

ПЛОСКИЕ ЛИПИДНЫЕ БИСЛОИ В ИЗУЧЕНИИ МЕХАНИЗМОВ ЛИПИД-ОПОСРЕДОВАННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПОРООБРАЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ АНТИМИКРОБНЫХ АГЕНТОВ

© 2024 г. С. С. Ефимова^а, *, О. С. Остроумова^а

^аИнститут цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

* e-mail: efimova@incras.ru

Поступила в редакцию 23.04.2024

После доработки 14.05.2024

Принята к печати 15.05.2024

Плоские липидные бислои являются уникальными инструментами, предназначенными для моделирования клеточных мембран и электрофизиологических исследований встроенных в них ионных каналов. Такие модельные системы призваны намеренно ограничить сложность и мультикомпонентность клеточных мембран для того, чтобы детально проанализировать протекающие там процессы в хорошо контролируемых экспериментальных условиях. Плоские липидные бислои позволяют регистрировать одиночные события проводимости с измеряемым током величиной более десятой доли пикоампера. Относительная простота метода, возможность наблюдения за единичными молекулярными событиями и высокая воспроизводимость получаемых результатов определяют беспрецедентную эффективность использования плоских липидных бислоев для выявления ключевых физических и химических факторов, отвечающих за регуляцию функционирования ионных каналов. Настоящий обзор представляет собой совокупность литературных данных об ассоциированных с липидным микроокружением механизмах регуляции ионных каналов, формируемых различными антимикробными агентами. Проведенный анализ позволяет рассматривать липиды как молекулярные шапероны, обеспечивающие образование антимикробными агентами пор в таргетных мембранах.

Ключевые слова: плоские липидные бислои, ионные каналы, антимикробные пептиды и липопептиды, полиеновые макролидные антибиотики

DOI: 10.31857/S0233475524050107, EDN: cbddvc

ВВЕДЕНИЕ

Создание модельных липидных мембран стало важным этапом в формировании представлений о структуре и функционировании клеточных мембран, а также в развитии понимания механизмов антимикробного и токсического действия множества экзогенных веществ. В настоящее время плоские липидные бислои являются одной из наиболее распространенных и удобных систем для моделирования клеточных мембран [1, 2]. С помощью таких моделей изучают влияние физико-химических свойств липидного матрикса, трансмембранного распределения электрического потенциала и различных химических веществ на ионный транспорт через мембраны.

1. Методы формирования плоских липидных мембран

Первые сведения о методах формирования искусственных мембран относятся к началу 1960-х годов, однако отправной точкой следует считать

разработку метода формирования плоских липидных мембран Мюллером и Рудиным [3, 4]. Метод достаточно прост и заключается в том, что на отверстие в тефлоновой перегородке, которая разделяет два отсека с водным раствором, пипеткой или кистью наносят каплю раствора липида в органическом растворителе (рис. 1а). Под действием сил поверхностного натяжения образованная липидная пленка самопроизвольно утончается до толщины, соответствующей двум молекулам липида, расположенным в противоположных монослоях. Одним из существенных недостатков подобной модели является наличие микролинз растворителя между липидными монослоями и большого тора из раствора липида на границе крепления мембраны к тефлоновой пленке. Существует несколько более поздних модификаций метода Мюллера и Рудина, предусматривающих использование различных органических растворителей с малой вероятностью образования микролинз [6], удаление линз растворителя при замораживании бислоя [7] или

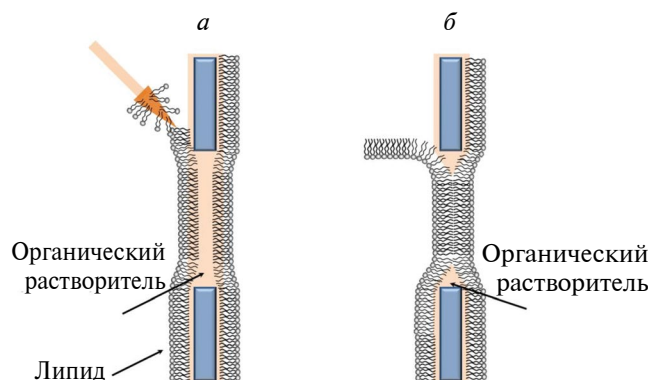


Рис. 1. Схематическое представление формирования плоских липидных мембран по методу Мюллера-Рудина (а) и Монтала-Мюллера (б) [5].

модификацию экспериментальной кюветы с целью получения не содержащих растворителя липидных бислоев [8], однако широкого распространения эти варианты не получили.

В 1972 году Монталом и Мюллером [9] был предложен принципиально отличный метод формирования плоских липидных бислоев. Получаемые таким способом бислои являются «сухими», т.е. не включают линз растворителя, но при этом сама методика более трудоемка. В начале эксперимента отверстие в тefлоновой пленке, разделяющей экспериментальную камеру, обрабатывают гексадеканом или скваленом, на поверхность раствора в обоих отсеках камеры наносят раствор липида в гексане или пентане, и уже затем формируют искусственную мембрану путем сведения на отверстию в тefлоновой пленке предварительно сформированных на границе воздух-вода конденсированных липидных монослоев (рис. 1б). В результате углеводородные цепи липидов в противоположных монослоях оказываются обращенными друг к другу, а гидрофильные головы липидов экспонируются в водный раствор. К преимуществам описываемого метода, помимо уже упомянутого отсутствия микролинз растворителя между монослоями, также следует отнести возможность создания асимметричных искусственных мембран, химический состав монослоев которых различен. Последнее обстоятельство еще больше приближает подобные модели к клеточным мембранам.

Впоследствии было разработано еще несколько альтернативных методов формирования липидных бислоев для электрофизиологических исследований, в частности, путем сведения липидных монослоев, образованных на поверхности двух водных капель в растворе гексадекана [10, 11], или с помощью пипетки для «patch-clamp» [12].

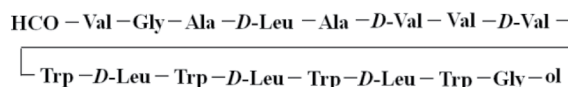
Полученные такими способами искусственные липидные мембраны оказались чрезвычайно эффективными для электрофизиологических измерений ионных каналов, поскольку позволяют варьировать химический состав мембран и окружающих их растворов в широком диапазоне, а также с высокой точностью контролировать ряд других важных параметров, включая трансмембранную разность потенциалов. По этой причине прогресс, достигнутый в изучении процессов функционирования ионных каналов, в значительной степени связан с применением методов формирования плоских липидных бислоев. Цель этого обзора заключалась в анализе литературных данных об ассоциированных с липидным микроокружением механизмах регуляции ионных каналов, формируемых различными антимикробными агентами.

2.1. Порообразующие антимикробные пептиды

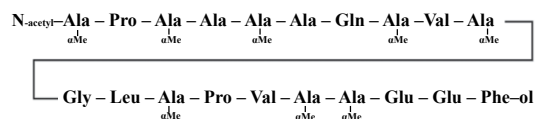
Антимикробными пептидами, как правило, считаются относительно короткие пептиды, продуцируемые врожденной системой защиты многоклеточных организмов для борьбы с инфекционными патогенами, в частности, с бактериями и грибами. Одноклеточные организмы также способны синтезировать соединения, обладающие выраженным антимикробным действием, многие из которых нашли свое применение в качестве антибиотиков. Практически все природные антимикробные соединения характеризуются мембранной активностью, и целый ряд агентов осуществляет свое цитотоксическое действие благодаря формированию в мембранах клеток целевых организмов ион-проницаемых пор или каналов. Большинство сведений о способности антимикробных агентов формировать поры в мембранах клеток-мишеней было получено с использованием модельных липидных мембран, и в частности, плоских липидных бислоев. Приведем наиболее яркие примеры.

Природный *грамицидин* является гетерогенной смесью нескольких пептидов, продуцируемых бактерией *Brevibacillus brevis*, включающей в зависимости от штамма такие компоненты как А, В, С_D, D и S [13, 14]. На рис. 2 показана химическая структура грамицидина А. Чередующиеся L- и D-аминокислоты в линейной последовательности грамицидина А позволяют молекуле образовывать спиральную структуру, в которой полярные группы выстилают внутреннюю полость, а неполярные боковые радикалы выступают с внешней стороны [15–17]. Такая конформация обуславливает встраивание молекул пептида в липидные бислои и формирование ими путей для транспорта ионов — каналов [18–21]. Так,

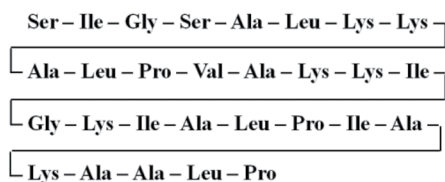
Грамицидин А



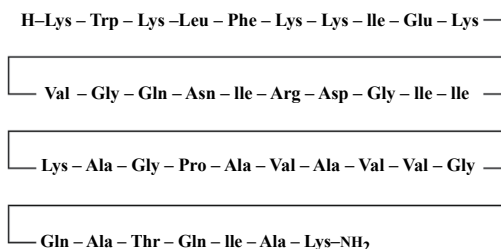
Аламетицин



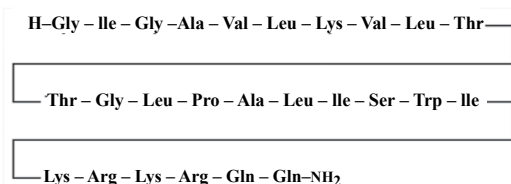
Цератотоксин



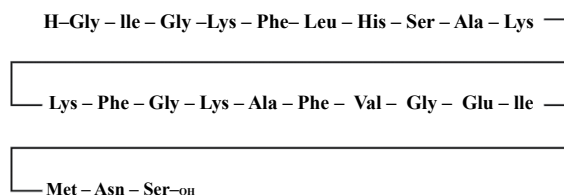
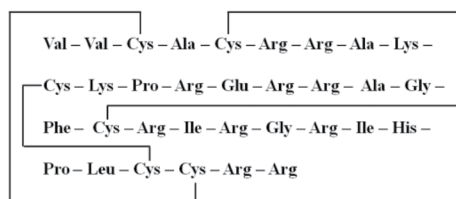
Цекропин А



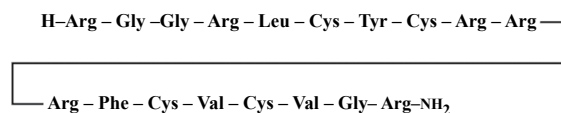
Мелиттин



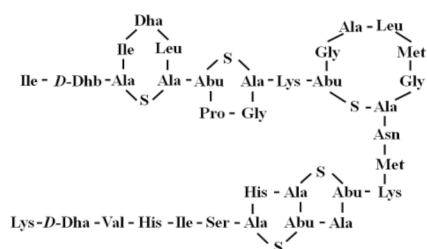
Магаинин II

 α -Дефензин (NP-1)

Протегрин-1



Низин



Циннамицин



Рис. 2. Химические структуры порообразующих антимикробных пептидов: грамицидина А, аламетицина, цератотоксина, цекропина А, мелиттина, магаинина II, α -дефензина NP-1, протегрин-1, низина и циннамицина. Указаны только D-энантиомеры аминокислот. α -Me-Ala – α -метилаланил; Phe-ol – фенилаланинол; Dha – дегидроаланин; Dhb – дегидробутирин; Abu – α -аминомасляная кислота.

введение грамицидина А с двух сторон мембраны способствует образованию ионных каналов путем димеризации мономеров из противоположных липидных монослоев [22, 23]. Грамицидиновые каналы достаточно подробно охарактеризованы и считаются классическим объектом для моделирования ионного транспорта через мембраны [24,

25]. Первые работы, посвященные каналоформерным свойствам грамицидина А, и в частности, уже процитированная статья Хладки и Хейдона в журнале «Nature» [18], демонстрирующая записи индуцированных грамицидином А ступенчатых флуктуаций тока в плоском липидном бислое из глицеролмоноолеата, датированы 1970 г.

И несмотря на 50 лет исследований, этот объект по сей день не потерял своей актуальности.

Грамицидиновые каналы характеризуются практически идеальной катионной селективностью, они проницаемы для одновалентных катионов [26–28] и блокируются двухвалентными катионами и малыми иминиевыми ионами [29, 30]. Порообразующая активность грамицидина А зависит от длины углеводородных цепей мембранных липидов, а точнее от толщины гидрофобного кора [31, 32]. Показано, что ионный канал стабилен, если длина гидрофобной части его трансмембранного участка соответствует толщине углеводородного остова бислоя. В мембранах, толщина гидрофобного кора которых превышает длину гидрофобной части канала, ионный канал обычной геометрии нестабилен и может переходить из состояния двух одиночных спиралей, ассоциированных «голова к голове», в состояние более вытянутой двойной спирали [33, 34]. Действие множества амфифильных молекул на проводимость и время жизни грамицидинового канала можно объяснить их влиянием на толщину углеводородного остова мембраны [19, 32]. Эта же гипотеза позволяет объяснить особенности функционирования грамицидиновых каналов в липидных бислоях, претерпевающих фазовое разделение [35]. При этом лизолипиды потенцируют порообразующую активность грамицидина А за счет изменения энергии деформации мембраны, что связано с молекулярной «формой» мембранообразующих липидов, а не с толщиной мембраны [36]. Обратный эффект показан для случая замены мембранообразующего липида: ламеллярного фосфатидилхолина на конический фосфатидилэтаноламин [37]. Модификацией трансмембранного распределения латерального давления также было объяснено влияние тубулина на время жизни грамицидиновых каналов [38]. На основании данных о влиянии эластических свойств мембраны на активность грамицидина А была предложена модель образуемого пептидом канала, которая подразумевает наличие липидных устьев, характеризующихся некоторой положительной спонтанной кривизной (рис. 3а) [39]. Следует отметить, что полярные взаимодействия между пептидными молекулами и головками мембранных липидов могут доминировать над эффектом гидрофобного несоответствия в регуляции порообразующей функции грамицидина А [40]. Обнаружено, что грамицидиновые каналы также чувствительны к скачку электрического потенциала на границе раздела мембрана–водный раствор, в частности, к его неэкранируемой (дипольной) компоненте [32, 41–44]. Показано, что грамицидины В и С тоже способны формировать ионные

каналы в плоских липидных бислоях, более того, смесь трех грамицидинов (А, В и С) формирует гибридные каналы [45]. Природные ацилированные формы грамицидинов А и С также являются каналоформерами [46].

Другой часто используемой классической моделью для изучения трансмембранного транспорта являются ионные каналы, формируемые *аламетицином*. Этот антимикробный пептид относится к семейству пептаиболов (полипептидных антибиотиков, богатых α -аминоизомасляной кислотой) и продуцируется грибом *Trichoderma viride*. Структура аламетицина показана на рис. 2. Предположение, что аламетицин способен индуцировать в плоских липидных бислоях ионные каналы, впервые было высказано в работе Мюллера и Рудина 1968 г. [47]. Позже было показано, что в липидном микроокружении аламетицин принимает α -спиральную конформацию и образует потенциал-зависимые ионные каналы преимущественно катионной селективности и многоуровневой проводимости [48]. Модификация аминокислотного состава пептида позволила определить ключевые остатки в молекуле аламетицина, ответственные за проявление этим пептидом порообразующих свойств [49–52]. Потенциал-зависимость открывания аламетициновых каналов обусловлена высоким дипольным моментом пептидных спиралей [48, 53]. Более того, дипольный момент пептида определяет и чувствительность его порообразующей активности к дипольному потенциалу мембраны [54]. Проводимость каналов зависит от концентрации аламетицина, липидного состава мембраны и рН омывающего бислоя раствора [52, 55, 56]. Предполагается, что аламетициновый канал устроен по принципу «бочонка» (рис. 3б) [49, 57]. Согласно этой модели, формируемая олигомером пептида пора увеличивается в размере при встраивании дополнительных мономеров. Эта гипотеза объясняет многоуровневую проводимость аламетициновых каналов. Кроме того, считается, что проводящий кластер молекул аламетицина имеет форму песочных часов (рис. 3б). Такого уточнения модели потребовала обнаруженная в эксперименте стабилизация подсостояний с более высокой проводимостью при включении в мембрану неламеллярных липидов, увеличивающих давление в гидрофобной области [37]. Вероятно, вследствие несоответствия между длиной гидрофобного участка молекулы аламетицина и толщиной углеводородного остова бислоя трансмембранное внедрение пептида вызывает эластическую деформацию мембраны, а агрегация молекул аламетицина в проводящий кластер уменьшает пептид-липидные взаимодействия (причем, чем кластер больше, тем слабее

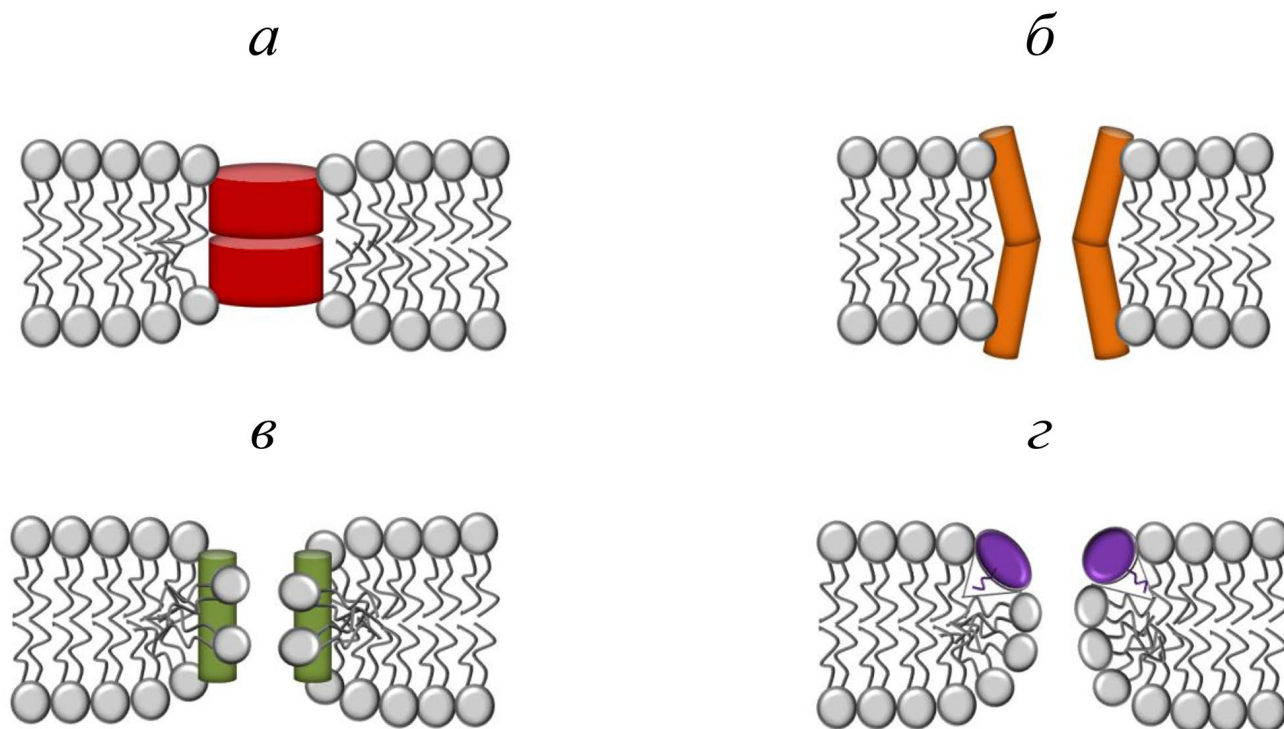


Рис. 3. Различные модели формирования ионных каналов антимикробными пептидами: путем димеризации спиралей грамицидина А (а); ассоциации α -спиралей аламетицина в пептидный «бочонок» (б); формирования пептид-липидной тороидальной поры мелиттином (в) и образования асимметричной липопептид-липидной поры синрингомицином Е (г).

взаимодействие пептид-липид). С этим предположением хорошо согласуются данные о влиянии соединений, модифицирующих спонтанную кривизну липидных монослоев, на порообразующую активность аламетицина [58].

Следует отметить, что семейство пептаиоболов включает более 50 пептидов, и для ряда пептидов показана порообразующая активность. В частности, *зервамицины*, *трихорзины* и *гипельцины*, продуцируемые *Emericellopsis satmosynnemata*, *Trichoderma harzianum* и *Hypocrea peltata* соответственно, также способны формировать потенциал-зависимые многоуровневые ионные каналы, подобные аламетициновым [59–62]. Модель пептидного «бочонка» в форме песочных часов, предложенная для аламетицина, была использована для описания строения зервамициновых каналов (рис. 3б) [63]. Пептаиоболы *гарзианин* и *сатурниспорин* из *Trichoderma saturnisporum* и *T. harzianum* соответственно в липидных бислоях, включающих неламеллярные липиды, формируют проводящие олигомеры меньшего, чем аламетицин, размера [64]. Показаны порообразующие свойства *трихотоксина* A50E из *T. viride* и *антиамебина*, выделенного из штаммов грибов *Emericellopsis* и *Cephalosporium*: эти пептаиоболы образуют ионные каналы с преимущественно одним подуровнем

проводимости, который организован гексамером и тетрамером соответствующего пептида, в то время как в состав аламетициновых каналов может входить 8–10 молекул пептида [65–67].

Сходными с аламетициновыми характеристиками обладают каналы, образованные антимикробными пептидами насекомых. Так, *цератотоксин*, альфа-спиральный катионный пептид, обнаруженный в секреторной жидкости добавочных желез плодовой мухи *Ceratitis capitata* проявляет выраженную антибактериальную активность, которая хорошо коррелирует со способностью пептида формировать ионные каналы [68]. На рис. 2 показана химическая структура цератотоксина А. В частности, в полном соответствии с ранее предложенной моделью (рис. 3б) этот пептид образует потенциал-зависимые многоуровневые каналы в бислоях из липидов, увеличивающих давление в области жирнокислотных хвостов [68, 69]. Другим примером являются *цекропины*, положительно заряженные антибактериальные пептиды из гемолимфы бабочки *Hyalophora cecropia*. Ключевую роль в их антибактериальном действии играют электростатические взаимодействия с отрицательно заряженной оболочкой бактерий. Так, цекропины А, В и D образуют потенциал-зависимые

ионные каналы в отрицательно заряженных плоских липидных бислоях [70]. Структура цекропина А представлена на рис. 2. Позднее показано, что, подобно аламетициновым и цератотоксиновым каналам, поры, формируемые цекропинами А и В, характеризуются многоуровневой проводимостью [71]. При этом оказалось, что, в отличие от аламетицина, наличие в составе мембраны неламеллярных липидов, создающих избыточное давление в углеводородном коре, не является достаточным условием формирования каналов цекропинами, и применимость модели «бочонка» для цекропиновых каналов должна быть оценена в дальнейших работах. С использованием мембраноактивных соединений также выявлено, что одним из факторов, регулирующих цекропин-индуцированный макроскопический ток, является дипольный потенциал мембраны, что может быть связано с высоким дипольным моментом погружающихся в мембрану С-концевых доменов пептида [71].

Мелиттин — антимикробный катионный линейный полипептид, выделенный из пчелиного яда. Структура этого пептида показана на рис. 2. В липидном микроокружении пептид принимает конформацию α -спирали и вызывает потенциал-зависимое увеличение проводимости плоских липидных бислоев путем формирования проводящих тетрамеров [72]. Потенциал-зависимость образуемых мелиттином пор обусловлена заряд-дипольными и диполь-дипольными взаимодействиями между пептидными молекулами и липидным бислоем. Считается, что вместе с пептидными спиралью поверхность водной поры мелиттинового канала выстилают и несколько липидных головок, формируя пептид-липидную пору тороидальной геометрии (рис. 3в) [73–75]. С целью усиления антимикробного действия пептида были синтезированы его гибриды с цекропином, которые также как родительские молекулы, проявляют порообразующую способность в плоских липидных мембранах [76, 77].

Магаинины (I и II) представляют собой катионные пептиды, извлеченные из кожи шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. На рис. 2 показана химическая структура магаинина II. Эти пептиды обладают выраженным антимикробным действием, вызывая лизис бактериальных и грибковых клеток. Они проявляют цитолитическую активность путем формирования агрегатами из пептидных α -спиралей пор в мембранах, включающих анионные липиды [78, 79]. Данные, касающиеся катион-анионной специфичности магаининовых каналов, весьма противоречивы: в литературе можно найти сообщения как о преимущественно анионной, так

и катионной функции [78, 80]. Параметр, характеризующий кооперативность порообразующего действия магаинина II, определяемый из сигмоидальной зависимости пептид-индуцированного тока от его концентрации, равен 1.6 [80]. При этом элементарную единицу проводимости, размер которой оценивается по параметру кооперативности, может представлять не только мономер магаинина, но и димер или даже пептидный агрегат большего порядка. При исследовании липидной специфичности мембранного действия магаинина II установлено, что его каналоформерная активность зависит от вида отрицательно заряженного липида и наличия в составе бислоя стерина [79]. Многие исследователи сходятся во мнении, что подобно мелиттину магаинины формируют пептид-липидные тороидальные поры (рис. 3в) [75, 81–83]. Эта гипотеза объясняет рост порообразующей активности мелиттина и магаинина при увеличении положительной спонтанной кривизны с помощью модификаторов мембран и падение при включении в состав мембраны неламеллярных липидов, увеличивающих давление в гидрофобной области бислоя [58, 84]. Однако существует мнение, что способ формирования пор магаинином (по принципу пептидного «бочонка» или пептид-липидной тороидальной поры) зависит от липидного состава мембраны; в частности, поры, индуцированные магаинином I в отрицательно заряженных мембранах, могут быть с успехом описаны и в рамках первой модели [85].

Несмотря на то что первичная последовательность *дермасептина* и *плеуроцидина*, альфа-спиральных катионных антимикробных пептидов, изолированных из кожи южноамериканской лягушки *Phyllomedusa bicolor* и зимней камбалы *Pseudopleuronectes americanus* соответственно, гомологична цератотоксину, модель пептидного «бочонка» не применима для описания их порообразующей активности, и, наиболее вероятно, эти пептиды формируют поры по тороидальному механизму (рис. 3в) [86, 87].

Антимикробные пептиды млекопитающих имеют широкий спектр действия, распространяющийся как на грамположительные и грамотрицательные бактерии, так и на некоторые патогенные грибы и даже вирусы, при этом многие представители также проявляют гемолитическую активность. Среди антимикробных пептидов млекопитающих следует упомянуть *дефензины*, *протегрины* и *кателицидины*. Рисунок 2 включает структуру кроличьего α -дефензина NP-1 и протегина-1, выделенного из лейкоцитов свиньи. Для всех названных групп продемонстрирована способность индуцировать каналоподобные токи в плоских

липидных бислоях [88–90]. Так, в искусственных мембранах, включающих отрицательно заряженные фосфолипиды, дефензины формируют потенциал-зависимые слабо анион-селективные поры путем ассоциации β -листов в олигомеры [88, 89]. Подобно дефензинам, протегрины образуют ионные каналы за счет олигомеризации β -листов [91]. Вероятность формирования каналов протегринами тоже зависит от липидного состава мембраны. Эти пептиды характеризуются более высокой специфичностью в отношении мембран, включающих отрицательно заряженные липиды (в том числе бактериальные липополисахариды) и неламеллярные липиды [91, 92]. Протегрины, по-видимому, индуцируют трансмембранные каналы, соответствующие тороидальной модели, в которых водные поры, имеющие положительную спонтанную кривизну, выстланы как пептидами, так и головками мембранных липидов (рис. 3в) [75]. Показано, что в отрицательно заряженных липидных мембранах независимо от знака трансмембранного напряжения кателицидин тритриптицин формирует катион-селективные каналы, для описания свойств которых также применима тороидальная модель (рис. 3в) [90].

Синтезируемый бактериями *Streptococcus lactis* катионный полициклический пептид *низин* относится к группе антибиотиков и имеет широкий спектр антимикробного действия, включающий множество грамположительных бактерий. В состав его молекулы входят остатки трех нестандартных аминокислот, дегидроаланина (Dha), дегидробутирина (Dhb) и аминomásляной кислоты (Abu), а также пять колец, образованных одним лантioniновым и четырьмя β -метиллантioniновыми мостиками (рис. 2) [93]. Считается, что в результате взаимодействия антибиотика с липидом II, молекулой, участвующей в траслокации пептидогликановых блоков через бактериальную мембрану [94], в ней образуются поры и, как следствие, нарушается жизнедеятельность клетки [95–98]. С использованием плоских липидных мембран показано, что наличие в мембране липида II не является обязательным условием для проявления низином способности индуцировать ионные каналы, достаточно присутствия отрицательно заряженных фосфолипидов, причем наибольшее сродство антибиотик проявляет в отношении кардиолипид-содержащих мембран [99–101].

Продуцируемые *Streptomyces* sp. антибиотики *циннамицин* и *дурамицин* демонстрируют порообразующую активность в липидных бислоях, включающих липиды, увеличивающие давление в области гидрофобного кора [102]. Структура циннамицина представлена на рис. 2. Следует

отметить, что выяснение механизмов, лежащих в основе порообразующей способности лантибиотиков, требует более детальных исследований, в том числе с использованием искусственных липидных мембран.

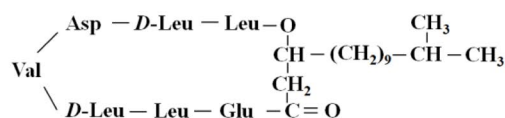
2.2. Порообразующие липопептиды

Ряд микроорганизмов синтезируют биоактивные молекулы, принадлежащие к классу циклических липопептидов. Одновременное наличие замкнутой в кольцо пептидной «головки», в состав которой входят заряженные и (или) полярные аминокислотные остатки, и гидрофобного углеводородного «хвоста» придает молекулам липопептидов амфифильность, а следовательно, обеспечивает их высокое сродство к мембранам. Установлено, что ряд мембраноактивных циклических липопептидов способны формировать ион-проницаемые поры в липидных бислоях. Химические структуры некоторых соединений представлены на рис. 4.

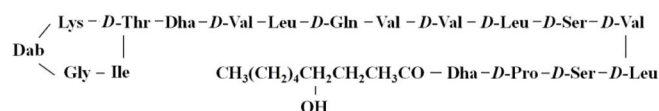
Бациллы продуцируют циклические липопептиды, относящиеся к трем различным группам: *итурины*, *сурфактины* и *фенгицины* [103]. Итурин А и С, *бацилломицины* D, F, L и LC и *микосубтилин* являются основными представителями семейства итуринов и обнаружены в *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens* [104, 105]. Сурфактин или его близкородственные варианты, такие как лихенизин, эсперин и пумиладин, выделены из *B. coagulans*, *B. pumilus* и *B. licheniformis* соответственно [106], а группа фенгицинов, синтезируемых *B. subtilis*, *B. cereus* и *B. thuringiensis*, включает фенгицины А и В [107, 108]. Установлено, что характеризующиеся выраженной противогрибковой активностью итурин А, микосубтилин, бацилломицины L и D, сурфактин и фенгицин образуют в модельных липидных мембранах ионные каналы [109–114]. Однако следует отметить, что детальная характеристика образуемых липопептидами ионных каналов до сих пор не проведена, в литературе можно обнаружить лишь отрывочные сведения. Так, считается, что процесс формирования пор подразумевает самоассоциацию липопептидных молекул, однако кооперативность действия показана только для сурфактина и фенгицина [112, 114]. Выявлено, что итуриновые каналы характеризуются слабой анионной, а сурфактиновые и фенгициновые — преимущественно катионной функцией [110, 112]. Обнаружено, что порообразующая активность сурфактина зависит от дипольного потенциала мембраны [113], а включение в состав бислоя холестерина потенцирует порообразующую способность итурина А и микосубтилина [110, 111].

Псевдомонады тоже синтезируют циклические липопептиды различной химической структуры,

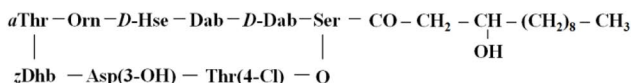
Сурфактин



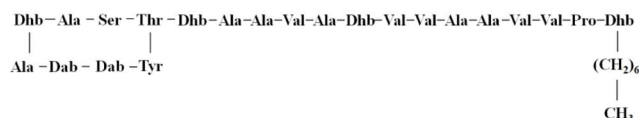
Толаазин



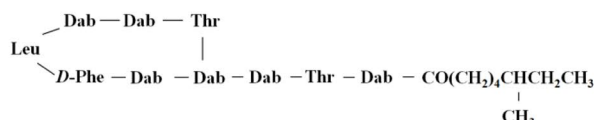
Сирингостатин А



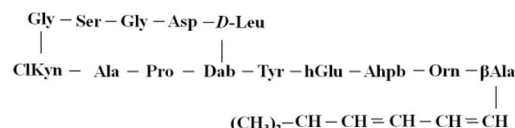
Сирингопептин 22А



Полимиксин В



Гауземицин А



Указаны только *D*-энантиомеры аминокислот. Orn – орнитин; Dab – 2,4-диаминомасляная кислота; Dhb – 2,3-дигидроаминомасляная кислота; Thr(4-Cl) – 4-хлортреонин; MeOGlu – 3-метилглутаминовая кислота; Kyn – кинуренин; Ahpb – 2-амино-4-гидрокси-4-фенилмасляная кислота.

Pseudomonas syringae синтезируют несколько видов фитотоксинов липопептидной природы: *сингдомицины*, *сингостатины*, *синготоксины* и *сингопептины* [116]. С точки зрения способности формировать поры наиболее охарактеризованным представителем является сингдомицин Е. Показано, что этот липопептид индуцирует стабильные потенциал-зависимые ионные каналы

многоуровневой проводимости с преимущественно анионной селективностью [117–119]. Установлено, что сирингомициновые каналы большей проводимости являются кластерами из нескольких элементарных субъединиц проводимости с общим воротным механизмом [119, 120]. Зависимость от липидного состава мембраны и разница в размере устьев поры указывают на то, что сирингомициновые каналы устроены по принципу липопептид-липидной тороидальной поры, меньшее устье которой образовано липопептидными молекулами, а большее — молекулами мембранных липидов (рис. 3г) [121, 122]. Также обнаружено, что на каналоформерную активность сирингомицина Е влияет дипольный потенциал мембраны [123, 124], а поры блокируются местными анестетиками аминоамидного ряда [125]. Аналогично сирингомицину Е ионные каналы образуют сирингостатин А, сиринготоксин В и сирингопептины 22А и 25А [126–130].

Способность формировать ион-проницаемые поры в липидных бислоях также показана для противогрибкового липопептида из *Nocardia asteroides*, пептидолипидина NA [109].

Наиболее изученными антибактериальными циклическими липопептидами являются полимиксины В и Е (также известный как колистин), полученные из бактерии *Paenibacillus polymyxa*. Полимиксины были открыты в 1974 г. и в настоящее время используются в качестве антибиотиков последней надежды для лечения инфекций, вызванных полирезистентными грамотрицательными бактериями, включая синегнойную палочку. Считается, что бактерицидное действие полимиксинов обусловлено их связыванием с липополисахаридами грамотрицательных бактерий и формированием в бактериальных мембранах ион-проницаемых пор [131–133]. Следует отметить высокую токсичность этих антибиотиков, которая тоже связана со способностью индуцировать поры в мембранах клеток-мишеней [134]. Данные, полученные с использованием плоских липидных бислоев, показывают, что полимиксин В преимущественно взаимодействует с отрицательно заряженными мембранами, причем, вероятно, димер и гексамер липопептида участвует в образовании пор в фосфолипидных и липополисахарид-обогащенных бислоях соответственно [135, 136]. Порообразующая способность полимиксина В существенно зависит от формы мембранных липидов, что свидетельствует о том, что антибиотик образует тороидальные липопептид-липидные поры (рис. 3г) [136]. Было показано, что модификаторы, уменьшающие дипольный потенциал мембраны, потенцируют образование пор полимиксином В [136].

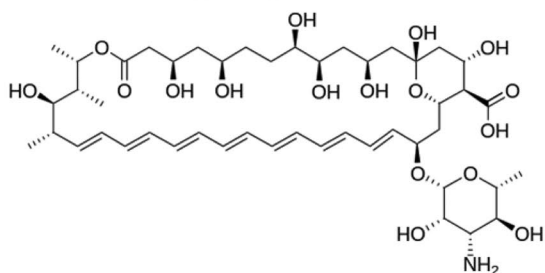
Малацидины относятся к семейству отрицательно заряженных липопептидных антибиотиков, которые действуют на бактерии кальций-зависимым образом. Даптомицин, самый известный представитель этого семейства, является одним из препаратов последней инстанции для лечения инфекций, вызванных грамположительными бактериями. В 1985 г. этот антибиотик был впервые выделен из *Streptomyces roseosporus*, и только в 2003 г. одобрен FDA для использования. Несмотря на то что порообразующая активность даптомицина широко обсуждается в литературе, большинство сведений получено в ходе экспериментов по изучению проницаемости липосом для флуоресцентных красителей и калия, а реальные каналоподобные флуктуации тока, индуцированные этим липопептидом, продемонстрированы только в нескольких исследованиях с использованием плоских липидных бислоев. Установлено, что в присутствии кальция даптомицин образует потенциал-чувствительные олигомерные поры различной проводимости [137]. Наименьшей единицей проводимости, вероятно, является димер; однако чаще всего в мембране функционируют проводящие олигомеры большего порядка (тетрамеры и пентамеры). Увеличение толерантности к порообразующему действию даптомицина с ростом содержания кардиолипина в модельных и клеточных мембранах [138] может указывать на то, что этот циклический липопептид формирует тороидальные липопептид-липидные поры (рис. 3г).

Недавно обнаружено, что циклические липопептиды из стрептомицет *гауземицины* А и В, проявляющие многообещающую активность в отношении резистентных штаммов грамположительных бактерий, также реализуют свое антибактериальное действие посредством образования ион-проницаемых пор, причем их способность формировать каналы зависит от вида мембранообразующих липидов и присутствия ионов кальция [139, 140].

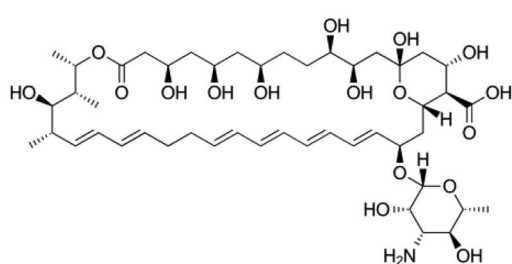
3. Порообразующие агенты непептидной природы

Полиеновые макролидные антибиотики — это большой класс продуцируемых актиномицетами соединений непептидной природы. Химическая структура некоторых представителей показана на рис. 5. Основу молекул этих антибиотиков составляет макролидное кольцо, содержащее жесткую гидрофобную полиеновую цепь (как правило, состоящую из нескольких сопряженных двойных связей, число которых является основным критерием при классификации соединений) и гидрофильную цепь, богатую гидроксильными радикалами.

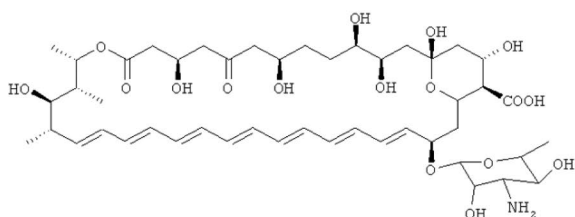
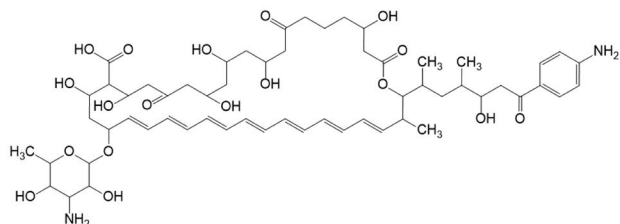
Амфотерицин В



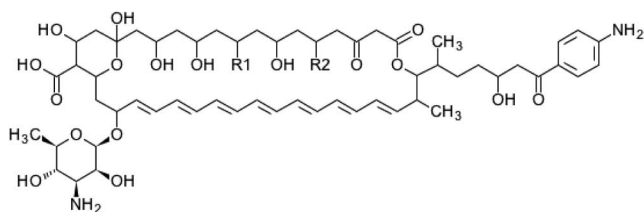
Нистатин



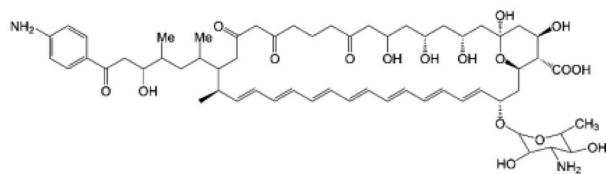
Микогептин

Леворин А₂

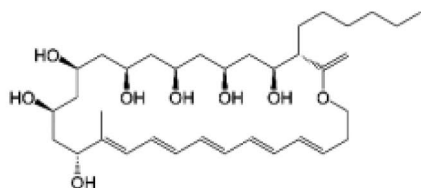
Трихомицин



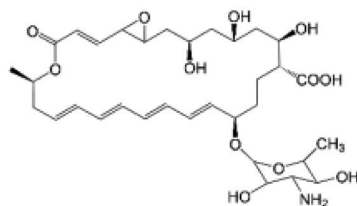
Кандицидин



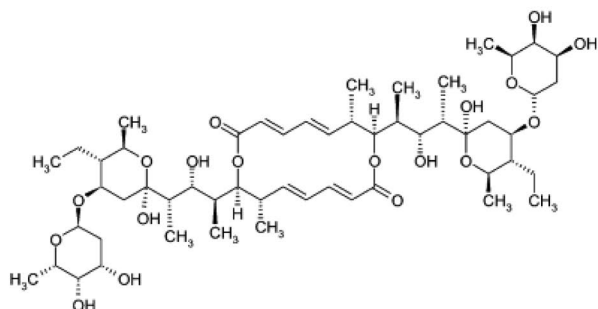
Филипин



Ауреофусцин



Элайофилин



Бетиколин 3

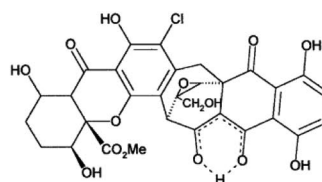


Рис. 5. Химическая структура порообразующих антимикробных агентов непептидной природы: амфотерицина В, нистатина, микогептина, леворина А₂, трихомицина, кандицидина, филипина, ауреофусцина, элайофилина и бетиколина 3.

Полиеновые макролиды являются самыми эффективными противогрибковыми препаратами, которые используются для лечения системных микозов уже несколько десятилетий. Использование полиеновых антибиотиков в терапевтических целях сопряжено с повышенным риском развития большого числа серьезных побочных эффектов, таких как нефропатия, анемия, тромбофлебит и аритмия [141, 142].

Все исследователи сходятся во мнении, что противогрибковое действие полиеновых антибиотиков определяется их мембранной активностью, а ключевым фактором является присутствие стерина в мембранах клеток-мишеней. Так, наличие эргостерина в мембранах патогенных грибов определяет антифунгальную, а присутствие холестерина в мембранах клеток млекопитающих — токсическую активность препаратов. Причем сродство полиеновых антибиотиков к эргостерину выше, чем к холестерину, но терапевтическое окно, обусловленное этой разницей, не так велико, что определяет высокую токсичность этих препаратов и возможность их использования только в качестве антибиотиков «последней надежды». Главные расхождения во взглядах исследователей в основном касаются молекулярных механизмов мембранного действия полиеновых макролидов. Доминирующая концепция основана на нарушении водно-электролитного баланса при формировании этими агентами трансмембранных пор [143], а альтернативная гипотеза связывает нарушение жизнедеятельности клеток-мишеней с экстракцией полиенами мембранных стерина [144, 145].

Дискретные каналоподобные флуктуации тока, протекающего через плоские липидные бислои, обработанные наиболее часто используемыми в клинической практике полиеновыми антибиотиками амфотерицином В и нистатином, впервые продемонстрированы в работе Ермишкина с коллегами в 1976 г. [146]. Впоследствии способность формировать поры также выявлена у микогептина, леворина А₂, трихомицина, кандицидина, филипина, ауреофуцина и элайофилина [147–149].

Точная архитектура образуемых полиеновыми антибиотиками пор до сих пор остается предметом для научных дискуссий. Принято думать, что после адсорбции на мембране молекулы полиенов связываются со стеринами, а затем образовавшиеся полиен-стериновые комплексы (по разным оценкам от 6 до 8) за счет электростатических взаимодействий между молекулами антибиотика формируют цилиндрическую «полупору» по принципу «бочонка». В этом случае остатки микозаминов и карбоксильные группы

амфотерицина В и нистатина, ориентированных перпендикулярно плоскости мембраны, оказываются обращенными в водную фазу, гидроксильные группы гидрофильной цепи выстилают водную пору, а полиеновые фрагменты взаимодействуют с молекулами стерина [147]. В случае введения антибиотика только с одной стороны мембраны полупора формирует асимметричный канал с липидным устьем с противоположной стороны бислоя [150–152]. Для описания структуры асимметричного полиенового канала можно использовать модель, предложенную для сирингомицина Е (рис. 3г). При введении амфотерицина В или нистатина с обеих сторон липидного бислоя две полупоры в противоположных липидных монологах ассоциируют путем образования водородных связей между гидроксильными группами, образуя симметричный канал подобно тому, как происходит димеризация грамицидина А (рис. 3а) [143, 151, 153, 154]. Пороговые концентрации антибиотика, необходимые для наблюдения асимметричных и симметричных полиеновых каналов, а также их анион-катионная специфичность различны [151, 154, 155]. Проводимость одиночных анион-селективных симметричных амфотерициновых каналов является функцией дипольного потенциала мембраны [156, 157], а асимметричные катион-специфичные амфотерициновые и нистатиновые каналы, благодаря наличию липидного устья с положительной спонтанной кривизной, чувствительны к изменению эластических свойств мембраны при введении модификаторов [158–160].

Бетиколины представляют собой группу из продуцируемых грибом *Cercospora beticola* непептидных фитотоксинов периленихиноновой природы, которые также проявляют антимикробную активность. На рис. 5 представлена химическая структура бетиколина 3. Показано, что бетиколины формируют в плоских липидных бислоях Mg²⁺-зависимые слабоселективные ионные каналы с множественными уровнями проводимости [161, 162]. Многоуровневая проводимость бетиколиновых каналов обусловлена кластерной организацией элементарных проводящих субъединиц. В литературе нет точных сведений об устройстве бетиколиновых каналов; выдвинуто предположение о том, что трансмембранные поры образуются при ассоциации нескольких димеров бетиколина в проводящую трубчатую структуру [161].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка методов создания искусственных моделей клеточных мембран во многом определила прогресс в изучении механизмов антимикробного

действия экзогенных соединений. Рассмотренные в настоящем обзоре исследования, посвященные порообразующей активности различных антимикробных соединений природного происхождения, указывают на ключевую роль липидного состава мембран клеток-мишеней. Так, наличие отрицательно заряженных липидов в составе бактериальных мембран способствует адсорбции, как правило, положительно заряженных антимикробных пептидов на поверхности и обеспечивает их функционально значимый фолдинг (в частности, приобретение α -спиральной конформации). Другими важными факторами являются толщина таргетной мембраны, которая определяет разницу между толщиной углеводородного кора липидного бислоя и длиной гидрофобного участка порообразующей структуры в открытом состоянии, а также присутствие неламеллярных липидов, способных уменьшить энергетическую стоимость деформации мембраны в случае несоответствия. Это дает основание рассматривать липиды мембран клеток-мишеней как молекулярные шапероны, обеспечивающие процесс формирования пор антимикробными агентами. Кроме того, благодаря наличию заряда и (или) достаточно высокого дипольного момента у большинства антимикробных соединений, их каналобразующая активность может регулироваться дипольным потенциалом мембраны. Таким образом, модификаторы мембран, способные существенным образом изменять эластические свойства липидного матрикса и дипольный потенциал мембраны, могут быть агонистами порообразующей активности антимикробных агентов, т.е. могут быть использованы в комбинированной терапии для увеличения терапевтического индекса лекарственного препарата, что чрезвычайно важно как с точки зрения поиска путей решения проблемы высокой токсичности порообразующих антибиотиков, так и борьбы с устойчивыми штаммами патогенных микроорганизмов. Дальнейшие изыскания в этой области, в том числе с использованием плоских липидных бислоев, могут способствовать лучшему пониманию закономерностей, лежащих в основе формирования ионных каналов экзогенными соединениями, и выяснению особенностей молекулярного ландшафта, характеризующего эти процессы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-74-10023).

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо

исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Andreoli T.E. 1974. Planar lipid bilayer membranes. *Methods Enzymol.* **32**, 513–539.
2. Hanke W., Schlue W.-R. 1993. Biochemical preparations for planar lipid bilayer experiments. In: *Planar Lipid Bilayers*. Hanke W., Schlue W.-R. Elsevier: Academic press limited, p. 24–59.
3. Mueller P., Rudin D.O., Tien H.Ti., Wescott W.C. 1962. Reconstitution of cell membrane structure in vitro and its transformation into an excitable system. *Nature*. **194**, 979–980. doi 10.1038/194979a0
4. Mueller P., Rudin D.O. 1986. Induced excitability in reconstituted cell membrane structure. *J. Theoret. Biol.* **4**, 268–280.
5. Tosaka T., Kamiya K. 2023. Function Investigations and Applications of membrane proteins on artificial lipid membranes. *Int. J. Mol. Sci.* **24** (8), 7231. doi 10.3390/ijms24087231
6. White S.H. 1978. Formation of “solvent-free” black lipid bilayer membranes from glyceryl monooleate dispersed in squalene. *Biophys. J.* **23** (3), 337–347. doi 10.1016/S0006-3495(78)85453-8
7. White S.H. 1974. Temperature-dependent structural changes in planar bilayer membranes: solvent “freeze-out”. *Biochim. Biophys. Acta.* **356** (1), 8–16. doi 10.1016/0005-2736(74)90289-2
8. Vodyanoy V., Murphy R.B. 1982. Solvent-free lipid bimolecular membranes of large surface area. *Biochim. Biophys. Acta.* **687** (2), 189–194. doi 10.1016/0005-2736(82)90545-4
9. Montal M., Mueller P. 1972. Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **69** (12), 3561–3566. doi 10.1073/pnas.69.12.3561
10. Funakoshi K., Suzuki H., Takeuchi S. 2006. Lipid bilayer formation by contacting monolayers in a microfluidic device for membrane protein analysis. *Anal. Chem.* **78** (24), 8169–8174. doi 10.1021/ac0613479
11. Oiki S., Iwamoto M. 2018. Lipid bilayers manipulated through monolayer technologies for studies of channel-membrane interplay. *Biol. Pharm. Bull.* **41** (3), 303–311. doi 10.1248/bpb.b17-00708
12. Coronado R., Latorre R. 1983. Phospholipid bilayers made from monolayers on patch-clamp pipettes. *Biophys. J.* **43** (2), 231–236. doi 10.1016/S0006-3495(83)84343-4
13. Sarges R., Witkop B. Gramicidin A. 1965. V. The structure of valine- and isoleucine-gramicidin A. *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 2011–2020. doi 10.1021/ja01087a027
14. Sarges R., Witkop B. Gramicidin A. 1965. VII. The structure of valine- and isoleucine-gramicidin B. *J.*

- Am. Chem. Soc.* **87**, 2027–2030.
doi 10.1021/ja01087a029
15. Urry D.W. 1971. The gramicidin A transmembrane channel: a proposed pi(L,D) helix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **68** (3), 672–676. doi 10.1073/pnas.68.3.672
 16. Urry D.W., Long M.M., Jacobs M., Harris R.D. 1975. Conformation and molecular mechanisms of carriers and channels. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **264**, 203–220. doi 10.1111/j.1749-6632.1975.tb31484.x
 17. Veatch W.R., Fossel E.T., Blout E.R. 1974. The conformation of gramicidin A. *Biochemistry*. **13** (26), 5249–5256. doi 10.1021/bi00723a001
 18. Hladky S.B., Haydon D.A. 1970. Discreteness of conductance change in bimolecular lipid membranes in the presence of certain antibiotics. *Nature*. **225** (5231), 451–453. doi 10.1038/225451a0
 19. Antonov V.F., Petrov V.V., Molnar A.A., Predvoditelev D.A., Ivanov A.S. 1980. The appearance of single-ion channels in unmodified lipid bilayer membranes at the phase transition temperature. *Nature*. **283** (5747), 585–586. doi 10.1038/283585a0
 20. Elliott J.R., Needham D., Dilger J.P., Brandt O., Haydon D.A. 1985. A quantitative explanation of the effects of some alcohols on gramicidin single-channel lifetime. *Biochim. Biophys. Acta*. **814** (2), 401–404. doi 10.1016/0005-2736(85)90462-6
 21. Krasne S., Eisenman G., Szabo G. 1971. Freezing and melting of lipid bilayers and the mode of action of nonactin, valinomycin, and gramicidin. *Science*. **174** (4007), 412–415. doi 10.1126/science.174.4007.412
 22. Roeske R.W., Hrinio-Pavlina T.P., Pottorf R.S., Bridal T., Jin X.Z., Busath D. 1989. Synthesis and channel properties of [Tau 16]gramicidin A. *Biochim. Biophys. Acta*. **982** (2), 223–227. doi 10.1016/0005-2736(89)90058-8
 23. O'Connell A.M., Koeppe R.E.2nd, Andersen O.S. 1990. Kinetics of gramicidin channel formation in lipid bilayers: Transmembrane monomer association. *Science*. **250** (4985), 1256–1259. doi 10.1126/science.1700867
 24. Kelkar D.A., Chattopadhyay A. 2007. The gramicidin ion channel: a model membrane protein. *Biochim. Biophys. Acta*. **1768** (9), 2011–2025. doi: 10.1016/j.bbamem.2007.05.011.
 25. Sun Z., Barboiu M. 2019. Artificial Gramicidins. *Front. Chem.* **7**, 611. doi 10.3389/fchem.2019.00611.
 26. Myers V.B., Haydon D.A. 1972. Ion transfer across lipid membranes in the presence of gramicidin A. II. The ion selectivity. *Biochim. Biophys. Acta*. **274** (2), 313–322. doi 10.1016/0005-2736(72)90179-4
 27. Urban B.W., Hladky S.B., Haydon D.A. 1980. Ion movements in gramicidin pores. An example of single-file transport. *Biochim. Biophys. Acta*. **602** (2), 331–354. doi 10.1016/0005-2736(80)90316-8
 28. Seoh S.A., Busath D. 1993. The permeation properties of small organic cations in gramicidin A channels. *Biophys. J.* **64** (4), 1017–1028. doi 10.1016/S0006-3495(93)81467-X
 29. Bamberg E., Läuger P. 1977. Blocking of the gramicidin channel by divalent cations. *J. Membr. Biol.* **35**, 351–375. doi 10.1007/BF01869959
 30. Hemsley G., Busath D. 1991. Small iminium ions block gramicidin channels in lipid bilayers. *Biophys. J.* **59** (4), 901–907. doi 10.1016/S0006-3495(91)82303-7
 31. Rudnev V.S., Ermishkin L.N., Rovin Iu.G. 1980. Effect of bilayer lipid membrane thickness, composition, and tension on gramicidin channel parameters. *Biofizika*. **25** (5), 857–858.
 32. Hwang T.C., Koeppe R.E.2nd, Andersen O.S. 2003. Genistein can modulate channel function by a phosphorylation-independent mechanism: Importance of hydrophobic mismatch and bilayer mechanics. *Biochemistry*. **42** (46), 13646–13658. doi 10.1021/bi034887y
 33. Kolb H.A., Bamberg E. 1977. Influence of membrane thickness and ion concentration on the properties of the gramicidin a channel. Autocorrelation, spectral power density, relaxation and single-channel studies. *Biochim. Biophys. Acta*. **464** (1), 127–141. doi 10.1016/0005-2736(77)90376-5
 34. de Groot B.L., Tieleman D.P., Pohl P., Grubmüller H. 2002. Water permeation through gramicidin A: Desformylation and the double helix: A molecular dynamics study. *Biophys. J.* **82** (6), 2934–2942. doi 10.1016/S0006-3495(02)75634-8
 35. Weinrich M., Worcester D.L., Bezrukov S.M. 2017. Lipid nanodomains change ion channel function. *Nanoscale*. **9** (35), 13291–13297. doi 10.1039/c7nr03926c
 36. Lundbaek J.A., Andersen O.S. 1994. Lysophospholipids modulate channel function by altering the mechanical properties of lipid bilayers. *J. Gen. Physiol.* **104** (4), 645–673. doi 10.1085/jgp.104.4.645
 37. Bezrukov S.M. 2000. Functional consequences of lipid packing stress *Cur. Opin. Colloid Inter. Sci.* **5** (3–4), 237–243. doi 10.1016/S1359-0294(00)00061-3
 38. Rostovtseva T.K., Weinrich M., Jacobs D., Rosencrans W.M., Bezrukov S.M. 2024. Dimeric tubulin modifies mechanical properties of lipid bilayer, as probed using gramicidin A channel. *Int. J. Mol. Sci.* **25** (4), 2204. doi 10.3390/ijms25042204
 39. Rostovtseva T.K., Aguilera V.M., Vodyanoy I., Bezrukov S.M., Parsegian V.A. 1998. Membrane surface-charge titration probed by gramicidin A channel conductance. *Biophys. J.* **75** (4), 1783–1792. doi 10.1016/S0006-3495(98)77620-9
 40. Rostovtseva T.K., Petrache H.I., Kazemi N., Hassanzadeh E., Bezrukov S.M. 2008. Interfacial polar interactions affect gramicidin channel kinetics. *Biophys. J.* **94** (4), L23–25. doi 10.1529/biophysj.107.120261
 41. Rokitskaya T.I., Antonenko Y.N., Kotova E.A. 1997. Effect of the dipole potential of a bilayer lipid membrane on gramicidin channel dissociation kinetics.

- Biophys. J.* **73** (2), 850–854.
doi 10.1016/S0006-3495(97)78117-7
42. Duffin R.L., Garrett M.P., Flake K.B., Durrant J.D., Busath D.D. 2003. Modulation of lipid bilayer interfacial dipole potential by phloretin, RH421, and 6-ketocholestanol as probed by gramicidin channel conductance. *Langmuir*. **19**, 1439–1442.
doi 10.1021/la025892q
 43. Efimova S.S., Zakharova A.A., Ostroumova O.S. 2020. Alkaloids modulate the functioning of ion channels produced by antimicrobial agents via an influence on the lipid host. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 537.
doi 10.3389/fcell.2020.00537
 44. Efimova S.S., Ostroumova O.S. 2021. Is the membrane lipid matrix a key target for action of pharmacologically active plant saponins? *Int. J. Mol. Sci.* **22** (6), 3167. doi 10.3390/ijms22063167
 45. Sawyer D.B., Williams L.P., Whaley W.L., Koeppe R.E.2nd, Andersen O.S. 1990. Gramicidins A, B, and C form structurally equivalent ion channels. *Biophys. J.* **58** (5), 1207–1212.
doi 10.1016/S0006-3495(90)82461-9
 46. Williams L.P., Narcessian E.J., Andersen O.S., Waller G.R., Taylor M.J., Lazenby J.P., Hinton J.F., Koeppe R.E.2nd. 1992. Molecular and channel-forming characteristics of gramicidin K's: A family of naturally occurring acylated gramicidins. *Biochemistry*. **31** (32), 7311–7319. doi 10.1021/bi00147a015
 47. Mueller P., Rudin D. 1968. Action potentials induced in biomolecular lipid membranes. *Nature*. **217**, 713–719. doi 10.1038/217713a0
 48. Menestrina G., Voges K.P., Jung G., Boheim G. 1986. Voltage-dependent channel formation by rods of helical polypeptides. *J. Membr. Biol.* **93** (2), 111–132.
doi 10.1007/BF01870804
 49. Duclohier H., Molle G., Dugast J.Y., Spach G. 1992. Prolines are not essential residues in the “barrel-stave” model for ion channels induced by alamethicin analogues. *Biophys. J.* **63** (3), 868–873.
doi 10.1016/S0006-3495(92)81637-5
 50. Rink T., Bartel H., Jung G., Bannwarth W., Boheim G. 1994. Effects of polycations on ion channels formed by neutral and negatively charged alamethicins. *Eur. Biophys. J.* **23** (3), 155–165.
doi 10.1007/BF01007607
 51. Molle G., Dugast J.Y., Spach G., Duclohier H. 1996. Ion channel stabilization of synthetic alamethicin analogs by rings of inter-helix H-bonds. *Biophys. J.* **70** (4), 1669–1675. doi 10.1016/S0006-3495(96)79729-1
 52. Asami K., Okazaki T., Nagai Y., Nagaoka Y. 2002. Modifications of alamethicin ion channels by substitution of Glu-7 for Gln-7. *Biophys. J.* **83** (1), 219–228.
doi 10.1016/S0006-3495(02)75163-1
 53. Boheim G., Hanke W., Jung G. 1983. Alamethicin pore formation: Voltage-dependent flip-flop of α -helix dipoles. *Biophys. Struct. Mechan.* **9**, 181–191.
 54. Luchian T., Mereuta L. 2006. Phlorizin- and 6-ketocholestanol-mediated antagonistic modulation of alamethicin activity in phospholipid planar membranes. *Langmuir*. **22** (20), 8452–8457. doi 10.1021/la0613777
 55. Stankowski S., Schwarz U.D., Schwarz G. 1988. Voltage-dependent pore activity of the peptide alamethicin correlated with incorporation in the membrane: Salt and cholesterol effects. *Biochim. Biophys. Acta*. **941** (1), 11–18. doi 10.1016/0005-2736(88)90208-8
 56. Aguilera V.M., Bezrukov S.M. 2001. Alamethicin channel conductance modified by lipid charge. *Eur. Biophys. J.* **30** (4), 233–241.
doi 10.1007/s002490100145
 57. Duclohier H., Alder G., Kociolk K., Leplawy M.T. 2003. Channel properties of template assembled alamethicin tetramers. *J. Pept. Sci.* **9** (11–12), 776–783.
doi 10.1002/psc.523
 58. Apetrei A., Mereuta L., Luchian T. 2009. The RH 421 styryl dye induced, pore model-dependent modulation of antimicrobial peptides activity in reconstituted planar membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. **1790** (8), 809–816. doi 10.1016/j.bbagen.2009.04.002
 59. Balaram P., Krishna K., Sukumar M., Mellor I.R., Sansom M.S. 1992. The properties of ion channels formed by zervamicins. *Eur. Biophys. J.* **21** (2), 117–128. doi 10.1007/BF00185426
 60. Molle G., Duclohier H., Spach G. 1987. Voltage-dependent and multi-state ionic channels induced by trichorzianines, anti-fungal peptides related to alamethicin. *FEBS Lett.* **224** (1), 208–212.
doi 10.1016/0014-5793(87)80449-0
 61. Duval D., Cosette P., Rebuffat S., Duclohier H., Bodo B., Molle G. 1998. Alamethicin-like behaviour of new 18-residue peptaibols, trichorzins PA. Role of the C-terminal amino-alcohol in the ion channel forming activity. *Biochim. Biophys. Acta*. **1369** (2), 309–319. doi 10.1016/S0005-2736(97)00235-6
 62. Koide N., Asami K., Fujita T. 1997. Ion-channels formed by hypelcins, antibiotic peptides, in planar bilayer lipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. **1326** (1), 47–53. doi 10.1016/S0005-2736(97)00005-9
 63. Shinkarev Z.O., Balashova T.A., Efremov R.G., Yakimenko Z.A., Ovchinnikova T.V., Raap J., Arseniev A.S. 2002. Spatial structure of zervamicin IIB bound to DPC micelles: Implications for voltage-gating. *Biophys. J.* **82** (2), 762–771.
doi 10.1016/S0006-3495(02)75438-6
 64. Rebuffat S., Duclohier H., Auvin-Guette C., Molle G., Spach G., Bodo B. 1992. Membrane-modifying properties of the pore-forming peptaibols saturnisporin SA IV and harzianin HA V. *FEMS Microbiol. Immunol.* **5** (1–3), 151–160.
doi 10.1111/j.1574-6968.1992.tb05886.x
 65. Duclohier H., Alder G.M., Bashford C.L., Brückner H., Chugh J.K., Wallace B.A. 2004. Conductance studies on trichotoxin_A50E and implications

- for channel structure. *Biophys. J.* **87** (3), 1705–1710. doi 10.1529/biophysj.104.040659
66. Duclohier H., Snook C.F., Wallace B.A. 1998. Antiamoebin can function as a carrier or as a pore-forming peptaibol. *Biochim. Biophys. Acta.* **1415** (1), 255–260. doi 10.1016/S0005-2736(98)00184-9
 67. Duclohier H. 2004. Helical kink and channel behaviour: A comparative study with the peptaibols alamethicin, trichotoxin and antiamoebin. *Eur. Biophys. J.* **33** (3), 169–174. doi 10.1007/s00249-003-0383-y
 68. Bessin Y., Saint N., Marri L., Marchini D., Molle G. 2004. Antibacterial activity and pore-forming properties of ceratotoxins: A mechanism of action based on the barrel stave model. *Biochim. Biophys. Acta.* **1667** (2), 148–156. doi 10.1016/j.bbame.2004.09.011
 69. Saint N., Marri L., Marchini D., Molle G. 2003. The antibacterial peptide ceratotoxin A displays alamethicin-like behavior in lipid bilayers. *Peptides.* **24** (11), 1779–1784. doi 10.1016/j.peptides.2003.09.015
 70. Christensen B., Fink J., Merrifield R.B., Mauzerall D. 1988. Channel-forming properties of cecropins and related model compounds incorporated into planar lipid membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85** (14), 5072–5076. doi 10.1073/pnas.85.14.5072
 71. Efimova S.S., Schagina L.V., Ostroumova O.S. 2014. Channel-forming activity of cecropins in lipid bilayers: Effect of agents modifying the membrane dipole potential. *Langmuir.* **30** (26), 7884–7892. doi 10.1021/la501549v
 72. Tosteson M.T., Alvarez O., Hubbell W., Bieganski R.M., Attenbach C., Caporales L.H., Levy J.J., Nutt R.F., Rosenblatt M., Tosteson D.C. 1990. Primary structure of peptides and ion channels. Role of amino acid side chains in voltage gating of melittin channels. *Biophys. J.* **58** (6), 1367–1375. doi 10.1016/S0006-3495(90)82483-8
 73. Manna M., Mukhopadhyay C. 2009. Cause and effect of melittin-induced pore formation: a computational approach. *Langmuir.* **25** (20), 12235–12242. doi 10.1021/la902660q
 74. Leveritt J.M.3rd, Pino-Angeles A., Lazaridis T. 2015. The structure of a melittin-stabilized pore. *Biophys. J.* **108** (10), 2424–2426. doi 10.1016/j.bpj.2015.04.006
 75. Yang L., Harroun T.A., Weiss T.M., Ding L., Huang H.W. 2001. Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores. *Biophys. J.* **81** (3), 1475–1485. doi 10.1016/S0006-3495(01)75802-X
 76. Wade D., Boman A., Wählin B., Drain C.M., Andreu D., Boman H.G., Merrifield R.B. 1990. All-D amino acid-containing channel-forming antibiotic peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87** (12), 4761–4765. doi 10.1073/pnas.87.12.4761
 77. Juvvadi P., Vunnam S., Merrifield E.L., Boman H.G., Merrifield R.B. 1996. Hydrophobic effects on antibacterial and channel-forming properties of cecropin A-melittin hybrids. *J. Pept. Sci.* **2** (4), 223–232. doi 10.1002/psc.63
 78. Duclohier H., Molle G., Spach G. 1989. Antimicrobial peptide magainin I from *Xenopus* skin forms anion-permeable channels in planar lipid bilayers. *Biophys. J.* **56** (5), 1017–1021. doi 10.1016/S0006-3495(89)82746-8
 79. Gallucci E., Meleleo D., Micelli S., Picciarelli V. 2003. Magainin 2 channel formation in planar lipid membranes: The role of lipid polar groups and ergosterol. *Eur. Biophys. J.* **32** (1), 22–32. doi 10.1007/s00249-002-0262-y
 80. Cruciani R.A., Barker J.L., Durell S.R., Raghunathan G., Guy H.R., Zasloff M., Stanley E.F. 1992. Magainin 2, a natural antibiotic from frog skin, forms ion channels in lipid bilayer membranes. *Eur. J. Pharmacol.* **226** (4), 287–296. doi 10.1016/0922-4106(92)90045-w
 81. Ludtke S.J., He K., Heller W.T., Harroun T.A., Yang L., Huang H.W. 1996. Membrane pores induced by magainin. *Biochemistry.* **35** (43), 13723–13728. doi 10.1021/bi9620621
 82. Matsuzaki K., Nakamura A., Murase O., Sugishita K., Fujii N., Miyajima K. 1997. Modulation of magainin 2-lipid bilayer interactions by peptide charge. *Biochemistry.* **36** (8), 2104–2111. doi 10.1021/bi961870p
 83. Allende D., Simon S.A., McIntosh T.J. 2005. Melittin-induced bilayer leakage depends on lipid material properties: evidence for toroidal pores. *Biophys. J.* **88**, 1828–1837. doi 10.1529/biophysj.104.049817
 84. Matsuzaki K., Sugishita K., Ishibe N., Ueha M., Nakata S., Miyajima K., Epand R.M. 1998. Relationship of membrane curvature to the formation of pores by magainin 2. *Biochemistry.* **37** (34), 11856–11863. doi 10.1021/bi980539y
 85. Watanabe H., Kawano R. 2016. Channel current analysis for pore-forming properties of an antimicrobial peptide, magainin 1, using the droplet contact method. *Anal. Sci.* **32** (1), 57–60. doi 10.2116/analsci.32.57
 86. Duclohier H. 2006. Bilayer lipid composition modulates the activity of dermaseptins, polycationic antimicrobial peptides. *Eur. Biophys. J.* **35** (5), 401–409. doi 10.1007/s00249-006-0047-9
 87. Saint N., Cadiou H., Bessin Y., Molle G. 2002. Antibacterial peptide pleurocidin forms ion channels in planar lipid bilayers. *Biochim. Biophys. Acta.* **1564** (2), 359–364. doi 10.1016/S0005-2736(02)00470-4
 88. Kagan B.L., Selsted M.E., Ganz T., Lehrer R.I. 1990. Antimicrobial defensin peptides form voltage-dependent ion-permeable channels in planar lipid bilayer membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87** (1), 210–214. doi 10.1073/pnas.87.1.210
 89. Kagan B.L., Ganz T., Lehrer R.I. 1994. Defensins: A family of antimicrobial and cytotoxic peptides. *Toxicology.* **87** (1–3), 131–149. doi 10.1016/0300-483x(94)90158-9
 90. Salay L.C., Procopio J., Oliveira E., Nakaie C.R., Schreier S. 2004. Ion channel-like activity of the antimicrobial peptide tritriptin in planar lipid bilayers.

- FEBS Lett.* **565** (1–3), 171–175.
doi 10.1016/j.febslet.2004.03.093
91. Capone R., Mustata M., Jang H., Arce F.T., Nussinov R., Lal R. 2010. Antimicrobial protegrin-1 forms ion channels: Molecular dynamic simulation, atomic force microscopy, and electrical conductance studies. *Biophys. J.* **98** (11), 2644–2652.
doi 10.1016/j.bpj.2010.02.024
 92. Sokolov Y., Mirzabekov T., Martin D.W., Lehrer R.I., Kagan B.L. 1999. Membrane channel formation by antimicrobial protegrins. *Biochim. Biophys. Acta.* **1420** (1–2), 23–29. doi 10.1016/s0005-2736(99)00086-3
 93. Gross E., Morell J.L. 1971. The structure of nisin. *J. Am. Chem. Soc.* **93** (18), 4634–4635.
doi 10.1021/ja00747a073
 94. Scherer K.M., Spille J.H., Sahl H.G., Grein F., Kubitschek U. 2015. The lantibiotic nisin induces lipid II aggregation, causing membrane instability and vesicle budding. *Biophys. J.* **108** (5), 1114–1124.
doi 10.1016/j.bpj.2015.01.020
 95. Wiedemann I., Breukink E., van Kraaij C., Kuipers O.P., Bierbaum G., de Kruijff B., Sahl H.G. 2001. Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. *J. Biol. Chem.* **276** (3), 1772–1779.
doi 10.1074/jbc.M006770200
 96. Brötz H., Josten M., Wiedemann I., Schneider U., Götz F., Bierbaum G., Sahl H.G. 1998. Role of lipid-bound peptidoglycan precursors in the formation of pores by nisin, epidermin and other lantibiotics. *Mol. Microbiol.* **30** (2), 317–327.
doi 10.1046/j.1365-2958.1998.01065.x
 97. Breukink E., Wiedemann I., van Kraaij C., Kuipers O.P., Sahl H.G., de Kruijff B. 1999. Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. *Science.* **286** (5448), 2361–2364.
doi 10.1126/science.286.5448.2361
 98. Wiedemann I., Benz R., Sahl H.G. 2004. Lipid II-mediated pore formation by the peptide antibiotic nisin: a black lipid membrane study. *J. Bacteriol.* **186** (10), 3259–3261. doi 10.1128/JB.186.10.3259-3261.2004
 99. Sahl H.G., Kordel M., Benz R. 1987. Voltage-dependent depolarization of bacterial membranes and artificial lipid bilayers by the peptide antibiotic nisin. *Arch. Microbiol.* **149** (2), 120–124.
doi 10.1007/BF00425076
 100. Giffard C.J., Dodd H.M., Horn N., Ladha S., Mackie A.R., Parr A., Gasson M.J., Sanders D. 1997. Structure-function relations of variant and fragment nisins studied with model membrane systems. *Biochemistry.* **36** (13), 3802–3810. doi 10.1021/bi962506t
 101. Chernyshova D.N., Tyulin A.A., Ostroumova O.S., Efimova S.S. 2022. Discovery of the potentiator of the pore-forming ability of lantibiotic nisin: Perspectives for anticancer therapy. *Membranes.* **12** (11), 1166.
doi 10.3390/membranes12111166
 102. Efimova S.S., Shekunov E.V., Chernyshova D.N., Zakharova A.A., Ostroumova O.S. 2022. The dependence of the channel-forming ability of lantibiotics on the lipid composition of the membranes. *Biochem. (Moscow), Suppl. Ser. A: Membr. Cell Biol.* **16**, 144–150. doi 10.1134/s1990747822020039
 103. Maget-Dana R., Peypoux F. 1994. Iturins, a special class of pore-forming lipopeptides: biological and physicochemical properties. *Toxicology.* **87** (1–3), 151–174. doi 10.1016/0300-483x(94)90159-7
 104. Bonmatin J.M., Laprévotte O., Peypoux F. 2003. Diversity among microbial cyclic lipopeptides: Iturins and surfactins. Activity-structure relationships to design new bioactive agents. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **6** (6), 541–556.
doi 10.2174/138620703106298716
 105. Koumoutsis A., Chen X.H., Henne A., Liesegang H., Hitzeroth G., Franke P., Vater J., Borriss R. 2004. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *J. Bacteriol.* **186** (4), 1084–1096.
doi 10.1128/JB.186.4.1084-1096.2004
 106. Huszcza E., Burczyk B. 2006. Surfactin isoforms from *Bacillus coagulans*. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.* **61** (9–10), 727–733. doi 10.1515/znc-2006-9-1020
 107. Kim P.I., Bai H., Bai D., Chae H., Chung S., Kim Y., Park R., Chi Y.T. 2004. Purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26. *J. Appl. Microbiol.* **97** (5), 942–949.
doi 10.1111/j.1365-2672.2004.02356.x
 108. Tsuge K., Ano T., Hirai M., Nakamura Y., Shoda M. 1999. The genes degQ, pps, and lpa-8 (sfp) are responsible for conversion of *Bacillus subtilis* 168 to plipastatin production. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43** (9), 2183–2192. doi 10.1128/AAC.43.9.2183
 109. Maget-Dana R., Heitz F., Ptak M., Peypoux F., Guinand M. 1985. Bacterial lipopeptides induce ion-conducting pores in planar bilayers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **129** (3), 965–971.
doi 10.1016/0006-291x(85)91985-0
 110. Maget-Dana R., Ptak M., Peypoux F., Michel G. 1985. Pore-forming properties of iturin A, a lipopeptide antibiotic. *Biochim. Biophys. Acta.* **815** (3), 405–409. doi 10.1016/0005-2736(85)90367-0
 111. Maget-Dana R., Ptak M. 1990. Iturin lipopeptides: Interactions of mycosubtilin with lipids in planar membranes and mixed monolayers. *Biochim. Biophys. Acta.* **1023** (1), 34–40. doi 10.1016/0005-2736(90)90006-a
 112. Sheppard J.D., Jumarie C., Cooper D.G., Laprade R. 1991. Ionic channels induced by surfactin in planar lipid bilayer membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* **1064** (1), 13–23. doi 10.1016/0005-2736(91)90406-x
 113. Ostroumova O.S., Malev V.V., Ilin M.G., Schagina L.V. 2010. Surfactin activity depends on the membrane dipole potential. *Langmuir.* **26** (19), 15092–15097. doi 10.1021/la102691y

114. Zakharova A.A., Efimova S.S., Malev V.V., Ostroumova O.S. 2019. Fengycin induces ion channels in lipid bilayers mimicking target fungal cell membranes. *Sci. Rep.* **9** (1), 16034. doi 10.1038/s41598-019-52551-5
115. Cho K.H., Kim Y.K. 2003. Two types of ion channel formation of tolaasin, a *Pseudomonas* peptide toxin. *FEMS Microbiol. Lett.* **221** (2), 221–226. doi 10.1016/S0378-1097(03)00182-4
116. Takemoto J.Y. 1992. Bacterial phytotoxin syringomycin and its interaction with host membranes. In: *Molecular signals in plant-microbe communication*. Verma D.P.S. Boca Raton, Fla: CRC Press, p. 247–260.
117. Feigin A.M., Takemoto J.Y., Wangspa R., Teeter J.H., Brand J.G. 1996. Properties of voltage-gated ion channels formed by syringomycin E in planar lipid bilayers. *J. Membr. Biol.* **149** (1), 41–47. doi 10.1007/s002329900005
118. Schagina L.V., Kaulin Y.A., Feigin A.M., Takemoto J.Y., Brand J.G., Malev V.V. 1998. Properties of ionic channels formed by the antibiotic syringomycin E in lipid bilayers: Dependence on the electrolyte concentration in the bathing solution. *Membr. Cell Biol.* **12** (4), 537–555.
119. Kaulin Y.A., Schagina L.V., Bezrukov S.M., Malev V.V., Feigin A.M., Takemoto J.Y., Teeter J.H., Brand J.G. 1998. Cluster organization of ion channels formed by the antibiotic syringomycin E in bilayer lipid membranes. *Biophys. J.* **74** (6), 2918–2925. doi 10.1016/S0006-3495(98)77999-8
120. Ostroumova O.S., Malev V.V., Kaulin Y.A., Gurnev P.A., Takemoto J.Y., Schagina L.V. 2005. Voltage-dependent synchronization of gating of syringomycin E ion channels. *FEBS Lett.* **579** (25), 5675–5679. doi 10.1016/j.febslet.2005.08.087
121. Malev V.V., Schagina L.V., Gurnev P.A., Takemoto J.Y., Nestorovich E.M., Bezrukov S.M. 2002. Syringomycin E channel: A lipidic pore stabilized by lipopeptide? *Biophys. J.* **82** (4), 1985–1994. doi 10.1016/S0006-3495(02)75547-1
122. Ostroumova O.S., Gurnev P.A., Schagina L.V., Bezrukov S.M. 2007. Asymmetry of syringomycin E channel studied by polymer partitioning. *FEBS Lett.* **581** (5), 804–808. doi 10.1016/j.febslet.2007.01.063
123. Schagina L.V., Gurnev P.A., Takemoto J.Y., Malev V.V. 2003. Effective gating charge of ion channels induced by toxin syringomycin E in lipid bilayers. *Bioelectrochemistry.* **60** (1–2), 21–27. doi 10.1016/S1567-5394(03)00041-0
124. Ostroumova O.S., Kaulin Y.A., Gurnev P.A., Schagina L.V. 2007. Effect of agents modifying the membrane dipole potential on properties of syringomycin E channels. *Langmuir.* **23** (13), 6889–6892. doi 10.1021/la7005452
125. Zakharova A.A., Efimova S.S., Schagina L.V., Malev V.V., Ostroumova O.S. 2018. Blocking ion channels induced by antifungal lipopeptide syringomycin E with amide-linked local anesthetics. *Sci. Rep.* **8** (1), 11543. doi 10.1038/s41598-018-30077-6
126. Agner G., Kaulin Y.A., Gurnev P.A., Szabo Z., Schagina L.V., Takemoto J.Y., Blasko K. 2000. Membrane-permeabilizing activities of cyclic lipodepsipeptides, syringopeptin 22A and syringomycin E from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in human red blood cells and in bilayer lipid membranes. *Bioelectrochemistry.* **52** (2), 161–167. doi 10.1016/S0302-4598(00)00098-2
127. Dalla Serra M., Bernhart I., Nordera P., Di Giorgio D., Ballio A., Menestrina G. 1999. Conductive properties and gating of channels formed by syringopeptin 25A, a bioactive lipodepsipeptide from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, in planar lipid membranes. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **12** (5), 401–409. doi 10.1094/MPMI.1999.12.5.401
128. Carpaneto A., Dalla Serra M., Menestrina G., Fogliano V., Gambale F. 2002. The phytotoxic lipodepsipeptide syringopeptin 25A from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* forms ion channels in sugar beet vacuoles. *J. Membr. Biol.* **188** (3), 237–248. doi 10.1007/s00232-001-0187-x
129. Gur'nev F.A., Kaulin Iu.A., Tikhomirova A.V., Wangspa R., Takemoto D., Malev V.V., Shchagina L.V. 2002. Activity of toxins produced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in model and cell membranes. *Tsitologiya.* **44** (3), 296–304.
130. Bensaci M.F., Gurnev P.A., Bezrukov S.M., Takemoto J.Y. 2011. Fungicidal activities and mechanisms of action of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* lipodepsipeptide syringopeptins 22A and 25A. *Front. Microbiol.* **2**, 216. doi 10.3389/fmicb.2011.00216
131. David S.A., Balasubramanian K.A., Mathan V.I., Balaram P. 1992. Analysis of the binding of polymyxin B to endotoxic lipid A and core glycolipid using a fluorescent displacement probe. *Biochim. Biophys. Acta.* **1165** (2), 147–152. doi 10.1016/0005-2760(92)90180-4
132. Mares J., Kumaran S., Gobbo M., Zerbe O. 2009. Interactions of lipopolysaccharide and polymyxin studied by NMR spectroscopy. *J. Biol. Chem.* **284** (17), 11498–11506. doi 10.1074/jbc.M806587200
133. Moore R.A., Bates N.C., Hancock R.E. 1986. Interaction of polycationic antibiotics with *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide and lipid A studied by using dansyl-polymyxin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **29** (3), 496–500. doi 10.1128/AAC.29.3.496
134. Kendig J.J., Erickson N., Galla H.J. 1980. Interaction of polymyxin with vertebrate peripheral nerve axons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **97** (1), 75–80. doi 10.1016/S0006-291X(80)80136-7
135. Schröder G., Brandenburg K., Seydel U. 1992. Polymyxin B induces transient permeability fluctuations in asymmetric planar lipopolysaccharide/phospholipid bilayers. *Biochemistry.* **31** (3), 631–638. doi 10.1021/bi00118a001
136. Zakharova A.A., Efimova S.S., Ostroumova O.S. 2022. Lipid Microenvironment modulates the pore-forming

- ability of polymyxin B. *Antibiotics*. **11** (10), 1445. doi 10.3390/antibiotics11101445
137. Seydlová G., Sokol A., Lišková P., Konopásek I., Fišer R. 2018. Daptomycin pore formation and stoichiometry depend on membrane potential of target membrane. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63** (1), e01589-18. doi 10.1128/AAC.01589-18
 138. Zhang T., Muraih J.K., Tishbi N., Herskowitz J., Victor R.L., Silverman J., Uwumarenogie S., Taylor S.D., Palmer M., Mintzer E. 2014. Cardiolipin prevents membrane translocation and permeabilization by daptomycin. *J. Biol. Chem.* **289** (17), 11584–11591. doi 10.1074/jbc.M114.554444
 139. Tyurin A.P., Alferova V.A., Paramonov A.S., Shuvalov M.V., Kudryakova G.K., Rogozhin E.A., Zhrebek A.Y., Brylev V.A., Chistov A.A., Baranova A.A., Biryukov M.V., Ivanov I.A., Prokhorenko I.A., Grammatikova N.E., Kravchenko T.V., Isakova E.B., Mirchink E.P., Gladkikh E.G., Svirshchevskaya E.V., Mardanov A.V., Beletsky A.V., Kocharovskaya M.V., Kulyaeva V.V., Shashkov A.S., Tsvetkov D.E., Nifantiev N.E., Apt A.S., Majorov K.B., Efimova S.S., Ravin N.V., Nikolaev E.N., Ostroumova O.S., Katrukha G.S., Lapchinskaya O.A., Dontsova O.A., Terekhov S.S., Osterman I.A., Shenkarev Z.O., Korshun V.A. 2021. Gausemycins A,B: Cyclic lipoglycopeptides from *Streptomyces* sp.*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **60** (34), 18694–18703. doi 10.1002/anie.202104528
 140. Kravchenko T.V., Paramonov A.S., Kudzhaev A.M., Efimova S.S., Khorev A.S., Kudryakova G.K., Ivanov I.A., Chistov A.A., Baranova A.A., Krasilnikov M.S., Lapchinskaya O.A., Tyurin A.P., Ostroumova O.S., Smirnov I.V., Terekhov S.S., Dontsova O.A., Shenkarev Z.O., Alferova V.A., Korshun V.A. 2024. Gausemycin antibiotic family acts via Ca^{2+} -dependent membrane targeting. *J. Nat. Prod.* **87** (4), 664–674. doi 10.1021/acs.jnatprod.3c00612
 141. Craven P.C., Gremillion D.H. 1985. Risk factors of ventricular fibrillation during rapid amphotericin B infusion. *Antimicrob. Agents Chemother.* **27** (5), 868–871. doi 10.1128/AAC.27.5.868
 142. Shigemi R., Fukuda M., Suzuki Y., Morimoto T., Ishii E. 2011. L-arginine is effective in stroke-like episodes of MELAS associated with the G13513A mutation. *Brain Dev.* **33** (6), 518–520. doi 10.1016/j.braindev.2010.07.013
 143. Andreoli T.E. 1974. The structure and function of amphotericin B-cholesterol pores in lipid bilayer membranes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **235**, 448–468. doi 10.1111/j.1749-6632.1974.tb43283.x
 144. Anderson T.M., Clay M.C., Cioffi A.G., Diaz K.A., Hisao G.S., Tuttle M.D., Nieuwkoop A.J., Comellas G., Maryum N., Wang S., Uno B.E., Wildeman E.L., Gonen T., Rienstra C.M., Burke M.D. 2014. Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. *Nat. Chem. Biol.* **10** (5), 400–406. doi 10.1038/nchembio.1496
 145. Gray K.C., Palacios D.S., Dailey I., Endo M.M., Uno B.E., Wilcock B.C., Burke M.D. 2012. Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **109** (7), 2234–2239. doi 10.1073/pnas.1117280109
 146. Ermishkin L.N., Kasumov K.M., Potzeluyev V.M. 1976. Single ionic channels induced in lipid bilayers by polyene antibiotics amphotericin B and nystatine. *Nature*. **262** (5570), 698–699. doi 10.1038/262698a0
 147. Касумов Х.М. 2009. Структура и мембранная функция полиеновых макролидных антибиотиков. М.: Наука. 512 с.
 148. Shi Y.L., Wang W.P., Zou Y.C. Ionic channels formed in the lipid bilayer membranes by aureofuscin, a polyene antibiotics. *Sheng Li Xue Bao*. 1991. **43** (2), 128–133.
 149. Grigoriev P.A., Schlegel R., Gräfe U. 2001. Cation selective ion channels formed by macrodiolide antibiotic elaiophyllin in lipid bilayer membranes. *Bioelectrochemistry*. **54** (1), 11–15. doi 10.1016/s0302-4598(01)00102-7
 150. Kasumov Kh.M., Karakozov S.D. 1985. Effect of amphotericin B added to one side of a membrane. *Biofizika (Rus.)*. **30** (2), 281–284.
 151. Kleinberg M.E., Finkelstein A. 1984. Single-length and double-length channels formed by nystatin in lipid bilayer membranes. *J. Membr. Biol.* **80** (3), 257–269. doi 10.1007/BF01868444.
 152. Umegawa Y., Yamamoto T., Dixit M., Funahashi K., Seo S., Nakagawa Y., Suzuki T., Matsuoka S., Tsuchikawa H., Hanashima S., Oishi T., Matsumori N., Shinoda W., Murata M. 2022. Amphotericin B assembles into seven-molecule ion channels: An NMR and molecular dynamics study. *Sci. Adv.* **8** (24), eabo2658. doi 10.1126/sciadv.abo2658
 153. Borisova M.P., Brutyan R.A., Ermishkin L.N. 1986. Mechanism of anion-cation selectivity of amphotericin B channels. *J. Membr. Biol.* **90** (1), 13–20. doi 10.1007/BF01869681.
 154. Marty A., Finkelstein A. 1975. Pores formed in lipid bilayer membranes by nystatin, differences in its one-sided and two-sided action. *J. Gen. Physiol.* **65** (4), 515–526. doi 10.1085/jgp.65.4.515
 155. Brutyan R.A., McPhie P. 1996. On the one-sided action of amphotericin B on lipid bilayer membranes. *J. Gen. Physiol.* **107** (1), 69–78. doi 10.1085/jgp.107.1.69
 156. Ostroumova O.S., Efimova S.S., Schagina L.V. 2012. Probing amphotericin B single channel activity by membrane dipole modifiers. *PLoS One*. **7** (1), e30261. doi 10.1371/journal.pone.0030261
 157. Ostroumova O.S., Efimova S.S., Chulkov E.G., Schagina L.V. 2012. The interaction of dipole modifiers with polyene-sterol complexes. *PLoS One*. **7** (9), e45135. doi 10.1371/journal.pone.0045135
 158. Bolard J. 1986. How do the polyene macrolide antibiotics affect the cellular membrane properties? *Biochim. Biophys. Acta*. **864** (3–4), 257–304. doi 10.1016/0304-4157(86)90002-x

159. Chulkov E.G., Schagina L.V., Ostroumova O.S. 2015. Membrane dipole modifiers modulate single-length nystatin channels via reducing elastic stress in the vicinity of the lipid mouth of a pore. *Biochim. Biophys. Acta*. **1848** (1 Pt A), 192–199. doi 10.1016/j.bbamem.2014.09.004
160. Chulkov E.G., Ostroumova O.S. 2016. Phloretin modulates the rate of channel formation by polyenes. *Biochim. Biophys. Acta*. **1858** (2), 289–294. doi 10.1016/j.bbamem.2015.12.004
161. Goudet C., Benitah J.P., Milat M.L., Sentenac H., Thibaud J.B. 1999. Cluster organization and pore structure of ion channels formed by beticolin 3, a non-peptidic fungal toxin. *Biophys. J.* **77** (6), 3052–3059. doi 10.1016/S0006-3495(99)77136-5
162. Goudet C., Milat M.L., Sentenac H., Thibaud J.B. 2000. Beticolins, nonpeptidic, polycyclic molecules produced by the phytopathogenic fungus *Cercospora beticola*, as a new family of ion channel-forming toxins. *Mol. Plant Microbe Interact.* **3** (2), 203–209. doi 10.1094/MPMI.2000.13.2.203

Mechanisms of Lipid-Mediated Regulation of the Pore-Forming Activity of Antimicrobial Agents: Studies on Planar Lipid Bilayers

© 2024 г. S. S. Efimova¹, *, O. S. Ostroumova¹

¹*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia*

*e-mail: efimova@incras.ru

Planar lipid bilayers are unique tools designed for modeling cell membranes and electrophysiological studies of incorporated ion channels. Such model systems are designed to limit the number of components taking part in the functioning of biological membranes in order to characterize in detail the occurring processes under well-controlled experimental conditions. Planar lipid bilayers make it possible to record single events with a measured current of more than a tenth of a picoampere. The relative simplicity of the method, the ability to observe single molecular events, and the high reproducibility of the results obtained determines the unprecedented effectiveness of using planar lipid bilayers to identify key physical and chemical factors responsible for regulating the functioning of ion channels. This review represents an analysis of literature data concerning the mechanisms of lipid-associated regulation of ion channels formed by various antimicrobial agents. The examination allows us to consider the lipids as molecular chaperones that ensure the formation of pores in target membranes by antimicrobials.

Keywords: planar lipid bilayers, ion channels, antimicrobial peptides and lipopeptides, polyene macrolide antibiotics