

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-171

**НЕЙРОСЕТЕВОЙ СКРИНИНГ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ЛИНЕЙНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ ЯДА ПАУКА С АКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВ  
МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТИНТНОГО ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА<sup>\*</sup>**

**NEURAL NETWORK SCREENING AND STRUCTURE-FUNCTION STUDY  
OF LINEAR PEPTIDES FROM SPIDER VENOM WITH ACTIVITY  
AGAINST METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

П. А. Миронов<sup>1,2</sup>, П. В. Дубовский<sup>1</sup>, А. А. Баранова<sup>1</sup>, В. А. Алферова<sup>1</sup>, З. О. Шенкарев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

P.A. Mironov<sup>1,2</sup>, P.V. Dubovskii<sup>1</sup>, A.A. Baranova<sup>1</sup>, V.A. Alferova<sup>1</sup>, Z.O. Shenkarev<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow*

*<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University*

✉ pavel.mironov@student.msu.ru

**Аннотация**

Используя нейронную сеть, мы идентифицировали ряд пептидов из библиотеки фрагментов линейных пептидов из яда пауков, активных в отношении метициллинрезистентного золотистого стафилококка (MRSA). Используя ЯМР-спектроскопию для одного из этих пептидов, мы показали, что в основе активности лежит наличие в их структуре гидрофобной N-концевой спирали, которая обеспечивает захватывание молекулы на поверхности анионной мембраны бактерий.

**Abstract**

Using a neural network, we identified a series of peptides from a library of linear peptide fragments derived from spider venom that exhibit activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). NMR study of one of these peptides revealed that its activity is underpinned by the presence of a hydrophobic N-terminal  $\alpha$ -helix, which anchors the molecule on the surface of the anionic bacterial membrane.

Проблема распространения антибиотикорезистентных штаммов бактерий становится все более актуальной. Особую угрозу представляет метициллинрезистентный золотистый стафилококк (MRSA). Для борьбы с ним надежды возлагаются на поликатионные мембраноактивные линейные пептиды (ЛП), присутствующие в яде пауков. ЛП способны дестабилизировать плазматическую мембрану бактерий, нарушая ее проницаемость и вызывая их гибель [1]. Именно они способны стать основой для новых эффективных антибактериальных препаратов. В рамках исследования была предложена следующая стратегия: 1) создание библиотеки фрагментов (длина от 9 до 22 аминокислотных остатков) ЛП; 2) создание обучающей библиотеки пептидов, активных против MRSA; 3) обучение нейронной сети распознаванию активных пептидов на основе обучающей выборки; 4) проверка предсказаний путем химического синтеза выбранных пептидов и оценки их антимикробной активности; 5) исследование физико-химических свойств активных пептидов.

Для обучения выбраны две нейросети, допускающие работу с данными пользователя: AMPlify [2], UniDL4BioPep [3]. Обучение этих моделей на наборе из 412 пептидов обучающей библиотеки позволило предсказать анти-MRSA-активность среди всего массива линейных пептидных фрагментов, включающего 75 235 пептидов. Для проверки предсказания выбрано 10 пептидов, которые были синтезированы твердофазным методом, далее для них была определена активность против штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Три пептида из этого набора показали активность с минимальной ингибирующей концентрацией (MIC) не выше 6,25 мкг/мл (рис. 1).

Из десяти отобранных пептидов два пептида (фрагменты Lycosin6k и 5c) оказались нерастворимы в воде, поэтому для структурно-функционального анализа был выбран водорастворимый Lycosin9i (см. рис. 1). Пептид был изучен в водном растворе, анионных мицеллах лизопальмитоилфосфатидилглицерина (LPPG), а также изучено его взаимодействие с нейтральными (DOPC, диолеоил-фосфатидил-фосфатидилхолин) и анионными (DOPG, диолеоил-фосфатидил-глицерин) липосомами. Структура Lycosin9i в воде является неупорядоченной, но в мицеллах представлена C-концевой  $\alpha$ -спиралью (остатки 9-12). N-конец формирует нестандартную спираль. Благодаря наличию

\* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-25-00160).

© П. А. Миронов, П. В. Дубовский, А. А. Баранова, В. А. Алферова, З. О. Шенкарев, 2025

<b>LyTx-I</b>	-- IWL TALKFLGKNLGH-LAK-QQLAKL
<b>LyTx-Ib</b>	-- IWL TALKFLGKNLGH-LAK-QQLAKL
<b>Lycosin9i</b>	-- IWLSLMKFAGKHLAKHQLSK---MG--
<b>Lycosin-I</b>	RK-GWFKAMKSIAKFIKEKL-K-EHL---
<b>Lycosin-II</b>	-- VWLSALKFIGKHLAKHQLSK---L---
<b>Lycosin6k</b>	K-FWFKA LKSVA KFIAKQKLQ-H-LGS-
<b>Lycosin5c</b>	- IIWLPVLKFLASHVA---MEQLSKLG--

Рис. 1. Токсины из яда паука *Lycosa singorensis*, обнаруживающие гомологию с идентифицированными нейросетью пептидами (показаны красным цветом), обладающими активностью в отношении MRSA. Выравнивание последовательностей выполнено вручную.

Названия токсинов приведены слева

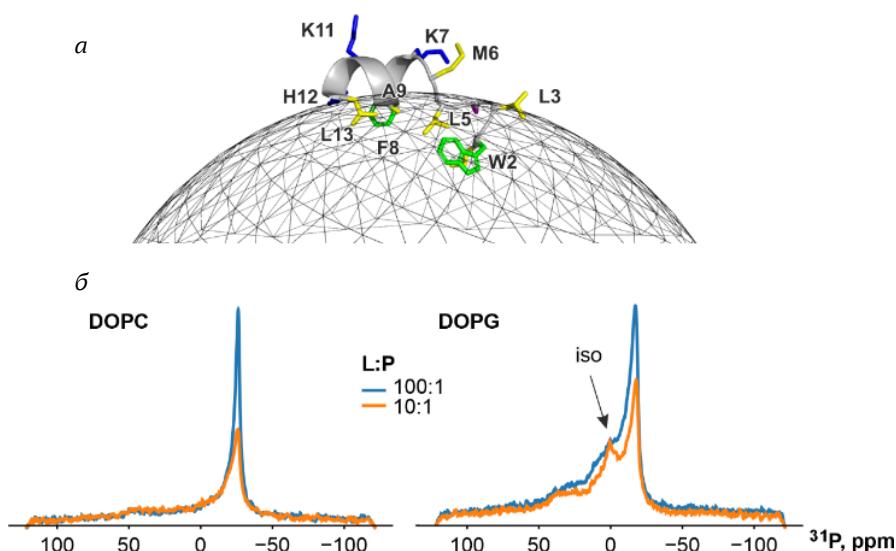


Рис. 2. Структура и мембранные активности Lycosin9i по данным ЯМР:  
а — локализация Lycosin9i на мицелле LPPG. Гидрофобные и полярные остатки окрашены желтым и синим цветом соответственно. Поверхность мицеллы показана сферой радиусом 37 Å; б — 31P-ЯМР-спектры липосом DOPC (слева) и DOPG (справа) при добавлении пептида до соотношения липид/пептид (L : P) 100 : 1 (синий) и 10 : 1 (оранжевый). Дестабилизация липосом DOPG проявляется появлением изотропного сигнала (iso, показан стрелкой) при L : P 10 : 1

NOE-контактов (NOE — ядерный эффект Оверхаузера) между молекулой пептида и LPPG, а также экспериментам с парамагнитным зондом установлено, что С-концевая спираль Lycosin9i располагается на поверхности мицеллы, а N-концевая спираль проникает внутрь, формируя гидрофобный якорь (рис. 2, а). Пептид демонстрирует мембранный активность в отношении липосом DOPG, однако не проявил активности в отношении липосом DOPC, что коррелирует с его селективностью в отношении грамположительных бактерий, плазматическая мембрана которых богата фосфатидилглициеринами (рис. 2, б).

### Литература

- Dubovskii P.V., Vassilevski A.A., Kozlov S.A. et al. Latarcins: versatile spider venom peptides // Cell Mol. Life Sci. 2015. Vol. 72, No. 23. P. 4501–4522.
- Li C., Sutherland D., Hammond S.A. et al. AMPlify: attentive deep learning model for discovery of novel antimicrobial peptides effective against WHO priority pathogens // BMC Genomics. 2022. Vol. 23, No. 1. P. 77.
- Du Z., Ding X., Xu Y., Li Y. UniDL4BioPep: a universal deep learning architecture for binary classification in peptide bioactivity // Brief Bioinform. 2023. Vol. 24, No. 3. P. bbad135.