

Un Enfoque Computacional Sobre el Efecto de la Nona-arginina en las Propiedades Viscoelásticas de Membranas Lipídicas

Puchol J.I.^{1*}, Via M.A., Galassi V.V.¹, Wilke N.², Del Pópolo M.G.¹
*joaquinipuchol1997@gmail.com



Introducción

Los péptidos de penetración celular (CPPs por sus siglas en inglés) son típicamente cadenas de hasta 20 aminoácidos que presentan la habilidad de superar la impermeabilidad natural de las bicapas lipídicas ante solutos hidrofílicos. Estos péptidos translocan sin aporte energético por parte de la célula, ni sitios específicos, y su interacción es fuertemente selectiva de membranas aniónicas. Su estudio es de especial interés no solo desde un punto de vista fisiológico, dado que se los encuentra en anfibios, virus y bacterias, sino también como posibles agentes que puedan vehicular el ingreso de diversos cargos dentro de las células [1,2].

De este modo, se sabe que la partición de CPPs en membrana se encuentra regida por interacciones electrostáticas, principalmente determinadas por la gran densidad de aminoácidos con carga positiva que estos péptidos presentan [3]. Sin embargo, las bases moleculares a través de las cuales estos péptidos logran translocar las membranas se encuentra aún en estudio. Experimentalmente se han observado variaciones de algunas propiedades viscoelásticas de las membranas como consecuencia de la interacción con CPPs [4]. Esto es determinante en el enunciado de la hipótesis de que los péptidos de penetración celular modulan las propiedades mecánicas y reológicas de las membranas como paso preliminar a su translocación, logrando así sobreponerse a la barrera energética involucrada en este proceso.

Nuestro trabajo se centra en el empleo de la potencia del cálculo computacional para poder observar fenómenos microscópicos asociados a la adsorción de CPPs sobre membranas modelo. Puntualmente, empleamos dinámica molecular de grano grueso para estudiar desde la termodinámica el efecto de la interacción de nona-arginina (R9), con membranas de composición mixta con 50% de lípidos aniónicos.

Referencias

- [1] Di Pisa, M., Chassaing, G. and Swiecicki, J., 2014. Translocation Mechanism(s) of Cell-Penetrating Peptides: Biophysical Studies Using Artificial Membrane Bilayers. *Biochemistry*, 54(2), pp.194-207.
- [2] Koren, E. and Torchilin, V., 2012. Cell-penetrating peptides: breaking through to the other side. *Trends in Molecular Medicine*, 18(7), pp.385-393.
- [3] Via, M., Klug, J., Wilke, N., Mayorga, L. and Del Pópolo, M., 2018. The interfacial electrostatic potential modulates the insertion of cell-penetrating peptides into lipid bilayers. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20(7), pp.5180-5189.
- [4] Crosio, M., Via, M., Cámara, C., Mangiarotti, A., Del Pópolo, M. and Wilke, N., 2019. Interaction of a Polyarginine Peptide with Membranes of Different Mechanical Properties. *Biomolecules*, 9(10), p.625.
- [5] Tarazona, P., Chacón, E. and Bresme, F., 2013. Thermal fluctuations and bending rigidity of bilayer membranes. *The Journal of Chemical Physics*, 139(9), p.094902.

Filiaciones

¹ Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. ICB - CONICET

² Departamento de Química Biológica "Ranwel Caputto", Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, CIQUIBIC-CONICET

Métodos

Empleando el campo de fuerza de MARTINI, se construyeron sistemas formados por parches cuadrados con 1352 fosfolípidos formando bicapas de composición mixta dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) - dioleoilfosfatidilglicerol (DOPG) en proporción 1:1, y se agregaron moléculas del CPP nona-arginina (R9) en cantidades variables de 25 y 100 péptidos (Figura 1). El sistema fue solvatado en agua polarizable con NaCl para mimetizar el medio fisiológico y conservar la electroneutralidad del sistema. Se utilizó GROMACS 2019.3 como software de cálculo de Dinámica Molecular (DM), empleando barostatos de Parrinello-Rahman, termostato V-rescale y condiciones de contorno periódicas. A partir de los sistemas ensamblados se realizaron simulaciones NAPzT por 60ns, con 310K de temperatura y 1bar de presión en la dirección z (Figura 1 a). A las trayectorias obtenidas se les efectuó un estudio a través de la teoría de ondas capilares de Tarazona et al [5], que provee el marco teórico para analizar las fluctuaciones de una interfaz. Éstas son analizadas en términos de los modos normales de una superficie ajustada a la interfaz lipídica. A partir de este análisis se obtuvo una cuantificación del módulo elástico de la membrana κ a través del ajuste de la ecuación 1 [5].

$$\gamma^{CU}(q) = \gamma_0 + \kappa q^2 \left(1 + \left(\frac{q}{q_u^{CU}} \right)^{\alpha^{CU}} \right) \quad (1)$$

Posteriormente, dichos sistemas se duplicaron en la dirección x (Figura 1 b), y se empleó presión lateral en dicha dirección para lograr el pandeo de la bicapa (*buckling*). Empleando un factor de reducción γ (ecuación 2) como diagnóstico del plegamiento, se extrajo el paso en el cual el tamaño de la caja se había reducido a un valor de $\gamma = 0.1$.

$$\gamma = \frac{Lx_o - Lx_t}{Lx_o} \quad (2)$$

Estas membranas curvadas fueron dejadas relajar en presencia de un barostato a 1bar en la dirección x y z , y fijando la dimensión perpendicular al pandeo y . Se obtuvieron los perfiles de relajación en función de la concentración de R9, hasta recuperar la longitud original de la caja Lx_0 .

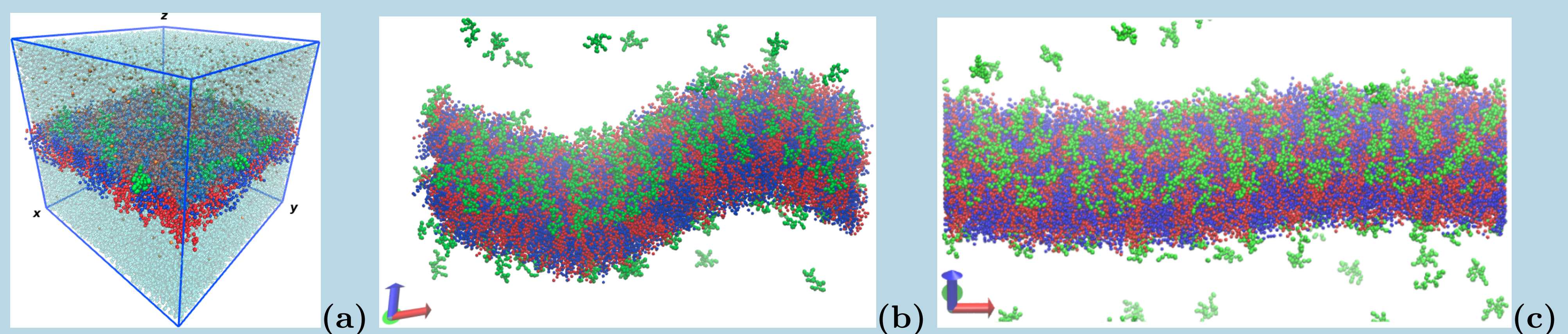


Figura 1: Celdas de simulación de membrana mixta DOPC (azul)-DOPG (rojo); (a) cuadrada plana con 100 moléculas de R9 (verde); (b) rectangular curvada con 200 moléculas de R9 (c) rectangular relajada con 200 moléculas de R9

Resultados y discusiones

A partir del estudio de ondas capilares se obtuvieron gráficas del módulo ondulatorio (γ^{CU}) en relación con el módulo del vector de onda q (Figura 2 a). Estos términos se relacionan mediante la ecuación 1, y a partir del ajuste de los datos obtenidos se puede obtener el valor del módulo elástico κ , que resultó de mayor magnitud para el sistema con 25 R9 respecto del de 100 R9. Por otro lado, las observaciones de simulaciones de relajación arrojaron tiempos de relajación menores para las membranas con 200 R9, comparado con las de 50 R9, correspondientes a los sistemas de 100 y 25 R9 respectivamente en los sistemas cuadrados (Figura 2 b). Este fenómeno podría ser indicio del ablandamiento de las membranas, producto de la adsorción de CPPs en las mismas.

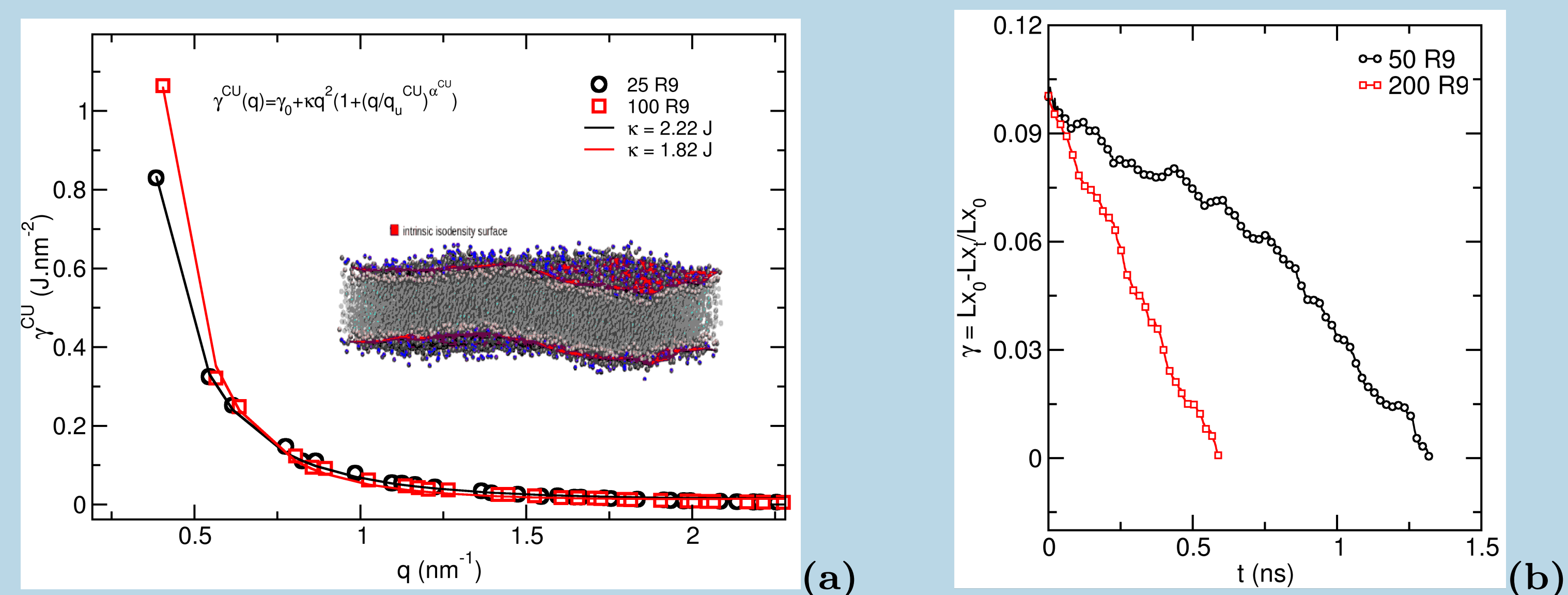


Figura 2: Análisis de propiedades viscoelásticas de membranas de DOPC:DOPG 1:1 en presencia de R9; (a) modo de acoplamiento ondulatorio γ^{CU} del análisis de ondas capilares [5]; (b) perfil de relajación de curvatura.

Conclusiones y perspectivas

Los resultados obtenidos pueden ser abordados desde dos perspectivas. En primer lugar, podemos observar que existen indicios fisicoquímicos del efecto sobre las propiedades mecánicas y reológicas de bicapas producido por la presencia de péptidos de penetración celular en el medio. Esto se evidencia en la disminución en el tiempo de relajación y en el módulo elástico en membranas con mayor cantidad de péptidos. Por otro, seguimos apostando a las simulaciones computacionales como herramienta que nos ayuda a alcanzar escalas microscópicas, difícilmente medibles de forma experimental con las técnicas conocidas hasta ahora, y comprender los fenómenos observados experimentalmente.

Nuestras expectativas de trabajo se centran en extender el análisis realizado tanto a membranas sin CPPs adsorbidos como a otras cantidades de péptido adsorbido. Como expectativa final, se buscará contrastar el procedimiento con membranas con composiciones diferentes a las estudiadas, como así también para otros péptidos polibásicos.