

Научная статья

УДК 543.645.6

EDN IXWFDG

DOI: 10.22450/1999-6837-2024-18-1-91-98

### Разработка нового антимикробного пептида

Елизавета Андреевна Улитина<sup>1</sup>, Шолпан Сергеевна Валиева<sup>2</sup>,  
Сергей Леонидович Тихонов<sup>3</sup>, Наталья Валерьевна Тихонова<sup>4</sup>

<sup>1, 2, 3, 4</sup> Уральский государственный аграрный университет

Свердловская область, Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup> Уральский государственный лесотехнический университет

Свердловская область, Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup> [tihonov75@bk.ru](mailto:tihonov75@bk.ru)

**Аннотация.** Рассмотрены свойства антимикробных пептидов как веществ, обладающих высокой биологической активностью, которые могут быть использованы в качестве функциональных ингредиентов и (или) веществ консервирующего действия, в составе пищевой продукции профилактического и специализированного назначения. Разработан новый антимикробный пептид, состоящий из 20 аминокислотных остатков; произведен выбор подходящих аминокислотных последовательностей; оптимизированы физико-химические свойства и оценена активность в отношении микроорганизмов-мишеней. Рассмотрено включение положительно заряженных аминокислот, таких как лизин и аргинин, повышающих катионность антимикробных пептидов и следовательно, увеличивающих их селективность по отношению к микробным мембранам. Процентное содержание каждой аминокислоты следующее: Val – 5, Leu – 25, Cys – 5, Ala – 20, Trp – 5, Gly – 5, Ser – 5, His – 5, Lys – 20 и Arg – 5. Общее гидрофобное соотношение, определяемое APD, составляет 60 %; заряд равен + 5,25. Пептид имеет молекулярную массу 2 206,761 Да; потенциал связывания с белками (индекс Бомана) на уровне 0,23 ккал/моль. Пептид может образовывать альфа-спирали и имеет, по крайней мере, 8 элементов на одной гидрофобной поверхности. Согласно полученным данным от базы данных APD, пептид может взаимодействовать с мембранами бактерий и является антимикробным. Наиболее близки по физико-химическим характеристикам к созданному пептиду следующие известные антимикробные пептиды: AP 00500, AP 03880 и AP 03383. Разработанный пептид можно классифицировать как катионный альфа-спиральный гидрофобный антимикробный пептид.

**Ключевые слова:** биологически активные пептиды, антимикробные пептиды, аминокислотная последовательность, заряд, свойства антимикробных пептидов

**Для цитирования:** Улитина Е. А., Валиева Ш. С., Тихонов С. Л., Тихонова Н. В. Разработка нового антимикробного пептида // Дальневосточный аграрный вестник. 2024. Том 18. № 1. С. 91–98. doi: 10.22450/1999-6837-2024-18-1-91-98.

Original article

### Development of new antimicrobial peptide

Elizaveta A. Ulitina<sup>1</sup>, Sholpan S. Valieva<sup>2</sup>,  
Sergey L. Tikhonov<sup>3</sup>, Natalya V. Tikhonova<sup>4</sup>

<sup>1, 2, 3, 4</sup> Ural State Agrarian University, Sverdlovsk region, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Ural State Forestry University, Sverdlovsk region, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>3</sup> [tihonov75@bk.ru](mailto:tihonov75@bk.ru)

**Abstract.** The properties of antimicrobial peptides as substances with high biological activity are considered; they can also be used as functional ingredients and (or) preservative substances in food product composition for preventive and specialized purposes. A new antimicrobial peptide consisting of 20 amino acid residues was developed; during the work, suitable amino acid sequences were selected, physical and chemical characteristics were optimized, and activity against target microorganisms was assessed. The inclusion of positively charged amino acids, such as lysine and arginine, which increase the cationicity of antimicrobial peptides and therefore increase their selectivity towards microbial membranes, is considered. The percentage content of each amino acid is as follows, %: Val – 5, Leu – 25, Cys – 5, Ala – 20, Trp – 5, Gly – 5, Ser – 5, His – 5, Lys – 20 and Arg – 5. General hydrophobicity ratio determined by APD is 60%, the charge is + 5.25. The peptide has a molecular weight of 2 206.761 Da, protein binding potential (Bohmann index) of 0.23 kcal/mol. The peptide can form alpha helices and has at least 8 elements on a single hydrophobic surface. According to data obtained from the APD database, the peptide can interact with bacterial membranes and is antimicrobial. The following known antimicrobial peptides are closest in physical and chemical characteristics to the created peptide: AP 00500, AP 03880 and AP 03383. The developed peptide can be classified as a cationic alpha-helical hydrophobic antimicrobial peptide.

**Keywords:** biologically active peptides, antimicrobial peptides, amino acid sequence, charge, characteristics

**For citation:** Ulitina E. A., Valieva Sh. S., Tikhonov S. L., Tikhonova N. V. Development of new antimicrobial peptide. *Dal'nevostochnyj agrarnyj vestnik*. 2024;18;1:91–98. (in Russ.). doi: 10.22450/1999-6837-2024-18-1-91-98.

**Введение.** Одним из актуальных научных направлений в области производства пищевой продукции является создание продуктов функционального и специализированного назначения [1, 2, 12]. Благодаря своим уникальным свойствам антимикробные пептиды обладают высокой биологической активностью и могут быть использованы в качестве функциональных ингредиентов и (или) веществ консервирующего действия в составе пищевой продукции профилактического и специализированного назначения.

Но вместе с тем широкому применению их в составе пищевых продуктов препятствуют такие факторы, как низкая стабильность под действием пептидаз желудочно-кишечного тракта и невысокая эффективность [3, 4]. Следовательно, решение этих проблем является актуальным направлением исследований в области пищевой пептидомии.

Разработка антимикробного пептида (АМП) – это сложный процесс, включающий выбор подходящих аминокислотных последовательностей, оптимизацию физико-химических свойств и оценку активно-

сти в отношении микроорганизмов-мишеней [5].

АМП обладают уникальными физическими и химическими свойствами, которые могут быть оптимизированы с помощью различных подходов к разработке для повышения потенциала их применения [4]. Так, катионная природа многих АМП из-за присутствия положительно заряженных аминокислот с основными боковыми цепями усиливает их первоначальное электростатическое притяжение к отрицательно заряженным поверхностям микробных клеток, что приводит к разрушению бактериальной мембраны и последующей гибели клеток [5–7]. Таким образом, включение положительно заряженных аминокислот, таких как лизин (Lys) и аргинин (Arg), повышает катионность АМП, следовательно, увеличивает их селективность по отношению к микробным мембранам [8].

Кроме того, амфипатическая природа многих АМП, характеризующаяся пространственно разделенными гидрофобными и гидрофильными гранями в их молекулярной структуре [4], имеет

решающее значение для проявления антимикробной активности пептидов. Эта амфипатичность позволяет внедряться в микробные мембраны при сохранении растворимости в водной среде [9].

Важным свойством АМП является их небольшая длина последовательности, обычно варьирующаяся от 10 до 50 аминокислотных остатков. Поддержание длины последовательности менее 50 аминокислот дает преимущества с точки зрения экономичного химического синтеза, повышенной стабильности и сниженной аллергенности без ущерба для активности [9].

АМП могут иметь разнообразный аминокислотный состав, обеспечивающий гибкость при конструировании пептидов со специфическими свойствами, такими как повышенная стабильность или селективность в отношении определенных штаммов патогенов [4].

Следует отметить, что некоторые АМП устойчивы к протеолитическому разложению (содержат аминокислоты V и W), что позволяет поддерживать их активность в присутствии ферментов, которые обычно разрушают пептиды. Это свойство способствует их долговечности в организме человека и способности сохраняться в агрессивных средах [9].

Следовательно, создание таких АМП, устойчивых к действию протеаз, является возможным при понимании физико-химических свойств АМП и может помочь преодолеть проблемы, связанные с их разработкой для биотехнологических и пищевых применений.

**Целью исследований** явилась разработка нового пищевого антимикробного пептида.

**Методы исследований.** Разработка АМП предполагала конструирование наиболее эффективных антимикробных аминокислотных последовательностей и физико-химических свойств. Это может включать химическое изменение существующих пептидных последовательностей или создание новых пептидных миметиков, имеющих структурное и функциональное сходство с известными пептидами (пептидомиметики).

Как правило, рациональный дизайн фокусируется на нескольких ключевых характеристиках, включая аминокислот-

ный состав, длину цепи, гидрофобность, суммарный положительный заряд, вторичную структуру и амфифильность, как было доказано в многочисленных исследованиях [10]. Разработка АМП проводилась нами с учетом вышеуказанных характеристик. Для разработки использованы базы данных антимикробных пептидов APD, DRAMP и результаты исследований ведущих ученых в области пептидомимики.

DRAMP – это база данных с открытым доступом и ручным управлением, содержащая разнообразные аннотации к АМП, включая сведения об их последовательностях, структурах, биологической активности, физико-химической, патентной, клинической и справочной информации о пептидах.

В настоящее время DRAMP содержит 22 407 позиций, из которых 6 032 являются общими пептидами (имеющими как природные, так и синтетические усилители), 16 110 запатентованными пептидами, 77 пептидами в стадии разработки лекарств (доклиническая или клиническая стадия) и 188 сшитыми антимикробными пептидами, относящимися к конкретным пептидам. Чтобы расширить возможности разработки АМП, DRAMP также содержит 5 909 кандидатов АМП, отобранных некоторыми платформами, антибактериальная активность которых еще не проанализирована (<http://dramp.cpu-bioinform.org>).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Согласно базе антимикробных пептидов APD, наиболее часто повторяются в пептидной последовательности следующие аминокислоты: лейцин (L), глицин (G), серин (S), лизин (K), аланин (A), цистеин (C), положительно заряженные аминокислоты, лизин (Lys), аргинин (Arg) и гистидин (H). Большинство АМП являются  $\alpha$ -спиральными и содержат аланин (A), лейцин (L) и лизин (K) [11].

Согласно базе данных антимикробных пептидов DRAMP, большинство АМП пептидов состоят из 15–30 аминокислотных остатков с катионным зарядом и имеют гидрофобные аминокислоты аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, пролин.

На основании представленных данных нами сконструирован пептид со следующей последовательностью аминокислот LGSKACLRHAKKKAALLVW.

Согласно полученной информации, в базах данных антимикробных пептидов полученный нами пептид отсутствует (рис. 1, 2). Полученный пептид состоит из 20 аминокислотных остатков. Характеристика аминокислотных остатков в пептиде приведена в таблице 1.

Процентное содержание каждой аминокислоты следующее: Val – 5, Leu – 25, Cys – 5, Ala – 20, Trp – 5, Gly – 5, Ser – 5, His – 5, Lys – 20 и Arg – 5.

Общее гидрофобное соотношение, определяемое APD, составляет 60 %; заряд равен +5,25. Пептид имеет молеку-

лярную массу 2 206,761 Да; потенциал связывания с белками (индекс Бомана) находится на уровне 0,23 ккал/моль.

Пептид может образовывать альфа-спираль и имеет восемь элементов на одной гидрофобной поверхности. Согласно полученным данным от базы данных APD, пептид может взаимодействовать с мембранами бактерий и является антимикробным.

Наиболее близки по физико-химическим характеристикам к созданному пептиду следующие известные АМП: AP00500, AP 03880 и AP 03383 (рис. 3).



Home / Quick Search

**Details**

User : Anonymous  
 Matches Entries : 0  
 Key : **LGSKACLKRHALKKAALLVW**  
 Job ID : 3W8UDL

**Рисунок 1 – Результаты поиска пептида LGSKACLKRHALKKAALLVW по базе DRAMP**

Поиск по базе данных AMP

<ul style="list-style-type: none"> <li>• База данных по антимикробным пептидам</li> <li>• О нас</li> <li>• <b>Поиск по базе данных AMP</b></li> <li>• Калькулятор и предсказатель антимикробных пептидов</li> <li>• Разработчик антимикробных пептидов</li> <li>• Статистическая информация</li> <li>• Связанные базы данных и веб-сайты прогнозирования</li> <li>• Временная шкала AMP</li> <li>• Номенклатура антимикробных пептидов</li> <li>• Классификация антимикробных пептидов</li> <li>• Глоссарий</li> <li>• Факты</li> <li>• ТРЕХМЕРНАЯ структура антимикробных пептидов</li> <li>• Инструменты</li> <li>• Возможности</li> </ul>	<p><b>Условия вашего запроса следующие:</b></p> <p>Идентификатор " "                  APD:                  Расположение: "Любой"                  LocationID: "                  Имя: ",", "                  Тип: "Любой"                  Длина: "Любой"                  Чистая плата: "Любой"                  Процент "Любой"                  Гидрофобности:                  Активность: "....."                  Автор: "                  Источник: "                  Содержит последовательность <b>'LGSKACLKRHALKKAALLVW'</b>                  1:                  Содержит последовательность "                  2:                  Метод "Любой"                  исследования:                  Дополнительная информация: ",", "                  Отсортирован по: 'ID'</p> <p><b>Результаты не найдены</b></p> <p>Повторный поиск</p>
--	--

**Рисунок 2 – Результаты поиска пептида LGSKACLKRHALKKAALLVW по базе APD**

**Таблица 1 – Характеристика аминокислотных остатков в пептиде LGSKACLKRNHALKKAALLVW**

Гидрофобная аминокислота	I: 0 V: 1 L: 5 F: 0 C: 1 M: 0 A: 4 W: 1
Количество G и P	G: 1 P: 0
Отрицательно заряженная аминокислота	E: 0 D: 0
Положительно заряженная аминокислота	K: 4 R: 1 H: 1
Другие аминокислоты	T: 0 S: 1 Y: 0 Q: 0 N: 0

APD3  
ANTIMICROBIAL PEPTIDE DATABASE

## Peptide Alignment

- Antimicrobial Peptide Database
- About
- AMP Database Search
- Antimicrobial Peptide Calculator and Predictor
- Antimicrobial Peptide Designer
- Statistical Information
- Related Databases & Prediction Websites
- AMP Timeline
- Nomenclature of Antimicrobial Peptides
- Classification of Antimicrobial Peptides
- Glossary
- AMP Facts

The top groups of similar (by percentage). 10000 Groups displayed.

Number 1, Similarity percentage: 47.83%  
**AP00500**

-Alignment Result--: G L G S + + V L G K + + A L K I G A N L L + +  
--Input Sequence--: + L G S K A C L + K R H A L K + K A A L L V W

Number 2, Similarity percentage: 47.62%  
**AP03880**

-Alignment Result--: G L L S + A + L K + + A L G K + + L L + +  
--Input Sequence--: + L G S K A C L K R H A L K K A A L L V W

Number 3, Similarity percentage: 47.62%  
**AP03883**

-Alignment Result--: G L L S + A + L K + + A L G K + A + L + +  
--Input Sequence--: + L G S K A C L K R H A L K K A A L L V W

**Рисунок 3 – Известные АМП, сходные по физико-химическим характеристикам и антимикробным свойствам (данные базы APD)**

**Заключение.** На основании проведенных исследований разработан новый антимикробный пептид. Он состоит из 20 аминокислотных остатков и имеет следующую аминокислотную последовательность:



Полученный пептид классифицируется как альфа-спиральный катионный гидрофобный антимикробный пептид.

Возможно, разработанный пептид устойчив к действию протеаз, так как содержит аминокислотные остатки VW, повышающие стабильность протеолитическому расщеплению.

**Список источников**

1. Решетник Е. И., Шарипова Г. В., Максимюк В. А. Исследование влияния виноградной муки на функциональные свойства геродиетических мясорастительных полуфабрикатов // Техника и технология пищевых производств. 2014. № 2 (33). С.71–75. EDN SEPQOH.

2. Решетник Е. И., Уточкина Е. А. Разработка технологии ферментированного молочно-растительного напитка с функциональными свойствами // Техника и технология пищевых производств. 2011. № 2 (21). С. 53–56. EDN NYGVHX.
3. Zhao Y., Zhang M., Qiu S., Wang J., Peng J., Zhao P. [et al.] Antimicrobial activity and stability of the D-amino acid substituted derivatives of antimicrobial peptide polybia-MPI // AMB Express. 2016. Vol. 6. No. 122. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0295-8>.
4. Huan Y. C, Kong Q., Mou H. J., Yi. H. Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields // Frontiers in Microbiology. 2020. Vol. 11. No. 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>.
5. Lee Y. J., Shirkey J. D., Park J., Bisht K., Cowan A. J. An overview of antiviral peptides and rational biodesign considerations // BioDesign Research. 2022. No. 9898241. <https://doi.org/10.34133/2022/9898241>.
6. Mwangi J., Hao X., Lai R., Zhang Z. Y. Antimicrobial peptides: new hope in the war against multidrug resistance // Zoological Research. 2019. Vol. 40. No 6. P. 488–505. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2019.062>.
7. Mwangi J., Yin Y., Wang G., Yang M., Li Y., Zhang Z. [et al.] The antimicrobial peptide ZY4 combats multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infection // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2019. Vol. 116. No. 52. P. 26516–26522. <https://doi.org/10.1073/pnas.190958511>.
8. Jin L., Bai X., Luan N., Yao H., Zhang Z., Liu W. [et al.] A designed tryptophan and lysine arginine-rich antimicrobial peptide with therapeutic potential for clinical antibiotic-resistant candida albicans vaginitis // Journal of Medicinal Chemistry. 2016. Vol. 59. No 5. P. 1791–1799. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01264>.
9. Cheng Q., Zeng P. Hydrophobic-hydrophilic alternation: An effective pattern to de novo designed antimicrobial peptides // Curr Pharm Des. 2022. Vol. 28. No. 44. P. 3527–3537. doi: 10.2174/1381612828666220902124856.
10. Zhang Z., Mu L., Tang J., Duan Z., Wang F., Wei L. [et al.] A small peptide with therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris // PLoS One. 2013. Vol. 8. No. 8. P. e72923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072923>.
11. Wang G. The antimicrobial peptide database provides a platform for decoding the design principles of naturally occurring antimicrobial peptides // Protein Science. 2020. Vol. 29. No. 1. P. 8–18. <https://doi.org/10.1002/pro.3702>.
12. Pei M., Chen S., Li C., Zhang G., Liu L., Zhao Z., Reshetnik E. I., Griбанова S. L., Zhao L. Physicochemical properties and volatile components of pea flour fermented by *Lactobacillus rhamnosus* L08 // Food Bioscience. 2022. Vol. 46. No. 101590. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101590>.

## References

1. Reshetnik E. I., Sharipova G. V., Maksimyuk V. A. Influence of grape flour on functional properties of meat-and-cereal semi-finished products for elderly age group. *Tekhnika i tekhnologiya pishhevyyh proizvodstv*, 2014;2(33):71–75 (in Russ.). EDN SEPQOH.
2. Reshetnik E. I., Utochkina E. A. Fermented plant milk drink with functional characteristics: technology development. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevyyh proizvodstv*, 2011;2(21):53–56 (in Russ.). EDN NYGVHX.
3. Zhao Y., Zhang M., Qiu S., Wang J., Peng J., Zhao P. [et al.] Antimicrobial activity and stability of the D-amino acid substituted derivatives of antimicrobial peptide polybia-MPI. *AMB Express*, 2016;6;122. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0295-8>.
4. Huan Y. C, Kong Q., Mou H. J., Yi. H. Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*, 2020;11;582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>.

5. Lee Y. J., Shirkey J. D., Park J., Bisht K., Cowan A. J. An overview of antiviral peptides and rational biodesign considerations. *BioDesign Research*, 2022;9898241. <https://doi.org/10.34133/2022/9898241>.
6. Mwangi J., Hao X., Lai R., Zhang Z. Y. Antimicrobial peptides: new hope in the war against multidrug resistance. *Zoological Research*, 2019;40;6:488–505. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2019.062>.
7. Mwangi J., Yin Y., Wang G., Yang M., Li Y., Zhang Z. [et al.] The antimicrobial peptide ZY4 combats multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019;116;52: 26516–26522. <https://doi.org/10.1073/pnas.190958511>.
8. Jin L., Bai X., Luan N., Yao H., Zhang Z., Liu W. [et al.] A designed tryptophan and lysine arginine-rich antimicrobial peptide with therapeutic potential for clinical antibiotic-resistant candida albicans vaginitis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016;59;5:1791–1799. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01264>.
9. Cheng Q., Zeng P. Hydrophobic-hydrophilic alternation: An effective pattern to de novo designed antimicrobial peptides. *Curr Pharm Des*, 2022;28;44:3527–3537. doi: 10.2174/1381612828666220902124856.
10. Zhang Z., Mu L., Tang J., Duan Z., Wang F., Wei L. [et al.] A small peptide with therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *PLoS One*, 2013;8;8:e72923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072923>.
11. Wang G. The antimicrobial peptide database provides a platform for decoding the design principles of naturally occurring antimicrobial peptides. *Protein Science*, 2020;29;1:8–18. <https://doi.org/10.1002/pro.3702>.
12. Pei M., Chen S., Li C., Zhang G., Liu L., Zhao Z., Reshetnik E. I., Griбанова S. L., Zhao L. Physicochemical properties and volatile components of pea flour fermented by *Lactobacillus rhamnosus* L08. *Food Bioscience*, 2022;46;101590. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101590>.

© Улитина Е. А., Валиева Ш. С., Тихонов С. Л., Тихонова Н. В., 2024

Статья поступила в редакцию 26.01.2024; одобрена после рецензирования 19.02.2024; принята к публикации 22.02.2024.

The article was submitted 26.01.2024; approved after reviewing 19.02.2024; accepted for publication 22.02.2024.

### **Информация об авторах**

**Улитина Елизавета Андреевна**, аспирант, Уральский государственный аграрный университет;

**Валиева Шолпан Сергеевна**, аспирант, Уральский государственный аграрный университет;

**Тихонов Сергей Леонидович**, доктор технических наук, профессор кафедры химической технологии древесины, биотехнологии и наноматериалов, Уральский государственный лесотехнический университет; профессор кафедры пищевой инженерии и аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет, [tihonov75@bk.ru](mailto:tihonov75@bk.ru);

**Тихонова Наталья Валерьевна**, доктор технических наук, заведующая кафедрой пищевой инженерии и аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет

---

**Information about the authors**

**Elizaveta A. Ulitina**, Postgraduate Student, Ural State Agrarian University;

**Sholpan S. Valieva**, Postgraduate Student, Ural State Agrarian University;

**Sergey L. Tikhonov**, Doctor of Technical Sciences, Professor of the Department of Chemical Technology of Wood, Biotechnology and Nanomaterials, Ural State Forestry University; Professor of the Department of Food Engineering and Agricultural Production, Ural State Agrarian University, [tikhonov75@bk.ru](mailto:tikhonov75@bk.ru);

**Natalya V. Tikhonova**, Doctor of Technical Sciences, Head of the Department of Food Engineering and Agricultural Production, Ural State Agrarian University

**Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.**

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

**Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.**

**The authors declare no conflicts of interests.**