СОВРЕМЕННАЯ ГЕРПЕТОЛОГИЯ. 2026. Т. 26, вып. 1/2. С. 94 – 98
Current Studies in Herpetology, 2026, vol. 26, iss. 1–2, pp. 94–98
https://sg.sgu.ru

Детекция новых антимикробных пептидов кожи бесхвостых амфибий (Anura) с помощью геномного анализа

П. Ф. Шмаков [1], П. К. Иброгимова [1], А. О. Свинин [2]✉

[1] Тюменский государственный университет
Россия, 625003, г. Тюмень, ул. Ленина, д. 25
[2] Институт цитологии РАН
Россия, 194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, д. 4

Информация о статье

Краткое сообщение
УДК 577.29
https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-94-98
EDN: ZZYIQS

Поступила в редакцию 10.03.2025,
после доработки 26.03.2026,
принята 02.04.2026

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Аннотация. Приводятся результаты поиска генов антимикробных пептидов кожных гранулярных желез амфибий в геномных данных, полученных с помощью секвенирования нового поколения. Биоинформатический анализ геномных данных 36 особей, принадлежащих к 10 видам бесхвостых амфибий, выявил последовательности эскулентина, темпорина, ранациклина, брадикинина (кининогена-1) и бомбинина у трех видов амфибий (*Bombina bombina*, *Rana arvalis* и *Pelophylax ridibundus*). Аминокислотные последовательности данных пептидов были на 87 – 100% сходны с известными последовательностями антимикробных пептидов амфибий. Новые варианты антимикробных пептидов могут иметь терапевтическое, антибактериальное, антипаразитарное и противогрибкое действие.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, амфибии, секвенирование нового поколения

Образец для цитирования: *Шмаков П. Ф., Иброгимова П. К., Свинин А. О.* 2026. Детекция новых антимикробных пептидов кожи бесхвостых амфибий (Anura) с помощью геномного анализа // Современная герпетология. Т. 26, вып. 1/2. С. 94 – 98. https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-94-98, EDN: ZZYIQS

Введение. Известно, что антибиотикорезистентность бактерий возникает из-за неконтролируемого применения антибиотиков при лечении инфекционных заболеваний, в том числе в сельском хозяйстве. Множественная лекарственная устойчивость бактерий представляет собой большую угрозу для здоровья человека (Dodds, 2017; Saha, Sarkar, 2021; Uddin et al., 2021), что делает поиск новых антибактериальных веществ крайне актуальной задачей современности (Chen et al., 2023).

Антимикробные пептиды (АМП) широко распространены среди животных и играют решающую роль в их иммунной защите (Simmaco et al., 1994, 1998; Zhang, Gallo, 2016). В связи с низким цитотоксическим действием на клетки человека (Attoub et al., 2013), ряд АМП представляет собой хорошую альтернативу антибиотикам. Среди 5000 АМП, известных к 2012 г., треть была получена из кожи амфибий (Barra, Simmaco, 1995; Novković et al., 2012; Rollins-Smith, 2023). В базе данных «DADP» (the database of anuran defense peptides) суммирована информация об 2571 антимикробных пептидах, найденных у 167 видов бесхвостых амфибий (Novković et al., 2012). Большое разнообразие АМП в коже амфибий связано с высокой проницаемостью их кожи и необходимостью выработки защитного секрета от естественных врагов в природе (Barros et al., 2022), что делает амфибий идеальным объектом для поиска новых антимикробных веществ.

В настоящее время установлено, что АМП из кожи земноводных имеют эффективную антибактериальную, антигрибковую и антипаразитарную активности (Simmaco et al., 1994; 1998; Zhang, Gallo, 2016), оказывают терапевтическое действие при сахарном диабете II типа (Vasu et al., 2017), индуцируют пролиферативную активность кератиноцитов при регенерации кожи (Di Grazia et al., 2015), а также, вероятно, имеют противоопухолевую активность (Zhou et al., 2018).

В данной работе применен подход, заключающийся в поиске генов антимикробных пептидов с помощью биоинформатического анализа

✉ *Для корреспонденции*. Лаборатория стабильности хромосом и микроэволюции генома Института цитологии РАН.

ORCID и e-mail адреса: Шмаков Павел Федорович: https://orcid.org/0009-0001-3795-3716, sirzellek23@gmail.com; Иброгимова Полина Комиловна: https://orcid.org/0000-0002-5226-867X, pibrogimova@bk.ru; Свинин Антон Олегович: https://orcid.org/0000-0002-8400-6826, ranaesc@gmail.com

© Шмаков П. Ф., Иброгимова П. К., Свинин А. О., 2026

геномных данных, полученных при секвенировании ДНК, выделенной из кожных мазков амфибий.

Материал и методы. В ходе работы был осуществлен поиск антимикробных пептидов у 36 особей, относящихся к 10 видам бесхвостых земноводных, отловленных в 10 местообитаниях: 1. Поволжье, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, лесопарк «Сосновая роща» (56.6181 с.ш., 47.9238 в.д.), *Rana arvalis* Nilsson, 1842 – 2 экз., *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) – 1 экз.; 2. Поволжье, Пензенская область, участок «Островцовская лесостепь» государственного природного заповедника «Приволжская лесостепь» (52.815 с.ш., 44.4594 в.д.), *Pelophylax ridibundus* – 12 экз.; 3. Поволжье, Марий Эл, пос. Красный Мост (56.5683 с.ш., 47.1415 в.д.), *P. lessonae* (Camerano, 1882) – 1 экз.; 4. Поволжье, Марий Эл, пос. Новотроицк (56.5525 с.ш., 47.8805 в.д.), *P. lessonae* – 1 экз.; 5. Дальний Восток, Приморский край, г. Владивосток, р. Седанка (43.210 с.ш., 131.990 в.д.), *Bufo sachalinensis* Nikolskii, 1905 – 2 экз., *R. dybowskii* Günther, 1876 – 4 экз.; 6. Дальний Восток, Приморский край, остров Русский (43.0387 с.ш., 131.879 в.д.), *Bombina orientalis* (Boulenger, 1890) – 2 экз.; 7. Дальний Восток, Приморский край, г. Владивосток, пос. Трудовое (43.309 с.ш., 132.085 в.д.), *R. amurensis* (Boulenger, 1886) – 4 экз.; 8. Московский зоопарк, *Triprion petasatus* (Cope, 1865) – 1 экз.; *Bufotes baturae* (Stoeck, Schmid, Steinlein et Grosse, 1999) – 1 экз.

Мазки с поверхности кожи животных получены с помощью стерильных ватных тампонов-зондов и зафиксированы в 96%-ном этаноле. Выделение ДНК проведено на колонках при помощи наборов Magen HiPure Universal DNA Kit (Magen Biotechnology, Китай). Конечная концентрация геномной ДНК в растворе определена с помощью микроспектрофотометра Nano-500 (Allsheng Instruments, Китай). Отобраны пробы, содержащие геномную ДНК с концентрацией более 20 нг/мкл. ДНК-библиотеки подготовлены с использованием NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit для секвенирования нового поколения (NGS). Секвенирование проведено на высокопроизводительной платформе Illumina NovaSeq 6000 (2x 150 п. н., с глубиной прочтения 550 млн п. н.).

Тримминг полученных последовательностей проведен в программе Trimmomatic 0.39 (Bolger et al., 2014). Качество ридов оценено с помощью FastQC 0.12.0. Сборка геномных данных проведена с помощью программы MEGAHIT 1.2.9 (Li et al., 2015). Контиги, содержащие последовательности АМП, идентифицированы с использованием алгоритмов nBLAST (Altschul et al., 1990) на основе созданной нами базы данных генов АМП амфибий. Выравнивание и транслирование нуклеотидных последовательностей проведено с помощью программы MEGA X (Kumar et al., 2018). АМП классифициро-ваны на основе структуры сигнальных пептидов в соответствии с опубликованной базой DADP (Novković et al., 2012).

Результаты и их обсуждение. Для создания базы данных нуклеотидных последовательностей АМП амфибий был проведен поиск в нуклеотидной (nucleotide) и белковой (protein) базах данных GenBank NCBI по 160 наименованиям АМП (Novković et al., 2012). Всего было найдено 90 нуклеотидных последовательностей длиной от 111 до 1098 п. н., принадлежащих генам 42 АМП из кожи 53 видов амфибий. Некоторые АМП встречались в разных видах амфибий, поэтому число вариантов АМП было ниже, чем число видов амфибий в базе.

Поиск АМП обнаружил в геномных сборках изучаемых видов 4520 контигов, содержащих последовательности нуклеотидов, гомологичных генам 25 АМП: амолопкинин, бомбезин, бомбинин, брадикинин (кининоген-1), бревинин, кателицидин, эскулентин, гегурин, японицин, ливидин, максимин, нигроаин, нигроцин, нигрозин, одорранаин, одорранналектин, одоррегулин, пептид DK25, препробрадикинин, препропалюстрин, препротемпорин, ранациклин, ранатензин, темпорин, тианнаненсин и тигеринин. Данные гены обнаружены у семи видов амфибий и не были найдены только у представителей родов *Bufo*, *Bufotes* и *Triprion*. Большинство последовательностей было идентифицировано как сигнальные пептиды, не содержащие фрагментов, соответствующих зрелым пептидам.

Нуклеотидные последовательности, соответствующие зрелым пептидам, были обнаружены только в 34 контигах. Они относились к пяти вариантам I, III и V классов антимикробных пептидов: бомбинин, брадикинин (кининоген-1), эскулентин, ранациклин и темпорин. Ранациклин и эскулентин найдены у озерной лягушки, *P. ridibundus*, темпорин у остромордой лягушки, *R. arvalis*, дальневосточные жерлянки, *B. orientalis*, обладали антимикробными пептидами III (бомбинин) и V (кининоген-1) классов (таблица).

Последовательности эскулентина-1A, выделенного из *P. esculentus* (Mh556890), и эскулентина-1B, выделенного из *P. lessonae* (X77833), оказались на 100% идентичными последовательностям эскулентинов, выделенных из семи экземпляров *P. ridibundus*. Также было обнаружено, что последовательности эскулентина шести других особей *P. ridibundus* из Поволжья на 94% схожи с известными последовательностями эскулентинов. Перевод этих нуклеотидных последовательностей

Аминокислотные последовательности антимикробных пептидов (АМП) бесхвостых земноводных, обнаруженных в результате биоинформатического анализа геномных данных
Table. Amino acid sequences of antimicrobial peptides (AMP) from anuran amphibians, identified through bioinformatic analysis of genomic data

АМП / AMP	Вид амфибий / Species	Аминокислотная последовательность зрелого пептида / Amino acid sequences of mature peptides	Ссылки / References
Эскулентин / Esculentin	*P. ridibundus*	GIFSKLAGKKLKNLLISGLKNVGKEVG MDVVRTGIDIAGCKIKGEC	Simacco et al., 1994
		GIFSKLAGKK<u>I</u>KNLLISGLKNVGKEVG MDVVRTGIDIAGCKIKGEC	Данная работа / This paper
Темпорин / Temporin	*R. arvalis*	LLPIVGNLLNDLLGK	Simacco et al., 1996
		LLPIVGNLL<u>KS</u>LLGK	Данная работа / This paper
Ранациклин / Ranacyclin	*P. ridibundus*	APRGCWTKSYPPQPCFGKR	Mangoni et al., 2003
		A<u>L</u>RGCWTKSYPP<u>K</u>PC<u>K</u>GKR	Данная работа / This paper
Бомбинин / Bombinin	*B. orientalis*	IIGPVLGLVGSALGGLLKKIG	Zhou et al., 2018
		IIGP<u>I</u>LGLVGSALGGLL	Данная работа / This paper
Брадикинин (кининоген-1) / Bradykinin (kininogen-1)	*B. orientalis*	GIGASILSAGKSALKGLAKGLAEHFAN	Zhou et al., 2018
		GIGASILSAGKSALKGLAKGLAEHFAN	Данная работа / This paper

Примечание. Аминокислотные замены подчеркнуты.
Note. Amino acid substitutions are underscored.

в аминокислотные выявил одну замену (p11; лейцин на изолейцин, 2% различий).

Гены темпоринов обнаружены только для *R. arvalis*. Сравнение полученных аминокислотных последовательностей выявило сходство с темпорином *R. temporaria* из Швеции (QIU80515). Пептиды отличались на 2 замены из 15 аминокислот (13%; лизин заменен на аспарагин в 10-й позиции и серин на аспартат в 11-й позиции).

Нуклеотидная последовательность гена ранациклина *P. ridibundus* была на 98% идентична последовательности гена ранациклина HB1 *P. nigromaculatus* (MT584032; длина 310 п. н.). Аминокислотная последовательность отличалась на 3 из 18 аминокислот (17%) и была идентична аминокислотной последовательности ранациклина T, выделенного из кожи травяной лягушки *R. temporaria* (P83719).

Бомбинин из *B. orientalis* демонстрировал 100% сходство в нуклеотидных последовательностях с дальневосточной жерлянкой из Китая (LT732575 и Xm053704656). Антимикробные пептиды класса V (брадикинин) были обнаружены только для *B. orientalis*. Сходство с доступными нуклеотидными последовательностями составило 99.3% (AJ316578), тогда как его аминокислотная последовательность была идентична референсной для данного вида.

Следует отметить, что наличие соответствующих нуклеотидных последовательностей не является прямым доказательством того, что АМП действительно экспрессируются у данного вида. Такие данные могут быть получены при транскриптомном и биохимическом анализе секретов серозных желез. Однако геномный анализ упрощает и ускоряет поиск новых генов АМП кожного секрета земноводных и, несомненно, имеет большой потенциал в открытии новых семейств и даже классов антимикробных пептидов.

Благодарности. Авторы выражают благодарность К. А. Матушкиной (Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, Москва) и Т. В. Латышевой (Отдел герпетологии Московского зоопарка) за предоставленную возможность работы с гималайской жабой и триприоном. Авторы также признательны Г. Н. Артемову (Томский государственный университет) за рецензирование рукописи и ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, iss. 3, pp. 403–410. https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2

Attoub S., Mechkarska M., Sonnevend A., Radosavljevic G., Jovanovic I., Lukic M. L., Conlon J. M. Esculentin-2CHa: A host-defense peptide with differential cytotoxicity against bacteria, erythrocytes and tumor cells. *Peptides*, 2013, vol. 39, pp. 95–102. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.11.004

Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, iss. 15, pp. 2114–2020. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170

Chen B., Zhang Z., Zhang Q., Xu N., Lu T., Wang T., Hong W., Fu Z., Penuelas J., Gillings M., Qian H. Antimicrobial peptides in the global microbiome: Biosynthetic genes and resistance determinants. *Environmental Science & Technology*, 2023, vol. 57, iss. 20, pp. 7698–7708. https://doi.org/10.1021/acs.est.3c01664

Di Grazia A., Cappiello F., Imanishi A., Mastrofrancesco A., Picardo M., Paus R., Mangoni M. L. The frog skin-derived antimicrobial peptide Esculentin-1a(1-21)NH2 promotes the migration of human HaCaT keratinocytes in an EGF receptor-dependent manner: A novel promoter of human skin wound healing? *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0128663. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128663

Dodds D. R. Antibiotic resistance: A current epilogue. *Biochemical Pharmacology*, 2017, vol. 134, pp. 139–146. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.005

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, vol. 35, iss. 6, pp. 1547–1549. https://doi.org/10.1093/molbev/msy096

Mangoni M. L., Fiocco D., Mignogna G., Barra D., Simmaco M. Functional characterisation of the 1–18 fragment of esculentin-1b, an antimicrobial peptide from *Rana esculenta*. *Peptides*, 2003, vol. 24, no. 11, pp. 1771–1777. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2003.07.029

Novković M., Simunić J., Bojović V., Tossi A., Juretić D. DADP: The database of anuran defense peptides. *Bioinformatics*, 2012, vol. 28, pp. 1406–1407. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts141

Rollins-Smith L. A. The importance of antimicrobial peptides (AMPs) in amphibian skin defense. *Developmental & Comparative Immunology*, 2023, vol. 142, art. 104657. https://doi.org/10.1016/j.dci.2023.104657

Saha M., Sarkar A. Review on multiple facets of drug resistance: A rising challenge in the 21st Century. *Journal of Xenobiotics*, 2021, vol. 11, iss. 4, pp. 197–214. https://doi.org/10.3390/jox11040013

Simmaco M., Mignogna G., Barra D. Antimicrobial peptides from amphibian skin: What do they tell us? *Biopolymers*, 1998, vol. 47, iss. 6, pp. 435–450. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(1998)47:6<435:AID-BIP3>3.0.CO;2-8

Simmaco M., Mignogna G., Barra D., Bossa F. Antimicrobial peptides from skin secretions of *Rana esculenta*. Molecular cloning of cDNAs encoding esculentin and brevinins and isolation of new active peptides. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, vol. 269, iss. 16, pp. 11956–11961.

Simmaco M., Mignogna G., Canofeni S., Miele R., Mangoni M. L., Barra, D. Temporins, antimicrobial peptides from the European red frog *Rana temporaria*. *European Journal of Biochemistry*, 1996, vol. 242, iss. 3, pp. 788–792. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0788r.x

Uddin T. M., Chakraborty A. J., Khusro A., Zidan B. R. M., Mitra S., Emran T. B., Dhama K., Ripon M. K. H., Gajdács M., Sahibzada M. U. K., Hossain M. J., Koirala N. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 2021, vol. 14, iss. 12, pp. 1750–1766. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020

Vasu S., McGahon M. K., Moffett R. C., Curtis T. M., Conlon J. M., Abdel-Wahab Y. H., Flatt P. R. Esculentin-2CHa(1-30) and its analogues: Stability and mechanisms of insulinotropic action. *Journal of Endocrinology*, 2017, vol. 232, iss. 3, pp. 423–435. https://doi.org/10.1530/JOE-16-0453

Zhang L. J., Gallo R. L. Antimicrobial peptides. *Current Biology*, 2016, vol. 26, iss. 1, pp. 14–19. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017

Zhou C., Wang Z., Peng X., Liu Y., Lin Y., Zhang Z., Qiu Y., Jin M., Wang R., Kong D. Discovery of two bombinin peptides with antimicrobial and anticancer activities from the skin secretion of Oriental firebellied toad, *Bombina orientalis*. *Chemical Biology & Drug Design*, 2018, vol. 91, iss. 1, pp. 50–61. https://doi.org/10.1111/cbdd.13055

Detection of novel antimicrobial peptides from the skin of anuran amphibians (Anura) through genomic analysis

P. F. Shmakov [1], P. K. Ibrogimova [1], A. O. Svinin [2]✉

[1] Tyumen State University
25 Lenin St., Tyumen 625003, Russia
[2] Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences
4 Tikhoretsky Prospekt, St. Petersburg 194064, Russia

Article info

Short Communication
https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-94-98
EDN: ZZYIQS

Received March 10, 2025,
revised March 26, 2026,
accepted April 2, 2026

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Abstract: This study presents the results of our searching for antimicrobial peptide genes in the amphibian skin granular glands using next-generation sequencing. Bioinformatic analysis of genomic data from 36 individuals belonging to 10 species of anuran amphibians revealed sequences of esculentin, temporin, ranacyclin, bradykinin (kininogen-1), and bombinin in three amphibian species (*Bombina bombina*, *Rana arvalis*, and *Pelophylax ridibundus*). The amino acid sequences of these peptides showed 87–100% similarity to known sequences of amphibian antimicrobial peptides. The newly identified variants of antimicrobial peptides may possess therapeutic, antibacterial, antiparasitic, and antifungal activities.
Keywords: antimicrobial peptides, amphibians, next-generation sequencing

For citation: Shmakov P. F., Ibrogimova P. K., Svinin A. O. Detection of novel antimicrobial peptides from the skin of anuran amphibians (Anura) through genomic analysis. *Current Studies in Herpetology*, 2026, vol. 26, iss. 1–2, pp. 94–98 (in Russian). https://doi.org/10.18500/1814-6090-2026-26-1-2-94-98, EDN: ZZYIQS

✉ *Corresponding author*. Laboratory of Chromosome Stability and Microevolution of the Genome, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Pavel F. Shmakov: https://orcid.org/0009-0001-3795-3716, sirzellek23@gmail.com; Polina K. Ibrogimova: https://orcid.org/0000-0002-5226-867X, pibrogimova@bk.ru; Anton O. Svinin: https://orcid.org/0000-0002-8400-6826, ranaesc@gmail.com