

УДК 577.22, 577.23, 577.18

МИТОХОНДРИИ: ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ АМФИФИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Д. А. Аливердиева

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН

Митохондрии играют центральную роль в энергетическом метаболизме эукариот, осуществляя функции клеточного дыхания и обеспечивая большую часть синтеза АТФ – главного источника энергии в живой клетке. Показано, что митохондрии могут быть использованы в качестве бесконтактного и неинвазивного биосенсора для оценки токсических эффектов амфифильных химических соединений. На примере эффектов антимикробных пептидов – мастопарана, аламетицина и мелиттина (индуцирующих проницаемость биологических мембран) на митохондрии определены качественные и количественные параметры, определяющие молекулярный механизм их действия. Обсуждены преимущества и недостатки митохондриального биосенсора по сравнению с традиционными искусственными системами (БЛМ, липосомы). Предложенный подход может быть эффективен для оценки токсического действия на митохондрии амфифильных митохондриально ориентированных соединений при сравнительном рутинном тестировании перспективных лекарственных препаратов.

Mitochondria play a central role in energy metabolism of eukaryotes, performing the functions of cellular respiration and providing the most of the ATP synthesis – the main source of energy in the living cell. It is shown that the mitochondria can be used as a noncontact and noninvasive biosensor for evaluation of toxic effects of the amphiphilic chemical compounds. Quantitative and qualitative parameters of effects on mitochondria of antimicrobial peptides – mastoparan, melittin and alamethicin (inducing permeability of biological membranes) defining the molecular mechanism of their action were shown. The advantages and disadvantages of mitochondrial biosensor as compared to traditional artificial systems (BLM, liposomes) were discussed. The proposed approach may be effective for the evaluation of toxic effects of amphiphilic mitochondria targeted compounds on mitochondria in a comparative routine testing of perspective drugs.

Ключевые слова: митохондрии; биосенсор; амфифильные соединения; токсичность; тест-система.

Keywords: mitochondria; biosensor; amphiphilic compounds; toxicity; test-system.

Современная биологическая наука наряду с решением целого ряда важных проблем в области экологии, альтернативных источников энергии направлена на решение проблем в области медицины: лечения онкологических, сердечно-сосудистых, наследственных заболеваний, борьбу со старением, разработку новых лекарственных препаратов. Об этом свидетельствует количество аналитических обзоров и экспериментальных статей в области медицинской биохимии, биоэнергетики, фармакологии, биотехнологии лекарственных препаратов, посвященных разработке современных биотехнологий, новых классов химических соединений, способных воздействовать на биологические системы (одноклеточные и многоклеточные организмы, отдельные органеллы). Митохондрии – важнейшие органеллы, присутствующие в клетках эукариот, осуществляющие функции клеточного дыхания и обеспечивающие большую часть синтеза АТФ – главного источника энергии в живой клетке. Движущей силой процесса образования АТФ служит энергия электрического поля, существующего на сопрягающей (генерирующий трансмембранный потенциал ($\Delta\Psi$)) мембране митохондрий. Любые нарушения молекулярных процессов в митохондриях могут негативно воздействовать на основные функции организма. В настоящее время получены экспериментальные доказательства ассоциированного со старением изменения митохондриального генома, приводящего к фрагментации митохондриальной ДНК, и через ряд молекулярных событий, клеточному апоптозу, дегенерации и атрофии тканей [1, 2]. Показано, что внедрение митохондриальной ДНК в хромосомы может быть при-

чиной рака и старения, что митохондрии представляют собой центр контроля апоптоза [3, 4]. Интенсивно развивается митохондриальная медицина [5] и, в частности, митохондриальная генетика человека. Дефекты митохондрий, затрагивающие митохондриальную ДНК, трансмембранный потенциал или систему контроля качества этих органелл, могут быть причиной ряда генетических и мультисистемных заболеваний, таких как нейропатии [6], кардиопатии [7], онкологические болезни [8] (всего – более 100 патологий). Перечень всех патогенных мутаций в митохондриальной ДНК, известных сегодня науке, приведен в базе данных MitoMap (<http://www.mitomap.org>). Имеется опыт применения новых технологий митохондриально ориентированных антиоксидантов и клеточной терапии для профилактики развития ряда патологий. В НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова синтезированы соединения на основе трифенилметилфосфония (SkQ1 и SkQR), способные избирательно накапливаться в митохондриях в высоких концентрациях, оказывая антиоксидантное действие, предупреждая гибель клеток от окислительного стресса и гипоксии [9, 10]. В лаборатории биологического окисления Института биохимии им. А.Н. Баха РАН нами разработаны экспериментальные подходы для использования препарата митохондрий в качестве тест-системы для скрининга митохондриально ориентированных амфифильных соединений – потенциальных лекарственных препаратов для определения степени их токсичности [11]. Главной нашей задачей являлось совершенствование практических методов получения препаратов изолированных митохондрий с параметрами, отвечающими необходимым критериям интактности. В качестве лекарственных препаратов были выбраны традиционные антимикробные агенты-пороформеры, используемые в настоящее время в клинической практике: мелиттин – пептид (26 аминокислотных остатков (а.о.) из яда европейской пчелы *Apis mellifera*), мастопараны – пептиды (14 а.о.) из яда ос рода *Vespa* и аламетицин – пептид (19 а.о., в том числе, 8 остатков α -аминоизобутирата), продуцируемый плесенью *Trichoderma viride* [12]. Мелиттин рассматривается как перспективное средство при лечении карциномы печени [13]. Мастопаран и мелиттин модулируют гормон-рецепторные взаимодействия, поэтому предполагается использование этих пептидов в практической эндокринологии [14]. Проникновение к месту терапевтического воздействия (в цитоплазму) связано с порообразующими свойствами двух последних пептидов в плазматической мембране. В присутствии аламетицина имеет место синергическое повышение эффективности эндофлюксина при лечении респираторных болезней, вызываемых *Mycoplasma pulmonis* [15]. Этот эффект связывают с порообразующим действием пептида, поэтому интересно изучение потенциального токсического действия на митохондрии этого антимикробного агента. Молекулы всех перечисленных пептидов в мембраносвязанном состоянии α -спирализованы [16]. Известно, что α -спирали мелиттина и аламетицина имеют функционально важный перелом на уровне Pro, а длины спирали мастопарана недостаточно для пересечения мембраны [17]. В то же время минимальная длина, необходимая для катионной проводимости, для аналогов аламетицина, составляет 13 Å, поэтому мастопаран можно рассматривать как функциональную модель аламетицина. В той или иной мере образование канала всеми этими пептидами является потенциал-зависимым. Мелиттин и мастопаран имеют кластеры из 2–3 лизинов на C-концах, что позволяет рассматривать их как структурные аналоги. Это предопределяет преимущественное сродство таких пептидов к кислым липидам [18], а также наличие у таких молекул дипольного момента. У аламетицина такой кластер отсутствует, но дипольные моменты мелиттина и аламетицина близки. $\Delta\Psi$, по-видимому, способствует малоэнергоемкому формированию трансмембранного состояния пороформеров, предшествующего образованию каналов. Так, на бислойных липидных мембранах (БЛМ) и липосомах [19] показано, что $\Delta\Psi$ стимулирует порообразование,

индуцированное мелиттином. Если в отсутствие $\Delta\Psi$ почти полная трансмембранность пептида достигается при соотношении пептид/липид, равном 1/10 [20], то в присутствии $\Delta\Psi$ соотношение близко к 1/300. Аналогично для аламетицина такая локализация в отсутствие $\Delta\Psi$ – при 1/20–1/30 [12], а в его присутствии при соотношениях – меньших, чем 1/100 [21]. Для мастопарана в отсутствие $\Delta\Psi$ 10%-ная трансмембранность имеет место при соотношении 1/10, а в его присутствии признаки появления такой локализации пептида появляются при 1/100 [22]. Тем не менее, на липосомах или БЛМ большая часть информации по структуре пор и механизмам порообразования получена в отсутствие $\Delta\Psi$ и при пептид/липидных соотношениях порядка 1/10–1/40 [12, 20, 22–24].

Мелиттин формирует несколько видов пор с диаметром 13–24 Å [25], 25–30 Å [26] или 35–40 Å [27]. Причем при его низких концентрациях формируются меньшие поры, проницаемые для глюкозы, а при более высоких – большие, проницаемые для сахарозы [28]. Диаметр пор для мастопарана X составляет 24 Å при больших пептид/липидных соотношения, а при меньших – 13 Å. Аламетицин (в зависимости от степени своей олигомеризации) формирует самоорганизующиеся трансмембранные каналы с разными уровнями проводимости и, соответственно, различным диаметром [24]. Наименьшие поры не проницаемы для гидратированных катионов Трис'а и Ca^{2+} (последний с диаметром 4.12 Å [29]), но пропускают катионы K^+ (диаметром 2.32 Å [30]). Наибольшие каналы пептида – проницаемы для АТФ (диаметром 20 Å).

Прямые измерения структуры высокоолигомерной поры аламетицина [31] свидетельствуют об ее белковом характере, описываемом barrel-stave моделью [12, 24]. Свойства канала, образованного мелиттином, соответствуют тороидальной модели (описывающей пору, образованную смыканием внешнего и внутреннего лепестков бислоя, инкрустированную несколькими пептидами в трансмембранной конформации [32]). В работе [20] показано, что в отличие от аламетицина лимитирующей стадией в порообразовании мелиттина является преагрегация мембраносвязанного пептида, и эта «предпора» – димер. Вероятно, именно эта стадия определяет стационарную трансмембранную проводимость. Качественно тенденция к агрегации мембраносвязанного мастопарана показана в работе [33]. Однако ни в одной из работ не сообщается о структуре агрегатов.

В наших опытах исследованы качественные и количественные параметры влияния аламетицина, мелиттина и мастопарана на скорость окисления сукцината препаратом интактных митохондрий печени крыс (RLM). Аламетицин использовался в диапазоне концентраций 0.02–0.1 μM , мелиттин – 0.25–2.4 μM , а мастопаран – 0.8–4 μM . Для мелиттина и мастопарана использованы пептид/липидные соотношения, близкие к описанным в литературе для модельных систем, но для аламетицина они существенно ниже. Бислой в последнем случае был менее «возмущен» присутствием пороформера. Действие пептидов на интактные митохондрии мы исследовали в присутствии $\Delta\Psi$ в отличие от экспериментов в работах [12, 20, 22, 23, 25, 33–35], добавляя их с «эффективной» cis^+ стороны мембраны. В бескальциевых средах инкубации в присутствии ЭДТА и 5 мМ магния, по-видимому, имело место подавление эндогенных катионных «проводимостей», потенциально присутствовавших в RLM, и описанных в работах [36, 37]. Такая концентрация Mg^{2+} имеет место в гепатоцитах в некоторых физиологических состояниях [38]. В RLM (в отличие от митохондрий других тканей) не описаны магний независимые калиевые проводимости [39] и UPC каналы [40]. В связи с этим можно предположить, что активация дыхания RLM пептидами – индукторами катионной проницаемости связана только с трансмембранным током через сформированные ими поры. Мы качественно опирались на постулаты хемиосмотической гипотезы, описывающей внутреннюю мембрану митохондрий как конденсатор, потенциал которого (регулируемо) поддерживается вблизи 200 мВ. В

присутствии субстрата дыхания RLM утечка катионов компенсируется противонаправленным потоком протонов через протонные помпы дыхательной цепи и сопровождается усилением дыхания органелл (активацией скорости в состоянии 4 (v_4)). Митопласты (митохондрии с «поврежденной» внешней, но интактной внутренней мембраной) имеют столь же эффективную систему создания протонного градиента при окислении сукцината (соотношение H^+/O равно – 4.6 ± 0.18 для митопластов и 5.9 ± 0.2 для RLM). Опираясь на факт, что митохондриальный трансмембранный потенциал имеет ключевое значение в биоэнергетике клетки, определяя в конечном счете, ее жизнеспособность, мы исследовали влияние пептидов-пороформеров на величину $\Delta\psi$, используя препарат RLM в качестве биосенсора трансмембранного тока. Сопоставим достоинства и недостатки биосенсора на основе RLM с традиционными методами исследования пороформеров. С помощью препарата RLM можно измерить величину, пропорциональную стационарному катионному току, индуцированному валиномицином, мелиттином и мастопараном, в присутствии постоянного $\Delta\psi$. На мембране же липосом гораздо сложнее поддерживать постоянный $\Delta\psi$. Так, градиент концентраций калия внутри и снаружи крупных липосом с изоосмотической компенсацией сохраняет $\Delta\psi$ постоянным только в первые моменты измерения проницаемости. В RLM $\Delta\psi$ поддерживается дыхательной цепью в течение нескольких минут. Измерение стационарной степени активации v_4 RLM, отражающей калиевый трансмембранный ток (КТТ), от концентрации требует меньшего количества опытов и связано с меньшим разбросом, чем измерение начальных скоростей вытекания репортерного красителя через индуцированные в липосомах поры. Для исследования мастопарана этот традиционный метод вовсе не применим. При использовании митохондрий пептид естественным образом добавляется с отрицательно заряженной стороны внутренней мембраны, что существенно, например, для эффекта мелиттина. Важно заметить, что необходим контроль целостности мембраны митохондрий и состояния дыхательной цепи в течение опыта. Качественный контроль ее «сохранности» осуществляли, добавляя протонофор в конце каждой оксиметрической кривой. Относительная активация RLM не зависит от точности добавления органелл. Препарат RLM, рассматриваемый нами как биосенсор, имеет ряд недостатков: митохондрии функционально активны в узком диапазоне pH, температуры, осмотического давления. Однако очевидны его преимущества по сравнению с традиционными искусственными системами (БЛМ и липосомами). Для аламетицина, например, это возможность измерения индуцированных им КТТ в неисследованной зоне низких пептид/липидных соотношений. Ключевым в исследовании проницаемости, индуцированной низкоолигомерной формой аламетицина, является разделение во времени КТТ через фракцию этих и более высокоолигомерных каналов. В модельных системах (БЛМ) это удастся только в рамках «метода одиночного» канала. Однако «нижняя ступенька в пирамидке» проводящих субсостояний поры, образуемой аламетицином, имеет наименьшую амплитуду и трудна для изучения. Именно митохондрии позволяют разделить во времени КТТ, индуцированный фракциями низко- и высокоолигомерных каналов аламетицина. Известно, что в $\Delta\psi$ -зависимом трансмембранном положении пороформеры ассоциированы с липидами мембраны. Это, по-видимому, делает их столкновения с белками внутренней мембраны «неупругими», а контакты в момент столкновения относительно долгоживущими. При достаточно низкой концентрации аламетицина ($40 \mu\text{M}$) в мембране при соотношении пептид/липид 1/625, формальный «свободный» пробег между столкновениями собственно мономеров аламетицина может быть существенно больше, чем в БЛМ или липосомах при аналогичном соотношении. Использование митохондриального биосенсора предоставляет неоспоримые преимущества по сравнению с традиционными методами именно при исследовании бинарных столкновений мономеров – начальной

стадии олигомеризации, ведущей к образованию канала. Непосредственный подход к исследованию связи между молекулярностью и проводимостью для аламетицина с использованием сшитых гибким линкером димеров и тетрамеров (в попытке стабилизировать низшие проводящие субсостояния пептида в БЛМ) не привели к однозначным результатам [41]. На препарате митохондрий можно измерить концентрационный порядок скорости образования «предпоры», для пептидов подобных мелиттину и мастопарану (формирующих крупные поры). В этом случае $\Delta\Psi$ RLM стабилизируется синхронно со степенью активации их дыхания. С помощью предлагаемого подхода можно не только измерить ток, индуцированный аламетицином в присутствии $\Delta\Psi$ при низких пептид/липидных соотношениях, но и разделить во времени стационарную проводимость фракции низкоолигомерных каналов и проводимость, созданную более широкими каналами этого пептида. Можно «откалибровать» диаметр поры, если индуцированная пороформером проводимость во внутренней мембране RLM лимитирует активацию дыхания органелл. Индуцированный пептидами пороформерами трансмембранный ток связан со скоростью дыхания RLM, и использование биосенсора, состоящего из RLM и оксиметра, позволяет бесконтактно и неинвазивно оценить этот ток. Показаны существенные различия в эффектах антимикробных пороформеров на митохондрии. Так, в присутствии низких концентраций пептидов, образующих тороидальную «непроводящую» предпору в мембранах (мастопаран и мелиттин), значение трансмембранного потенциала митохондрий изменялось очень незначительно. Пептиды с иным механизмом порообразования (аламетицин и тетраацетилмелиттин) радикально «сбрасывали» потенциал, что свидетельствует об их более высокой токсичности. Использование митохондрий в качестве биосенсора трансмембранного катионного тока позволяет определить параметры эффекта пептидов-пороформеров на митохондрии: концентрацию, вызывающую максимальный эффект, критическую концентрацию, вызывающую лизис органелл, коэффициент распределения пептида между гидрофильной фазой и мембраной, влияние на величину трансмембранного потенциала. Предложенный подход может быть эффективен для оценки токсического действия на митохондрии амфифильных митохондриально ориентированных соединений при сравнительном рутинном тестировании перспективных лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitochondrial DNA damage patterns and aging: revising the evidences for humans and mice / *N. Kazachova, A. Ramos, C. Santos, M. Lima* // *Aging Dis.* 2013. Vol. 4, N 6. P. 337–350.
2. *Baines H.L., Turnbull D.M., Greaves L.C.* Human stem cell aging: do mitochondrial DNA mutations have a causal role? // *Aging Cell.* 2014. Vol. 13, N 2. P. 201–205.
3. *Ilmarinen P., Moilanen E., Kankaanranta H.* Mitochondria in the center of human eosinophil apoptosis and survival // *J. Cell Biochem.* 2014. Vol. 115, N 4. P. 3952–3969.
4. *Gillies L.A., Kuwana T.* Apoptosis regulation at the mitochondrial outer membrane // *J. Cell Biochem.* 2014. Vol. 115, N 4. P. 632–640.
5. Perspectives of mitochondrial medicine / *D.B. Zorov, N.K. Isaev, E.Y. Plotnikov, D.N. Silachev, L.D. Zorova, I.B. Pevzner, M.A. Marosanova, S.S. Jankauskas, S.D. Zorov, V.A. Babenko* // *Biochemistry (Mosc).* 2013. Vol. 78, N 9. P. 979–990.
6. *Sajic M.* Mitochondrial dynamics in peripheral neuropathies // *Antioxid Redox Signal.* 2014. Vol. 21, N 4. P. 601–620.
7. Functional and structural alterations of cardiac and skeletal muscle mitochondria in heart failure patients / *G. Guzman Montesana, A.L. Baez, M.S. Lo Presti, R. Dominquez, R. Cordoba, C. Bazan, M. Strauss, R. Fretes, H.W. Rivarola, P. Paglini-Oliva* // *Arch Med Res.* 2014. Vol. 45, N 3. P. 237–246.

-
8. *Gaude E., Frezza C.* Defects in mitochondrial metabolism and cancer // *Cancer Metab.* 2014. Vol. 17, N 2. P. 10.
 9. Mild uncoupling of respiration and phosphorylation as a mechanism providing nephro- and neuroprotective effects of penetrating cations of the SkQ family / *E.Y. Plotnikov, D.N. Silachev, S.S. Jankauskas, T.I. Rokitskaya, A.A. Chupyrkina, I.B. Pevzner, L.D. Zorova, N.K. Isaev, Y.N. Antonenko, V.P. Skulachev, D.B. Zorov* // *Biochemistry (Mosc).* 2012. Vol. 77, N 9. P. 1029–1037.
 10. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant SkQR1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat / *N.K. Isaev, S.V. Novikova, E.V. Stelmashook, I.V. Barskov, L.G. Khaspekov, V.P. Skulachev, D.B. Zorov* // *Biochemistry (Mosc).* 2012. Vol. 77, N 9. P. 996–999.
 11. Evaluation of molecularity of rate-limiting step of pore formation by antimicrobial peptides studied using mitochondria as a biosensor / *D. Aliverdieva, D. Mamaev, L. Snezhkova, C. Sholtz* // *Toxicol in vitro.* 2012. Vol. 26, N 6. P. 939–949.
 12. The history of alamethicin: a review of the most extensively studied peptaibol / *B. Leitgeb, A. Szekeres, L. Manczinger, C. Vágvölgyi, L. Kredics* // *Chem Biodivers.* 2007. Vol. 4. P. 1027–1051.
 13. Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway / *S. Liu, M. Yu, Y. He, L. Xiao, F. Wang, C. Song, S. Sun, C. Ling, Z. Xu* // *Hepatology.* 2008. Vol. 47. P. 1964–1973.
 14. *Shpakov A.O.* Polycationic peptides as nonhormonal regulators of chemosignal systems // *Z. Evol. Biokhim. Physiol.* 2009. N 45. P. 355–367.
 15. *Fehri L.F., Wroblewski H., Blanchard A.* Activities of Antimicrobial Peptides and Synergy with Enrofloxacin against *Mycoplasma pulmonis* // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2007. Vol. 51. P. 468–474.
 16. Interaction of mastoparan with membranes studied by ¹H-NMR spectroscopy in detergent micelles and by solid-state ²H-NMR and ¹⁵N-NMR spectroscopy in oriented lipid bilayers / *Y. Hori, M. Demura, M. Iwadate, A.S. Ulrich, T. Niidome, H. Aoyagi, T. Asakura* // *Eur J Biochem.* 2001. Vol. 268. P. 302–309.
 17. Crystal structure of mastoparan from *Polistes jadwagae* at 1.2 Å resolution / *S. Liu, F. Wang, L. Tang, W. Gui, P. Cao, X. Liu, A.W. Poon, P.C. Shaw, T. Jiang* // *J Struct Biol.* 2007. Vol. 160. P. 28–34.
 18. *Papo N., Shai Y.* Exploring peptide membrane interaction using surface plasmon resonance: differentiation between pore formation versus membrane disruption by lytic peptides // *Biochemistry.* 2003. Vol. 42. P. 458–466.
 19. *Schwarz G., Robert C.H.* Kinetics of pore-mediated release of marker molecules from liposomes or cells. 1992 // *Biophys. Chem.* Vol. 42, N 3. P. 291–296.
 20. Toroidal pores formed by antimicrobial peptides show significant disorder / *D. Sengupta, H. Leontiadou, A.E. Mark, S.J. Marrink* // *Biochim Biophys Acta.* 2008. Vol. 1778. P. 2308–2317.
 21. Lateral diffusion and conductance properties of a fluorescein-labelled alamethicin in planar lipid bilayers / *O. Helluin, J.-Y. Dugast, G. Molle, A.R. Mackie, S. Ladha, H. Duclouhier* // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1997. Vol. 1330. P. 284–292.
 22. Selectivity in the mechanism of action of antimicrobial mastoparan peptide Polybia-MP1 / *M.P.S. Cabrera, S.T.B. Costa, B.M. de Souza, M.S. Palma, J.R. Ruggiero, J.R. Neto* // *European Biophysics Journal.* 2008. Vol. 37. P. 879–891.
 23. Thermodynamics of melittin binding to lipid bilayers. Aggregation and pore formation / *G. Klochek, T. Schultheness, Y. Shai, J. Seeling* // *Biochemistry.* 2009. Vol. 48. P. 2586–2596.
 24. *Woolley G.A.* Channel-forming activity of alamethicin: effects of covalent tethering // *Chem Biodivers.* 2007. Vol. 4. P. 1323–37.
 25. *Matsuzaki K., Yoneyama S., Miyajima K.* Pore formation and translocation of melittin // *Biophys J.* 1997. Vol. 73. P. 831–838.
 26. *Ladokhin A.S., Selsted M.E., White S.H.* Sizing membrane pores in lipid vesicles by leakage of co-encapsulated markers: pore formation by melittin // *Biophys J.* 1997. Vol. 72. P. 1762–1766.
-

27. Investigation of toroidal pore and oligomerization by melittin using transmission electron microscopy / *S.C. Park, J.Y. Kim, S.O. Shin, C.Y. Jeong, M.H. Kim, S.Y. Shin, G.W. Cheong, Y. Park and K.S. Hahm* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 343. P. 222–228.
28. Mechanism and kinetics of pore formation in membranes by water-soluble amphipathic peptides / *M.T. Lee, W.C. Hung, F.Y. Chen, H.W. Huang* // *Proc Nat Acad Sci USA.* 2008. Vol. 105. P. 5087–5092.
29. Modeling of size-exclusion chromatography of electrolytes on non-ionic nanoporous adsorbents / *M. Laatikainen, T. Sainio, V. Davankov, M. Tsyurupa, Z. Blinnikova, E. Paatero* // *J. Chromatogr.* 2007. Vol. 1149. P. 245–253.
30. *Cotton F.A., Wilkinson G.* Advanced Inorganic Chemistry. Wiley: New York, 1980. Vol. 4th.
31. Structure of the alamethicin pore reconstructed by X-ray diffraction analysis / *S. Qian, W. Wang, L. Yang and H.W. Huang* // *Biophys J.* 2008. Vol. 94. P. 3512–3522.
32. Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores / *L. Yang, T.A. Harroun, T.A. Weiss, L. Ding, H.W. Huang* // *Biophys J.* 2001. Vol. 81. P. 1475–1485.
33. *Schwarz G., Reiter R.* Negative cooperativity and aggregation in biphasic binding of mastoparan X peptide to membranes with acidic lipids // *Biophys. Chem.* 2001. Vol. 90. P. 269–277.
34. Interaction and structure induction of cell-penetrating peptides in the presence of phospholipid vesicles / *M. Magzoub, K. Kilk, L.E. Eriksson, U. Langel, A. Gröslund* // *Biochim Biophys Acta.* 2001. Vol. 1512. P. 77–89.
35. Interaction of alamethicin with ether-linked phospholipid bilayers: oriented circular dichroism, ³¹P solid-state NMR, and differential scanning calorimetry studies / *P.C. Dave, E. Billington, Y.-L. Pan, S.K. Straus* // *Biophysical Journal.* 2005. Vol. 89. P. 2434–2442.
36. On the mechanism of palmitic acid-induced apoptosis: the role of a pore induced by palmitic acid and Ca²⁺ in mitochondria / *K. Belosludsev, N.E. Saris, L.C. Andersson, N. Belosludtseva, A. Agafonov, A. Sharma, D.A. Moshkov, G.D. Mironova* // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2006. Vol. 38. P. 113–120.
37. *Szewczyk A., Jarmuszkiewicz W., Kunz W.S.* Mitochondrial potassium channels // *IUBMB Life.* 2009. Vol. 61. P. 134–143.
38. *Romani A.* Regulation of magnesium homeostasis and transport in mammalian cells // *Arch Biochem. Biophys.* 2007. Vol. 458. P. 90–102.
39. *O'Rourke B.* Mitochondrial ion channels // *Annu. Rev. Physiol.* 2007. Vol. 69. P. 19–49.
40. *Wolkov C.A., Iser W.B.* Uncoupling protein homologs may provide a link between mitochondria, metabolism and lifespan // *Ageing Res. Rev.* 2006. Vol. 5. P. 196–208.
41. *Huang H.W.* Molecular mechanism of antimicrobial peptides: the origin of cooperativity // *Biochim Biophys Acta.* 2006. Vol. 1758. P. 1292–1302.

Поступила в редакцию 12.03.2014 г.
Принята к печати 26.06.2014 г.