Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):17-22

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
[1]Microbiology Department, Medicine Faculty, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2]Biology 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 ...

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

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

فرحنوش دوستدار PhD
گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
راحله اقدمی MSc
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 چاپارزاده PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

چکیده
اهداف: به‌دلیل ظهور مقاومت‌های دارویی در سلول‌های سرطانی علیه داروهای رایج، امروزه توجه زیادی به توسعه داروهای ضدسرطان با مکانیزم‌های عملکرد جدید معطوف شده است. پارداکسین یک پلی‌پپتید نوروتوکسیک با خاصیت دوگانه‌دوستی است. هدف تحقیق حاضر بررسی برهمکنش پپتید ضدمیکروبی پارداکسین با غشای دولایه DPPC (متشکل از ۱و۲- دی‌پالمیتوئیل-اس‌ان-گلیسرو-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 ۴/۵/۵ 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 ۵۰۰نانوثانیه 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 هیدرژنی بین پپتیدها و آب به‌مرور 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: مکانیزم عمل پارداکسین به ساختار دولایه غشایی وابسته است، به‌طوری که پپتید پارداکسین با سطح غشای دولایه لیپیدی DPPC تماس و به آن وارد می‌شود.
کلیدواژه‌ها: پارداکسین، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، پپتید ضدمیکروبی، 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 به‌دلیل جهش‌های فراوان در باکتری‌ها و معمولاً تجمع ژن‌های مقاوم به دارو درون پلاسمید باکتری‌ها، مقاومت چندداروییی در آنها ایجاد می‌شود. همچنین با استفاده بی‌رویه از مواد ضدمیکروبی باکتری‌ها قادرند این ترکیبات را تغییر دهند که منجر به ظهور میکروب‌های مقاوم به چندداروییی می‌شود و این امر امروزه یک چالش جدید در درمان بیماری‌های واگیردار است[1-3]. بنابراین به عوامل ضدمیکروبی جدیدی نیاز است که به‌آسانی مقاومت علیه آنها ایجاد نشود. از آنجایی که هدف پپتیدهای ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی طبیعی روشن شود[4]. بسیاری از موجودات زنده می‌توانند پپتیدهای کوچک، کاتیونی و دوگانه‌دوست تولید کنند که نقش‌های مهمی در مکانیزم دفاعی میزبان علیه باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی، قارچ‌ها، ویروس‌های پوشش‌دار و سلول‌های سرطانی ایفا می‌کنند. پپتیدهای ضدمیکروبی در همه موجودات از مهره‌داران و گیاهان گرفته تا انسان یافت می‌شوند، از جمله این پپتیدها می‌توان به آلامتیسین، سکروپین، ماگاینین، ملیتین، ماکولاتین، پروتگرین و درماسپتین-B اشاره کرد[2, 5, 6]. هدف اصلی پپتیدهای ضدمیکروبی غشاهای سلولی است، این پپتیدها یکپارچگی فیزیکی دولایه‌های لیپیدی را تخریب می‌کنند. پپتیدهای ضدمیکروبی 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 شیب 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 ضدمیکروبی، 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 ضدمیکروبی برای از بین‌بردن 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 ضدمیکروبی و غشاهای دارای بار منفی فاکتور مهمی در سمیت انتخابی این پپتیدها علیه سلول‌های سرطانی است. پپتیدهای ضدمیکروبی 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].

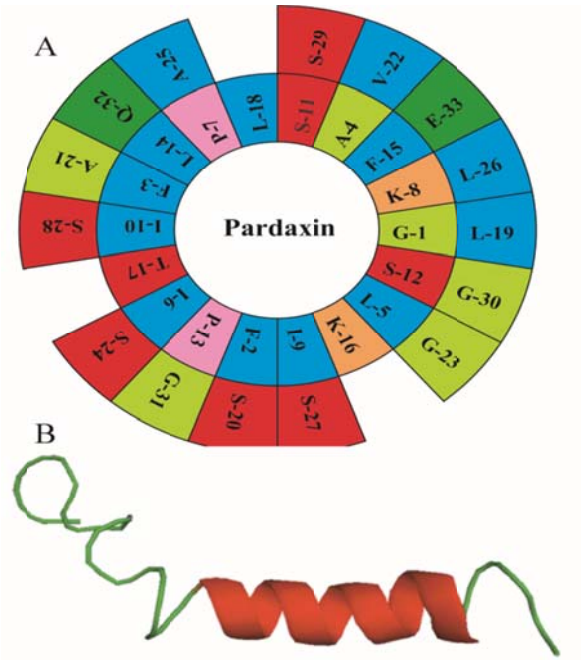
پارداکسین عضوی از خانواده پپتیدهای ضدمیکروبی جداشده از یک ماهی دریایی به نام *مارموراتوس پاردا‌چیروس* (*Marmoratus pardachirus*) است. این پپتید به‌عنوان یک پلی‌پپتید نوروتوکسین دوگانه‌دوست از ۳۳ آمینواسید تشکیل شده است. آزمایشات NMR (طیف‌سنجی رزونانس مغناطیس هسته‌ای) نشان می‌دهد که جهت‌گیری غشایی و میان‌کنش‌های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

تشکیل منفذ، نفوذپذیر کرده تا اینکه وزیکول را تخریب کند[14-16]. فیزیولوژی و فارماکولوژی پارداکسین نسبتاً پیچیده است. نحوه اثر این پپتید ضدمیکروبی شامل تداخل با حمل‌ونقل یونی در سلول‌های اپی‌تلیوم و سلول‌های عصبی و تغییرات مورفولوژیک در وزیکول‌های غشاهای لیپیدی است[17, 18]. پارداکسین علیه باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت فعالیت ضدمیکروبی 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 وشناخت نحوه میان‌کنش پپتیدهای باردار با غشاهای زیستی در سطح مولکولی و اتمی یک نیاز ضروری است[20]. به این منظور پپتیدهای مدل می‌توانند به‌عنوان گزینه مناسبی در برقراری ارتباط بین شبیه‌سازی‌های انجام‌شده 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 ضدمیکروبی 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.

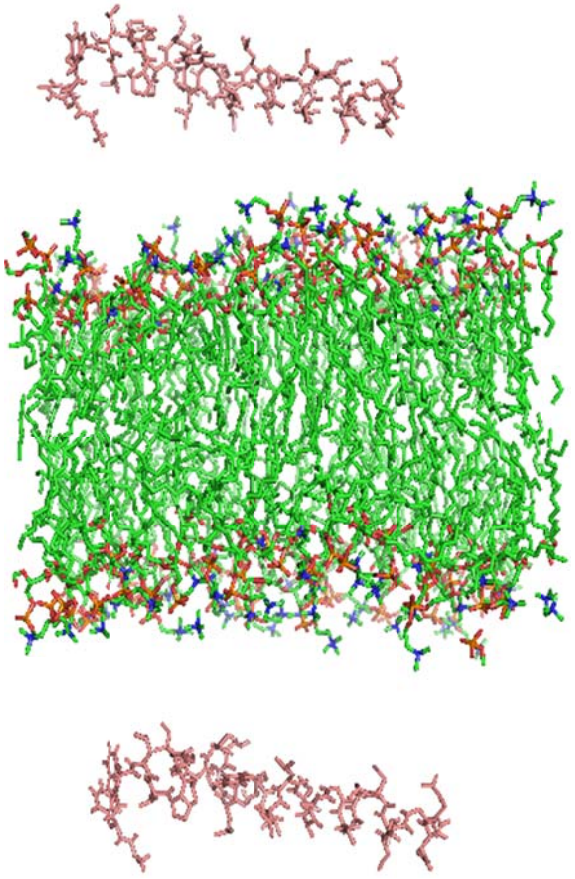


شکل ۱) توزیع باقی‌مانده‌های پپتید پارداکسین به‌وسیله چرخ مارپیچ و ساختار پپتید پارداکسین

در ابتدا سیستم عامل لینوکس به‌منظور نصب نرم‌افزار دینامیک مولکولی استفاده و نرم‌افزار گرومکس ۴/۵/۵ با میدان نیرو گروموس ۵۳a۶ 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-گلیسرو-۳-فسفاکولین) در شبیه‌سازی پپتید- لیپید مورد استفاده قرار گرفت. ساختار pdb لیپیدهای مورد نظر از سایت www.http://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 ویژوال) به‌صورت همزمان مشاهده شد. از آنجایی که پپتید در موقعیت مناسبی نسبت به غشا قرار نداشت، در شبیه‌سازی‌ها پپتید به‌صورت دستی و با کمک برنامه VMD در مکان مناسب و به‌صورت 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 ۲) تصویر جانبی از سیستم ترکیبی پپتید لیپید با حذف مولکول‌های آب پس از مرحله آماده‌سازی

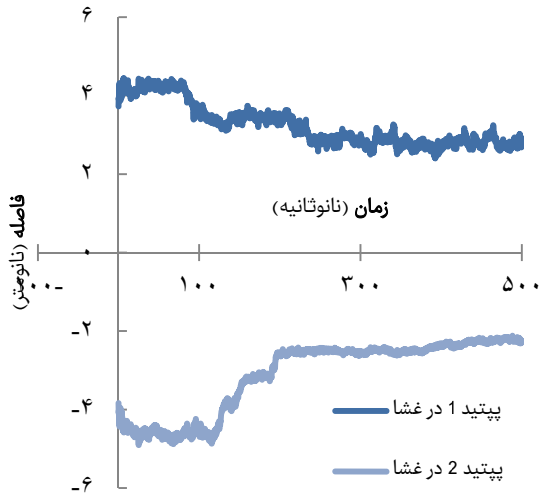
انجام شبیه‌سازی در غیاب مرحله کمینه‌سازی منجر به ایجاد انرژی بالا و به‌هم‌ریختن ساختار می‌شود که علت آن اضافه‌شدن هیدروژن‌ها و شکسته‌شدن شبکه پیوند هیدروژنی در آب است. برای حذف این نیروها یک مرحله کمینه‌سازی انرژی کوتاه قبل از شبیه‌سازی صورت پذیرفت.

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

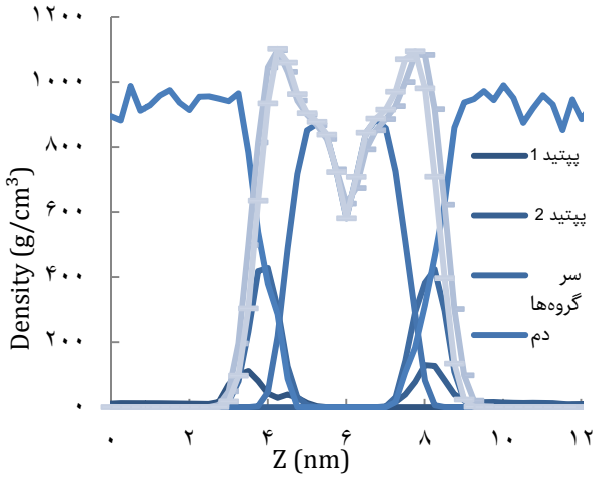
اتمی ثابت (N)، حجم ثابت (V) و دمای ثابت (T) مشخص می‌شود. دمای شبیه‌سازی در دمای $310^{\circ}k$ تنظیم شد. این فاز از مرحله محدودیت مکانی، اغلب برای کنترل حجم و دما با استفاده از الگوریتم جفت‌شدگی ضعیف برندسن برای دینامیک مولکولی به کار گرفته می‌شود[24]. این فاز در یک بازه زمانی ۱۰۰پیکوثانیه‌ای انجام شد. 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 برندسن برای دینامیک مولکولی بر عهده دارد[24]. فاز NPT در یک بازه زمانی ۵۰۰پیکوثانیه‌ای انجام شد. در این روش نوسانات پیوندی در مراحل ۲فمتوثانیه‌ای 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 ۵۰۰نانوثانیه شبیه‌سازی، پپتید به داخل غشا نفوذ کرد (نمودار ۱).



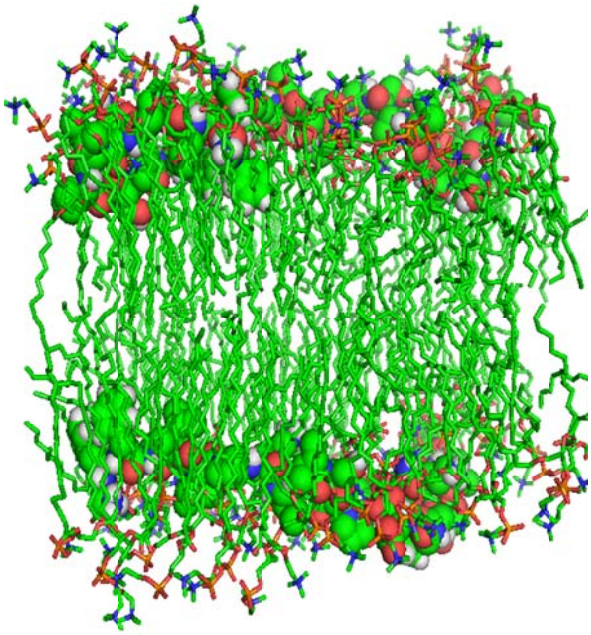
نمودار ۱) ۱۹ فاصله بین مرکز جرم چارچوب پپتید پارداکسین با مرکز جرم اتم‌های فسفر گروه‌های سر فسفولیپیدی در طول زمان شبیه‌سازی



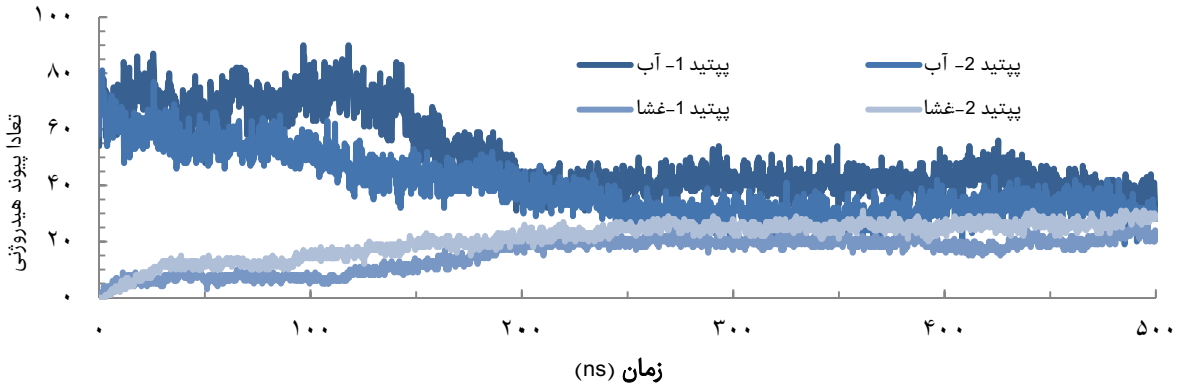
نمودار ۲) دانسیته اجزای مختلف درون جعبه شبیه‌سازی

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).



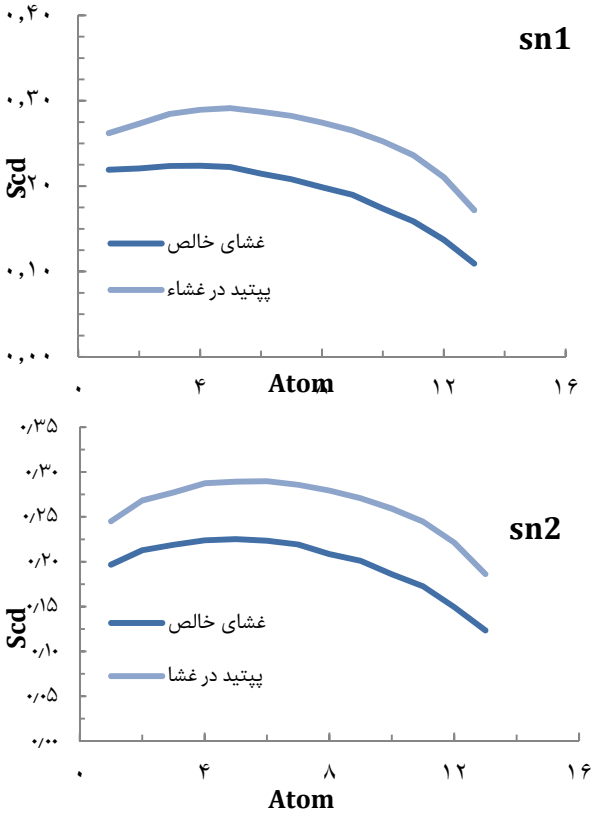
شکل ۳) شکل نهایی میان‌کنش پپتید با غشا بعد از ۵۰۰نانوثانیه



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

در سیستم DPPC تعداد پیوندهای هیدروژنی بین پپتید و دولایه لیپیدی ابتدا افزایش پیدا کرد و پس از آن تا پایان شبیه‌سازی تقریباً ثابت باقی ماند و متناسب با تعداد پیوندهای هیدرژنی بین پپتیدها و آب به‌مرور 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 منظم‌شدن زنجیره‌های آسیلی لیپیدی به‌وسیله 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 ($10^{-8}cm^2/s$)	۳/۸۰±۰/۰۱	۳/۸۰±۰/۰۱

بحث

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

طی سال‌های اخیر پپتیدهای ضدمیکروبی نه‌تنها 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 ضدمیکروبی در سطح اتمی و مولکولی باشند. بنابراین تجزیه‌وتحلیل شبیه‌سازی‌های انجام‌شده 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 به‌دست‌آمده از شبیه‌سازی‌های انجام‌شده 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 به‌دلیل داشتن فعالیت ضدمیکروبی بدون واردشدن به سلول، تخریب و ناپایدارسازی دولایه‌های لیپیدی حاوی زنجیره‌های پالمیتوئیل و داشتن سمیت انتخابی برای غشای سلول‌های میکروبی و سرطانی، پارداکسین به‌عنوان یک عامل ضدسرطانی مطرح است. همچنین به‌علت 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 چندداروییِ 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 چندمیکروثانیه 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، به‌طوری 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* به‌منظور کمک های بی‌دریغشان قدردانی می‌نمایند.

تاییدیه‌اخلاقی: تاییدیه اخلاقی گزارش نشده است.

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

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

فرامرز مهرنژاد (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰%)؛ نادر چاپارزاده (نویسنده چهارم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۰%).

منابع مالی: تمام منابع مالی این پژوهش به‌وسیله گرنت 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, Szwej 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. Biochimi 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 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.