

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

## НЕЙРОСЕТЕВОЙ СКРИНИНГ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИНЕЙНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ ЯДА ПАУКА С АКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНОГО ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА \*

### 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 заякоривание 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], UniDL4BioPer [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, диолеил-фосфатидил-фосфатидилхолин) и анионными (DOPG, диолеил-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

|            |  |
|------------|--|
| LyeTx-I    | --IWL TALKFLGKNLGKH-LAK-QQLAKL           |
| LyeTx-Ib   | --IWL TALKFLGKNLGK--LAK-QQLAKL           |
| Lycosin9i  | -- <b>IWLSLMKFAGKHL</b> AKHQLSK---MG--   |
| Lycosin-I  | RK-GWFKAMKSI AKFIAKEKL-K-EHL---          |
| Lycosin-II | --VWLSALKFIGKHLAKHQLSK---L---            |
| Lycosin6k  | K- <b>FWFKALKSVAKFIA</b> KQKLKQ-H-LGS-   |
| Lycosin5c  | - <b>I IWL PVLKFLASHVA</b> ---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

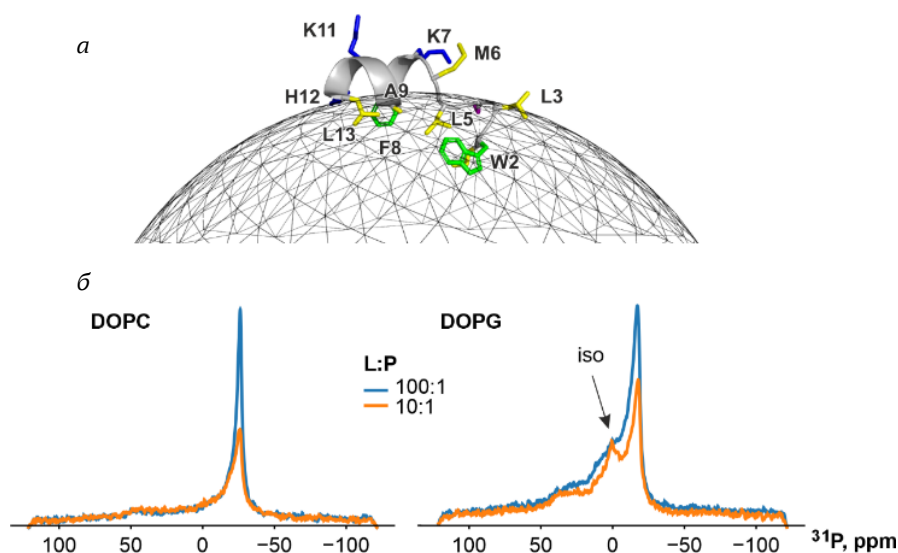


Рис. 2. Структура и мембранная активность Lycosin9i по данным ЯМР:  
 а — локализация Lycosin9i на мицелле LPPG. Гидрофобные и полярные остатки окрашены желтым и синим цветом соответственно. Поверхность мицеллы показана сферой радиусом 37 Å; б —  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектры липосом DOPC (слева) и DOPG (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 мембранную 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 фосфатидилглицеринами (рис. 2, б).

### Литература

1. 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.
2. 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.
3. 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.