



Interaction of Antimicrobial Peptide Pardaxin with DPPC Bilayers by Molecular Dynamics Simulation

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Doustdar F.¹ PhD,
Aghdami R.² MSc,
Mehrnejad F.* PhD,
Chaparzadeh N.² PhD

How to cite this article

Doustdar F, Aghdami R, Mehrnejad F, Chaparzadeh N. Interaction of Antimicrobial Peptide Pardaxin with DPPC Bilayers by Molecular Dynamics Simulation. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):17-22.

*Life Sciences Engineering Department, New Sciences & Technologies Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran

¹Microbiology Department, Medicine Faculty, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Biology Department, Science Faculty, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Correspondence

Address: Life Sciences Engineering Department, New Sciences and Technologies Faculty, University of Tehran, Up the Jalal-Al-Ahmad Junction, Kargar-e Shomali Street, Tehran, Iran

Phone: +98 (21) 86093285

Fax: +98 (21) 88497324

mehrnejad@ut.ac.ir

Article History

Received: May 7, 2016

Accepted: December 25, 2017

ePublished: March 20, 2018

ABSTRACT

Aims Today, due to the advent of drug resistance in cancer cells against conventional drugs, attention has been paid to the development of anti-cancer drugs with new mechanisms. Pardaxin is an amphipathic polypeptide neurotoxin. The aim of this study was to investigate the interaction of antimicrobial peptide pardaxin with DPPC (composed of 1, 2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) bilayers by molecular dynamics simulation.

Materials & Methods In the present study, simulations for different membrane environments were designed under neutral pH conditions. At first, the Linux system was used to install the VMD 1.8.6 (Visual Molecular Dynamics) software; then, Gromacs 4.5.5 software was used to perform all the simulations. The pdb peptide structure (1XC0) was prepared from the Protein Data Bank and DPPC lipid bilayer was used for lipid-peptide simulation.

Findings During the 500 nanoseconds of simulation, the peptide was infiltrated into the membrane. In the DPPC system, at first, the number of hydrogen bonds between the peptide and the lipid bilayer were increased and, then, remained almost constant until the end of the simulation and decreased over time with the number of hydrogen bonds between peptides and water. Pardaxin contacted with the membrane surface and entered into the membrane. In the presence of the peptide, the thickness of the membrane and the range of each lipid decreased and the membrane penetration increased.

Conclusion The mechanism of Pardaxin is dependent on the bilayer composition, so that the pardaxin peptide contacts with DPPC lipid membrane surface and enters into it.

Keywords Pardaxin; Molecular Dynamics Simulation; Antimicrobial Peptide; Membrane

CITATION LINKS

- [1] Antimicrobial peptides in cutaneous wound healing ... [2] From antimicrobial to anticancer ... [3] The anti-cancer activity of a cationic anti-microbial peptide derived from monomers of ... [4] Antimicrobial selectivity based on zwitterionic lipids and underlying ... [5] Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and ... [6] Molecular mechanisms of anticancer action and cell selectivity ... [7] Charge distribution and imperfect amphipathicity ... [8] Interaction of Piscidin-1 with zwitterionic versus anionic membranes: A comparative molecular dynamics ... [9] Designing antimicrobial peptides ... [10] Immune modulation by multifaceted cationic host defense ... [11] Augmentation of cationic antimicrobial peptide production with histone deacetylase inhibitors as a novel epigenetic therapy for bacterial ... [12] Roles of hydrophobicity and charge distribution of cationic antimicrobial peptides in peptide-membrane ... [13] Lysylated phospholipids stabilize models of bacterial lipid bilayers and protect against ... [14] Structure and orientation of pardaxin determined by NMR experiments in model ... [15] A class of highly potent antibacterial peptides derived from pardaxin, a pore-forming peptide isolated ... [16] Membrane lipid composition and the interaction of ... [17] NMR structure of pardaxin, a pore-forming antimicrobial peptide, in lipopolysaccharide micelles mechanism of outer ... [18] Pardaxin permeabilizes vesicles more efficiently by pore formation than ... [19] Pardaxin, a fish antimicrobial peptide, exhibits antitumor activity toward murine fibrosarcoma in vitro and ... [20] The role of membrane thickness in charged protein-lipid ... [21] Protein-folding dynamics: Overview of molecular simulation ... [22] Study of orientation and penetration of LAH4 into lipid bilayer membranes: pH and composition ... [23] GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics ... [24] Molecular dynamics with coupling to an external ... [25] Studies on anticancer activities of antimicrobial ... [26] Mechanism of anticancer effects of antimicrobial ...

برهم‌کنش بین پپتید ضد میکروبی پارداکسین با غشای DPPC به کمک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

فرحش دوستدار PhD

گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

را حله ا ق د م Sc

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

فرامرز مهرنژاد * PhD

گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

نادر چابارزاده PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

چکیده

اهداف: به دلیل ظهور مقاومت‌های دارویی در سلول‌های سرطانی علیه داروهای رایج، امروزه توجه زیادی به توسعه داروهای ضدسرطان با مکانیسم‌های عملکرد جدید معطوف شده است. پارداکسین یک پلی‌پپتید نوروتوکسیک با خاصیت دوگانه‌دوستی است. هدف تحقیق حاضر بررسی برهم‌کنش پپتید ضد میکروبی پارداکسین با غشای دولایه DPPC (متشکل از ۲-دی‌پالمیتوئیل-اس‌ان-گلیسرول-۳-فسفاکولین) مدل با استفاده از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه شبیه‌سازی حاضر شبیه‌سازی‌ها برای محیط‌های غشایی مختلف تحت شرایط pH خنثی طراحی شد. ابتدا سیستم عامل لینوکس برای نصب نرم‌افزار گرافیکی VMD 1.8.6 (دینامیک مولکولی ویژوال) به کار رفت. سپس نرم‌افزار گرومکس/۴/۵ برای انجام همه شبیه‌سازی‌ها استفاده شد. ساختار pdb پپتید مورد نظر (1XC0) از بانک اطلاعاتی پروتئین تهیه شد و در شبیه‌سازی پپتید-لیپید از دولایه لیپیدی DPPC استفاده شد.

یافته‌ها: در مدت ۵۰۰ نانوثانیه شبیه‌سازی، پپتید به داخل غشا نفوذ کرد. در سیستم DPPC تعداد پیوندهای هیدروژنی بین پپتید و دولایه لیپیدی ابتدا افزایش پیدا کرد و سپس تا پایان شبیه‌سازی تقریباً ثابت باقی ماند و متناسب با تعداد پیوندهای هیدروژنی بین پپتیدها و آب به مرور زمان کاهش پیدا کرد. پارداکسین با سطح غشا تماس و به غشا وارد شد. در حضور پپتید، ضخامت غشا و محدوده هر لیپید کاهش ولی ضریب نفوذ غشا افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: مکانیسم عمل پارداکسین به ساختار دولایه غشایی وابسته است، به طوری که پپتید پارداکسین با سطح غشای دولایه لیپیدی DPPC تماس و به آن وارد می‌شود.

کلیدواژه‌ها: پارداکسین، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، پپتید ضد میکروبی، غشا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۵

* نویسنده مسئول: mehrnejad@ut.ac.ir

مقدمه

بعد از کشف پنی‌سیلین در سال ۱۹۲۸ میلادی، آنتی‌بیوتیک‌ها نقش مهمی در زمینه مراقبت‌های بهداشتی و پزشکی دارند. به دنبال این کشف مواد بسیاری شناسایی شدند که با حمله به مسیرهای بیوسنتزی میکروبی مانع بیماری‌زایی آنها می‌شوند، ولی به دلیل جهش‌های فراوان در باکتری‌ها و معمولاً تجمع ژن‌های مقاوم به دارو درون پلاسمید باکتری‌ها، مقاومت چنددارویی در آنها ایجاد می‌شود. همچنین با استفاده بی‌رویه از مواد ضد میکروبی باکتری‌ها قادرند این ترکیبات را تغییر دهند که منجر به ظهور میکروب‌های مقاوم به چنددارویی می‌شود و این امر امروزه یک چالش جدید در درمان بیماری‌های واگیردار است [1-3]. بنابراین به

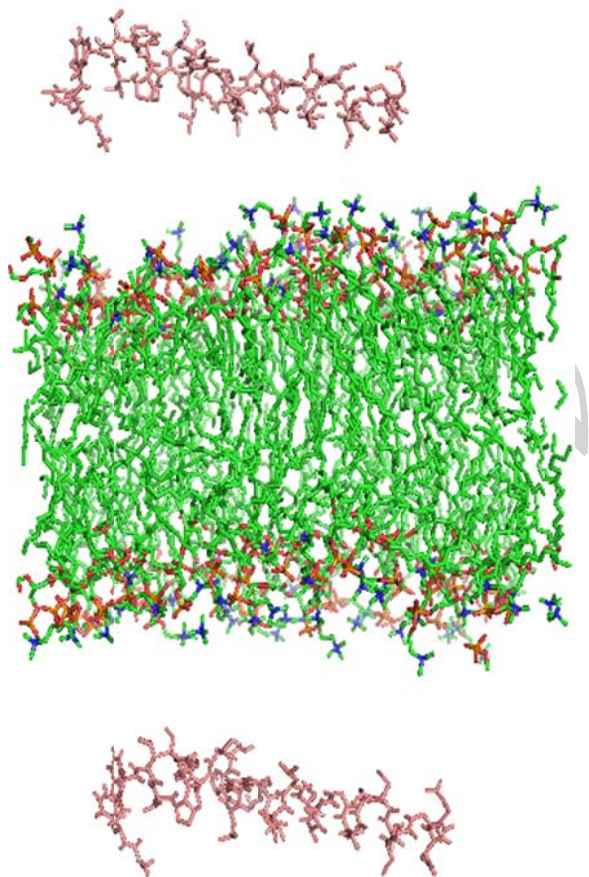
عوامل ضد میکروبی جدیدی نیاز است که به آسانی مقاومت علیه آنها ایجاد نشود. از آنجایی که هدف پپتیدهای ضد میکروبی به‌طور مستقیم غشاهای سلولی است، احتمال کمتری برای توسعه مقاومت‌های باکتریایی نسبت به آنها وجود دارد، به همین دلیل این پپتیدها به‌عنوان گزینه‌های مناسبی برای ایجاد داروهای ضدباکتریایی جدید مورد توجه هستند. برای طراحی این داروها لازم است که جزییات مولکولی موثر در عملکرد پپتیدهای ضد میکروبی طبیعی روشن شود [4]. بسیاری از موجودات زنده می‌توانند پپتیدهای کوچک، کاتیونی و دوگانه‌دوست تولید کنند که نقش‌های مهمی در مکانیسم دفاعی میزبان علیه باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی، قارچ‌ها، ویروس‌های پوشش‌دار و سلول‌های سرطانی ایفا می‌کنند. پپتیدهای ضد میکروبی در همه موجودات از مهره‌داران و گیاهان گرفته تا انسان یافت می‌شوند، از جمله این پپتیدها می‌توان به آلامتیسین، سکروپین، ماگابین، ملیتین، ماکولاتین، پروتگرین و درماسپتین-B اشاره کرد [5, 6]. هدف اصلی پپتیدهای ضد میکروبی غشاهای سلولی است، این پپتیدها یکپارچگی فیزیکی دولایه‌های لیپیدی را تخریب می‌کنند. پپتیدهای ضد میکروبی کوچک به سطح غشا متصل شده و زمانی که نسبت پپتید به لیپید از یک حد آستانه خاص بیشتر شود، بسیاری از پپتیدها منفذ تشکیل می‌دهند. منفذهای القاشده توسط این پپتیدها شبیه الکتروشیمیایی عرض غشا را تخریب و در نتیجه موجب اسمولیز، تورم و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند [7-9]. اگرچه داروهای شیمی‌درمانی نقش مهمی در درمان بسیاری از سرطان‌ها دارند ولی استفاده از آنها با عوارضی همراه است، زیرا عوامل شیمی‌درمانی هم سلول‌های سالم در حال تقسیم و هم سلول‌هایی با تقسیم غیرعادی را مورد هدف قرار می‌دهد. چند سال گذشته با توجه به پتانسیل درمانی پپتیدهای ضد میکروبی، مشخص شده که این پپتیدها می‌توانند به‌عنوان یک گروه جدید از عوامل شیمی‌درمانی برای مبارزه با تومورهای مقاوم به دارو، نقش امیدوارکننده‌ای را ایفا کنند [10, 11]. تفاوت‌های اساسی بین غشای سلول‌های سرطانی و سالم عاملی برای سمیت انتخابی پپتیدهای ضد میکروبی برای از بین بردن سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های سالم است. غشای پلاسمایی سلول‌های سرطانی از فسفاتیدیل‌سرین آنیونی و پروتئین‌های اکسیژن-گلیکوزیله‌شده تشکیل شده‌اند. اعتقاد بر این است که میان‌کنش‌های الکترواستاتیک بین پپتیدهای ضد میکروبی و غشاهای دارای بار منفی فاکتور مهمی در سمیت انتخابی این پپتیدها علیه سلول‌های سرطانی است. پپتیدهای ضد میکروبی که بر غشاهای سلولی عمل می‌کنند، به‌طور ترجیحی به غشای سلولی متصل شده و اکثراً با نیروی الکترواستاتیک در داخل غشای سلولی جای می‌گیرند و به‌سرعت موجب قطع غشا و نشت محتویات داخل سلول و مرگ آن می‌شوند [12, 13].

پارداکسین عضوی از خانواده پپتیدهای ضد میکروبی جدا شده از یک ماهی دریایی به نام *Marmoratus pardachirus* است. این پپتید به‌عنوان یک پلی‌پپتید نوروتوکسیک دوگانه‌دوست از ۳۳ آمینواسید تشکیل شده است. آزمایشات NMR (طیف‌سنجی رزونانس مغناطیس هسته‌ای) نشان می‌دهد که جهت‌گیری غشایی و میان‌کنش‌های این پپتید به ترکیب لیپیدی در غشاهای دولایه‌ای بستگی دارد. پارداکسین، منافذ پایدار در وزیکول‌های لیپیدی خنثی تشکیل می‌دهد که موجب آزاد شدن محتویات وزیکولی بدون از دست‌دادن یکپارچگی آنها می‌شود، این پپتید وزیکول‌ها را به‌طور موثری با

در ابتدا سیستم عامل لینوکس به منظور نصب نرم‌افزار دینامیک مولکولی استفاده و نرم‌افزار گرومکس ۴/۵/۵ با میدان نیرو گروموس ۵۳۸۶ برای انجام همه شبیه‌سازی‌ها به کار برده شد [23]. ساختار پپتید مورد نظر [1XC0] از بانک اطلاعاتی پروتئین (PDB) تهیه شد (شکل ۱).

دولایه لیپیدی DPPC (متشکل از ۱ و ۲-دی‌پالمیتوئیل-اس‌ان-گلیسرول-۳-فسفاکولین) در شبیه‌سازی پپتید-لیپید مورد استفاده قرار گرفت. ساختار pdb لیپیدهای مورد نظر از سایت www.moose.bio.ucalgray.ca به دست آمد.

برای آماده‌سازی سیستم‌های شبیه‌سازی ترکیبی پپتید-لیپید، فایل pdb آماده‌شده پپتید و غشا توسط نرم‌افزار گرافیکی VMD 1.8.6 (دینامیک مولکولی و ویژوال) به صورت همزمان مشاهده شد. از آنجایی که پپتید در موقعیت مناسبی نسبت به غشا قرار نداشت، در شبیه‌سازی‌ها پپتید به صورت دستی و با کمک برنامه VMD در مکان مناسب و به صورت موازی با سطح غشا قرار داده شد. با توجه به مقدار بار پپتیدها و غشا تعداد مناسبی از یون‌های سدیم و کلر، برای خنثی‌سازی به هر یک از سیستم‌های تحت شبیه‌سازی افزوده شد (شکل ۲).



شکل ۱) تصویر جانبی از سیستم ترکیبی پپتید با حذف مولکول‌های آب پس از مرحله آماده‌سازی

انجام شبیه‌سازی در غیاب مرحله کمینه‌سازی منجر به ایجاد انرژی بالا و به هم ریختن ساختار می‌شود که علت آن اضافه شدن هیدروژن‌ها و شکسته شدن شبکه پیوند هیدروژنی در آب است. برای حذف این نیروها یک مرحله کمینه‌سازی انرژی کوتاه قبل از شبیه‌سازی صورت پذیرفت.

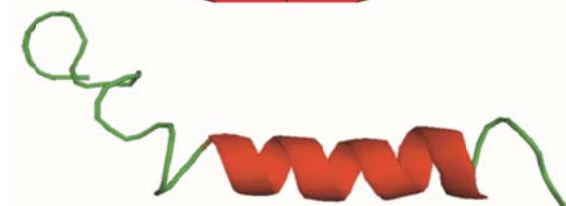
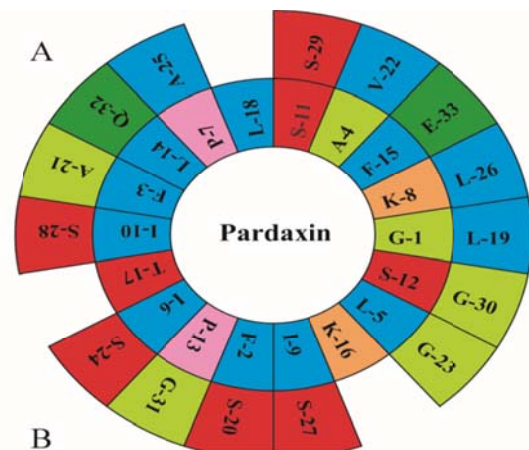
هنگرد هم‌دما- هم‌حجم یا استاندارد، مجموعه‌ای از تمام سیستم‌هایی است که حالت ترمودینامیک آنها به وسیله تعداد

تشکیل منفذ، نفوذپذیر کرده تا اینکه وزیکول را تخریب کند [14-16]. فیزیولوژی و فارماکولوژی پارداکسین نسبتاً پیچیده است. نحوه اثر این پپتید ضد میکروبی شامل تداخل با حمل و نقل یونی در سلول‌های اپی‌تلیوم و سلول‌های عصبی و تغییرات مورفولوژیک در وزیکول‌های غشاهای لیپیدی است [17, 18]. پارداکسین علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعالیت ضد میکروبی دارد و با افزایش نفوذپذیری غشا نسبت به یون‌ها یا مولکول‌های بزرگتر موجب کشتن باکتری‌ها می‌شود. اثر لیزکنندگی این پپتید ناشی از توانایی آن برای القای تغییرات ساختاری در غشا و تشکیل منفذ است. ساختار منفذ حاصل می‌تواند بارل-استیو (barrel-stave) یا توروئیدال (toroidal) باشد [18, 19]. از آنجایی که بسیاری از پپتیدهای موثر بر غشا بار مثبت دارند درک و شناخت نحوه میان‌کنش پپتیدهای باردار با غشاهای زیستی در سطح مولکولی و اتمی یک نیاز ضروری است [20]. به این منظور پپتیدهای مدل می‌توانند به عنوان گزینه مناسبی در برقراری ارتباط بین شبیه‌سازی‌های انجام شده و نحوه تاخوردگی و رفتار پروتئین‌های غشایی بزرگ عمل کنند [21, 22]. در سال‌های اخیر افزایش تعداد مطالعات شبیه‌سازی و افزایش پروتئین‌هایی که تحت شبیه‌سازی قرار گرفته‌اند، موجب ایجاد ارتباط قوی‌تری بین مطالعات شبیه‌سازی و مطالعات تجربی در محدوده پروتئین‌های غشایی شده است. احتمالاً با افزایش قدرت کامپیوتری و توسعه الگوریتم‌ها درک کامل‌تری از تاخوردگی پروتئین‌های غشایی امکان‌پذیر خواهد شد [22].

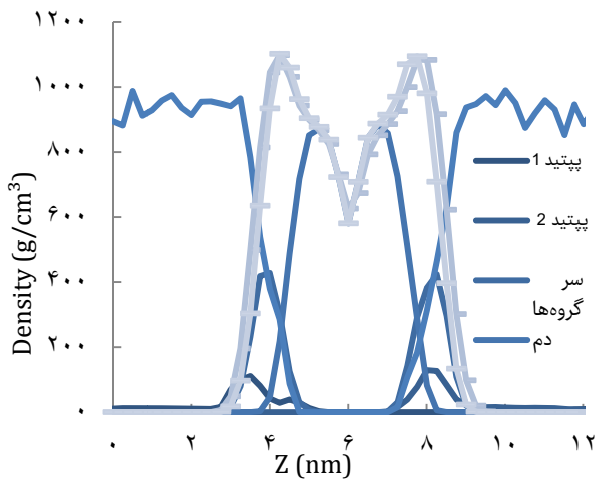
هدف مطالعه حاضر بررسی برهم‌کنش پپتید ضد میکروبی پارداکسین با غشای مدل با استفاده از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی بود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه شبیه‌سازی حاضر، شبیه‌سازی‌ها برای محیط‌های غشایی مختلف (غشای خنثی) تحت شرایط pH خنثی طراحی شد.



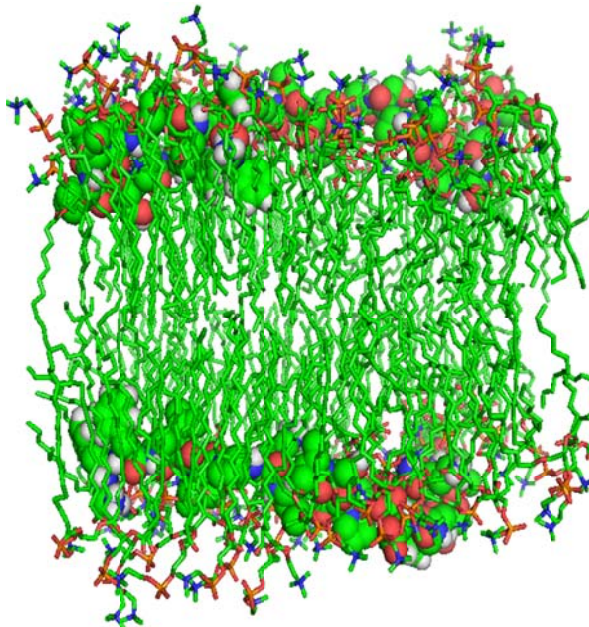
شکل ۲) توزیع باقی‌مانده‌های پپتید پارداکسین به وسیله چرخ ماریج و ساختار پپتید پارداکسین



نمودار ۲) دانسیته اجزای مختلف درون جعبه شبیه‌سازی

پپتیدهای پارداکسین بین زنجیره‌های هیدروکربنی فسفولیپید DPPC چگالی بالا داشتند (نمودار ۲).

در نهایت پپتید به‌طور عمیق‌تری به درون دولایه لیپیدی DPPC نفوذ کرد (شکل ۳).

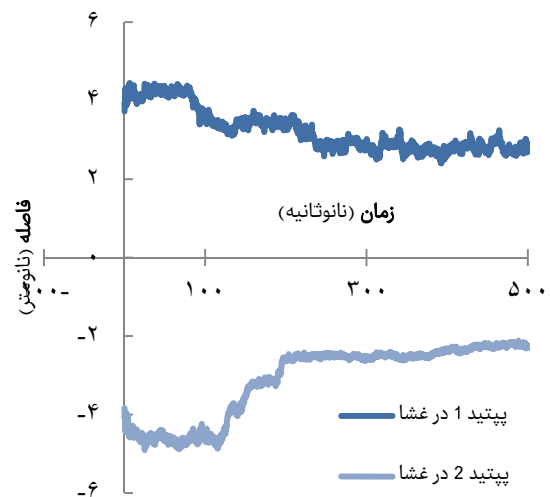


شکل ۳) شکلی نهایی میان‌کنش پپتید با غشا بعد از ۵۰۰ نانوثانیه

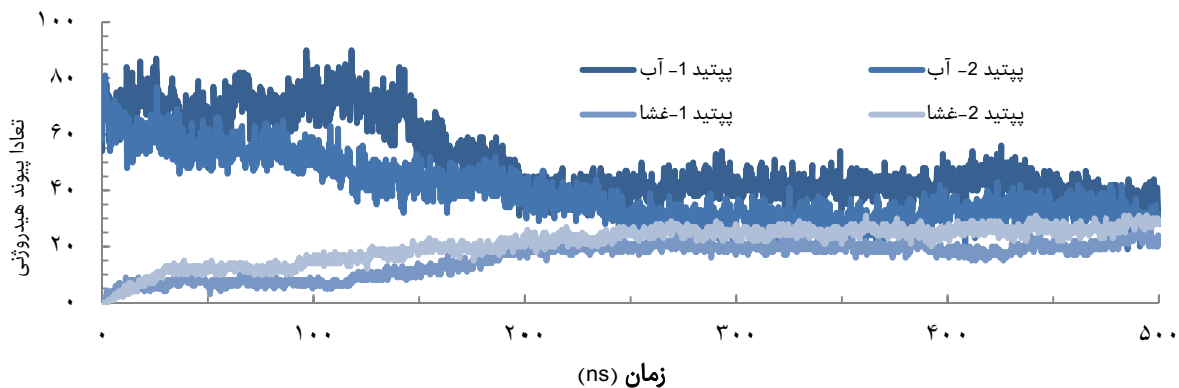
اتمی ثابت (N)، حجم ثابت (V) و دمای ثابت (T) مشخص می‌شود. دمای شبیه‌سازی در دمای 310°K تنظیم شد. این فاز از مرحله محدودیت مکانی، اغلب برای کنترل حجم و دما با استفاده از الگوریتم جفت‌شدگی ضعیف برندنس برای دینامیک مولکولی به کار گرفته می‌شود [24]. این فاز در یک بازه زمانی ۱۰۰ پیکوثانیه‌ای انجام شد. این هنگرد مجموعه‌ای از تمام سیستم‌هایی است که حالت ترمودینامیک آنها با تعداد اتمی ثابت (N)، فشار ثابت (P) و دمای ثابت (T) مشخص شده و هنگرد هم‌دما-هم‌فشار (Isothermal-Isobaric) نیز نامیده می‌شود. این فاز از مرحله محدودیت مکانی اغلب کنترل فشار و دما را با استفاده از الگوریتم جفت‌شدگی ضعیف برندنس برای دینامیک مولکولی بر عهده دارد [24]. فاز NPT در یک بازه زمانی ۵۰۰ پیکوثانیه‌ای انجام شد. در این روش نوسانات پیوندی در مراحل ۲ فمتوثانیه‌ای محدود می‌شود. بری آنالیز بیشتر داده‌ها از نرم‌افزار GROMACS و برای رسم و مقایسه مدل‌ها از Pymol 1.7 و VMD 1.8.6 استفاده شد.

یافته‌ها

در مدت ۵۰۰ نانوثانیه شبیه‌سازی، پپتید به داخل غشا نفوذ کرد (نمودار ۱).



نمودار ۱) ۱۹ فاصله بین مرکز جرم چارچوب پپتید پارداکسین با مرکز جرم اتم‌های فسفر گروه‌های سر فسفولیپیدی در طول زمان شبیه‌سازی



نمودار ۳) تعداد پیوندهای هیدروژنی بین پپتید-آب و پپتید-لیپید در طول زمان شبیه‌سازی برای سیستم DPPC

طی سال‌های اخیر پپتیدهای ضد میکروبی نه تنها برای ایفای نقش آنتی‌بیوتیکی بلکه به‌عنوان داروهای ضدسرطانی مورد توجه بسیاری قرار گرفته‌اند [2, 9, 25, 26]. بنابراین بررسی برهم‌کنش پپتیدهای مدل، مانند پارداکسین و دولایه‌های لیپیدی می‌تواند پایه و اساس راهکارهای درمانی و طراحی گروه جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضدسرطانی را فراهم کند. از این رو شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی می‌توانند ابزار مناسبی برای مطالعه مکانیزم عمل پپتیدهای ضد میکروبی در سطح اتمی و مولکولی باشند. بنابراین تجزیه و تحلیل شبیه‌سازی‌های انجام شده در این مطالعه در راستای بررسی تاثیر اجزای لیپیدی غشایی بر قدرت برهم‌کنش و تمایل پپتید پارداکسین نسبت به سلول‌های دارای غشاهای خنثی بود. محاسبه فاصله بین مرکز جرم چارچوب پپتیدهای پارداکسین و مرکز جرم اتم‌های فسفر گروه‌های سر فسفولیپیدی در طول زمان شبیه‌سازی، با دقت بیشتری ورود پپتید به درون دولایه لیپیدی را نشان داد. نتایج به دست آمده از شبیه‌سازی‌های انجام شده در این مطالعه نشان می‌دهد که میان‌کنش پپتید پارداکسین با غشای لیپیدی به زنجیره آسیلی لیپیدی بستگی دارد که این نتیجه با نتایج مطالعات تجربی [17] همخوانی دارد. همچنین نتایج نشان داد که پپتید پارداکسین قدرت نفوذ بیشتری به داخل دولایه ی لیپیدی DPPC دارد.

در مجموع می‌توان گفت که به دلیل داشتن فعالیت ضد میکروبی بدون وارد شدن به سلول، تخریب و ناپایداری دولایه‌های لیپیدی حاوی زنجیره‌های پالمیتوئیل و داشتن سمیت انتخابی برای غشای سلول‌های میکروبی و سرطانی، پارداکسین به‌عنوان یک عامل ضدسرطانی مطرح است. همچنین به علت عدم نیاز به ورود به داخل سلول برای ایفای نقش خود و خاصیت برهم‌کنش ترجیحی با غشاهای دارای زنجیره آسیلی دی‌پالمیتوئیل، احتمالاً این پپتید حالت مقاومت چندارویی ناشی از عوامل شیمی‌درمانی رایج در درمان سرطان را در سلول‌های سرطانی ایجاد نمی‌کند و در نهایت اثرات جانبی کمتری دارد.

از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به طول کم شبیه‌سازی اشاره کرد که می‌تواند با افزایش سرعت کامپیوترها تا چند میکروثانیه هم افزایش یابد. همچنین از جمله پیشنهادات این تحقیق، انجام شبیه‌سازی‌ها با تعداد پپتید بیشتری است.

نتیجه‌گیری

مکانیزم عمل پارداکسین به ساختار دو لایه غشایی وابسته است، به طوری که پپتید پارداکسین با سطح غشای دولایه لیپیدی DPPC تماس پیدا کرده و به آن وارد می‌شود. در حضور پپتید ضخامت غشا و محدوده هر لیپید کاهش، ضریب نفوذ غشا و نظم زنجیره‌های هیدروکربنی مربوط به دولایه‌های فسفولیپیدی DPPC در حضور پپتید در مقایسه با سیستم دولایه لیپیدی افزایش پیدا می‌کند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان این مقاله از آقای دکتر محمود خادم معارف به منظور کمک‌های بی‌دریغشان قدردانی می‌نمایند.

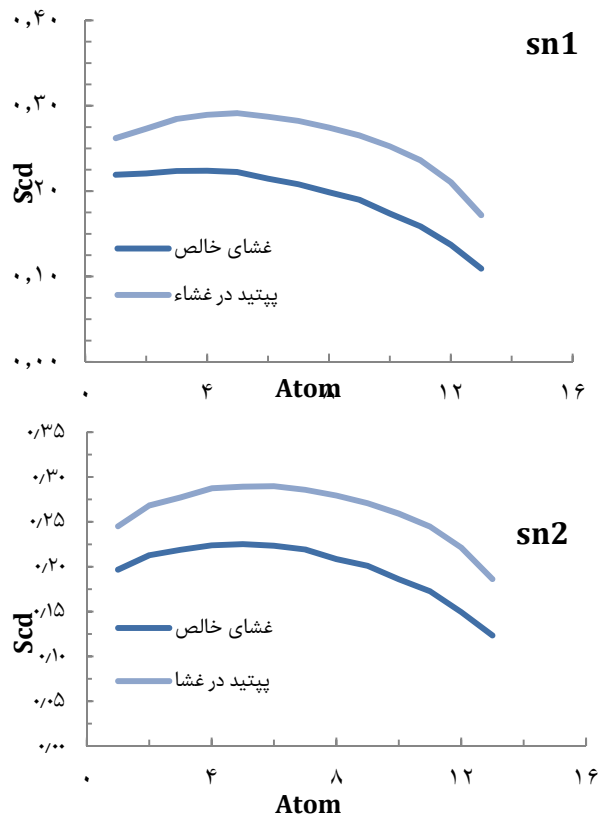
تاییدیه اخلاقی: تاییدیه اخلاقی گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

سهم نویسندگان: فرح‌نوش دوستدار (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/اروش‌شناس/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۴۰٪)؛ راحله اقدمی (نویسنده دوم)، پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۲۰٪)؛

در سیستم DPPC تعداد پیوندهای هیدروژنی بین پپتید و دولایه لیپیدی ابتدا افزایش پیدا کرد و پس از آن تا پایان شبیه‌سازی تقریباً ثابت ماند و متناسب با تعداد پیوندهای هیدروژنی بین پپتیدها و آب به مرور زمان کاهش یافت (نمودار ۳). در نهایت می‌توان گفت پارداکسین با سطح غشا تماس و به آن وارد شد.

نظم زنجیره‌های هیدروکربنی مربوط به دولایه فسفولیپیدی DPPC در حضور پپتید در مقایسه با سیستم دولایه لیپیدی خالص افزایش یافت، بنابراین منظم شدن زنجیره‌های آسیلی لیپیدی به وسیله پپتیدهای عرض غشایی، مطابق با تشکیل منفذ از طریق مکانیزم barrel-stave در غشاهای دارای زنجیره آسیلی دی‌پالمیتوئیل بود (نمودار ۴).



نمودار ۴) پارامتر نظم زنجیره‌های هیدروکربنی دولایه لیپیدی در سیستم دولایه‌های لیپیدی خالص DPPC و همچنین دولایه لیپیدی DPPC در حضور پپتید

در حضور پپتید ضخامت غشا محدوده هر لیپید کاهش و ضریب نفوذ غشا افزایش یافت (جدول ۱).

جدول ۱) ضخامت غشا، محدوده هر لیپید و ضریب نفوذ غشا در حضور یا عدم حضور پارداکسین

پارامترها	غشا خالص	غشا پپتید
ضخامت غشا (nm)	۳/۵	۳/۷۵
محدوده هر لیپید (nm ²)	۰/۶۵±۰/۰۱	۰/۶۲±۰/۰۱
ضریب نفوذ لیپید (10 ⁻⁸ cm ² /s)	۳/۸±۰/۰۱	۳/۸±۰/۰۱

بحث

هدف تحقیق حاضر بررسی برهم‌کنش پپتید ضد میکروبی پارداکسین با غشای مدل با استفاده از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی بود.

antimicrobial peptides in peptide-membrane interactions. *J Biol Chem.* 2012;287(10):7738-45.

13- Cox E, Michalak A, Pagentine S, Seaton P, Pokorny A. Lysylated phospholipids stabilize models of bacterial lipid bilayers and protect against antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1838(9):2198-204.

14- Porcelli F, Buck B, Lee DK, Hallock KJ, Ramamoorthy A, Veglia G. Structure and orientation of pardaxin determined by NMR experiments in model membranes. *J Biol Chem.* 2004;279(44):45815-23.

15- Oren Z, Shai Y. A class of highly potent antibacterial peptides derived from pardaxin, a pore-forming peptide isolated from Moses sole fish *Pardachirus marmoratus*. *Eur J Biochem.* 1996;237(1):303-10.

16- Epand RF, Ramamoorthy A, Epand RM. Membrane lipid composition and the interaction of pardaxin: The role of cholesterol. *Protein Pept Lett.* 2006;13(1):1-5.

17- Bhunia A, Domadia PN, Torres J, Hallock KJ, Ramamoorthy A, Bhattacharjya S. NMR structure of pardaxin, a pore-forming antimicrobial peptide, in lipopolysaccharide micelles mechanism of outer membrane permeabilization. *J Biol Chem.* 2010;285(6):3883-95.

18- Vad BS, Bertelsen K, Johansen CH, Pedersen JM, Skrydstrup T, Nielsen NC, et al. Pardaxin permeabilizes vesicles more efficiently by pore formation than by disruption. *Biophys J.* 2010;98(4):576-85.

19- Wu SP, Huang TC, Lin CC, Hui CF, Lin CH, Chen JY. Pardaxin, a fish antimicrobial peptide, exhibits antitumor activity toward murine fibrosarcoma in vitro and in vivo. *Mar Drugs.* 2012;10(8):1852-72.

20- Li LB, Vorobyov I, Allen TW. The role of membrane thickness in charged protein-lipid interactions. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1818(2):135-45.

21- Scheraga HA, Khalili K, Liwo A. Protein-folding dynamics: Overview of molecular simulation techniques. *Annu Rev Phys Chem.* 2007;58:57-83.

22- Islami M, Mehrnejad F, Doustdar F, Alimohammadi M, Khadem-Maaref M, Mir-Derikvand M, et al. Study of orientation and penetration of LAH4 into lipid bilayer membranes: pH and composition dependence. *Chem Biol Drug Des.* 2014;84(2):242-52.

23- Berendsen HJC, van der Spoel D, van Drunen R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Comput Phys Commun.* 1995;91(1-3):43-56.

24- Berendsen HJC, Postma JPM, van Gunsteren WF, DiNola A, Haak JR. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J Chem Phys.* 1984;81(8):3684-90.

25- Hoskin DW, Ramamoorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1778(2):357-75.

26- Liu X, Li Y, Li Zh, Lan X, Leung HM, Li J, et al. Mechanism of anticancer effects of antimicrobial peptides. *J Fiber Bioeng Inform.* 2015;8(1):25-36.

فرامرزی مهرنژاد (نویسنده سوم)، روش شناسی/پژوهشگر اصلی/تحلیلیگر آماری/نگارنده بحث (۳۰٪)؛ نادر چاپارزاده (نویسنده چهارم)، روش شناسی/پژوهشگر کمکی (۱۰٪).

منابع مالی: تمام منابع مالی این پژوهش به وسیله گزنت دانشگاهی نویسنده مسئول تامین شده است.

منابع

1- Sorensen OE. Antimicrobial peptides in cutaneous wound healing. In: *Antimicrobial peptides: Role in human health and disease.* Harder J, Schröder JM. Berlin: Springer International Publishing; 2016. pp. 1-15.

2- Gaspar D, Veiga AS, Castanho MA. From antimicrobial to anticancer peptides. A review. *Front Microbiol.* 2013;4:294.

3- O'Connor S, Szwejk E, Nikodinovic-Runic J, O'Connor A, Byrne AT, Devocelle M, et al. The anti-cancer activity of a cationic anti-microbial peptide derived from monomers of polyhydroxyalkanoate. *Biomaterials.* 2013;34(11):2710-8.

4- Von Deuster CI, Knecht V. Antimicrobial selectivity based on zwitterionic lipids and underlying balance of interaction. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1818(9):2192-201.

5- Li Y, Xiang Q, Zhang Q, Huang Y, Su Z. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. *Peptides.* 2012;37(2):207-15.

6- Chen C, Hu J, Zeng P, Pan F, Yaseen M, Xu H, et al. Molecular mechanisms of anticancer action and cell selectivity of short α -helical peptides. *Biomaterials.* 2014;35(5):1552-61.

7- Mihajlovic M, Lazaridis T. Charge distribution and imperfect amphipathicity affect pore formation by antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1818(5):1274-83.

8- Rahmanpour A, Ghahremanpour MM, Mehrnejad F, Moghaddam ME. Interaction of Piscidin-1 with zwitterionic versus anionic membranes: A comparative molecular dynamics study. *J Biomol Struct Dyn.* 2013;31(12):1393-403.

9- Fjell CD, Hiss JA, Hancock RE, Schneider G. Designing antimicrobial peptides: Form follows function. *Nat Rev Drug Discov.* 2011;11(1):37-51.

10- Hilchie AL, Wuerth K, Hancock RE. Immune modulation by multifaceted cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Nat Chem Biol.* 2013;9(12):761-8.

11- Yedery RD, Jerse AE. Augmentation of cationic antimicrobial peptide production with histone deacetylase inhibitors as a novel epigenetic therapy for bacterial infections. *Antibiotics (Basel).* 2015;4(1):44-61.

12- Yin LM, Edwards MA, Li J, Yip CM, Deber CM. Roles of hydrophobicity and charge distribution of cationic