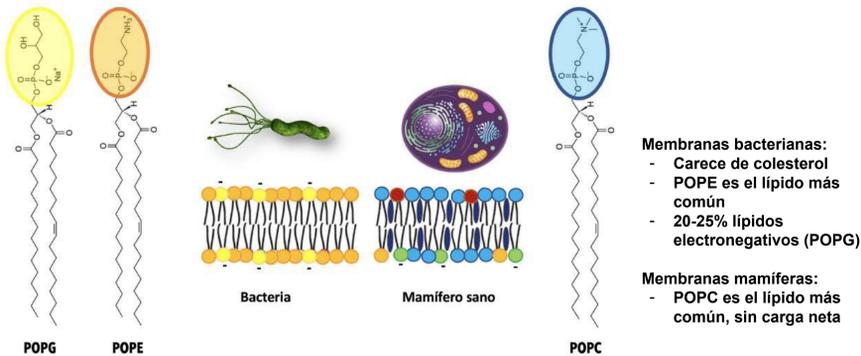


SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DE LA INTERACCIÓN DE LA MAGAININA CON MODELOS SIMPLIFICADOS DE MEMBRANAS BACTERIANAS Y DE MAMÍFEROS SANOS

Álvaro Francos, Mikel Escobar, Unai Peral

Membrana como diana terapéutica

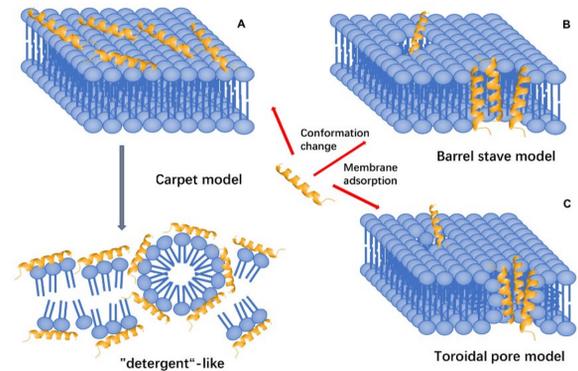
Diferencias entre membranas mamíferas y bacterianas en su composición lipídica



AMPs y mecanismo de actuación

Los péptidos antimicrobianos son moléculas que suelen estar cargadas positivamente y anfipáticas, encontradas en diferentes organismos actuando como agentes esenciales efectores del sistema inmune en contra de infecciones bacterianas, víricas o micóticas (producidas por hongos).

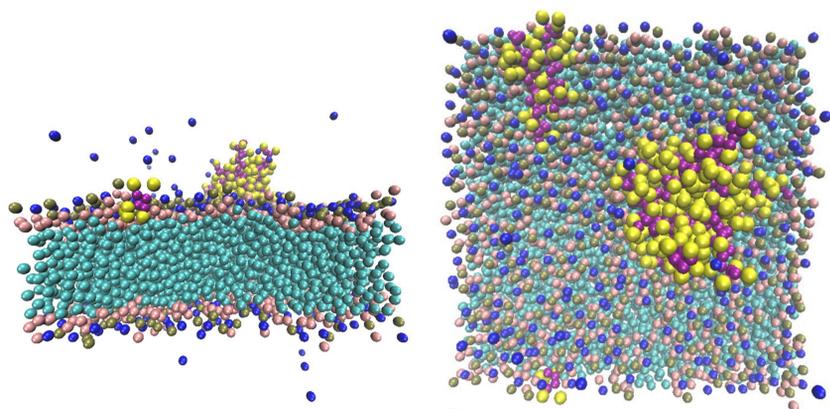
Aunque no siempre el mecanismo de actuación de los AMPs se centra en la membrana del patógeno (algunos tienen como objetivo proteínas, el DNA, RNA etc.) una gran mayoría tiene como diana la bicapa lipídica de las células patógenas.



Representación esquemática de los diferentes tipos de mecanismos a través de los cuales pueden actuar los AMPs interaccionando con las membranas.

Objetivo

El objetivo central de este proyecto es aplicar simulaciones de dinámica molecular para estudiar la interacción de múltiples unidades del péptido antimicrobiano magainina (secuencia de 23 aminoácidos con carga neta positiva) con membranas plasmáticas modelo de bacterias y de mamíferos, empleando POPE y POPE:POPG, respectivamente.



Vista lateral y superior de la interacción péptido-membrana bacteriana en un instante de trayectoria (frame 19733), utilizando la aplicación VMD. Se utilizó un 75% de lípidos de tipo POPE y un 25% de tipo POPG.

Construcción del sistema, preparación y ejecución de las simulaciones de dinámica molecular

En este proyecto, se utilizó el modelo de campo de fuerzas MARTINI. Incorporamos fragmentos de membranas constituidas únicamente por lípidos (500, 250 por capa) y con ambos lados de la bicapa de igual composición. Para la construcción de la membrana utilizamos una herramienta online llamada CHARMM-GUI.

MARTINI, es una técnica que simplifica las representaciones moleculares manteniendo la precisión necesaria para capturar la dinámica e interacciones clave a nivel molecular. En lugar de representar cada átomo de forma individual, MARTINI agrupa varios átomos en una única "bead" o esfera, lo que reduce la complejidad computacional y permite simulaciones de mayor escala y más extensas en el tiempo. Esta aproximación es particularmente valiosa en el estudio de sistemas biológicos complejos, como las interacciones de los péptidos antimicrobianos con las membranas celulares, ya que facilita la exploración de procesos en escalas de tiempo y longitud que serían inaccesibles con modelos totalmente atómicos, a costa de perder resolución.

- Para construir el péptido usamos el script PeptideBuilder.py, que nos facilitó la creación de la estructura atomística y de grano grueso a partir de la secuencia primaria del péptido.

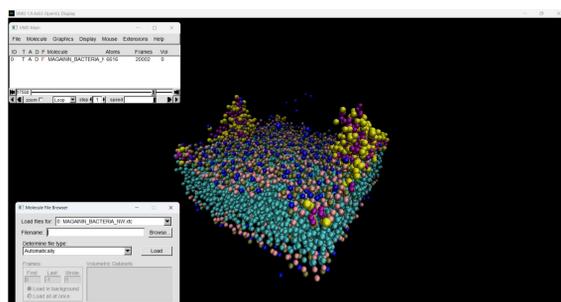
- Para lanzar la simulación, se utilizó un script de bash, necesario para interactuar con el sistema de colas FT3

Resultados

Como resultado de las simulaciones, obtuvimos unos archivos con extensión .xtc, un archivo comprimido de trayectoria GROMACS. También obtuvimos la estructura de los dos sistemas simulados en el instante final, tras los 4000 ns de simulación, en formato .pdb. Este archivo incluye detalles como la posición tridimensional de cada átomo en la molécula, permitiéndonos visualizar la estructura final del sistema y realizar análisis estructurales detallados. A mayores, la simulación nos facilitó una serie de gráficas que posteriormente serán analizadas.



Una vez obtenidos estos archivos, cargamos la trayectoria, con su correspondiente membrana en el software de visualización VMD (.pdb + .xtc), permitiéndonos observar la interacción dinámica péptido-membrana a lo largo del tiempo simulado.

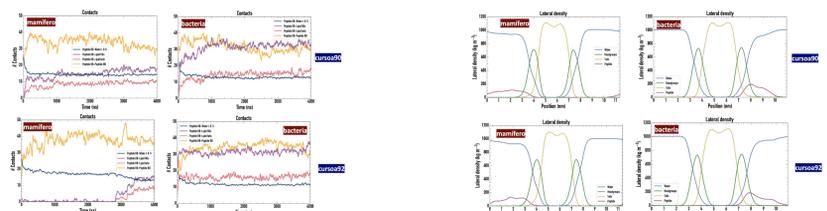


Además de la capacidad de visualizar la trayectoria mediante un visualizador molecular, las simulaciones moleculares nos dan la oportunidad de realizar una amplia gama de análisis cuantitativos sobre las propiedades del sistema. Estos análisis nos permiten cuantificar y caracterizar diversos parámetros, así como monitorear la evolución del sistema a lo largo del tiempo de manera detallada. Esta funcionalidad es esencial para profundizar en la comprensión de los fenómenos observados y para extraer conclusiones significativas sobre el comportamiento molecular durante la simulación.

Resultados

Las gráficas muestran la evolución temporal del número de contactos entre diferentes partes de los sistemas simulados, correspondientes a la membrana de mamífero o bacteria. El color azul denota contactos entre el esqueleto de los péptidos y el agua; el violeta, entre el esqueleto de los péptidos y las cabezas de los lípidos; el rosa, entre los péptidos y las colas de los lípidos; y el amarillo, los contactos péptido-péptido. Cada fila se corresponde con la simulación llevada a cabo por un alumno diferente (gráfica izquierda).

Otra serie de gráficas muestran la distribución de densidad lateral de los componentes del sistema en la simulación con la membrana de mamífero y bacteria. La densidad de agua (azul), cabezas de lípidos (verde), colas de lípidos (amarillo) y péptidos (rosa) en función de su posición en la membrana. Cada fila corresponde a una simulación independiente llevada a cabo por distintos alumnos, identificados como cursoa90 y cursoa92, respectivamente (gráfica derecha).



Conclusiones

Los resultados demuestran que los péptidos tienden a insertarse más profundamente en las membranas bacterianas en comparación con las de mamíferos. Esto se evidencia en la disminución de los contactos péptido-agua y un aumento de las interacciones péptido-cabezas y péptido-colas de lípidos en bacterias. Además, se observa una variación significativa en las interacciones péptido-péptido, lo que indica distintas dinámicas de agrupamiento y asociación en cada tipo de membrana.

El análisis de densidad lateral confirmó la tendencia de los péptidos a una asociación más estrecha con las membranas bacterianas, lo que sugiere una mayor perturbación y posible compromiso de su integridad estructural y funcional en comparación con las membranas de mamíferos.

El proyecto también ha demostrado el valor de las simulaciones de dinámica molecular como una herramienta educativa para introducir a los estudiantes en el uso de técnicas computacionales avanzadas.