместо термина

«бактериолитический фермент» используют термин «бактериолитический фактор».

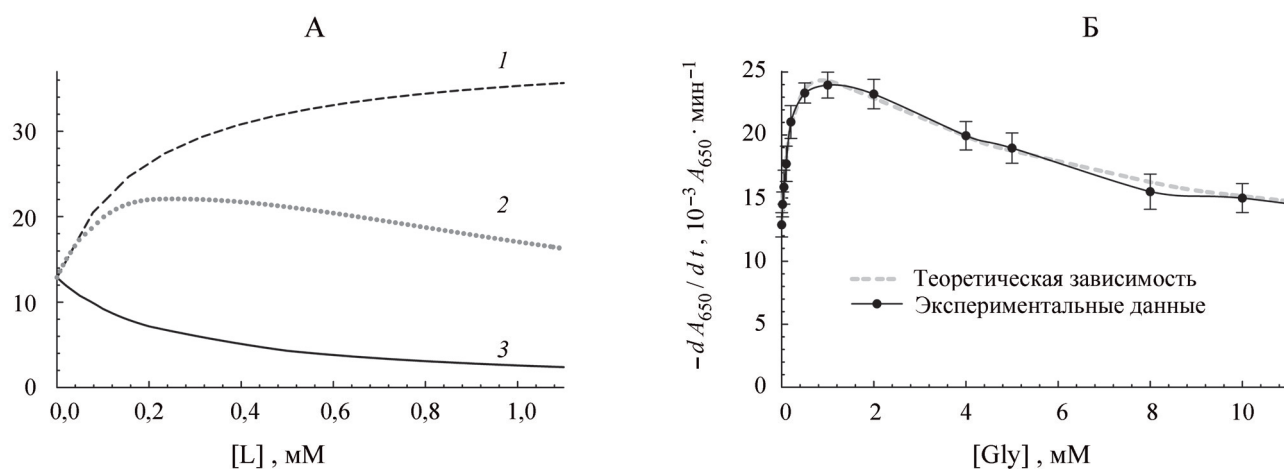
В последние годы накопилось много новой и подчас неожиданной информации относительно того, что ферментативная активность бактериолитических ферментов может сложным образом регулироваться условиями среды и различными низкомолекулярными эффекторами [22–28]. Характер влияния тех или иных веществ на скорость ферментативного лизиса бактерий может иметь различный вид, например ингибирования или гиперболической активации или зависимости с максимумом (рисунок, А). Объяснить наблюдаемые эффекты можно с точки зрения влияния добавок на фермент и субстрат или на то и другое вместе. Анализ литературных данных именно с этой точки зрения является целью настоящей статьи.

Помимо фундаментального научного интереса к свойствам подобных систем, крайне важно более глубокое понимание особенностей функционирования лизоцима и других подобных ферментов с практической медико-биологической точки зрения, в частности, в поисках возможности поддержки иммунной системы организма в борьбе с антибиотикорезистентной инфекцией.

Основная часть

Общие вопросы исследования ферментативного лизиса бактерий, адсорбция фермента на субстрате, влияние ионной силы и рН

Количественное описание эффективности лизиса дает турбидиметрический метод, позволяющий в режиме реального времени следить за



А: Виды зависимостей активности фермента от концентрации лиганда. Б: Экспериментальная зависимость активности куриного лизоцима от концентрации глицина [23] и ее аппроксимация теоретической кривой по уравнению (4)

изменением числа целых бактериальных клеток в растворе (концентрации КОЕ) [22, 29]. Сразу следует отметить, что для корректных измерений необходимо работать в линейной области зависимости поглощения раствора от [КОЕ], что обычно выполняется при значениях поглощения от 0 до 0,8–0,9.

Зависимость ферментативного лизиса бактерий от концентрации фермента, как правило, имеет специфическую форму в виде гиперболы с выходом на плато при высокой концентрации фермента. Это было показано, например, для лизоцима на *Lactobacillus plantarum*, для лизоцима и интерлейкина-2 на *Escherichia coli*, для эндолизина и экзолизина бактериофага на *Salmonella enteritidis* [20, 27, 30, 31]. Одним из объяснений такого характера зависимостей может быть то, что катализу предшествует стадия адсорбции фермента на клетке. Экспериментально показано, что адсорбция фермента на бактериях действительно характеризуется определенным числом центров связывания и описывается гиперболическим уравнением адсорбции Ленгмюра [31, 32]. Таким образом, для корректного измерения бактериолитической активности необходимо соблюдать условия, когда скорость лизиса бактериальных клеток пропорциональна концентрации фермента.

Скорость ферментативного лизиса бактерий характеризуется сложной зависимостью от ионной силы раствора [22, 27, 32]. Обычно наблюдается зависимость с максимумом, когда при повышении концентрации соли скорость лизиса клеток сначала возрастает, а затем падает. Давно было предсказано, что в подобных системах адсорбция теоретически может быть разного типа, а именно: «продуктивной», предшествующей катализу и «непродуктивной», ингибирующей (связывающей фермент в неудачный для дальнейшего катализа комплекс) [33, 34]. Действительно, было экспериментально показано, что, например, для клеток *E. coli* при низкой ионной силе (менее 20 мМ) наблюдается непродуктивная сорбция лизоцима, сопряженная с уменьшением активности, а при повышении ионной силы до 40 мМ происходит высвобождение фермента и рост активности [35]. При этом замедление скорости лизиса при более высокой ионной силе связано, вероятно, с тем, что ферментативная стадия перестает быть скоростью лимитирующей и скорость процесса определяется более медленным осмотическим разрывом клетки при приближении к ионной силе изотонического раствора.

Профили зависимости активности от pH для самых разных бактериолитических ферментов (факторов) имеют классический куполообразный вид с одним максимумом [19–20, 22, 27, 32, 36], что обычно характерно для ферментов с двумя ионогенными группами в активном центре. Важным проявлением природы сложного клеточного субстрата является тот факт, что на разных бактериолитических ферментах (факторах) наблюдается схожий синхронный сдвиг pH профиля активности в кислую или щелочную область при сравнении действия разных ферментов в зависимости от выбора субстрата – клеток. Например, это показано для одинаковых субстратов – клеток при лизисе в присутствии лизоцима и интерлейкина-2 [23, 30, 36]. И для лизоцима и для интерлейкина-2 оптимум активности соответствует слабощелочному значению pH: для *E. coli* pH 8,3–8,6, для *Pristia megatherium* pH 8,6–8,7, для *Serratia marcescens* pH 8,0–8,3, при этом оба фермента имеют оптимум ближе к нейтральному значению pH для *Lactobacillus plantarum* (pH 6,7–7,0), а оптимум для обоих бактериолитических факторов смещается в слабокислую область pH для *Klebsiella aerogenes* (*Enterobacter aerogenes*) (pH 6,4–6,9) [23, 30, 36]. Явление «синхронного» смещения оптимума pH может объясняться тем, что различаются концентрации протонов в растворе и около заряженной поверхности (клетки-субстрата), которая обладает неким электростатическим потенциалом Ψ . Различия в величине концентрации $[H^+]$ можно приближенно описать уравнением [37]:

$$\Delta pH = pH_l - pH_o = 0,43 (e\Psi / kT). \quad (1)$$

где $[H^+]_l$ и $[H^+]_o$ – концентрации протонов у поверхности и в растворе соответственно, e – заряд электрона, k – константа Больцмана, T – абсолютная температура.

Таким образом, для отрицательно заряженной поверхности бактерии получаем сдвиг pH в щелочную область, а величина сдвига, соответственно, будет разной для разных бактерий.

Сочетанное действие бактериолитических ферментов и антибиотиков

Необычная картина влияния пептидных антибиотиков на ферментативный лизис бактерий была обнаружена как на эндолизине бактериофага (показано для полимиксина М) [27], так и на лизоциме и интерлейкине-2 (показано для полимиксина Б и бацитрацина) [23]. Наблюдается

узкий пик активации лизиса при микромолярной концентрации антибиотиков (3–5 мкМ). Такой эффект гипотетически можно связать с тем, что микромолярные (нелетальные для бактерии) количества антибиотика активируют какие-то процессы в клетке, делая ее более уязвимой для фермента. Антибиотики в более высокой концентрации, вероятно, просто убивают клетку, оставляя ее целой, но делая ее менее восприимчивой для лизиса. При этом сами по себе эти антибиотики в исследуемом диапазоне концентраций (до 10–20 мМ) не вызывают лизис бактерий. Высокоэффективное совместное действие антибиотиков и лизоцима отмечено также в случае клинического применения фагового лизина и антибиотика оксациллина при подкожном введении для лечения тяжелой формы стафилококковой бактериемии у мышей [38], когда в контрольной группе без введения препаратов выживаемость была 13%, в случае применения только фермента или только антибиотика выживаемость достигала 30–35%, а при совместном введении антибиотика и фермента выживаемость была 80–82%.

Влияние поверхностно-активных веществ (ПАВ)

Отдельного внимания требует явление активации бактериолитической активности лизоцима в присутствии самых разных ПАВ [24, 25, 28, 39]. Эффекты влияния ПАВ на бактериолитическую активность лизоцима представлены большим разнообразием: есть примеры и ингибирования, и активации, и зависимости с максимумом. Понятно, что ПАВ с большой долей вероятности могут существенно влиять как на живую клетку, так и на фермент. Тем не менее, замечено, что существенное влияние оказывают ПАВ с совершенно разными полярными группами, но со схожей неполярной группой, поэтому есть основания полагать, что на поверхности лизоцима имеются гидрофобные участки связывания, которые «узнаются» неполярной частью ПАВ [28]. Особый интерес вызывает тот факт, что в присутствии ПАВ в ряде условий наблюдается очень сложная ступенчатая «немихаэлисовская» зависимость активности фермента от концентрации субстрата – бактериальных клеток [39], что может указывать на олигомеризацию лизоцима в присутствии ПАВ и наличие явления суперкооперативности у олигомерного фермента [40]. Способность лизоцима олигомеризоваться при контакте с гидрофобными участками ПАВ может иметь глубокий физиологический смысл. Например, можно предположить, что лизоцим

при контакте с липополисахаридом (эндотоксином) грамотрицательных бактерий собирается в олигомерные катионные комплексы. Катионные комплексы лизоцима, в свою очередь, способны подобно комплексу комплемента повреждать фосфолипидные мембраны бактериальной клетки, демонстрируя высокую антибактериальную активность [41].

Влияние заряженных аминокислот и глицина

Относительно недавно было обнаружено очень интересное явление активации лизоцима в присутствии свободного глицина и свободных заряженных аминокислот [23, 26, 32, 42]. Следует отметить, что природа субстрата также важна для степени проявления этого эффекта активации [26]. При этом ароматические аминокислоты не усиливают активность лизоцима [23]. Некоторые заряженные аминокислоты (глутамат и аргинин) усиливают бактериолитическую активность не только лизоцима, но и интерлейкина-2. Однако лизоцим в отличие от интерлейкина-2 активируется еще глицином и лизином, которые никак не влияют на активность интерлейкина-2. При этом на активность интерлейкина-2 влияют также милдронат, тирозин, тирамин и триптамин, которые не изменяют активности лизоцима [23]. Эти различия между лизоцимом и интерлейкином-2 в списке активирующих эффекторов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии специфических центров связывания эффекторов на поверхности ферментов. Кривые зависимости активности от концентрации эффекторов имеют разный вид. Активация лизоцима и интерлейкина-2 глутаматом и аргинином, а также активация интерлейкина-2 тирамином и триптамином имеют «гиперболический» вид с насыщением, как показано схематически на рисунке, А. Если описывать «гиперболическую» активацию фермента (E) как переход из активной формы A0 в активную форму A1 при присоединении одной молекулы лиганда (L), то при условии $[L] \gg [E]$ доли форм A0 и A1 в растворе будут приближенно описываться выражениями вида $[K]/(K+[L])$ и $[L]/(K+[L])$ соответственно, а результирующую активность можно будет выразить так:

$$\begin{aligned} A &= A_0 \cdot \left(1 - \frac{[L]}{K + [L]}\right) + A_1 \cdot \frac{[L]}{K + [L]} = \\ &= A_0 \cdot \frac{K}{K + [L]} + A_1 \cdot \frac{[L]}{K + [L]}, \end{aligned} \quad (2)$$

где K – константа диссоциации комплекса фермент / лиганд. Строго говоря, в случае простой гиперболической зависимости схема с присоединением одного лиганда к ферменту не является единственным возможным объяснением, так как подобные кривые с «насыщением» можно также объяснить влиянием на субстрат или на параметры адсорбции фермента на субстрате. Как показано для глицина и заряженных аминокислот, их присутствие, действительно, уменьшает константу десорбции лизоцима с поверхности клеток, улучшая продуктивную сорбцию и увеличивая активность, при этом число центров связывания (сорбционная емкость) фермента на клетках не меняется [32, 43].

Активация лизоцима глицином и лизином, а также активация интерлейкина-2 милдронатом и тирозином имеют более сложный куполообразный вид с максимумом. В этом случае подобную зависимость сложно объяснить влиянием эффектора на субстрат и можно более уверенно предположить наличие двух специфических регуляторных центров связывания лиганда на ферменте. Один связанный лиганд увеличивает активность фермента, а два одновременно связанные в разных сайтах лиганда уменьшают активность. Предположим наличие трех активных форм комплекса лизоцима с глицином E , EL и EL_2 , обладающих активностью соответственно A_0 , A_1 и A_2 . Константы диссоциации комплексов фермента с лигандом обозначим как K_1 и K_2 . Предполагая быстрое установление равновесия, избыток лиганда по отношению к ферменту $[L] \gg [E]$, а также условие $K_2 \gg K_1$, можно записать приближенное уравнение для результирующей активности:

$$A = A_0 + (A_1 - A_0) \cdot \frac{[L]}{K_1 + [L]} + (A_2 - A_1) \cdot \frac{[L]}{K_2 + [L]} \quad (3)$$

Как видно из рисунка, Б, экспериментальная кривая для активности куриного лизоцима в присутствии глицина [23] как раз хорошо аппроксимируется уравнением вида (3) с предположением о двух центрах связывания глицина с константами диссоциации 0,25 и 4,5 мМ (4).

$$A = 12,9 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1} + (32,8 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1} - 12,9 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}) \cdot \frac{[\text{Gly}]}{0,25 \text{ мМ} + [\text{Gly}]} + (7,9 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1} - 32,8 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}) \cdot \frac{[\text{Gly}]}{4,5 \text{ мМ} + [\text{Gly}]} \quad (4)$$

Интересно отметить, что эффект активации глицином пропадает при ковалентной иммобилизации куриного лизоцима, когда для связи с матрицей задействованы остатки лизина [26]. Это наводит на мысль, что регуляторные центры присоединения глицина на поверхности лизоцима, вероятно, находятся рядом с остатками лизина, который химически модифицируется и ковалентно соединяется с полимерной матрицей. Также отметим, что эффект влияния глицина на активность лизоцима хорошо выражен на курином лизоциме, но менее выражен для человеческого лизоцима [42], у которого, вероятно, подобные центры связывания глицина сильно различаются. Известно, что реакционная способность, а также стерическая доступность разных остатков лизина на поверхности куриного лизоцима существенно различаются. К наиболее реакционноспособным относятся лизины в положениях 1 и 116, к среднереакционноспособным – в положениях 13, 33 и 97, а к слабореакционноспособным и труднодоступным относится остаток 96 [44]. При химической модификации и иммобилизации в реакцию обычно вступает не более 2–3 остатков лизина куриного лизоцима, и при этом сохраняется активность [45]. Сопоставим все перечисленные факты и проведем докинг глицина в потенциальных центрах связывания в области кластеров (ближайшего окружения) остатков лизина, также определим эффективную площадь выступа участков с остатками лизина (ASA) над поверхностью лизоцима. Как видно из таблицы, у куриного лизоцима кластеры высокореакционноспособных остатков лизина 1 и 116 способны связывать глицин и при этом имеют сравнительно большую площадь выступа, что повышает шансы на успешное присоединение этой части белка к полимерной матрице при иммобилизации. Кластер остатка 1 лизина человеческого лизоцима обладает меньшей площадью выступа и слабо связывает глицин (величина энергии взаимодействия менее 5 ккал/моль), а остатка лизина 116 в человеческом лизоциме вообще нет. Таким образом, кластеры лизинов 1 и 116 куриного лизоцима с большой вероятностью подходят на роль

Докинг глицина в кластерах аминокислотных остатков лизина и вне этих кластеров. Эффективная площадь выступа остатка лизина над поверхностью белковой глобулы

	Основные остатки аминокислот кластера	Площадь выступа, Å ²	Задействованные в связывании Gly остатки	–ΔG, ккал/моль
Куриный лизоцим	Lys1, Val2, Glu7, Asn39, Gln41, Leu84, Ser85, Ser86, Asp87	82,5	Arg14, Asp87	5,59
			Ala82, Asp87	5,32
			Glu7	5,01
	Lys13, Ala10, Arg14, His15, Gly16, Leu129	86,6	Arg128, Leu129	5,70
			Ala10, Leu129	5,27
			Leu129	5,21
	Lys33, Phe34, Asn37, Trp123	59,1	Phe34, Glu35	5,35
			Phe34, Arg114	5,29
	Lys96, Lys97, His15, Gly16, Tyr20, Leu75, Asn93, Cys94, Ser100, Asp101	142,1	Asp101, Asn103	6,00
			Asp101	5,36
			Lys97	5,33
			Trp63, Asp101	5,12
Lys116, Asn106, Arg112, Gly117, Thr118	86,6	Arg114, Thr118, Asp119	5,48	
		Arg112, Lys116	5,16	
		Arg114, Thr118	5,11	
Человеческий лизоцим	Lys1, Val2, Glu7, Arg41, Asp87	66,7	Arg41	4,95
			Arg41, Ile106	4,50
	Lys13, Arg10, Arg14, Gly16, Asp18, Gly129, Val130	84,6	Gln126, Gly127, Val130	5,47
			Gly127, Val130	5,43
			Asp18	5,34
			Gln126, Val130	5,21
			Val130	5,20
			Lys13, Gly129	5,15
			Arg14	5,14
			Arg14, Ile89	5,13
	Gly129	5,08		
	Lys33, Trp34, Gly37	63,8	–	–
Lys69, Tyr45, Arg50, Asp67, Gly68, Pro71	119,6	Arg50, Lys69	5,54	
Lys97, His15, Gly16, Tyr20, Leu75, Asn93, Cys94, Ser100, Asp101	37,8	Asp101	4,51	

Примечание. Для расчетов используем общедоступные ресурсы для ASA (Accessible Surface Area) – доступной площади поверхности остатков лизина [46, 47] и докинга глицина [48–55]. В таблице показаны позиции связывания глицина в кластерах аминокислотных остатков лизина на поверхности лизоцима с энергией взаимодействия не ниже 4,5 ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки, входящие в соответствующие кластеры. Обычным шрифтом показаны остатки, непосредственно не входящие в кластер, но участвующие в докинге данного лиганда.

участков с регуляторными центрами связывания глицина. Общий кластер среднереакционноспособного остатка 97 и малореакционноспособного остатка 96 куриного лизоцима имеет наибольшую площадь выступа и также способен связывать глицин, поэтому также может быть потенциальной областью связывания этого лиганда. Кластеры остатка лизина 13 куриного и человеческого лизоцима, вероятно, также могут претендовать на область регуляторного связывания глицина и область потенциальной точки иммобилизации, но вероятность этого очевидно меньше.

Заключение

В настоящей работе высказан ряд гипотез, которые могут объяснять те или иные феномены, касающиеся действия бактериолити-

ческих ферментов на живые бактериальные клетки. Наша дискуссия открыта для контрвоображений, так как в случае столь сложных биологических систем истина может быть не такой простой, как нам видится на первый взгляд. Отдельные идеи, касающиеся функционирования бактериолитических ферментов могут быть очень полезны при описании и других ферментов, также действующих на сложные полимерные субстраты. Более глубокое теоретическое и практическое понимание возможности активации антибактериального действия бактериолитических ферментов открывает новые возможности в разработке подходов для лечения в случае тяжелых бактериальных инфекций, включая антибиотикорезистентные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Strominger J. // *Nat. Immun.* 2007. Vol. 8. P. 1269 (<https://doi.org/10.1038/ni1207-1269>).
2. Delcour J., Ferain T., Deghorain M., Palumbo E., Hols P. // *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1999. Vol. 76. P. 159 (<https://doi.org/10.1023/A:1002089722581>).
3. Alcorlo M., Martínez-Caballero S., Molina R., Hermoso J.A. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2017. Vol. 44. P. 87 (<https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.01.001>).
4. Orlando M., Pucciarelli S., Lotti M. // *Mar. Drugs.* 2020. Vol. 18. N 11. P. 579 (<https://doi.org/10.3390/md18110579>).
5. Vermassen A., Leroy S., Talon R., Provot Ch., Popowska M., Desvaux M. // *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10. P. 331 (<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00331>).
6. Nelson D., Loomis L., Fischetti V.A. // *PNAS.* 2001. Vol. 98. N 7. P. 4107 (<https://doi.org/10.1073/pnas.061038398>).
7. Loeffler J. M., Djurkovic S., Fischetti V.A. // *Infect. Immun.* 2003. Vol. 71. N 11. P. 6199 (<https://doi.org/10.1128/8%2FIAI.71.11.6199-6204.2003>).
8. Fischetti V.A. // *Curr. Opin. Microbiol.* 2008. Vol. 11. N 5. P. 393 (<https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.09.012>).
9. Vollmer W., Joris B., Charlier P., Foster S. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2008. Vol. 32. P. 259 (<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00099.x>).
10. Кулаев И.С., Северин А.И., Абрамонкин Г.В. // *Вестн. АМН СССР.* 1984. № 8. С. 64.
11. Степная О.А., Ледова Л.А., Кулаев И.С. // *Биохимия.* 1993. Т. 58. № 10. С. 1523.
12. da Silva C.R., Silva M.L.C., Kamida H. M., Goes-Neto A., Koblitz M.G.B. // *Food Sci. Nutr.* 2014. Vol. 2. N 4. P. 299 (<https://doi.org/10.1002/fsn3.87>).
13. Kombrink A., Tayyrov A., Essig A., Stockli M., Micheller S., Hintze J., van Heuvel Y., Durig N., Lin C.-W., Kallio P.T., Aebi M., Kunzler M. // *ISME J.* 2019. Vol. 13. P. 588 (<https://doi.org/10.1038/s41396-018-0293-8>).
14. Шкаликов В.А. Иммуитет растений. М., 2005. 192 с.
15. Плотникова Л.Я. Иммуитет растений и селекция на устойчивость к болезням и вредителям. М., 2007. 359 с.
16. Weaver L.H., Grütter M.G., Remington S.J., Gray T.M., Isaacs N.W., Matthews B.W. // *J. Mol. Evol.* 1985. Vol. 21. P. 97 (<https://doi.org/10.1007/bf02100084>).
17. Lamrabet O., Jauslin T., Lima W. C., Leippe M., Cosson P. // *Dev. Comp. Immunol.* 2020. Vol. 107. 103645. (<https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103645>).
18. Nilsen I.W., Myrnes B., Edvardsen R.B., Chourrout D. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2003. Vol. 60. N 10. P. 2210 (<https://doi.org/10.1007/s00018-003-3252-z>).
19. Седов С.А., Белогурова Н.Г., Шиповсков С.В., Семёнова М.В., Гитинов М.М., Левашов А.В., Левашов П.А. // *Биоорг. хим.* 2012. Т. 38. № 3. С. 315. [Sedov S.A., Belogurova N.G., Shipovskov S.V., Semenova M.V., Gitinov M.M., Levashov A.V., Levashov P.A. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2012. Vol. 38. P. 274 (<https://doi.org/10.1134/S1068162012030132>).
20. Левашов П.А., Седов С.А., Белогурова Н.Г., Шиповсков С.В., Левашов А.В. // *Биохимия.* 2012. Т. 77. № 11. С. 1567 [Levashov P.A., Sedov S.A., Belogurova N.G., Levashov A.V. // *Biochemistry Moscow.* 2012. Vol. 77. P. 1312 (<https://doi.org/10.1134/S0006297912110107>).
21. Levashov P., Matolygina D., Ovchinnikova E., Ushakova D., Burmakin V., Cherdynseva T., Ereemeev N., Tishkov V., Levashov A. // *FEBS open Bio.* 2019. Vol. 9. N S1. P. 72 (<https://doi.org/10.1002/2211-5463.12675>).
22. Levashov P.A., Sedov S.A., Shipovskov S., Belogurova N.G., Levashov A.V. // *Anal. Chem.* 2010. Vol. 82. N 5. P. 2161 (<https://doi.org/10.1021/ac902978u>).
23. Левашов П.А., Матолыгина Д.А., Овчинникова Е.Д., Атрошенко Д.Л., Савин С.С., Белогурова Н.Г., Смирнов С.А., Тишков В.И., Левашов А.В. // *Acta Naturae.* 2017. Т.9. № 2. С. 87. [Levashov P.A., Matolygina D.A., Ovchinnikova E.D., Atroshenko D.L.,

- Savin S.S., Belogurova N.G., Smirnov S.A., Tishkov V.I., Levashov A.V. // *Acta Naturae*. 2017. Vol. 9. N 2. P. 82 (<https://doi.org/10.32607/20758251-2017-9-2-82-87>).
24. Иванов П.А., Соболева О.А., Смирнов С.А., Левашов П.А. // *Биоорг. химия*. 2015. Т. 43. № 3. С. 292. [Ivanov P.A., Soboleva O.A., Smirnov S.A., Levashov P.A. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2015. Vol. 41. P. 260 (<https://doi.org/10.1134/S1068162015020053>)].
25. Шнитко А.В., Чернышева М.Г., Смирнов С.А., Левашов П.А., Бадун Г.А. // *Вест. Моск. ун-та. Серия 2. Химия*. 2020. Т. 61. № 2. С. 114 [Shnitko A.V., Chernysheva, M.G., Smirnov S.A., Levashov P.A., Badun G.A. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2020. Vol. 75. P. 92 (<https://doi.org/10.3103/S0027131420020145>)].
26. Levashov P.A., Matolygina D.A., Ovchinnikova E.D., Adamova I.Yu., Gasanova D.A., Smirnov S.A., Nelyub V.A., Belogurova N.G., Tishkov V.I., Ereemeev N.L., Levashov A.V. // *FEBS Open Bio*. 2019. Vol. 9. N 3. P. 518 (<https://doi.org/10.1002/2211-5463.12591>).
27. Левашов П.А., Попов Д.В., Попова В.М., Жиленков Е.Л., Морозова О.А., Белогурова Н.Г., Седов С.А., Дятлов И.А., Клячко Н.Л., Левашов А.В. // *Биохимия*. 2010, Т. 75 (9), С. 1299 [Levashov P.A., Popov D.V., Porova V.M., Zhilenkov E.L., Morozova O.A., Belogurova N.G., Sedov S.A., Dyatlov I.A., Klyachko N.L., Levashov A.V. // *Biochemistry Moscow*. 2010. Vol. 75. P. 1160 (<https://doi.org/10.1134/S0006297910090105>)].
28. Lu W.-J., Smirnov S.A., Levashov P.A. // *BBRC*. 2021. Vol. 575. P. 73 (<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.08.060>).
29. Матолыгина Д.А., Душутина Н.С., Овчинникова Е.Д., Еремеев Н.Л., Белогурова Н.Г., Атрошенко Д.Л., Смирнов С.А., Савин С.С., Тишков В.И., Левашов А.В., Левашов П.А. // *Вестн. Моск. ун-та. Серия 2. Химия*. 2018. Т. 59. № 2. С. 125. [Matolygina D.A., Dushutina N.S., Ovchinnikova E.D., Ereemeev N.L., Belogurova N.G., Atroshenko D.L., Smirnov S.A., Savin S.S., Tishkov V.I., Levashov P.A. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* Vol. 73. P. 47 (<https://doi.org/10.3103/S0027131418020104>)].
30. Левашов П.А., Матолыгина Д.А., Осипова Е.Э., Савин С.С., Захарова Г.С., Гасанова Д.А., Белогурова Н.Г., Овчинникова Е.Д., Смирнов С.А., Тишков В.И., Левашов А.В. // *Вестн. Моск. ун-та. Серия 2. Химия*. Т. 56. № 6. С. 359 [Levashov, P.A., Matolygina, D.A., Osipova, H.E., Savin S.S., Zaharova G.S., Gasanova D.A., Belogurova N.G., Ovchinnikova E.D., Smirnov S.A., Tishkov V.I., Levashov A.V. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2015. Vol. 70. P. 287 (<https://doi.org/10.3103/S0027131415060048>)].
31. Матолыгина Д.А., Осипова Е.Э., Смирнов С.А., Белогурова Н.Г., Еремеев Н.Л., Тишков В.И., Левашов А.В., Левашов П.А. // *Вестн. Моск. ун-та. Серия 2. Химия*. Т. 56. № 6. С. 365 [Matolygina D.A., Osipova H.E., Smirnov S.A. Belogurova N.G., Ereemeev N.L., Tishkov V.I., Levashov A.V., Levashov P.A. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2015. Vol. 70. P. 292 (<https://doi.org/10.3103/S002713141506005X>)].
32. Растрига Н.В., Гасанова Д.А., Левашов П.А. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия*. 2023. Т. 64. № 2. С. 195 [Rastriga N.V., Gasanova D.A., Levashov P.A. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2023. Vol. 78. P. 89 (<https://doi.org/10.3103/S0027131423020074>)].
33. Березин И.В., Клесов А.А., Рабинович М.Л. // *Биоорг. химия*. 1976, Т. 2. № 5. С. 680.
34. Рабинович М.Л., Клесов А.А., Березин И.В. // *Биоорг. химия*. 1976. Т. 2. № 5. С. 689.
35. Sedov S.A., Belogurova N.G., Shipovskov S., Levashov A.V., Levashov P.A. // *Colloids Surf. B*. 2011. Vol. 88. N 1. P. 131 (<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.021>).
36. Левашов П.А., Овчинникова Е.Д., Морозова О.А., Матолыгина Д.А., Осипова Е.Э., Чердынцева Т.А., Савин С.С., Захарова Г.С., Алексеева А.А., Белогурова Н.Г., Смирнов С.А., Тишков В.И., Левашов А.В. // *Acta Naturae*. 2016. Т. 8. № 1. С. 98. [Levashov P.A., Ovchinnikova E.D., Morozova O.A., Matolygina D.A., Osipova Y.E., Cherdyntseva T.A., Savin S.S., Zakharova G.S., Alekseeva A.A., Belogurova N.G., Smirnov S.A., Tishkov V.I., Levashov A.V. // *Acta Naturae*. 2016. Vol. 8. N 1. P. 98 (<https://doi.org/10.32607/20758251-2016-8-1-98-102>)].
37. Goldstein L., Levin Y., Katchalski E. // *Biochemistry*. 1964. Vol. 3. P. 1913 (<https://doi.org/10.1021/bi00900a022>).
38. Daniel A., Euler C., Collin M., Chahales P., Gorelick K.J., Fischetti V.A. // *Antimicrob Agents Chemother*. 2010. Vol. 54. N 4. P. 1603 (<https://doi.org/10.1128%2FAAC.01625-09>).
39. Шнитко А.В., Чернышева М.Г., Левашов П.А., Бадун Г.А. // *Изв. Акад. наук. Сер. химическая*. 2021. Т. 70. № 7. С. 1400 [Shnitko A.V., Chernysheva, M.G., Levashov, P.A. Badun G.A. // *Russ. Chem. Bull.* 2021. Т. 70. P. 1400 (<https://doi.org/10.1007/s11172-021-3230-3>)].
40. Полторак О.М., Левашов П.А., Чухрай Е.С. // *Журнал физической химии*. 1995. Т. 69. № 3. С. 511.
41. Ragland S.A., Criss A.K. // *PLoS Pathog.* 2017. Vol. 13. e1006512 (<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006512>).
42. Rastriga N.V., Klimov D.A., Gasanova D.A., Levashov P.A. // *Process Biochem.* 2023. Vol. 125. P. 190 (<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.12.024>).
43. Rastriga N.V., Gasanova D.A., Smirnov S.A., Levashov P.A. // *BIO Web Conf.* 2023. Vol. 57. 02004 (<https://doi.org/10.1051/bioconf/20235702004>).
44. Patel A., Smith P.N., Russell A.J., Carmali Sh. // *bioRxiv*. 2022. Vol. 07. N 23. 501081 (<https://doi.org/10.1101/2022.07.23.501081>).
45. Levashov P.A., Matolygina D.A., Dmitrieva O.A., Ovchinnikova E.D., Adamova I.Yu., Karelina N.V., Nelyub V.A., Ereemeev N.L., Levashov A.V. // *Biotechnol. Rep.* 2019. Vol. 24. e00381 (<https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00381>).
46. <http://vadar.wishartlab.com>
47. Willard L., Ranjan A., Zhang H.Y., Monzavi H., Boyko R.F., Sykes B.D., Wishart D.S. // *Nucleic Acids Res.* 2003. Vol. 31. N 13. P. 3316 (<https://doi.org/10.1093/nar/gkg565>).

48. <http://swissdock.ch>
49. Procter J.B., Carstairs G.M., Soares D., Mourão R., Ofoegbu Ch.T., Barton D., Lui L., Menard A., Sherstnev N., Roldan-Martinez D., Duce S., Martin D.M.A., Barton G.J. // *Methods Mol. Biol.* 2021. Vol. 2231. P. 203 (https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1036-7_13).
50. Grosdidier A., Zoete V., Michielin O. // *Nucleic Acids Res.* 2011. Vol. 39. N S2. P. W270 (<https://doi.org/10.1093/nar/gkr366>).
51. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Meng E.C., Couch G.S., Croll T.I., Morris J.H., Ferrinet T.E. // *Protein Sci.* 2021. Vol. 30. P. 70 (<https://doi.org/10.1002/pro.3943>).
52. Eberhardt J., Santos-Martins D., Tillack A.F., Forli S. // *J. Chem. Inf. Model.* 2021. Vol. 61. P. 3891 (<https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>).
53. Irwin J.J., Shoichet B.K. // *J. Chem. Inf. Model.* 2005. Vol. 45. P. 177 (<https://doi.org/10.1021/ci049714>).
54. Awale M., Jin X., Reymond J.-L. // *J. Cheminform.* 2015. Vol. 7. N 3, P. 1 (<https://doi.org/10.1186/s13321-014-0051-5>).
55. O'Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G.R. // *J. Cheminform.* 2011. Vol. 3. N 33. P. 1 (<https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>).

Информация об авторах

Николай Владимирович Растрига – аспирант кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (nicolos@live.ru);

Николай Леонидович Еремеев – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, профессор, докт. хим. наук (eremeev@enzyme.chem.msu.ru);

Дмитрий Анатольевич Климов – вед. инженер кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (19m01dk@mail.chem.msu.ru);

Павел Андреевич Левашов – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (levashov@yahoo.com).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 11.09.2023;
одобрена после рецензирования 12.10.2023;
принята к публикации 14.10.2023.