

University of Groningen

The simulation studies of the interplay of peptides with lipids

Su, Juanjuan

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2017

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Su, J. (2017). *The simulation studies of the interplay of peptides with lipids*. [Groningen]: University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 6

Samenvatting en vooruitzicht

Dit proefschrift richt zich op de wisselwerking tussen twee klassen van membraan actieve peptiden en membranen, namelijk de antimicrobiële peptiden Magainin 2, BP100, MSI-78 en MSI-103 en de amfipathische peptide Pex11-Amph, met behulp van moleculaire dynamica (MD) simulaties. Begrip van het samenspel tussen peptiden en membraan lipiden is belangrijk om fundamenteel inzicht te verkrijgen in vele biologische processen.

Antimicrobiële peptiden (AMPs) zijn betrokken bij antimicrobiële afweer, het zijn meestal korte en cationische peptiden. Ze hebben een breed antimicrobieel spectrum en zijn mogelijk een veelbelovend alternatief voor conventionele antibiotica, wat ertoe geleid heeft dat veel mensen AMPs bestuderen, zowel met theoretisch als met experimenteel benaderingen. In Hoofdstuk 2 presenteren we een meerschallige MD studie van het lipide-bindende en segregatie mechanisme van de AMPs. Hierbij bestuderen we de interacties van de AMPs Magainin 2, BP100 en MSI-103 met gemengde POPE/cardioline lipide bilagen. In overeenkomst met experimentele waarnemingen, zien we dat cationische peptiden een hogere segregatie van anionische lipiden en zwitserionische lipiden veroorzaken. Uit de MD simulaties blijkt dat dit inderdaad komt door de elektrostatische interacties, waarbij de eerste lipide schil rondom de peptiden verrijkt wordt met cardioline. Er zijn geen aanwijzingen dat AMP-gemedieerde anionisch lipide segregatie verder rijkt dan deze ringvormige schil, dat wil zeggen, er werd geen hogere orde organisatie van cardioline domeinen waargenomen. BP100 valt buiten de ladings-segregatie relatie, wat in overeenkomst is met experimentele waarnemingen. Contacten tussen cardiolipinen en geladen BP100 zijketens volgden dezelfde trend met betrekking tot lading als Magainin 2 en MSI-103. Afgaande op deze observaties wijzen we het afwijkende gedrag van BP100 toe aan zijn hoger dan gemiddelde cationische dichtheid, die maximaal contact met de cardiolipinen voorkomt.

Begrip over de invloed van fase segregatie in lipide bilagen op het gedrag van AMPs is een belangrijke stap naar een beter begrip van de werking van AMPs *in vivo*. In Hoofdstuk 3 hebben we grofkorrelige (CG) simulaties uitgevoerd van AMPs op een membraan met fase scheiding om hun voorkeur voor verschillende domeinen te bestuderen. De AMPs Magainin 2, BP100 en MSI-103 zijn gebruikt om een verscheidenheid van peptiden in grote, lading en sequenties in de simulaties te geven; MSI-78 dient als controle en is experimenteel onderzocht. Twee peptide-concentraties werden getest, met peptide tot lipide verhoudingen van 1/200 en 1/20. Alle peptiden vertoonden een duidelijke voorkeur voor de vloeibare ongeordende (Ld) fase boven de vloeibare geordende (Lo) fase en verder hadden alle peptiden behalve Magainin 2

een voorkeur voor de grensregio tussen de domeinen boven de ongeordende bulk fase. In het geval van Magainin 2, die voorkomt als dimeer, is peptide-peptide associatie energetisch gunstiger in de Ld fase, iets minder gunstig in het grensgebied en energetisch neutraal in de Lo regio, wat de voorkeur van Magainin 2 voor Ld fase boven het grensgebied tussen de domeinen verklaart. Interessant is dat bij een hoge peptide/lipide verhouding, twee Magainin 2 poriën zich spontaan vormden in de Ld fase. Uit mechanistisch oogpunt van de peptide is dit te verwachten. Het is echter opmerkelijk omdat de simulatie van spontane insertie van AMP in membranen en porie vorming buiten het bereik lag van grofkorrelig modellen, kon alleen door atomaire simulaties beschreven worden. Hoewel het gerapporteerd is dat CG membranen op basis van het MARTINI krachtenveld vaak een te hoge energiebarrière hebben voor lipide flip-flop of voor het doorkruisen van polaire groepen, is het nog niet duidelijk waarom MARTINI membranen weerbarstig zijn als het gaat om porie formatie. Magainin 2 heeft in het MARTINI model de neiging om het membraan te laten kromtrekken en uitstulpingen te veroorzaken in het membraan in plaats van dat het aanzet tot de vorming van poriën. In onze simulaties met hoge peptide dichtheden werd het kromtrekken van het membraan voorkomen door de toepassing van een remmende potentiaal in de z richting op de lipide kopgroepen. Men zou kunnen stellen dat de poriën werden veroorzaakt door de kunstmatige potentiaal. Om de invloed van deze bias testen hebben we gebruik gemaakt van een andere methode, namelijk een platte bodem potentiaal om het kromtrekken van het membraan te beperken. Hierbij zagen we nog steeds twee poriën in het membraan. In de toekomst zou het zeer interessant zijn om meer tests betreffende de porie verschijnselen te doen. Aangezien alle poriën gevormd zijn in de Ld fase, die voornamelijk bestaat uit DLiPC lipiden, wat zou er gebeuren als we Magainin 2 op een pure DLiPC bilaag stoppen? Spelen cholesterol of DPPC lipiden een rol, bijvoorbeeld door het veroorzaken van membraan defecten? Wat is de absolute drempelwaarde van de Magainin 2 concentratie waarbij nog porievorming optreedt in de Ld fase?

Pex11-Amph is het amfipathische peptide betrokken bij het remodelleren van het membraan gedurende peroxisomale deling. Zoals het geval is bij de meeste peptiden, is het mechanisme achter membraan kromming door Pex11 Amph peptiden nog niet duidelijk. We hebben moleculaire dynamica simulaties gedaan van het *P. chrysogenum* Pex11-Amph peptide op verschillende membranen in Hoofdstuk 4. We namen waar dat de peptiden aggregeren in een lineair patroon op het membraan. Een mutant van het peptide werd succesvol ontwikkeld om dit aggregatie patroon te doorbreken; de buisjesvormende activiteit van de mutant in *vitro* verdween hiermee eveneens, duidend op een verband tussen de twee fenomenen. Door het combineren van experimenten en simulaties zijn we in staat om het effect van Pex11-Amph op het peroxisomale membraan op te helderen. Afgezien van de huidige experimentele

gegevens, zou het interessant zijn om meer metingen te doen over het verschil in gedrag tussen Pex11-Amph en de arginine mutant, bijvoorbeeld om door middel van elektronenmicroscopie de vorm van de liposomen te bekijken na binding van het natuurlijke peptide en de arginine mutant en om het bijbehorende gedrag *in vivo* waar te nemen.

Boven alles zou ik zeggen dat MD simulaties een zeer nuttig en belangrijk instrument zijn om het samenspel tussen peptiden en membranen te verkennen, hierbij bieden ze een mate van detail die niet makkelijk, of helemaal niet, met behulp van experimenten kan worden verkregen. Een combinatie van simulaties en experimenten is echter de meest krachtige benadering om het fascinerende peptide-membraan samenspel te ontrafelen.