

Simulaciones por Dinámica Molecular para el Estudio de Propiedades Biofísicas de Estafloxantina en Membranas Modelo de *Staphylococcus aureus*

John Erick Cabrera Ramirez

Código: 201823444

Directores: Chad Leidy (Departamento de física) y Camilo Aponte-Santamaría (Grupo tándem Max Planck de biofísica computacional, MPTG-CBP)

29 de abril de 2020

Resumen

Staphylococcus aureus es un patógeno de importancia clínica que ha recibido atención pública debido al desarrollo de resistencia a diferentes antibióticos tradicionales. Los antibióticos tradicionales son principalmente activos en inhibir la síntesis de la pared de péptidoglicano que recubre la bacteria. Sin embargo, la bacteria ha mutado para generar resistencia a estos antibióticos. Como alternativa de tratamiento se está estudiando el mecanismo de acción de diferentes péptidos antimicrobianos dirigidos a comprometer la integridad de la membrana lipídica de la bacteria. Es importante estudiar las propiedades mecánicas de la membrana plasmática de la bacteria ya que la modulación de estas propiedades, a través de cambios en su composición lipídica, puede resultar en incrementos en resistencia a estos péptidos antimicrobiales. Uno de los compuestos principales de la membrana de *Staphylococcus aureus* es el carotenoide estafloxantina, el cual aumenta su concentración en la membrana plasmática cuando la bacteria está sometida a estrés. Se sugiere que este lípido principalmente actúa como antioxidante que protege a la membrana de estrés oxidativo. Algunos estudios han sugerido que otro papel de este carotenoide es aumentar la rigidez de la membrana plasmática de la bacteria. Sin embargo, aún no están claras las propiedades biofísicas locales que afectan la presencia de este carotenoide, tales como el efecto en el orden de las cadenas debido a la orientación de la molécula dentro de la membrana y el efecto de su presencia en la constante de difusión. Uno de los métodos que puede contribuir al estudio del papel de la estafloxantina en la membrana es el de las simulaciones por dinámica molecular.

Debido al vacío existente en el conocimiento del efecto de la estafloxantina en membranas de *Staphylococcus aureus*, aquí se estudia el efecto de la presencia de estafloxantina (STX) en sistemas sencillos de un componente mediante simulaciones por dinámica molecular, usando como lípidos modelo DMPG y DPPG a una temperatura en donde los lípidos se encuentran en fase líquida-cristalina. La estafloxantina se inserta en membranas modelo a las siguientes concentraciones: 1STX:128DMPG, 1STX:128DPPG, 15 % mol de STX en DMPG y 15 % mol STX en DPPG. Las simulaciones se realizan utilizando el campo de fuerza charmm36 para los lípidos y se optimizan los parámetros de

los ángulos dihedros de los diferentes grupos moleculares de estafiloxantina para tratar de reflejar el comportamiento físico de la molécula. La optimización de los ángulos se realiza en colaboración con el grupo COBO dirigido por Gian Pietro Miscione del Departamento de Química de la Universidad de los Andes. Debido a que los parámetros de los ángulos dihedros del grupo carbonil no cuentan con una parametrización adecuada, el grupo del Dr. Miscione realiza una optimización QM del potencial dihédrico de los átomos de este grupo y de los enlaces dobles conjugados de la cadena diaponeurosporenoica. En la optimización se encuentran parámetros con una barrera energética más alta, pero de forma similar, comparada con los parámetros originales. Con los parámetros optimizados se realizan nuevamente las simulaciones de los sistemas 1 STX en DMPG y 1 STX en DPPG.

De las simulaciones se obtienen propiedades biofísicas como el parámetro de orden de las cadenas de los fosfolípidos, la orientación de la estafiloxantina (respecto a la normal de la membrana), el área por lípido, el coeficiente de difusión, el perfil de presión, entre otras. En particular, una propiedad local como el perfil de presión (o perfil de tensión) proporciona una idea sobre los cambios en las interacciones repulsivas (presión positiva) y atractivas (presión negativa) presentes a cada nivel de profundidad de la membrana en presencia del carotenoide. El cálculo de estas propiedades se realiza utilizando `gromacs`, `mdstress` y `g_lomepro`.

Para el coeficiente de difusión y para los perfiles de presión se presentan los resultados de los cambios de estas cantidades en presencia de estafiloxantina. En resultados preliminares de nuestro grupo se realizaron los diagramas de dispersión de la orientación de estafiloxantina respecto a la posición del azúcar y de la densidad electrónica del oxígeno O_3 (presente en el azúcar de la estafiloxantina). Estos diagramas muestran que, para todos los sistemas analizados, el azúcar tiende a insertarse dentro de la parte hidrofóbica de la membrana, lo cual se correlaciona con una tendencia a una posición más horizontal para la estafiloxantina. Por otro lado, las distribuciones de STX para una sola molécula y sin optimizar los parámetros muestran que el carotenoide puede estar en una conformación cercana a la horizontal cuando está en presencia de DMPG, pero que en el caso de DPPG puede tener conformación horizontal y vertical (distribución bimodal). Sin embargo, los casos en que la orientación puede ser vertical disminuyen cuando se utilizan los parámetros optimizados. En cambio, para un 15 %mol STX, la estafiloxantina puede barrer las dos conformaciones, donde en promedio la estafiloxantina está más horizontal para el caso de DMPG que para el caso de DPPG. Esto es acorde con el espesor de la membrana que es menor para DMPG que para DPPG, lo cual puede explicar la tendencia de la molécula de preferir orientaciones horizontales. Del parámetro de orden tanto para los lípidos como para STX se puede ver que la membrana está más ordenada cuando el 15 % de STX está inmerso en DPPG, seguido de 15 % de STX en DMPG. El área por lípido disminuye al agregar un 15 % de STX y con un valor mayor para DMPG que para DPPG. En conclusión, al agregar un 15 % de estafiloxantina, la membrana se vuelve más ordenada, más compacta en el plano lateral, pero sin cambiar significativamente su espesor. Esto se puede explicar con base en la interdigitación de los carotenoides, de los lípidos y por la capacidad de la estafiloxantina de muestrear diversas orientaciones, donde el rango de orientaciones es mayor

en cuanto menor sea la longitud de la cadena acil lipídica. Con base en estos resultados exploramos el comportamiento de la constante de difusión de los carotenoides con base en sus niveles de interdigitación. Adicionalmente, exploramos los efectos en la constante de difusión de los fosfolípidos debido a la presencia de estafiloxantina. La orientación horizontal debe influir fuertemente en el perfil de presión de la membrana, así que analizamos los efectos de la estafiloxantina en sobre este perfil.

Abstract

Staphylococcus aureus is a clinically important pathogen that has received public attention because the bacterium has developed resistance to different antibiotics. These antibiotics inhibit the synthesis of the peptidoglycation wall that lines the bacteria. As a treatment alternative, the mechanism of action of antimicrobial peptides aimed at compromising the integrity of the bacterial lipid membrane is being studied. It is important to study the mechanical properties of the plasma membrane since the bacterium can modulate these properties through changes in its lipid composition, which can result in increases in resistance to antimicrobial peptides. One of the compounds that has been studied in *Staphylococcus aureus* is the carotenoid staphyloxanthin, which increases its concentration in the plasma membrane when the bacteria are under stress. Some studies have suggested that the role of this carotenoid is to increase the stiffness of the bacterial plasma membrane. However, local biophysical properties of the carotenoid, properties such as orientation and interactions with nearby lipids, are not yet clear. One of the methods that can contribute to the study of the role of staphyloxanthin in the membrane is that of molecular dynamics simulations.

Due to the existing gap in the knowledge of staphyloxanthin in *Staphylococcus aureus*, the mechanical role of staphyloxanthin (STX) is studied using molecular dynamics simulations. Staphyloxanthin is inserted into model membranes of *Staphylococcus aureus* at the following concentrations: 1STX: 128DMPG, 1STX: 128DPPG, 15 % mol STX in DMPG, 15 % mol STX in DPPG. The simulations are performed using the charmm36 force field for lipids and the parameters of the dihedron angles of the different staphyloxanthin molecular groups are optimized to try to reflect the physical behavior of the molecule. Angle optimization is performed with the contribution of COBO group led by Gian Pitro Miscione, who belongs to Chemistry department at Universidad de los Andes. Because the dihedral angle parameters present in carbonyl group do not have a proper parametrization, Miscione group performs a QM optimization of the dihedral potential of the atoms of this group as well as to the conjugated double bonds of the diaponeurosporenoic chain. In optimization, parameters with a higher energy barrier are found, but in a similar way, compared to the original parameters. With the optimized parameters, the simulations of the 1 STX systems in DMPG and 1 STX in DPPG are performed again.

Biophysical properties such as the deuterium order parameter, staphyloxanthine orien-

tation (with respect to the normal of membrane), area per lipid, diffusion coefficient, pressure profile, among others are obtained from the simulations. Especially, a local property such as the pressure profile (or stress profile) provides insight into the changes in repulsive (positive pressure) and attractive (negative pressure) interactions present at each depth level of the membrane in the presence of the carotenoid. Computation of these properties is done using gromacs, mdstress and g_lomepro.

Here is shown the results of the changes in diffusion coefficient and pressure profiles. In previous results of our group we have scatter diagrams of the orientation of the staphyloxanthin with respect to the position of the sugar and electronic density of oxygen O₃ of the staphyloxanthin sugar. From these diagrams can be shown that for all of the systems analyzed, the sugar tends to insert into the hydrophobic part of the membrane, which correlates with a trend to a more horizontal position for staphyloxanthin. By the other hand, STX distributions for a single molecule and without optimizing the parameters show that the carotenoid can be in a conformation close to horizontal when it is in the presence of DMPG, but in the case of DPPG it can have both conformations (bimodal distribution). However, the cases where the orientation can be vertical decrease when the optimized parameters are used. By the other hand, for 15 % mol STX, staphyloxanthin can sweep both conformations, where on average staphyloxanthin is more horizontal for DMPG than for DPPG. This is consistent with the thickness of the membrane which is less for DMPG than for DPPG. From the order parameter for both lipids and STX it can be seen that the membrane is more ordered when 15 % of STX is immersed in DPPG, followed by 15 % of STX in DMPG. The lipid area decreases with the addition of 15 % STX and with a higher value for DMPG than for DPPG. In conclusion, by adding 15 % staphyloxanthin, the membrane becomes more ordered, more compact in the lateral plane, but without significantly changing its thickness at the cost of lipid interdigitation, of sampling different orientations for staphyloxanthin, being the range of greater orientations the shorter the length of the acyl lipid chain. Based on this results, we seek the effects on the diffusion constant of phospholipids due to the presence of staphyloxanthin. Horizontal orientation should strongly influence profile pressure of the membrane, so we analyzed the effects of staphyloxanthin on this profile.

Keywords: Staphyloxanthin, *Staphylococcus aureus*, molecular dynamics, membrane biophysics, thickness membrane, orientation of carotenoids, pressure, diffusion coefficient.

Jurados

- Pilar Cossio (Universidad de Antioquia)
pilar.cossio@biophys.mpg.de
<https://www.biophys.mpg.de/en/cossio.html>
- Juan M. Vanegas (Universidad de Vermont)
juan.m.vanegas@gmail.com
<http://vanegaslab.org/>

Firma del Director

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'C. H. C.', is centered below the 'Firma del Director' heading.