



АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ НА ОСНОВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ S1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ЗАМЕНА АНТИБИОТИКАМ

О.В. Галзитская^{1,2,*}, А.В. Мачулин³, Е.И. Дерюшева⁴, А.В. Глякина^{1,5}, С.Ю. Гришин¹,
С.Р. Курпе¹, А.В. Панфилов¹, П.А. Домнин^{6,7}, С.В. Кравченко⁸, С.А. Ермолаева⁶

¹ФГБУН «Институт белка» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 4

²ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 3

³ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, просп. Науки, 5

⁴ФГБУН Федеральный исследовательский центр
«Пущинский научный центр биологических исследований РАН»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, просп. Науки, 3

⁵Институт математических проблем биологии РАН — Филиал ФГБУ
«Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики
им. М.В. Келдыша РАН»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, ул. Профессора Виткевича, 1

⁶ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
123098, Российская Федерация, Москва, ул. Гамалеи, 18

⁷ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Ленинские горы, 1

⁸Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО), ФГАОУ ВО
«Тюменский государственный университет»
625003, Российская Федерация, Тюмень, ул. Ленина, 25

Предложен оригинальный подход к разработке антимикробных пептидов (АМП) с новым механизмом действия, основанным на направленной коагрегации пептида с белком-мишенью. В качестве белка-мишени выбран уникальный многофункциональный бактериальный рибосомный белок S1. Изучены амилородогенные и антибактериальные эффекты различных пептидов, синтезированных на основе последовательностей рибосомных белков S1. Полученные результаты могут стать основой для создания новых АМП против различных штаммов патогенных организмов.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, рибосомный белок S1, разнообразие штаммов патогенных бактерий

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 18-14-00321.

Для цитирования: Галзитская О.В., Мачулин А.В., Дерюшева Е.И., Глякина А.В., Гришин С.Ю., Курпе С.Р., Панфилов А.В., Домнин П.А., Кравченко С.В., Ермолаева С.А. Антимикробные пептиды на основе последовательностей бактериальных белков S1 как потенциальная замена антибиотикам. *Биомедицина*. 2022;18(3):84–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-84-89>

Поступила 08.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

ANTIMICROBIAL PEPTIDES BASED ON BACTERIAL S1 PROTEIN SEQUENCES AS A POTENTIAL ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS

Oxana V. Galzitskaya^{1,2,*}, Andrey V. Machulin³, Evgeniya I. Deryusheva⁴,
Anna V. Glyakina^{1,5}, Sergei Yu. Grishin¹, Stanislav R. Kurpe¹, Alexander V. Panfilov¹,
Pavel A. Domnin^{6,7}, Sergey V. Kravchenko⁸, Svetlana A. Ermolaeva⁶

¹*Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Institutskaya Str., 4*

²*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Institutskaya Str., 3*

³*Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 5*

⁴*Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological
Research of the Russian Academy of Sciences"
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3*

⁵*Institute of Mathematical Problems of Biology of the Russian Academy of Sciences —
Branch of "Federal Research Center Institute of Applied Mathematics named
after M.V. Keldysh of the Russian Academy of Sciences"
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Professora Vitkevicha Str., 1*

⁶*National Research Center of Epidemiology and Microbiology named
after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health Care of Russia
123098, Russian Federation, Moscow, Gamalei Str., 18*

⁷*Lomonosov Moscow State University
119991, Russian Federation, Moscow, Leninskie Gory Str., 1*

⁸*Institute of Environmental and Agricultural Biology (X-BIO), Tyumen State University
625003, Russian Federation, Tyumen, Lenina Str., 25*

An original approach to the development of antimicrobial peptides (AMPs) with a new mechanism of action based on directed coaggregation of a peptide with a target protein is proposed. The unique multifunctional bacterial ribosomal protein S1 was chosen as the target protein. The amyloidogenic and antibacterial effects of various peptides synthesized on the basis of S1 ribosomal protein sequences were studied. The results obtained can serve as a basis for the creation of new AMPs against various strains of pathogenic organisms.

Keywords: fulvic acid, humic acids, antioxidant properties, anti-inflammatory properties, anti-allergic properties

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: research was funded by the Russian science foundation, Grant No. 18-14-00321.

For citation: Galzitskaya O.V., Machulin A.V., Deryusheva E.I., Glyakina A.V., Grishin S.Yu., Kurpe S.R., Panfilov A.V., Domnin P.A., Kravchenko S.V., Ermolaeva S.A. Antimicrobial Peptides Based on Bacterial S1 Protein Sequences as a Potential Alternative to Antibiotics. *Journal Biomed.* 2022;18(3):84–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-84-89>

Submitted 08.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Резистентность бактерий к антибиотикам является одной из ведущих причин смертности по всему миру. По данным, опубликованным в работе [2], смертность, обусловленная устойчивостью бактерий к антибиотикам, в 2019 г. составила 1,27 млн случаев. Наиболее устойчивыми к воздействию антибиотиков оказались *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. С устойчивыми патогенными микроорганизмами труднее бороться, при этом требуются более высокие дозы антимикробных препаратов, которые нередко оказываются более токсичными. Антимикробные пептиды (АМП) являются потенциальной заменой традиционным антибиотикам [13]. Механизм действия АМП часто основан на ингибировании метаболических процессов или нарушении целостности клеточной мембраны [3]. Нами был предложен новый класс антимикробных пептидов с новым механизмом действия, основанным на направленной ко-агрегации [1, 4]. При этом антимикробный эффект достигается через специфическое взаимодействие амилоидогенного пептида и белка-мишени внутри клетки (*in vivo*), что в результате приводит к нарушению биологической функции белка и гибели микроорганизма. В качестве белка-мишени, с которым должен связываться пептид, был выбран бактериальный рибосомный белок S1. Многофункциональный рибосомный белок S1 является частью 30S субъединицы рибосомы и играет важную роль в инициации трансляции мРНК, участвует в элонгации, а также выполняет ряд внерибосомных функций [5]. В бактериях рибосомный белок S1 содержит от одного до шести структурных повторов в зависимости от филогенетического отдела [10]. При исследовании 1331 последовательности белка S1 нами было выявлено наличие строго ограниченных амилоидогенных участков для каждой

группы S1 белков, содержащих разное количество структурных доменов, что позволило в дальнейшем рассматривать эти участки как уникальные и наиболее актуальные для изучения их склонности к фибриллообразованию [6]. В экспериментах *in vitro* установлено, что синтезированные на основе амилоидогенных участков белка S1 некоторые пептиды способны стимулировать образование фибрилл белка S1. Так, в случае патогенной бактерии *P. aeruginosa* антибактериальные свойства были обнаружены у пептида R23L, для которого минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составляла 8 мкг/мл, что сопоставимо с МИК антибиотика гентамицина. Среди пептидов из S1 *Thermus thermophilus* наиболее эффективным был пептид R23I (минимальная ингибирующая концентрация около 50 мкг/мл), действие которого было сопоставимо с антибиотиком канамицином [7].

В литературе предполагается, что устойчивость к антибиотикам патогенных микроорганизмов может быть связана с генетическим разнообразием некоторых штаммов бактерий [9, 11, 12]. По этой причине нами было изучено разнообразие рибосомного белка S1 в различных штаммах *P. aeruginosa*, *T. thermophilus*, *S. aureus*, *E. coli*. Анализ *in silico* рибосомного белка S1 выявил его высокую консервативность между штаммами микроорганизмов одного вида. Обнаруженные 3 штамма *T. thermophilus* и 6 штаммов *P. aeruginosa* (версия UniProt 2022_01) характеризуются высокой идентичностью последовательностей рибосомного белка S1 и гена *rpsa*, кодирующего этот белок (98–99%). Для *E. coli* найдено 54 записи, соответствующие белкам, содержащим 6 структурных доменов (длиной 557 а.о.). Выравнивание белковых и геновых последовательностей для записей *E. coli*, содержащих 6 структурных доменов, также показало их высокую идентичность (99%). Для *S. aureus* обнаружено 22 записи с различной длиной белка (391–400 а.о.).

Для белков S1 из *S. aureus*, содержащих 4 структурных домена S1, множественное выравнивание белковых последовательностей показало, что процент идентичности для некоторых записей составляет 38%, в то время как большинство записей в этой группе имеют высокую идентичность (98–100%). Выравнивание последовательностей генов в этой группе показывает процент идентичности 53% для некоторых записей, для записей с высокой идентичностью белковых последовательностей идентичность генов составляет 99–100%. В этой группе нами была найдена последовательность штамма MRSA252 (UniProt ID: Q6GGT5), у которого остаток 281Asp расположен в положении, соответствующем амилоидогенному участку [9] на месте 281Val у штамма MSSA476 (UniProt ID: Q6G987). Для штамма MRSA252 в после-

довательности белка S1 характерна также замена 370Ser по сравнению со штаммами: штаммом MSSA476, штаммом N315, штаммом MW2 и штаммом Mu50/ATCC700699 (370N). Аминокислота в положении 198 (Asp или His) зависит от штамма.

Устойчивые к метициллину штаммы *S. aureus* (MRSA) являются наиболее распространённой причиной нозокомиальных инфекций (HA-MRSA) [8]. Кроме того, всё чаще сообщается о случаях множественной лекарственной устойчивости штаммов MRSA, например к пенициллинам. Поскольку *S. aureus*, наряду с другими патогенными организмами, вызывают широкий спектр больничных инфекций, полученные нами данные имеют актуальное значение для дальнейших исследований применения новых АМП на основе амилоидогенных участков рибосомного белка S1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Курпе С.Р., Гришин С.Ю., Глякина А.В., Сли-
зень М.В., Панфилов А.В., Кочетов А.П., Су-
рин А.К., Кобякова М.И., Фадеев Р.С., Галзи-
тская О.В. Антибактериальные эффекты пептидов,
синтезированных на основе последовательности
рибосомного белка S1. *Биомедицинская химия*.
2021;67(3):231–243. [Kurpe S.R., Grishin S.Yu.,
Glyakina A.V., Slizen M.V., Panfilov A.V., Kochetov
A.P., Surin A.K., Kobayakova M.I., Fadeev R.S.,
Galzitckaya O.V. Antibacterial'nye efekty peptidov,
sintezirovannykh na osnove posledovatel'nosti ribo-
sornogo belka S1 [Antibacterial effects of peptides
synthesized based on the sequence of the S1 ribosomal
protein]. *Biomedical Chemistry*. 2021;67(3):231–243.
(In Russian)]. DOI: 10.18097/PBMC20216703231.
2. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global bur-
den of bacterial antimicrobial resistance in 2019:
A systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10325):629–
655. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
3. Brogden K. Antimicrobial peptides: pore formers
or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Micro*.
2005;3(3):238–250. DOI: 10.1038/nrmicro1098.
4. Galzitckaya O. Exploring amyloidogenicity of peptides
from ribosomal S1 protein to develop novel AMPs.
Front Mol. Biosci. 2021;8:705069. DOI: 10.3389/
fmolb.2021.705069.
5. Ghanizadeh A., Najafzade M., Rashki S., Marzhosey-
ni Z., Motallebi M. Genetic diversity, antimicrobial
resistance pattern, and biofilm formation in *Klebsiella
pneumoniae* isolated from patients with Coronavirus
disease 2019 (COVID-19) and ventilator-associat-
ed pneumonia. *Biomed. Res. Int*. 2021;24:2347872.
DOI: 10.1155/2021/2347872.
6. Grishin S., Deryusheva E.I., Machulin A.V., Seliva-
nova O.M., Glyakina A.V., Gorbunova E.Y., Musta-
eva L.G., Azev V.N., Rekestina V.V., Kalebina T.S.,
Surin A.K., Galzitckaya O.V. Amyloidogenic prop-
ensities of ribosomal S1 proteins: Bioinformatics
screening and experimental checking. *Int. J. Mol. Sci*.
2020;21(15):5199. DOI: 10.3390/ijms21155199.
7. Grishin S., Dzhus U.F., Glukhov A.S., Selivanova O.M.,
Surin A.K., Galzitckaya O.V. Identification of amy-
loidogenic regions in *Pseudomonas aeruginosa* ribo-
somal S1 protein. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22(14):7291.
DOI: 10.3390/ijms22147291.
8. Kourtis A.P., Hatfield K., Baggs J., Mu Y., See I.,
Epson E., Nadle J., Kainer M.A., Dumyat G., Petit S.,
Ray S.M.; Emerging Infections Program MRSA au-
thor group, Ham D., Capers C., Ewing H., Coffin N.,
McDonald L.C., Jernigan J., Cardo D. Vital signs:
Epidemiology and recent trends in methicillin-resis-
tant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus
Aureus* bloodstream infections. *MMWR Morb. Mortal.
Wkly. Rep*. 2019;68:214–219. DOI: 10.15585/mmwr.
mm6809e1.

9. Kravchenko S., Domnin P.A., Grishin S.Y., Panfilov A.V., Azev V.N., Mustaeva L.G., Gorbunova E.Y., Kobyakova M.I., Surin A.K., Glyakina A.V., Fadeev R.S., Ermolaeva S.A., Galzitskaya O.V. Multiple antimicrobial effects of hybrid peptides synthesized based on the sequence of ribosomal S1 protein from *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(1):524. DOI: 10.3390/ijms23010524.
10. Machulin A., Deryusheva E.I., Selivanova O.M., Galzitskaya O.V. The number of domains in the ribosomal protein S1 as a hallmark of the phylogenetic grouping of bacteria. *PLoS One.* 2019;14(8):e0221370. DOI: 10.1371/journal.pone.0221370.
11. Marazzato M., Scribano D., Sarshar M., Brunetti F., Fillo S., Fortunato A., Lista F., Palamara A.T., Zaglia C., Ambrosi C. Genetic diversity of antimicrobial resistance and key virulence features in two extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022;19(5):2870. DOI: 10.3390/ijerph19052870.
12. Mbhele Z., Shobo C.O., Amoako D.G., Zishiri O.T., Bester L.A. Occurrence, antibiotic resistance, virulence factors, and genetic diversity of *Bacillus* spp. from public hospital environments in South Africa. *Microb. Drug Resist.* 2021;27(12):1692–1704. DOI: 10.1089/mdr.2020.0543.
13. Sierra J., Viñas M. Future prospects for antimicrobial peptide development: Peptidomimetics and antimicrobial combinations. *Expert Opin. Drug Discov.* 2021;16(6): 601–604. DOI: 10.1080/17460441.2021.1892072.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Галзитская Оксана Валериановна*, д.ф.-м.н., ФГБУН «Институт белка» Российской академии наук; ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН;
e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Oxana V. Galzitskaya*, Dr. Sci. (Phys.-Math), Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences; Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Мачулин Андрей Валериевич, к.б.н., ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» РАН;
e-mail: and.machul@gmail.com

Andrey V. Machulin, Cand. Sci. (Biol.), Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: and.machul@gmail.com

Дерюшева Евгения Игоревна, к.ф.-м.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Evgeniya I. Deryusheva, Cand. Sci. (Phys.-Math), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Глякина Анна Владимировна, к.ф.-м.н., ФГБУН «Институт белка» РАН, Институт математических проблем биологии РАН — Филиал ФГБУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН»;
e-mail: quark777a@gmail.com

Anna V. Glyakina, Cand. Sci. (Phys.-Math), Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences; Institute of Mathematical Problems of Biology of the Russian Academy of Sciences — Branch of “Federal Research Center Institute of Applied Mathematics named after M.V. Keldysh of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: quark777a@gmail.com

Гришин Сергей Юрьевич, ФГБУН «Институт белка» РАН;
e-mail: syugrishin@gmail.com

Sergei Yu. Grishin, Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: syugrishin@gmail.com

Курпе Станислав Римасо, ФГБУН «Институт
белка» РАН;
e-mail: st.kurpe@vega.protres.ru

Stanislav R. Kurpe, Institute of Protein Research
of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: st.kurpe@vega.protres.ru

Панфилов Александр Викторович, ФГБУН
«Институт белка» РАН;
e-mail: panfilov@vega.protres.ru

Alexander V. Panfilov, Institute of Protein Research
of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: panfilov@vega.protres.ru

Домнин Павел Александрович, ФГБУ «Нацио-
нальный исследовательский центр эпидемиоло-
гии и микробиологии имени почётного акаде-
мика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России; ФГБОУ
ВО «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова»;
e-mail: pavlodomnin@yandex.ru

Pavel A. Domnin, National Research Center
of Epidemiology and Microbiology named after
Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Mini-
stry of Health Care of Russia; Lomonosov Moscow
State University;
e-mail: pavlodomnin@yandex.ru

Кравченко Сергей Викторович, Институт эко-
логической и сельскохозяйственной биологии
(X-BIO), ФГАОУ ВО «Тюменский государствен-
ный университет»;
e-mail: svkraft@vega.protres.ru

Sergey V. Kravchenko, Institute of Environmental
and Agricultural Biology (X-BIO), Tyumen State
University;
e-mail: svkraft@vega.protres.ru

Ермолаева Светлана Александровна, д.б.н.,
ФГБУ «Национальный исследовательский цен-
тр эпидемиологии и микробиологии имени поч-
ётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава
России;
e-mail: drermolaeva@mail.ru

Svetlana A. Ermolaeva, Dr. Sci. (Biol.), National
Research Center of Epidemiology and Microbiology
named after Honorary Academician N.F. Gamaleya
of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: drermolaeva@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author