

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-125-136>

Поступила 07.02.2024

Поступила после рецензирования 20.03.2024

Принята в печать 25.03.2024

© Полищук Е. К., Котенкова Е. А., 2024



<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭНЗИМОВ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ВЕЩЕСТВ С АНТИМИКРОБНОЙ НАПРАВЛЕННОСТЬЮ ДЕЙСТВИЯ ИЗ ОРГАНИЗМОВ *SUS SCROFA* И *BOS TAURUS*

Полищук Е. К.,* Котенкова Е. А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

антимикробные пептиды, трипсин, эластаза, коллагеназа, сайт расщепления, препропептид, биоинформатический анализ

Изучение антимикробных соединений животного происхождения, в частности антимикробных пептидов (АМП), является актуальной темой исследований в последнее время. Тем не менее извлечение эндогенных АМП является затруднительным процессом и требует применения принципов направленной энзиматической обработки на основании знаний о строении препропептидных молекул — предшественников АМП. В данной работе был проведен поиск присутствующих в организмах *Sus scrofa* и *Bos taurus* антимикробных пептидов, а также их предшественников с помощью баз данных The Antimicrobial Peptide Database и UniProtKB. В аминокислотных последовательностях препропептидов находили последовательность зрелого пептида и определяли сайты расщепления для трипсина, бактериальной коллагеназы (тип I) и нейтрофильной эластазы. По итогам поиска антимикробных соединений в базе данных The Antimicrobial Peptide Database было выявлено 18 антимикробных пептидов *Sus scrofa* и 40 антимикробных пептидов *Bos taurus*. Согласно результатам определения сайтов расщепления в предшественниках АМП, энзимы были распределены от менее предпочтительного к более предпочтительному для высвобождения АМП следующим образом: бактериальная коллагеназа (тип I) < трипсин < нейтрофильная эластаза. Такой порядок обоснован не только количеством подходящих сайтов расщепления и их точностью, но и действием ферментов внутри зрелых АМП: важно учитывать, что энзимы могут «разрезать» сами пептиды, снижая тем самым их антимикробную активность. Проведенный биоинформатический анализ применим как для осуществления первичного скрининга потенциала сырья, так и для определения подходящих энзимов с целью извлечения антимикробных соединений из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено в рамках темы НИР FGUS-2024–0003 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 07.02.2024

Accepted in revised 20.03.2024

Accepted for publication 25.03.2024

© Polishchuk E. K., Kotenkova E. A., 2024

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

PREDICTION OF ENZYME ACTION FOR EXTRACTION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES FROM *SUS SCROFA* AND *BOS TAURUS*

Ekaterina K. Polishchuk,* Elena A. Kotenkova

V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

antimicrobial peptides, trypsin, elastase, collagenase, cleavage site, prepropeptide, bioinformatic analysis

ABSTRACT

The study of antimicrobial compounds of animal origin, particularly antimicrobial peptides (AMPs), is a current research topic. However, extracting endogenous AMPs is a challenging process and requires the application of targeted enzymatic processing principles based on knowledge of the structure of prepropeptide molecules — precursors of AMPs. In this study, a search was conducted for antimicrobial peptides present in *Sus scrofa* and *Bos taurus* organisms, as well as their precursors, using The Antimicrobial Peptide Database and UniProtKB databases. In the amino acid sequences of prepropeptides, the sequences of the mature peptides were found, and cleavage sites for trypsin, bacterial collagenase (type I), and neutrophil elastase were determined. As a result of the search for antimicrobial compounds in The Antimicrobial Peptide Database, 18 antimicrobial peptides from *Sus scrofa* and 40 antimicrobial peptides from *Bos taurus* were identified. Based on the results of determining cleavage sites in AMP precursors, enzymes were ranked from less preferred to more preferred for AMP release as follows: bacterial collagenase (type I) < trypsin < neutrophil elastase. This order is justified not only by the number of suitable cleavage sites and their accuracy but also by the action of enzymes within mature AMPs: it is important to consider that enzymes can “cut” the peptides themselves, thereby reducing their antimicrobial activity. The bioinformatics analysis conducted is applicable for both primary screening of raw material potential and determining of suitable enzymes for extracting antimicrobial compounds from *Sus scrofa* and *Bos taurus* organisms.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2024–0003 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

История открытия веществ с противомикробными свойствами берет начало со второй половины XIX века, когда было обнаружено, что микроорганизмы ответственны за различные инфекционные заболевания, преследовавшие человечество с давних времен [1]. Первым противомикробным агентом в мире был сальварсан, средство от сифилиса, синтезированное в 1910 г. Эрлихом [2]. В 1935 г. Домагком и другими исследователями были разработаны сульфаниламиды. Эти препараты были синтетическими соединениями и имели ограниче-

ния с точки зрения безопасности и эффективности. В 1928 году Флеминг обнаружил, что рост *Staphylococcus aureus* подавляется в зоне, окружающей синюю плесень (гриб из рода *Penicillium*) в зараженных ей культуральных чашках, что привело к открытию антибиотиков, ингибирующих рост других микроорганизмов [1]. Антибиотик, названный пенициллином, начал применяться в клинической практике в 1940-х годах и возглавил эру антимикробной терапии, спасая жизни раненых во время Второй мировой войны. В течение последующих двух десятилетий один за другим разрабатывались новые

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Полищук Е. К., Котенкова Е. А. (2024). Прогнозирование действия энзимов для извлечения веществ с антимикробной направленностью действия из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*. *Пищевые системы*, 7(1), 125–136. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-125-136>

FOR CITATION: Polishchuk, E. K., Kotenkova, E. A. (2024). Prediction of enzyme action for extraction of antimicrobial substances from *Sus scrofa* and *Bos taurus*. *Food Systems*, 7(1), 125–136. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-125-136>

классы противомикробных препаратов, однако вскоре стало ясно, что микроорганизмы обладают способностью приобретать устойчивость к антимикробным агентам антибиотической природы. В связи с возросшей резистентностью микроорганизмов антимикробные вещества, ранее эффективные, больше не применяются или подвергаются модификациям. Ученые постоянно ведут поиски новых агентов с антимикробной направленностью действия, считая ключевыми критериями их отбора эффективность и безопасность, а также учитывая время и возможность возникновения резистентности к действующему веществу у микроорганизмов. Большой интерес у исследователей вызывают антимикробные пептиды (АМП), которые представляют собой небольшие поликатионные пептиды и являются основными факторами противомикробной защиты врожденного иммунитета множества живых организмов [3]. Основной механизм действия АМП заключается в нарушении целостности бактериальных клеточных мембран, также они участвуют в стимуляции иммунного ответа и в регуляции воспалительных процессов [4]. Было выявлено, что АМП ограничивают развитие устойчивости бактерий, по сравнению с другими антимикробными соединениями [4,5], что является большим преимуществом и позволяет рассматривать антимикробные пептиды как альтернативу традиционным антибиотикам.

Согласно анализу публикационной активности в базе данных Google Scholar, по запросу «antimicrobial peptide» за последние десять лет было опубликовано свыше 92 000 работ, а с начала 2023 года это число достигло более 17 700 публикаций. Коллективными усилиями многих исследователей на основе освоенных знаний в области антимикробных пептидов в 2003 году была разработана база данных The Antimicrobial Peptide Database [6]. К настоящему времени в ней насчитывается 3425 антимикробных пептида из шести царств: 385 бактериоцинов/пептидных антибиотиков — из бактерий, 5 — из архей, 8 — из протистов, 25 — из грибов, 368 — из растений и 2 489 — из животных, включая некоторые синтетические пептиды [6]. К 2024 году количество ресурсов, содержащих информацию об антимикробных пептидах различного происхождения, существенно возросло и составляет более 25 баз данных [7]. В настоящее время число ученых, исследующих антимикробные пептиды, довольно велико, как и диапазон объектов исследований.

Классифицировать АМП можно по многим признакам: по направленности действия (антибактериальные, инсектицидные, противогрибковые, противовирусные АМП), по физико-химическим свойствам (нейтральные, анионные, катионные), по размеру (крупные (50–100 аминокислотных остатков — а. о.), малые (10–24 а. о.), средние (25–50 а. о.) и т. д. [8]. Стоит отметить, что большинство изученных антимикробных пептидов млекопитающих являются компонентом врожденного иммунитета и были выделены из нейтрофильных гранулоцитов. В основном они синтезируются в виде предшественников — препептидных молекул, состоящих из N-концевой сигнальной последовательности (которая способствует нацеливанию на эндоплазматический ретикулум), просегмента и C-концевого катионного пептида. Последний, в свою очередь, демонстрирует антимикробную активность после отщепления от остальной части молекулы [8,9,10] посредством посттрансляционных модификаций. Препептид удерживает C-концевой пептид в неактивной форме до его дальнейшей обработки и подготовки к высвобождению, когда это необходимо.

Следует учитывать, что АМП могут быть токсичными для некоторых клеток и нормальной микрофлоры организма-хозяина при определенных условиях. Это говорит о том, что иммунитет организма-хозяина должен поддерживать тонкий баланс: АМП должны быть достаточно мощными, чтобы быстро ингибировать патогенные микроорганизмы, но не настолько, чтобы нарушать баланс микробиоты или повреждать ткани организма-хозяина [11]. По-видимому, именно это условие обеспечивает надежную «упаковку» пептида и нейтрализацию его активности до сигнала об «атаке» патогеном. Из-за потенциально вредного воздействия зрелых АМП на клеточные мембраны млекопитающих процессинг многих АМП также регулируется путем их хранения в секреторных гранулах [12].

Несмотря на актуальность изучения антимикробных пептидов в настоящее время, большей популярностью пользуются синтезы recombinant АМП с известной или биоинформатически вычисленной последовательностью, предназначенные для дальнейшего использования в качестве фармпрепаратов, пестицидов, пищевых консервантов и т. д. [13]. Данные технологии достаточно востребованы, хорошо воспроизводимы в отношении многих бактериоцинов, но имеют некоторые сложности при воспроизведении в отношении АМП млекопитающих, что обусловлено различиями между прокариотами и эукариотами. Анализ научных публикаций показал, что мно-

гие ученые озадачены вопросами поиска новых АМП, но лишь некоторые заинтересованы вопросами эффективного извлечения АМП из растительного сырья [14], насекомых [15], беспозвоночных [16].

Извлечение эндогенных антимикробных пептидов из эукариотических организмов посредством биотехнологических приемов представляет собой затруднительную задачу, которая требует решения. Стоит отметить, что принципы «направленной» энзиматической обработки для интенсификации извлечения АМП являются сложной и малоизученной областью исследований, однако довольно перспективной. В связи с этим целью настоящего исследования было прогнозирование действия энзимов для направленного извлечения антимикробных соединений на базе знаний о структуре их предшественников из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

2. Объекты и методы

Поиск аминокислотных (АК) последовательностей зрелых антимикробных соединений в организмах *Sus scrofa* и *Bos taurus* осуществлялся с использованием базы данных The Antimicrobial Peptide Database [6]. Для этого переходили во вкладку AMP Database Search и в графе Source Organism указывали *Sus scrofa/Bos taurus*. На странице каждого обнаруженного пептида копировали ID-номер пептида из графы SwissProt ID, который вставляли в строку поиска базы данных UniProtKB [17] для поиска АК-последовательности предшественника данного пептида. В случае, если ID-номер пептида в графе SwissProt не был указан, применялся инструмент Peptide Search (<https://www.uniprot.org/peptide-search>), позволяющий найти предшественник искомого АМП по аминокислотной последовательности последнего с учетом таксономии.

В качестве энзимов, расщепляющих аминокислотные последовательности препептидных молекул, рассматривали трипсин, бактериальную коллагеназу (тип I) и нейтрофильную эластазу, предпочтительные сайты расщепления для которых определяли посредством литературного поиска. В АК-последовательности препептидов находили последовательность зрелого пептида и выявляли сайты расщепления для каждого из энзимов. Для оценки среднего процентного содержания АК-остатков в АМП, которые должны присутствовать в сайтах расщепления в соответствии с литературными данными о протеолитическом действии отобранных энзимов, после определения списка АК-последовательностей зрелых антимикробных соединений для *Sus scrofa* и *Bos taurus* в базе данных The Antimicrobial Peptide Database [6] внизу списка переходили во вкладку Select all and see sequence statistical data.

3. Результаты и обсуждение

По итогам поиска антимикробных соединений в базе данных The Antimicrobial Peptide Database [6] было выявлено 18 антимикробных пептидов *Sus scrofa* и 40 антимикробных пептидов *Bos taurus*. Результаты определения сайтов расщепления в препептидных предшественниках АМП для трипсина, эластазы и коллагеназы представлены в Таблицах 1, 2 и 3 соответственно.

Трипсин представляет собой сериновую протеазу, вырабатываемую поджелудочной железой. Этот фермент преимущественно гидролизует связи аминокислотных остатков лизина и аргинина (Arg (R) -|- Xaa (нейтральная аминокислота), Lys (K) -|- Xaa) на C-концевой стороне белка (Рисунок 1) [18,19,20].

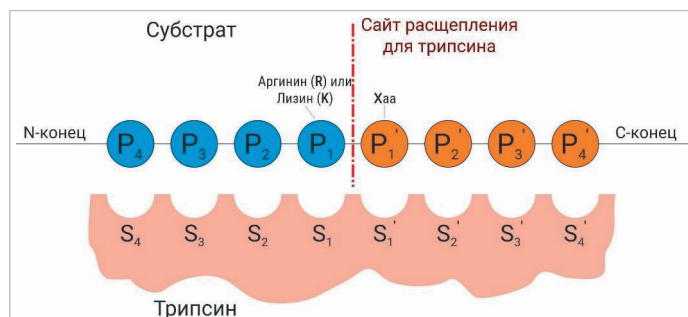


Рисунок 1. Предпочтительный сайт расщепления для трипсина

Figure 1. Preferred cleavage site for trypsin

Примечание: сайты узнавания субстрата пронумерованы S_1-S_n в направлении N-конца субстрата и $S'_1-S'_n$ в направлении C-конца. Аминокислотные остатки субстрата пронумерованы P_1-P_n и $P'_1-P'_n$ соответственно. Нумерация начинается с разрезаемой связи.

Note: The substrate binding sites downstream of the cleavage site are numbered S_1-S_n towards the N-terminus of the substrate and $S'_1-S'_n$ towards the C-terminus. The substrate residues are numbered P_1-P_n and $P'_1-P'_n$ respectively. The numbering starts at the scissile bond.

Таблица 1. Действие трипсина на препропептидные предшественники некоторых АМП
Table 1. Action of trypsin on prepropeptide precursors of some AMPs

№	Название зрелого АМП	Сайты расщепления
<i>Sus scrofa</i>		
1.	Протегрин-1	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL ALVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITCNEVQGV R GG R LCY C RR R FCVCVGR G
2.	Протегрин-2	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL ALVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITCNEVQGV R GG R LCY C RR R FCICV G
3.	Протегрин-3	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL ALVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITCNEVQGV R GG R LCY C RR R FCVCVGR G
4.	Протегрин-4	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL ALVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITCNEVQGV R GG R LCY C RG W ICFCVGR G
5.	Протегрин-5	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL GLVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITCNEVQGV R GG R LCY C RP R FCVCVGR G
6.	PMAP-23	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL GLVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTL K IRGNF DITC N LQSV R IID L L W RV R R P K PIVTV W VR
7.	PMAP-36	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL GLVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTW R PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLNPSNDPL DINC E IQSV G FR R RL R KK T R KRL K KIG V L KWIPPIV G S I PLG C G
8.	PMAP-37	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL ALVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTW R PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITC N EIQSV G LL S RL R D F L S D R GR L GE K I ERIG Q K I K D L SE F F Q S
9.	PR-39	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL GLVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLNPSI H SL DISC N EIQSV R RR P PP P Y L P R PR P PP F FP P R LP P RI P PG F P PR F PP R FP G K R
10.	Свиной НК-лизин	PGLAFSG L TP EHSALA R AHP CDGEQFCQ N L APEDPQGD Q L LQ R EEL G LIC E SCR K HI Q L EDMVGPQ P NE DTVTQAAS R V C D K M K IL R GV C KKIM R T F LR R ISKDIL T G K K PQAICVD I K I CK E KT G LI
11.	Профенин-1	LLLLALVVP S ASAQALS Y RE AV L RAVD R LN EQSSEANLY R LLELDQPP K A DEDPGTP K PV SFTV K ETVCP R PT R Q P PELC DFKENG R V K Q CVGTVTLDQ I K DPLDITC N E G VR R FP W W P FLRR P RL R RQ A FP P PNV P GP R FP P PN F GP R FP P PN F GP R FP P PN F GP R FP P PN F GP P FP P PI F GP W FP P PP P FR P P FP P PP R FP G R R
12.	Профенин-2	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL ALVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR R PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLDQ I KDPL DITCNEGV R R F WW W PF L RR P RL R RQ A FP P P NV P GP R FP P P NV P GP R FP P P N F GP R FP P P N F GP R FP P P N F GP P FP P P IF P GP W FP P P PP F RP P FP G P PR F PG R R
13.	Буфорин-1 (гистон H2A)	A GRG K QGG K V R AKAK T SS R A GLQFPVGRV H RL R K G NY
14.	Лизоцим свиной	MKTLLVL A LL LLSVS V QA K V YD R CE F AR L K KSGMDGY R G V SLANWV C LA K WESDFNT K A I NHNVG S TDY G IFQINS R Y W C NDG K TP K AV N ACHIS C K V L L DDDL S QDIE C AK R V V RD P L G V K AWVA W RA H CQNKD V SQY I R G CK L
15.	Пептид 3910	R AD T Q T YQ P Y N KD W IE K E K IY V LL R RQ A Q Q A G K
16.	SP-B	MLPILLS V AL LALSS A SP F FDLEDAN S NS AE K FL R PP P G G PP R PP P PE E SQGE G HQ K R P RP P GD G PEQ G P A PP G AR P P GP P PP P GP P P GP A PP G AR P P PG P PP P GP P P PG P APP G AR P PP G PP P GP R PP P GP P PP P PP P GP A PP G A RP P PP P GP P G PP P PG P AP P G AR P PP P GP P P GP P PP P GP P P GAR P PP P GP P GP P PP P GP P P PG P PP P GP P A PP G AR P PP G P PPL G PP P GP P APP G AR P PP G PP P PG P PP G P A PP G AR P P GP P PP P GP P GP A PP G AR P P PG P PP P GP P P PG P APP G AR P PP G PP P GP P PP G PAPP G A R PP P GP P PP P PP P GPAPP A RP P PG P PP G PP P PG P AP P G AR P PP P GP P P GP P PP P GP P P GA R PP P PP P PADEPQ Q GP A PSGD K PK K K P PP P AG P PP G PPSG P AP P G AR P PP P GP P GP P PP P GP P P GA R PP P GP P PG P PP P GP A P PG A RP P GP P PP P PP P GP A PP G AR P PP P PP P GP P PP P APP G AR P PP G PP P GP P PP G P A PP G AR P P GP P PP P GP P GP A PP G AR P PG P PP P GP P PG P APP G AR P PP P PP P GP P PP P GPAPP G R PP P GP P PP P PP P GPAPP G A RP P PG P PP P PG S PP R P P GP P PQ
17.	SP-E	MLPILLS V AL LALSS A SP F FDLEDAN S NS AE K FL R PP P G G PP R PP P PE E SQGE G HQ K R P RP P GD G PEQ G P A PP G AR P P GP P PP P GP P P GP A PP G AR P P PG P PP P GP P PG A PP G AR P PP P PP P GP P PP G PAPP G A R PP P GP P PPA G LQ Q GP A PS H VG P K K K P P P GAG H PP R PP P PANESQ P GP R PP P GP P SP A ND S QEG S PS A DGPQ Q GP A P S GD K PK K K P P PAG P PP P PP P PP P PP P GP A PP G AR P PP P PP P GP P PP P APP G AR P PP G PP P GP P PP G P A PP P GP A R PP P GP P PP P PP P GPAPP A RP P GP P PP P PP P GPAPP A RP P GP P PP G PP P PG P AP G AR P PP P GP P GP P PP P GP P GP P PP P GP P GA R PP P GP P GA R PP P GP P PP P PP P GP A PP G AR P PP P PP P GP P PP P APP G AR P PP P PP P PP P GP Q GP A PSGD K P K K K PP P AG P PP P PP P G
18.	PR-35	METQ R ASLCL GRWSLWLLLL GLVVP S ASAQ ALSY R EAVLR AV D RLNEQSS EANLY R LLEL DQPP K ADEDP GTP K PVSFTV KETVC P RPTR Q P PELCDFKE NGR V KQCVGT VTLNPSI H SL DISC N EIQSV R RR P PP P Y L P R PR P PP F FP P R LP P RI P PG F P PR F PP R FP G K R
<i>Bos taurus</i>		
1.	Бактенецин	MET P RA S LSL GRWSLWLLLL GLAL P SASAQ ALSY R EAVLR AV D Q L NEQSS EP N IY R LLEL DQPPQDDEDP D SP K R V SFRV KETVCS R TTQ Q P PEQCD F KE NGL L K R CEGT VTLDQ V R G NF DITC N NH Q SI R IT K Q P WAPP Q AAR L C R IVV I RV C R
2.	Бактенецин-5	METQ R ASLSL G RCSLWLLLL GLV L PSASAQ ALSY R EAVLR AV D Q F NER S S EANLY R LLEL DPT N DDLD P G TR K PVSFRV KETDC P RT S Q Q P LEQCD F KE NGL V KQCVGT VTLDPSNDQ F DINC N ELQSV R FR P PI R RP I RP P FYPP F R P PI R PI F FP I RP P FR P LG P FP G R
3.	Бактенецин-7	METQ R ASLSL GRWSLWLLLL GLV L PSASAQ ALSY R EAVLR AV D R I NER S S EANLY R LLEL D P PP K DVED R G ARK P TSFTV KETVC P RT S Q Q P PEQCD F KE NGL V KQCVGT ITLDQSD D LF DLNC N ELQSV R RI R PR P RL P RPR P RL P F P RP G PR P IP R P LP F PR P GR P IP R PL F PR P GR P IP R L
4.	Лактоферрицин-В	M K L F V P ALLS LGALGLCLAA P RKN V RWCTI SQ E W F K C RR W Q W RM K LG A P SITCV R RA F A LECIRA I AE K KADAV T LDG G MV F EAG R DP Y KLR P VAAEI YGT K ESP T H Y YAVAV V K G S NFQ L DQ L Q G R K S CH T GL G R S AGW I PM G I L RPYLS W TES L EP L Q G AV A K F FSAS C V P CI D RQAY P N L CQ L CK G E G EN Q C A CS S RE P Y F G Y S G AF K CLQ D G AGD V AF V KE T TVFEN L PE K A DRDQY E LLC L NNSRAP V DA F KE C HLA Q VP S HAVAR S VD G KED L W K IL S KAQ E K F G N K S R S F QL F GS P PGQ R DL L FK D SAL G FL R IP S KVDSALY L G S RYLT T L K NL R ETA E EV K AR Y TRV V WCA V G P EEQ K K C Q W S Q S GQ N V T C A TAST D DC I V LV L K E ADA L NLDG G Y I Y T A G K CGL V P V L A EN R K S SK S H S LD C VL R P T E G YLAVAV V K A NEGL T W N SL K D K S C H T AV D RTAGW N IP M G LIV N Q T G S C A FDE F FSQ S C A P G AD P K S RL C ALCAG D DQ G L D K CV N SK E K Y G Y T GA F R C LAED V GD V A F V K ND T V V EN T NGESTAD W A K N L N R ED F RL L CLDGT R K P V T EALC S CH L AV A PN H AV S R D RA H V K Q V L L HQ Q AL F G K N G K N CPD K FL F K S ET K N L LF N D N TECLA K L G GR P TY E EY L G TEY V TA I AN L K K C S T S PL E ACA F LT R
5.	Бета-дефензин 1	M RL H LL L AL L FV V LSAG S G I S D FAS C HT N G GIC L PN R CP G HMIQ I G I C R PR V K C RS W

Примечание: желтым и зеленым отмечены зрелые антимикробные пептиды, красным — сайты действия фермента.

Таблица 2. Действие эластазы на препропептидные предшественники некоторых АМП
Table 2. Action of elastase on prepropeptide precursors of some AMPs

№	Название зрелого АМП	Сайты расщепления
<i>Sus scrofa</i>		
1.	Протегрин-1	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNE VQGV RGGRLCYCRR RFCVCVGRG
2.	Протегрин-2	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNE VQGV RGGRLCYCRR RFCICVG
3.	Протегрин-3	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNE VQGV RGGRLCYCRR RFCVCVGRG
4.	Протегрин-4	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNE VQGV RGGRLCYCRG WICFCVGRG
5.	Протегрин-5	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL GLV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNE VQGV RGGRLCYCRP RFCVCVGRG
6.	PMAP-23	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL GLV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLKEIRGNF DITCNQLQSV RIDLLWRVR RPOKPKFVTV WVR
7.	PMAP-36	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL GLV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTW RPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLNPSNDPL DINCDEIQS VGRFRRLRKKT RKRLKKIGK V LKWIPPIVGS IPLGCG
8.	PMAP-37	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTW RPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNEIQSV GLLSRLRDL SDRGRRLGEK IERIGQIKD LSEFFQS
9.	PR-39	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL GLV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLNPSIHSI DISCNEIQSV RRRPPPPYLP RPRPPPFPP RLPPRIPPGF PPRFPPRFP G KR
10.	Свиной NK-лизин	PGL AF SGLTP EHS ALARA HP CDGEQFCQNL APED PQGDQL LQREEL GLIC ESCRKIIQKL EDM VGP QPNEDT DTVTQAASRV CDKMILRGV CKKIMRTFLR RISKDILT GK KPAICVDIK IC KEKTGLI
11.	Профенин-1	LLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV DFKENG RVKQ CVGT VT LDQI KDPLDITCNE GVR FPWWWP FLRRPRLRRQ AFPPPNVGP RFP PNFPGP RFP PNFPGP RFP PNFPGP RFP PNFPGP PFP PIFPGP WF PPPPFPP PP FGPPFP RR
12.	Профенин-2	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL ALV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR RPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLDQIKDPL DITCNE VQGV FWWWPFLRR PRLRRQAFPP PNV GPFPFP PNV GPFPFP PNF GPFPFP PNF GPFPFP PNF GPFPFP PIF GPWFPP PPF RPFPFP PPR FPFPFP PPR FPFPFP
13.	Буфорин-1 (гистон H2A)	AGRGKQGGKV RAKAKTRSSR AGLQFPVGRV HRLLRKGNV
14.	Лизоцим свиной	MKTL VL ALL LLS VS VQAKV YDRCE FAR IL KKS GM DGYRG VS L AN W V CLA KW ESD ENT KA IN HN VG STDY GIF QINSRYW CND GKTP KAV NACH ISCK VL LDD LSQDIE CAK R V RDPL GK AW V AWRA HC QNKD VS QY IR GCKL
15.	Пептид 3910	RAD TQTYQPY NKD WIK EKIY VLLRRQAQA GK
16.	SP-B	MLPILLS VAL LALSSARSPF FDLED ANS NS AEK FLRPPPG GGPRPPPE ESQEGHQKR PRPPGDGPEQ GP AP PGARPP PGPPPPGPP PG P AP PGAR P PGPPPPGPP PG P AP PGAR P PPPGPPPGP PPPG P AP GA R PPPGPPPGP PPPG P AP PG ARPPPGPPPG GPPPPG P AP GAR PPPGPP PGPPPPG P AP PGAR PPPGP PGPPPPG P AP PGAR PPPGP PGPPPPG P AP AP PGAR PPG PPLGPPPGP PAP PGARPP GPPPPGPPPG GP AP PGARPP PGPPPGPPPG PGP AP PGAR P PGPPPGPPPG PG P AP PGAR P PGPPPPPGP PGPP P AP GA R RPPPGPPPG PPPPG P AP PG ARPPPGPPPG GPPPGPPPG GPPPG P AP PG PGPPPG P AP PGAR PPPPPG PPADE PQQGP APSG DKPKKK PPP P AGPPPP GPPSPG P AP GAR PPPGPP PGPPPG P AP PGAR PPPGP PGPPPPG P AP PPGAR PPPG PPPGPPPGP APGAR PPPG PPPGPPPG PAPGAR PPPG GPPPGPPPG GPAP PGARPP PGPPPGPPPG PGP AP PGAR P PGPPPGPPPG PGP AP PGAR P PPPGPPPGP PPG AP PGAR P RPPPGPPPG PPPPG P AP PG ARPPPGPPPG PPGSPRRP PGPPPG
17.	SP-E	MLPILLS VAL LALSSARSPF FDLED ANS NS AEK FLRPPPG GGPRPPPE ESQEGHQKR PRPPGDGPEQ GP AP PGARPP PGPPPPGPP PG P AP PGAR P PGPPPPGPP PG P AP PGAR P PPPGPPPGP PPPG P AP GA R PPPGPPPPA GGL QGG APS H VGP KKKPP PGAGHPRP PPANESQGP RPPPGPPSP AND SQEGSP ADG PQGG PAP SGDK PKKKPP PPAG PPPPPG PPPG PPPPPG APPGAR PPPG PPPPGPPPG PAPGAR PPPG GPPPGPPPG GP AP AP PGA R PPPGPPPG PPPPG P AP PG ARPPGPPPG PPPPG P AP PG ARPPPGPPPG GPPPG P AP PG GARPPPGPP PGPPPG P AP PGAR PPTGP PGPPPG P AP PPGARPPPG PPPGPPPGP APGAR PPPG PPPGPPPG PAPGAR PPPG PPP P ADEPQ QGP AP SGDKP KKKPPPG AP PPPPPPPG
18.	PR-35	METQ RAS LCL GRWSLWLLLL GLV VP SASAQ ALSY REAVLR AV DRL NEQSS EAN LYRLEL DQPP KADE DP GTPKP VSFTV KET VC PRPTR QPEL CD FKE NGR VK QCVGT VTLNPSIHSI DISCNEIQSV RRRPPPPYLP RPRPPPFPP RLPPRIPPGF PPRFPPRFP G KR
<i>Bos taurus</i>		
1.	Бактенецин	METPRASLSL GRWSLWLLLL GLAL PS ASAQ ALSY REAVLR AV D QLNEQSS EPNIYRLEL DQPPQDDEDP DSPKR VSFRV KET VC SRTTQ QPPEQCD FKE NGL LK RCEGT VTLDQ VR GNF DITC NN HQSI RITKQPW APP QAARLCRI VV IRVCR
2.	Бактенецин-5	METQ RAS LSL GRCSLWLLLL GLVL PS ASAQ ALSY REAVLR AV D QFNERSS EAN LYRLEL DPTPNDDLD P GTRKP VSFRV KETDCPRT SQ QPLEQCD FKE NGL VK QCVGT VTLDPSNDQF DINCNE LQSV RFRPP IRRP IRPP FYPFR PIR PIFPP IRPP FRPPLG PFP GRR
3.	Бактенецин-7	METQ RAS LSL GRWSLWLLLL GLVL PS ASAQ ALSY REAVLR AV D RINERSS EAN LYRLEL DPPP KD VEDR GARKPTSFTV KET VC PRTSP QPPEQCD FKE NGL VK QCVGT ITLDQSDDLF DLNCNE LQSV RRIR PRPRL PRPR PLPF PRGP PIPR PLP FRPGPR PIR PLPFPR PGPR PIPR
4.	Лактоферрицин-В	MKLFVPALLS LG ALGL CLAA PRKNVRWCTI SQEW FK CR WQWR MKKLGA PSITC VRRA F ALE CIRAI AE KKAD AVTLDG GM VF EAGRD P YKL RP VAAEI YG TK ESQ TH YY AV AVV KKG SN FQ LDQ LQ G RK SCH TGLGR SAG WI PM GI LRPYLSW TES LE PLQ GA VA K FFS AS CV PI DRQ AY PN L CQ LCKGEGEN QC AC SSRE PY FG YS GA FK CLQD GAGD VA FK E TT VFEN LPEK AD R DQY ELL C LN NS RA P VD A FKE CH LA Q VP SHAV VA RS VD GK ED LI W KL L SKA Q EK FG KN KSR S FQ LF GS PP Q R DL LF K DS AL G FL RP SK VD S ALY L G SRY L TL KNL RE TA EV VK R YTR V WC AV G PEE Q K Q CV W SQ SGQ N VC AT AS TT DD CI VL VL KGE AD A LN LDG GY IT AG K CL VP VL AEN R KS SK S SLD CV LR PT E GY LA VV V KK AN EGL TW NSL KD KS CH TA V DRT AG WN IP M GL IV N Q TG SC AF DE FF SQ SC AP GA D PK SRL CA LCAG DD Q G LD K CV PN S R KY GY TG AF R CL AE D VG D VA FK KN DT V W EN TNG EST AD WA KN LN RE DF RL LCL D GT R K PV TEA Q S CH LA V AP N H AV VS RS DR AA HV K Q VL LH Q Q AL FG KN GK NC PD K FL FK SE T KN L N DN TE CL AK L GGR PT Y E YL GTE V TA IAN LK K CS TP LL EACA FL TR
5.	Бета-дефенсин 1	MRLHLL LL AL LF V LS AGSG IS DF AS CH TN GG IC LP NRCP GH MIQ IG IC F RPR V K CCRSW
6.	Бета-дефенсин 2	MRLHLL LL AL LF V LS AGSG FT Q G VR N H VT CR INRG F C VP IR CPGR TR Q I GTC FG PR IC S CR SW
7.	Бета-дефенсин 3	LALL FL V LS A GS GT Q G VR N H VT CR INRG F C VP IR CPGR T RQ IG T CF G PR IK CCRSW

Примечание: желтым и зеленым отмечены зрелые антимикробные пептиды, красным — сайты действия фермента.

Таблица 3. Действие коллагеназы на препропептидные предшественники некоторых АМП

Table 3. Action of collagenase on prepeptide precursors of some AMPs

[illegible]

№	Название зрелого АМП	Сайты расщепления
6.	Бета-дефенсин 2	MRLHLLLLL LFLVLSAGSG FTQGVVRNHVT CRINRGFCVP IRCPGTRTROI GTCFGPRIKC CRSW
7.	Бета-дефенсин 3	LALLFLVLSA GSGFTQGVRN HVTICRINRGF CVPIRCPGRT RQIGTCFGPR IKCCRSW
8.	Бета-дефенсин 4	MRLHLLLLAV LFLVLSAGSG FTQVRNPQS CRWNMGVCIP FLCRVGMROI GTCFGPRVPC CRR
9.	Бета-дефенсин 5	MRLHLLLLLV LFLVLSAGSG FTQVVRNPQS CRWNMGVCIP ISCPGNMRI GTCFGPRVPC CRRW
10.	Бета-дефенсин 6	QGVNRHVTCR IYGGFCVIP CPGRTRQIGT CFGRPVKCCR RW
11.	Бета-дефенсин 7	MRLHLLLLL LFLVLSAGSG FTQVRNFVT CRINRGFCVP IRCPGHRRQI GTCLGPRIKC CR
12.	Бета-дефенсин 8	MRLHLLLLL LFLVLSAGSG FTQCVRNFVT CRINRGFCVP IRCPGHRRQI GTCLGPQIKC CR
13.	Бета-дефенсин 9	LALLFLVLSA GSGFTQGVRN FVTCRINRGF CVPIRCPGHR RQIGTCLAPQ IKCCR
14.	Бета-дефенсин 10	MRLHLLLLLL LLVVLSGSG FTQGVRSYLS CWGNRGICLL NRCPGRMROI GTCLAPRVKCR CR
15.	Бета-дефенсин 11	MRLHLLLLL LFLVLSAGSG ISGPLSCRRN GGVCIPIRCP GPMROI GTCF GRPVKCCRSW
16.	Бета-дефенсин 12	MRLHLLLLL LFLVLSAASG ISGPLSCGRN GGVCIPIRCP VPMROI GTCF GRPVKCCRSW
17.	Бета-дефенсин 13	MRLHLLLLL LFLVLSAASG ISGPLSCGRN GGVCIPIRCP VPMROI GTCF GRPVKCCRSW
18.	Индолизидин	MQTQRASLSL GRWSLWLLL GLVPSASAQ ALSYREAVLR AVDQLNELSS EANLYRLEL DPPPKDNEDL GTRKPVSFTV KETVCPRTIQ QPAEQCDFKE KGRVQCQCVGT VTLDPSNDQF DLNCNELQSV ILPWKWPPWWP WRRG
19.	Семиналплазмин	MMAGRRSWPA MATVLLALLV CLGELVDSKP QPSDEKASPDK KHHRFSLSR Y AKLANRLANP KLETFLSKW IGDRGNRSVK
20.	Антимикробный пептид трахеи	MRLHLLLLL LFLVLSAWSG FTQGVGNPVS CVRNKGICVP IRCPGSMKOI GTCVGRAVKC CRKK
21.	BMAP-27	METQRASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVFSR VKETVCPRTS QQPAEQCDFK ENGLVKQCVG TVTLDAVKGR INVTCCELOS VGRFKFRKK FKLKFKLSP VIPLHLHG
22.	BMAP-28	METQRASLSL GRWSLWLLL GLALPSASAQ ALSYREAVLR AVDQLNEKSS EANLYRLEL DPPPKEDDEN PNIPKPVFSR VKETVCPRTS QOSPEQCDFK ENGLKECVG TVTLDOVGSN FDITCAVPQS VGGLRSLGRK ILRAWKKYGP IIVPIIRIG
23.	BMAP-34	METQRASFSL GRSSLWLLL GLVVPASAQ DLSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLEL DPPPEQDVEH PGARKPVST VKETVCPRTT PQPEQCDFK ENGLVKQCVG TVTRYWIRGD FDITCNNIS AGLFRRLRDS IRRGOQKILE KARRIGERIK DIFRG
24.	Лингвальный антимикробный пептид	MRLHLLLLL LFLVLSAGSG FTQGVVRNSQS CRRNKGICVP IRCPGSMROI GTCLGAQVKC CRRK
25.	Хромбацин	AAEFDPFDYDSEEQMGP HQEA EDEKDRADQ RVLTTEEKKEL ENLAAMDLELOKIAEKF SQR
26.	Энкелитин	MARFLGLCTW LLALGPGLLA TVRAECSDC ATCSYRLARP TDLNPLACTL ECEGLPSLK TWETCKELLQ LTKLELPDDA TSALSKEES HLLAKKYGGF MKRYGGFMKK MDELYPLEVE EEANGGEVLG KRYGGFMKKD AEEDDGLGNS SNLLKELLGA GDQREGSLHQ EGSDAEDVSK RYGGMRLK RSPHLED ET ELQKRYGGFM RRVGRPEWWM DYQKRYGGFL KRFAEPLPSE EEGESYSKEV PEMEKRYGGF MRF
27.	TAP 20N	NPVSCVRNKGICVPIRCPGNMKOIGTCVGRAVKCCRKK
28.	Секретолитин	MQPAALLGLL GATVVAVSS MPVDIRNHNE EVVTHCHIEV LSNALLKSSA PPITPECROV LKNGKELKN EEKENENTR FEVRLLRDPA DTSEAPGLSS REDSGEGDAQ VPTVADTESG GHSRERAGE PGSQVAKEAK TRYSKSEGQN REEMVKYQK RERGEVGSSE LSESGKAQ TAFLNQRNQ PAKKEILVSR YDTQSARGLE KSHSRERSQ ESGETKSQE NWPQELQRHP EGQEPAGESE EDASPEVDKR HSRPRHHHGR SRPDRSSQEG NPPLLEESHV GTGNSDEEKA RHPAHFRALE EGAEGEEVR RHSAAQAPGD LQGARFGGRG RGEHQALRRP SEELSEQENK RHGLSPDLNM AQGYSESEE ERGPAGPSY RARGGAAA Y STLQQTDEKR FLGETHHRV ESORDKARR LPGELRNYLD YGEEKGEEA RGKWOQODP RADENREEA RLKGQYAPH HITEKRLGEL LNPFYDPSQW KSSRFERKDP MDDSFLEGEE ENGLTLNEKN FFPEYNIDWW EKPKFEEDVN WGYEKNRPVP KLCLKROYDR VAELDQLLHY RKKAEPDF YDSEEQMSQP HTAEENEKA GQGVLTTEE KELENLAAMD LELOKIAEKF SGTRRG
29.	Хромацин	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNPMNKGDТ EVMKCIVEVI SDTL SKPSPM PVSKCEFTEL RGDERILSIL RHONLLKELO DLALOGAKER THOQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAE PKEV TEEVSSKDAA EKRD DFKEVE KSDESDGDR PQASPLGPG PKVEDNQAP GEEEEAPSNA HPLASLSPK YPGPQAKEDS EGPSQPASR EGLSAEQGR QTEREEEEEE WEEAEAREKA VP EESSPTTA AFKPPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMGA EEAKPPEGKG EWAHSRQEEE EMARAPQVLF RGGKS GEPEQ EEQLSKEWED AKRW SKMDQL AKELTAEKRL EEEEEEEEDP DRSMRLSFRA RGYGFRGPGL QLRRGWRPN S REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQLESLS AIEAELEKVA HQLEELRRG
30.	Вазостатин-1	MRSAAVLALL LCAGQVIALP VNPMNKGDТ EVMKCIVEVI SDTL SKPSPM PVSKCEFTEL RGDERILSIL RHONLLKELO DLALOGAKER THOQKKHSSY EDELSEVLEK PNDQAE PKEV TEEVSSKDAA EKRD DFKEVE KSDESDGDR PQASPLGPG PKVEDNQAP GEEEEAPSNA HPLASLSPK YPGPQAKEDS EGPSQPASR EGLSAEQGR QTEREEEEEE WEEAEAREKA VP EESSPTTA AFKPPPSLGN KETQRAAPGW PEDGAGKMGA EEAKPPEGKG EWAHSRQEEE EMARAPQVLF RGGKS GEPEQ EEQLSKEWED AKRW SKMDQL AKELTAEKRL EEEEEEEEDP DRSMRLSFRA RGYGFRGPGL QLRRGWRPN S REDSVEAGLP LQVRGYPEEK KEEEGSANRR PEDQLESLS AIEAELEKVA HQLEELRRG
31.	Говяжий ингибитор трипсина из поджелудочной железы	MKMSRLCLSV ALLVLLGTLA ASTPGCDTSN QAKAQRPDFC LEPPYTGPCK ARHRYFYNA KAGLCQTFVY GGCRAKRNNF KSAEDCMRTC GGAIGPWENL
32.	Казиодин-2	MKFIFTCLLAVALAKNTMEHVSSESIESIQETYKQEKMAINP SKENLCSTFCKEVVRNANE EYESIGSSSES EA EVATEEVKITV DDKH YQKALNEINQFYQKFPQYLQYLYQGPIVLNPWDQVKRNAVPIPTPLNRELSTSEENSKKTVDMESTEVF TKKTKLTEEEK NRLNFLKKS IQRYQKFALPOYLKVYQHOKAMKPWIQPKTKVIPYVRYL
33.	Буфорин-1 (гистон H2A)	AGRLKGQGGK V RAKAKTRSSR AGLOFPVGRV HRLLRKGN Y
34.	Гистон H2B	MPEPSKSAV PPKGSKKA VT KAQKDGKKR KRSRKESYSV YVYVKLQVH PDTGISSKAM GNMNSFVNDI FERIAGEASR LAHYNKRSTI TSREIQTAVR LLPGELAKH AVSEGTKAVT KYTSSK
35.	Гистон H3	MARTKQTARK STGGKAPRKQ LATKAARKSA PATGGVKPH RYRPGTV ALR EIIRYQKSTE LLIRKL PFQR LVREIAQDFK TDLRFQSSAV MALQACEAY LVGLFEDTNL CAIHAKRVTI MPKDIQLARR IRGERA
36.	Гистон H4	MSGRGKGKGLGKGAKRH RKLVDNIQGITKPAIRRLARRGGVKRISGLIYEETR GVLIKFI LENVIRD AVTYTEHARRKTVTAMD VVYALKRQGR TYLGFGG
37.	P3 (остатки гемоглобина 97-114)	MVLSAADKGNVKA AWGKVG GHAAEY GA EALERMF LSFFT KT KYFPHFDLSHGSAQVKG HGAKV AAALTKAVEH LDDLPGALSE LSDLHAHKLRVDP VNFKLLSHSLV TLASHLPSDFTPAVHASL DKFLANVSTVLTSKYR
38.	Говяжий бета-казеин	MKVLILACLVALARELEELNVGPEIVESLSSES EITRINKKIEKFQSEEQQTEDELQDKIH PFAQTQSLVYPFGPIPN SLPQNI PPLTQTVPVV PFLQPEV MGVS KVKEAMAPKHMPFK YVEPFTESQSLTLDVENLH LPLPLLQSWMHQHPQLPPTVMFP PQSVLSLSQSKVLPVPQKAVPY PQRDMP IQAFLLYQEPVLGPVRGPPIIV
39.	BSN-37	METQRASLSLGRCSLWLLLGLVPSASAQ ALSYREAVLR AVDQFNERSS EANLYRLELDPTPNDDLPGTRKPVFSRVKETDCPRT SQQPLEQCDFKENGLVKQCVGT VTLDPSNDQFDINCNELQSV FRPPIRRPPIRPFFYPFPRPPIRPPIRPPIRPPIRPGFPGRR
40.	B34	MGLSDGEVQLVNLAWGKVEADVAGHGQEV LR LFTGH PETLEKFDKFKHLK TEAE MKASEDLKKHGNTVL TALGGILKKKGHH EAEV KHLAES HANKHKIPVKYLEFISDAIHV LHAKHPSDFGADA OAAMSKALELFRNDMAAOYKVLGFHG

Примечание: желтым и зеленым отмечены зрелые антимикробные пептиды, красным — сайты действия фермента.

Действие трипсина на препропептидные предшественники АМП

В группе АМП *Sus scrofa* под названием протегины, которые содержат всего от 16 до 18 аминокислотных остатков, определялось до 5 сайтов расщепления внутри зрелой последовательности, в то время как в Профенине-1 и Профенине-2, содержащих 78 и 79 АК-остатков соответственно, было выявлено по 6 сайтов расщепления. Группа АМП под названием РМАР также характеризовалась наличием большого количества сайтов расщепления — от 6 (в РМАР-23) до 13 (в РМАР-36), что в случае реального воздействия трипсином привело бы к сильному снижению биологической активности пептида [21]. В исследовании Ebbensgaard и др. было показано, что взаимодействие таких АМП, как Сар 18, Цекропин Р1, Цекропин В, Мелиттин и Индолицидин, с трипсином приводит к полной потере их антимикробной активности уже через 30 секунд инкубации [21]. Вероятность внутреннего расщепления пептида зависит в большей степени не от размера АМП, а от его строения. Наибольшее количество сайтов расщепления среди зрелых антимикробных соединений *Sus scrofa* было выявлено в свином лизоциме — 20 единиц, в то время как наименьшее — в антимикробном пептиде SP-B (1 сайт расщепления).

Рассматривая результаты определения сайтов расщепления в предшественниках АМП *Bos taurus*, можно аналогично результатам анализа *Sus scrofa* отметить большое содержание данных сайтов в зрелых последовательностях АМП. Стоит отметить, что организм *Bos taurus* характеризуется присутствием большой группы АМП под названием бета-дефензины, в зрелых последовательностях которых выявлено до 9 сайтов расщепления (в Бета-дефензинах 2, 3 и 6). Данные АМП содержат в себе от 38 до 42 АК-остатков. Известно, что бета-дефензины конститутивно экспрессируются в молочных железах крупного рогатого скота и проявляют бактерицидную активность в отношении широкого спектра патогенов, включая *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [22]. В группе ВМАР, содержащих от 27 до 34 АК-остатков, было выявлено от 7 (ВМАР-28) до 11 (ВМАР-34) сайтов расщепления внутри зрелых последовательностей. Наибольшее количество сайтов расщепления среди АМП *Bos taurus* было обнаружено в группе гистонов — от 24 (у Гистона Н4) до 29 единиц (у Гистона Н3), в то время как наименьшее — в таких АМП, как Р3 и говяжий бета-казеин. У последних сайт расщепления был всего один и либо не влиял на уменьшение АК-последовательности АМП, либо имел незначительное влияние. Бета-казеин и Р3 находятся не в С-концевой части последовательности препропептидного предшественника, таким образом, после воздействия трипсином данные пептиды, возможно, еще будут «пришиты» к части последовательности предшественника, не обладающей активностью.

В целом, результаты определения сайтов расщепления для трипсина в предшественниках АМП организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus* (Таблица 1) показали, что довольно большое содержание аргинина (R) и лизина (K) в АМП и их предшественниках приводит к образованию чрезмерного множества фрагментов, расщепляя в том числе зрелую пептидную последовательность. Так, процентное содержание АК-остатков аргинина (R) и лизина (K) в зрелых АМП *Sus scrofa* составляет 12,92% и 6,46% соответственно, а содержание этих же АК-остатков в зрелых АМП *Bos taurus* составляет 13,48% и 7,79% соответственно. Это не является существенным отличием и показывает примерно одинаковую эффективность воздействия трипсина на расщепление АМП данных организмов. Учитывая также тот факт, что трипсин проявляет большую активность на С-концевой стороне белка [18], а также то, что большинство зрелых АМП сосредоточены именно в этой области, можно сделать вывод: трипсин не является подходящим энзимом для извлечения АМП из их препропептидных предшественников.

Действие эластазы на препропептидные предшественники АМП

Нейтрофильная эластаза относится к группе сериновых протеаз и осуществляет гидролиз преимущественно по связям валина (Val (V)) и аланина (Ala (A)) (Рисунок 2) [23,24].

В группе протегинов, где внутри зрелых последовательностей было найдено до пяти сайтов расщепления при воздействии трипсина, при влиянии эластазы обнаруживалось максимум три сайта расщепления. Один из сайтов расщепления находился в начале N-концевой части зрелого пептида, обеспечивая его высвобождение из предшественника. Другие сайты располагались в С-концевой части, расщепление по ним приводило к укорачиванию пептида, что может влиять на его активность. Кроме того, результаты показали, что такие АМП *Sus scrofa*, как РМАР-37, РР-39, Профенин-1 и РР-35, будут также высвобождаться под воздействием эластазы с минимальным изменением их структуры, несмотря на то, что количество сайтов расщепления в их предшественниках достигало 21 (в предшественнике Профенина-1).

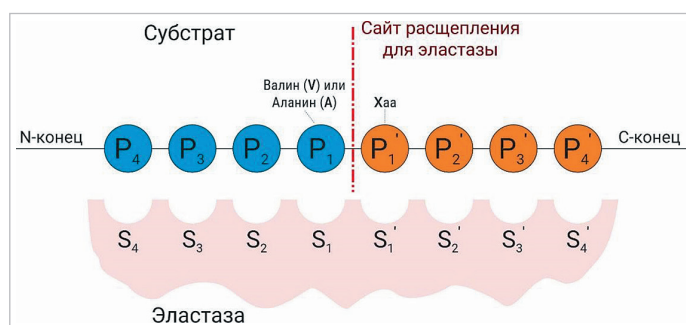


Рисунок 2. Предпочтительный сайт расщепления для эластазы

Figure 2. Preferred cleavage site for elastase

Примечание: сайты узнавания субстрата пронумерованы S_1-S_n в направлении N-конца субстрата и $S_1'-S_n'$ в направлении C-конца. Аминокислотные остатки субстрата пронумерованы P_1-P_n и $P_1'-P_n'$ соответственно. Нумерация начинается с разрезаемой связи.

Note: The substrate binding sites downstream of the cleavage site are numbered S_1-S_n towards the N-terminus of the substrate and $S_1'-S_n'$ towards the C-terminus. The substrate residues are numbered P_1-P_n and $P_1'-P_n'$ respectively. The numbering starts at the scissile bond.

Среди АМП *Bos taurus* также были выявлены пептиды, обладающие высоким потенциалом извлечения с помощью эластазы — Бактенецин-5, Бактенецин-7 и Индолицидин. Группа дефензинов характеризовалась наличием от 2 (Бета-дефензины 1, 2, 8 и 11) до 4 (Бета-дефензины 4 и 5) сайтов расщепления внутри зрелой последовательности, однако они были расположены ближе к ее центру, что может приводить к сильному укорачиванию АМП и, как следствие, к снижению их активности. Группа ВМАР характеризовалась наличием одного сайта расщепления в начале зрелой последовательности пептида, однако последующие сайты укорачивали ее с С-концевой стороны. Аналогичное влияние эластазы может оказывать на предшественник пептида BSN-37: в нем выявлено 16 сайтов расщепления, последний из которых «разрезает» препропептидную молекулу в месте начала зрелой последовательности антимикробного пептида. Тем не менее, как и АМП группы ВМАР, пептид не высвобождался полностью, будучи «сшитым» с восемью аминокислотными остатками предшественника, что способно снизить активность BSN-37.

Среднее относительное содержание валина и аланина было несколько ниже в зрелых антимикробных последовательностях *Sus scrofa* и *Bos taurus*, по сравнению с содержанием аргинина и лизина. Так, для АМП *Sus scrofa* процентное содержание валина и аланина составляло 5,11% и 3,36% соответственно, а для АМП *Bos taurus* — 5,51% и 4,6%. Это соотношение влияло и на распределение сайтов расщепления эластазы в зрелых АМП *Sus scrofa* и *Bos taurus* — их количество было в целом меньшим, чем в случае с трипсином. Возможности эластазы для активации АМП уже были продемонстрированы коллективом итальянских ученых в 2022 году: ими было разработано пролекарство, удлиняющее антимикробный пептид D-ВМАР18 отрицательно заряженной инактивирующей последовательностью, содержащей сайт расщепления нейтрофильной эластазой [25]. Конечная цель заключалась в том, чтобы обеспечить активацию D-ВМАР18 эндогенной эластазой только в месте инфекции/воспаления, обеспечивая медленное и целенаправленное высвобождение фармакологически активного пептида. Пролекарство обладало минимальной активностью в отсутствие эластазы, а продукт его протеолиза сохранял значительную антимикробную активность, но меньшую цитотоксичность. Таким образом, потенциал применения эластазы для извлечения АМП из препропептидных предшественников организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus* является достаточно высоким.

Действие коллагеназы на препропептидные предшественники АМП

Бактериальная коллагеназа I типа представляет собой протеазу, расщепляющую связь между нейтральной аминокислотой (Хаа) и глицином в последовательности Pro(P)-Хаа-l-Gly(G)-Pro(P) (Рисунок 3) [26,27].

Лишь у 3-х предшественников АМП *Sus scrofa* были обнаружены сайты расщепления для коллагеназы: Профенин-2, SP-B и SP-E, причем в предшественнике Профенина-2, содержащем 228 АК-остатков, коллагеназа отщепляла только последние 9 С-концевых АК-остатка, оставляя «пришитой» основную часть АМП к N-концевой части. В пептидах SP-B и SP-E специфичные последовательности обнаруживались чаще, однако они находились посередине антимикробной

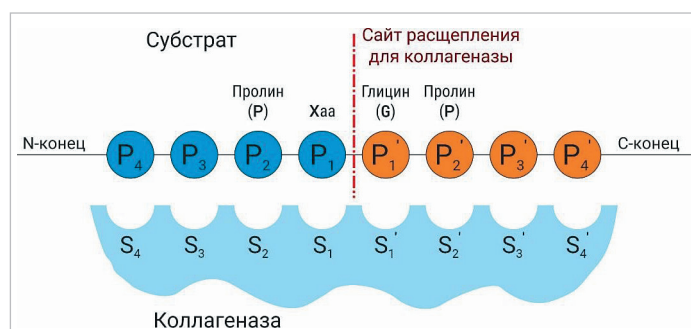


Рисунок 3. Предпочтительная последовательность для расщепления коллагеназой

Figure 3. Preferred cleavage site for collagenase

Примечание: сайты узнавания субстрата пронумерованы S_1 – S_4 в направлении N-конца субстрата и S_1' – S_4' в направлении C-конца. Аминокислотные остатки субстрата пронумерованы P_1 – P_4 и P_1' – P_4' соответственно. Нумерация начинается с разрезаемой связи.

Note: The substrate binding sites downstream of the cleavage site are numbered S_1 – S_4 towards the N-terminus of the substrate and S_1' – S_4' towards the C-terminus. The substrate residues are numbered P_1 – P_4 and P_1' – P_4' respectively. The numbering starts at the scissile bond.

последовательности зрелого пептида. При воздействии коллагеназы на данные АМП их последовательность укорачивалась бы вдвое, что значительно снижало бы их активность [28].

Среди предшественников АМП *Bos taurus* наблюдались схожие результаты: сайты расщепления были обнаружены только в предшественниках Бактенецина-5 и BSN-37. При этом, как и в случае с предшественником Профенина-2, воздействие коллагеназой позволило бы отщепить только несколько АК-остатков в С-концевой части препропептидного предшественника Бактенецина-5 и BSN-37.

В связи со специфичностью необходимой последовательности субстрата, результаты определения сайтов расщепления для коллагеназы не показали значимого результата, несмотря на довольно высокое содержание пролина и глицина в зрелых последовательностях АМП как *Sus scrofa*, так и *Bos taurus*. Так, содержание АК-остатков пролина и глицина в АМП *Sus scrofa* в среднем составляло 22,47% и 9,15% соответственно, а в АМП *Bos taurus* — 9,67% и 8,81%.

Ранее было показано, что вследствие особенностей строения большинство АМП млекопитающих имеют изоэлектрическую точку (pI) в широчайшем диапазоне pH [7,29], в связи с чем некоторые ученые рекомендуют применять слабодокислотную экстракцию для их эффективного извлечения [30,31]. Для дальнейшей же ферментативской обработки экстракта с целью высвобождения и активации АМП необходимо учитывать оптимум действия pH конкретного фермента. Так, для протеолитического действия трипсина диапазон оптимальных значений pH составляет 7,0–8,0 [32], для коллагеназы — от 6,0 до 7,0 [33], для эластазы — около 7,0 [34]. Таким образом, при использовании слабодокислых экстрагентов в дальнейшем необходимо будет нейтрализовать полученные экстракты для более эффективного воздействия рассматриваемых ферментов. Согласно данным Таблиц 1, 2 и 3, а также учитывая особенности протеолитического действия ферментов при различных значениях pH, можно распределить фер-

менты от менее предпочтительного к более предпочтительному для высвобождения АМП из предшественников в организмах *Sus scrofa* и *Bos taurus* следующим образом: бактериальная коллагеназа (тип I) < трипсин < нейтрофильная эластаза.

В эпоху применения современных биоинформатических инструментов алгоритм прогнозирования действия ферментов для извлечения АМП из различных типов сырья может отличаться от представленного в данном исследовании, так как на сегодняшний день существуют современные онлайн-ресурсы, позволяющие, к примеру, учитывать нюансы пространственного расположения белков, желаемую вероятность их расщепления и т. д. Одним из таких ресурсов является PeptideCutter (https://web.expasy.org/peptide_cutter/) [35] на базе ExPASy — биоинформатического портала Швейцарского института биоинформатики. С помощью PeptideCutter можно предсказать потенциальные сайты расщепления в АК-последовательности для некоторых протеаз (каспазы 1–10, пепсин, трипсин, Arg-C протеиназа, Asp-N эндопептидаза, энтерокиназа, нейтрофильная эластаза, пролин-эндопептидаза) или химических веществ. Тем не менее онлайн-инструменты на сегодняшний день предоставляют информацию лишь о небольшом количестве ферментов, а также существуют ограничения в доступе к некоторым из них. Таким образом, «ручной» биоинформатический анализ все еще актуален и востребован, а также демонстрирует свою применимость в проведении первичного скрининга потенциала сырья и в процессе определения подходящих ферментов для извлечения антимикробных соединений из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

4. Выводы

Антимикробные соединения животного происхождения, в частности АМП, являются актуальными объектами исследований уже долгое время, и могут стать хорошей альтернативой антимикробным препаратам антибиотической природы. Тем не менее извлечение эндогенных АМП является затруднительным процессом и требует применения принципов направленной ферментативской обработки на основании знаний о строении предшественников данных соединений. По итогам поиска антимикробных соединений в базе данных The Antimicrobial Peptide Database было выявлено 18 антимикробных пептидов *Sus scrofa* и 40 антимикробных пептидов *Bos taurus*. Согласно результатам определения сайтов расщепления в препропептидных предшественниках АМП для трипсина, эластазы и коллагеназы, ферменты были распределены от менее предпочтительного к более предпочтительному для высвобождения АМП следующим образом: бактериальная коллагеназа (тип I) < трипсин < нейтрофильная эластаза. Такой порядок обоснован не только количеством подходящих сайтов расщепления и их точностью, но и действием ферментов внутри зрелых АМП: важно учитывать, что ферменты могут «разрезать» сами пептиды, снижая тем самым их антимикробную активность. Кроме того, известно, что активность трипсина выше с С-конца препропептида, где и локализовано большинство антимикробных пептидов у *Sus scrofa* и *Bos taurus*. Проведенный биоинформатический анализ показал эффективность как в проведении первичного скрининга потенциала сырья, так и при определении подходящих ферментов для направленного извлечения антимикробных соединений из организмов *Sus scrofa* и *Bos taurus*.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Saga, T., Yamaguchi, K. (2009). History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Japan Medical Association Journal*, 52(2), 103–108.
- Gensini, G. F., Conti, A. A., Lippi, D. (2007). The contributions of Paul Ehrlich to infectious disease. *Journal of Infection*, 54(3), 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2004.05.022>
- Wang, J., Dou, X., Song, J., Lyu, Y., Zhu, X., Xu, L. et al. (2019). Antimicrobial peptides: Promising alternatives in the post feeding antibiotic era. *Medicinal Research Reviews*, 39(3), 831–859. <https://doi.org/10.1002/med.21542>
- Magana, M., Pushpanathan, M., Santos, A. L., Leanse, L., Fernandez, M., Ioannidis, A. et al. (2020). The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), e216–e230. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3)
- Bechinger, B., Gorr, S.-U. (2017). Antimicrobial peptides: Mechanisms of action and resistance. *Journal of Dental Research*, 96(3), 254–260. <https://doi.org/10.1177/0022034516679973>
- APD3: Antimicrobial Peptide Database. Retrieved from <https://aps.unmc.edu/>. Accessed January 24, 2024.
- Katedra Biochemii Żywności. Bioactive peptide databases. Retrieved from <https://biochemia.uwm.edu.pl/bioactive-peptide-databases/>. Accessed January 24, 2024.
- Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: Classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>
- Bhattacharjya, S., Mohid, S. A., Bhunia, A. (2022). Atomic-resolution structures and mode of action of clinically relevant antimicrobial peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), Article 4558. <https://doi.org/10.3390/ijms23094558>
- Reddy, K. V. R., Yedery, R. D., Aranha, C. (2004). Antimicrobial peptides: Premises and promises. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(6), 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.005>
- Hanson, M. A., Lemaitre, B., Unckless, R. L. (2019). Dynamic evolution of antimicrobial peptides underscores trade-offs between immunity and ecological fitness. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 2620. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02620>
- Zhang, L.-J., Gallo, R. L. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 26(1), R14–R19. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>
- Keymanesh, K., Soltani, S., Sardari, S. (2009). Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(6), 933–944. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9984-7>
- Barashkova, A. S., Rogozhin, E. A. (2020). Isolation of antimicrobial peptides from different plant sources: Does a general extraction method exist? *Plant Methods*, 16(1), Article 143. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00687-1>
- Sultana, A., Luo, H., Ramakrishna, S. (2021). Harvesting of antimicrobial peptides from insect (*Hermetia illucens*) and its applications in the food packaging. *Applied Sciences*, 11(15), Article 6991. <https://doi.org/10.3390/app11156991>

16. Vizioli, J., Salzet, M. (2002). Antimicrobial peptides from animals: Focus on invertebrates. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23(11), 494–496. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(02\)02105-3](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(02)02105-3)
17. UniProt Protein Database. Retrieved from <http://www.uniprot.org/>. Accessed January 24, 2024.
18. Dau, T., Bartolomucci, G., Rappsilber, J. (2020). Proteomics using protease alternatives to trypsin benefits from sequential digestion with trypsin. *Analytical Chemistry*, 92(14), 9523–9527. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00478>
19. Trypsin-1. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/P07477>. Accessed January 25, 2024.
20. Bioinformatics explained: Proteolytic cleavage. QIAGEN Digital Insights. Retrieved from https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomics-workbench/650/BE_Proteolytic_cleavage.html. Accessed February 6, 2024.
21. Ebbensgaard, A., Mordhorst, H., Overgaard, M. T., Nielsen, C. G., Aarestrup, F. M., Hansen, E. B. (2015). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of different antimicrobial peptides against a range of pathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10(12), Article e0144611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144611>
22. Daneshi, M., Caton, J. S., Caixeta, L. S., Eftekhari, Z., Ward, A. K. (2023). Expression, regulation, and function of β -defensins in the bovine mammary glands: Current knowledge and future perspectives. *Animals*, 13(21), Article 3372. <https://doi.org/10.3390/ani13213372>
23. Elastase, neutrophil expressed. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A286ZN14>. Accessed January 24, 2024.
24. Vizovišek, M., Vidmar, R., Fonović, M., Turk, B. (2016). Current trends and challenges in proteomic identification of protease substrates. *Biochimie*, 122, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.017>
25. Degasperis, M., Sgarra, R., Mardirossian, M., Pacor, S., Maschio, M., Scocchi, M. (2022). Elastase-activated antimicrobial peptide for a safer pulmonary treatment of cystic fibrosis infections. *Antibiotics*, 11(3), Article 319. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030319>
26. Collagenase ColG. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9X721/entry>. Accessed February 6, 2024.
27. Eckhard, U., Huesgen, P. F., Brandstetter, H., Overall, C. M. (2014). Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen. *Journal of Proteomics*, 100, 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.jprote.2013.10.004>
28. Cantisani, M., Finamore, E., Mignogna, E., Falanga, A., Nicoletti, G. F., Pedone, C. et al. (2014). Structural insights into and activity analysis of the antimicrobial peptide myxinidin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5280–5290. <https://doi.org/10.1128/AAC.02395-14>
29. Лукинова, Е. А., Котенкова, Е. А., Полищук, Е. К. (2018). Изучение антимикробных свойств биологически активных веществ животного происхождения в зависимости от методологии их выделения. *Теория и практика переработки мяса*, 3(3), 27–35. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-3-27-35>
30. Кораблева, Е. С., Берлов, У., Андреева, Ю. В., Кокряков, В. Н. (2007). Антимикробный пептид из лейкоцитов собаки: структурно-функциональные свойства. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология*, 3, 80–88.
31. Юхнев, В. А., Шартукова, М. А., Луговкина, Н. В., Кокряков, В. Н., Шамова, О. В. (2014). Поиск новых антимикробных пептидов из семейства кателицидинов и дефенсинов в лейкоцитах лоса (*Alces alces*). *Вестник СПбГУ. Серия 3. Биология*, 1, 115–131.
32. Wirtz, R. (1965). Trypsin. Chapter in a book: *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, 1965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50146-8>
33. Creative Enzymes. Collagenase. Retrieved from https://www.creative-enzymes.com/similar/collagenase_148.html. Accessed February 5, 2024.
34. Korkmaz, B., Gauthier, F. (2013). Elastase-2/Leukocyte Elastase. Chapter in a book: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Academic Press, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00587-1>
35. ExPASy. PeptideCutter. Retrieved from https://web.expasy.org/peptide_cutter/. Accessed February 5, 2024.

REFERENCES

1. Saga, T., Yamaguchi, K. (2009). History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Japan Medical Association Journal*, 52(2), 103–108.
2. Gensini, G. F., Conti, A. A., Lippi, D. (2007). The contributions of Paul Ehrlich to infectious disease. *Journal of Infection*, 54(3), 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2004.05.022>
3. Wang, J., Dou, X., Song, J., Lyu, Y., Zhu, X., Xu, L. et al. (2019). Antimicrobial peptides: Promising alternatives in the post feeding antibiotic era. *Medicinal Research Reviews*, 39(3), 831–859. <https://doi.org/10.1002/med.21542>
4. Magana, M., Pushpanathan, M., Santos, A. L., Leanse, L., Fernandez, M., Ioannidis, A. et al. (2020). The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), e216–e230. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3)
5. Bechinger, B., Gorr, S.-U. (2017). Antimicrobial peptides: Mechanisms of action and resistance. *Journal of Dental Research*, 96(3), 254–260. <https://doi.org/10.1177/0022034516679973>
6. APD3: Antimicrobial Peptide Database. Retrieved from <https://aps.unmc.edu/>. Accessed January 24, 2024.
7. Katedra Biochemii Żywności. Bioactive peptide databases. Retrieved from <https://biochemia.uwm.edu.pl/bioactive-peptide-databases/>. Accessed January 24, 2024.
8. Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: Classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>
9. Bhattacharjya, S., Mohid, S. A., Bhunia, A. (2022). Atomic-resolution structures and mode of action of clinically relevant antimicrobial peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), Article 4558. <https://doi.org/10.3390/ijms23094558>
10. Reddy, K. V. R., Yedery, R. D., Aranha, C. (2004). Antimicrobial peptides: Premises and promises. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24(6), 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.005>
11. Hanson, M. A., Lemaitre, B., Unckless, R. L. (2019). Dynamic evolution of antimicrobial peptides underscores trade-offs between immunity and ecological fitness. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 2620. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02620>
12. Zhang, L.-J., Gallo, R. L. (2016). Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 26(1), R14–R19. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>
13. Keymanesh, K., Soltani, S., Sardari, S. (2009). Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(6), 933–944. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9984-7>
14. Barashkova, A. S., Rogozhin, E. A. (2020). Isolation of antimicrobial peptides from different plant sources: Does a general extraction method exist? *Plant Methods*, 16(1), Article 143. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00687-1>
15. Sultana, A., Luo, H., Ramakrishna, S. (2021). Harvesting of antimicrobial peptides from insect (*Hermetia illucens*) and its applications in the food packaging. *Applied Sciences*, 11(15), Article 6991. <https://doi.org/10.3390/app11156991>
16. Vizioli, J., Salzet, M. (2002). Antimicrobial peptides from animals: Focus on invertebrates. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23(11), 494–496. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(02\)02105-3](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(02)02105-3)
17. UniProt Protein Database. Retrieved from <http://www.uniprot.org/>. Accessed January 24, 2024.
18. Dau, T., Bartolomucci, G., Rappsilber, J. (2020). Proteomics using protease alternatives to trypsin benefits from sequential digestion with trypsin. *Analytical Chemistry*, 92(14), 9523–9527. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00478>
19. Trypsin-1. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/P07477>. Accessed January 25, 2024.
20. Bioinformatics explained: Proteolytic cleavage. QIAGEN Digital Insights. Retrieved from https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomics-workbench/650/BE_Proteolytic_cleavage.html. Accessed February 6, 2024.
21. Ebbensgaard, A., Mordhorst, H., Overgaard, M. T., Nielsen, C. G., Aarestrup, F. M., Hansen, E. B. (2015). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of different antimicrobial peptides against a range of pathogenic bacteria. *PLoS ONE*, 10(12), Article e0144611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144611>
22. Daneshi, M., Caton, J. S., Caixeta, L. S., Eftekhari, Z., Ward, A. K. (2023). Expression, regulation, and function of β -defensins in the bovine mammary glands: Current knowledge and future perspectives. *Animals*, 13(21), Article 3372. <https://doi.org/10.3390/ani13213372>
23. Elastase, neutrophil expressed. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A286ZN14>. Accessed January 24, 2024.
24. Vizovišek, M., Vidmar, R., Fonović, M., Turk, B. (2016). Current trends and challenges in proteomic identification of protease substrates. *Biochimie*, 122, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.017>
25. Degasperis, M., Sgarra, R., Mardirossian, M., Pacor, S., Maschio, M., Scocchi, M. (2022). Elastase-activated antimicrobial peptide for a safer pulmonary treatment of cystic fibrosis infections. *Antibiotics*, 11(3), Article 319. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030319>
26. Collagenase ColG. Retrieved from <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9X721/entry>. Accessed February 6, 2024.
27. Eckhard, U., Huesgen, P. F., Brandstetter, H., Overall, C. M. (2014). Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen. *Journal of Proteomics*, 100, 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.jprote.2013.10.004>
28. Cantisani, M., Finamore, E., Mignogna, E., Falanga, A., Nicoletti, G. F., Pedone, C. et al. (2014). Structural insights into and activity analysis of the antimicrobial peptide myxinidin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5280–5290. <https://doi.org/10.1128/AAC.02395-14>
29. Lukinova, E. A., Kotenkova, E. A., Polischuk, E. K. (2018). Influence of approaches to isolation of animal bioactive substances on antimicrobial action. *Theory and Practice of Meat Processing*, 3(3), 27–35. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-3-27-35> (In Russian)
30. Korableva, E. S., Berlov, Y., Andreeva, Y. V., Kokryakov, V. N. (2007). Antimicrobial peptide from canine leukocytes: Structural-functional properties. *Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology*, 3, 80–88. (In Russian)
31. Yuhnev, V. A., Shartukova, M. A., Lugovkina, N. V., Kokryakov, V. N., Shamova, O. V. (2014). Search of novel antimicrobial peptides of the cathelicidins and defensins families in moose (*Alces alces*) leucocytes. *Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology*, 1, 115–131. (In Russian)
32. Wirtz, R. (1965). Trypsin. Chapter in a book: *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, 1965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50146-8>
33. Creative Enzymes. Collagenase. Retrieved from https://www.creative-enzymes.com/similar/collagenase_148.html. Accessed February 5, 2024.
34. Korkmaz, B., Gauthier, F. (2013). Elastase-2/Leukocyte Elastase. Chapter in a book: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Academic Press, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00587-1>
35. ExPASy. PeptideCutter. Retrieved from https://web.expasy.org/peptide_cutter/. Accessed February 5, 2024.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Полищук Екатерина Константиновна — младший научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб.129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2719-9649 * автор для контактов	Ekaterina K. Polishchuk , Junior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2719-9649 * corresponding author
Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Экспериментальная клиника- лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-11 (доб.129) E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115	Elena A. Kotenkova , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-92-11 (129) E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115
Критерии авторства	Contribution
Концептуализация — Котенкова Е. А., Полищук Е. К. Проведение исследования — Полищук Е. К. Методология — Котенкова Е. А., Полищук Е. К. Курирование данных — Котенкова Е. А. Написание статьи — Полищук Е. К. Написание статьи (просмотр и редактирование) — Котенкова Е. А.	Conceptualization — Kotenkova E. A., Polishchuk E. K. Investigation — Polishchuk E. K. Methodology — Kotenkova E. A., Polishchuk E. K. Data curation — Kotenkova E. A. Writing (original draft) — Polishchuk E. K. Writing (review and editing) — Kotenkova E. A.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.