

УДК 577.3

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЛАЗИОГЛОССИНА III С МОДЕЛЬНЫМИ ЛИПИДНЫМИ БИСЛОЯМИ

© 2022 г. С. Саха, П. Ратрей, А. Мишра

Факультет материаловедения и инженерии материалов, Индийский Технологический Институт Гандинагара,
Паладж, Гандинагар, Гуджарат, Индия

E-mail: s.sarmistha@iitgn.ac.in

Поступила в редакцию 14.09.2021 г.

После доработки 02.11.2021 г.

Принята к публикации 15.12.2021 г.

Лазюоглоссин-III – малый катионный пептид, обнаруженный в яде пчелы *Lasioglossum laticeps*. Сообщается, что он обладает сильной антимикробной активностью и слабым гемолитическим действием. В данной работе исследована природа взаимодействий лазюоглоссина-III с липидными бислоями в различной ориентации и его проникающая способность с помощью расчетов методом молекулярной динамики. Были проведены молекулярно-динамические расчеты лазюоглоссина-III на поверхности и внутри бислоев из чистых 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолина и 1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолина для определения взаимодействий «мембрана–пептид» и их эффектов. Обнаружено, что лазюоглоссин-III взаимодействовал с обоими типами бислоев с разными скоростями и демонстрировал дестабилизацию на границе раздела фаз «мембрана–вода» относительно стартового состояния пептида. Эти результаты позволяют говорить о наличии специфических взаимодействий между остатками лизина пептида и участками головок липидов, ответственных за общую стабильность пептида в липидных бислоях. Кроме того, результаты указывают на существенно больший угол наклона пептида и более высокую свободную энергию, а также на уменьшение толщины бислоя в случае бислоев 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолина в сравнении с 1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолином, вызываемые встраиванием пептида.

Ключевые слова: лазюоглоссин-III, ПОФХ, ДМФХ, молекулярная динамика.

DOI: 10.31857/S0006302922020077

Антимикробные пептиды (АМП) представляют собой важный класс элементов врожденной иммунной системы и перспективную альтернативу антибиотикам по отношению к широкому спектру видов бактерий. Это короткие катионные амфифильные пептиды, которые могут проявлять активность против необычайно широкого диапазона микроорганизмов с множественной устойчивостью, включая бактерии, вирусы и грибы [1]. Эффект от АМП против различных патогенных микроорганизмов коррелирует с их различными функциями, относящимися к взаимодействию с клеточными мембранами [2]. Многие группы ученых работают над экспериментальными и модельными (вычислительными) исследованиями механизма встраивания и ориентации АМП в липидных бислоях мембран. Они показыва-

ли, что такие взаимодействия включают поверхностное состояние и погруженное состояние [3, 4]. Например, некоторые АМП, такие, как SM15, могут взаимодействовать с полярной границей раздела фаз и разрушать пузырьки цвиттер-ионного липида 1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолина (ПОФХ), основного компонента эукариотической мембраны [5, 6]. С другой стороны, пандинин-2, поликатионный АМП, оставался в частично свернутом состоянии на поверхности ПОФХ, а ароматические остатки на его N-конце инициировали процесс встраивания [7]. Взаимодействия АМП с мембранами зависят от их вторичной структуры, заряда, аминокислотного состава и длины пептидной последовательности, а также от состава мембран [8]. В дополнение к этому, доля α -спиралей в АМП прямо коррелирует с высокой антибактериальной активностью, а гибкость пептидной цепи также играет ключевую роль в ослаблении их активности [9].

Лазюоглоссины – новое семейство антимикробных пептидов – изначально были обнаруже-

Сокращения: АМП – антимикробные пептиды, ПОФХ – 1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолин, LL-III – лазюоглоссин III, МД – молекулярно-динамический, ДМФХ – 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолин.

ны в яде диких пчел *Lasioglossum laticeps*. Для них была показана выраженная антимикробная активность против как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, а также существенно меньшая гемолитическая активность [10]. С помощью флуориметрических экспериментов было выявлено, что ласиоглоссин II может взаимодействовать с поверхностью мембраны додецилфосфохолиновой мицеллы, глубоко погружаясь в нее, что ведет к стабилизации мембраны [11]. Ласиоглоссин III (LL-III), пептид из 15 аминокислотных остатков, является наиболее изученным представителем семейства ласиоглоссинов. LL-III показал сравнительно высокую антимикробную активность против *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* при низкой гемолитической активности [10]. Недавно были показаны такие свойства LL-III, как солеустойчивость, способность образовывать антимикробную пленку и препятствовать образованию биопленок вследствие мембранолитического действия против широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий [12]. Кроме того, синтетическое производное пептида LL-III ингибирует образование биопленки *C. albicans* [13].

Сходным образом N-концевая модификация LL-III остатком цистеина и покрытие им коммерческого силиконового катетера увеличили антимикробную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий [14]. Рекомбинантный пептид LL-III ингибировал микробное разложение пищи и показал выраженные антиоксидантные свойства [15]. Его необычно высокая биологическая активность обусловлена амфифильным N-концевым фрагментом [10]. Он имеет суммарный заряд +6 и приобретает α -спиральную структуру в трифторэтанол и растворе додецилсульфата натрия [10]. Подобная последовательность аминокислот приводит к возможности взаимодействия с липидным бислоем как одиночных молекул, так и агрегатов пептида. В данной работе исследован механизм связывания LL-III с мембраной методом расчета траекторий молекулярной динамики. Результаты помогут прояснить механизм работы этого пептида и роль особых аспектов его последовательности для дальнейшей разработки высокоэффективных АМП.

Молекулярно-динамические (МД) расчеты обеспечивают эффективную основу для идентификации различных молекулярных взаимодействий на атомном уровне и таким образом дополняют экспериментальные результаты [16]. Поскольку большинство экспериментальных лабораторных подходов не могут обеспечить достаточного разрешения для определения взаимодействий «мембрана–пептид» на атомном уровне, расчеты траекторий МД представляют собой альтернативный подход для решения таких задач.

Биофизические эксперименты с использованием методов ядерно-магнитного резонанса и рентгеновской дифрактометрии позволяют сделать вывод о наличии двух состояний АМП — поверхностном состоянии и погруженном в липидный бислой состоянии [17–19]. Весь процесс антимикробного действия пептидов включает связывание с поверхностью, агрегацию или образование трансмембранной тороидальной поры, что предположительно происходит на микросекундной временной шкале [20]. Вычислительное моделирование всего механизма антимикробного действия затруднительно вследствие больших временных промежутков для движения липидов, медленной релаксации липидной фазы и ограничений доступных временных диапазонов. Однако грубое моделирование или усиленное сэмплирование являются оптимальными методами, обычно используемыми в МД-расчетах взаимодействия растворимых веществ с липидными бислоями [21]. В качестве альтернативного подхода мы применили атомистическое моделирование двух ключевых стадий взаимодействия пептида LL-III с различными моделями мембран для выяснения взаимодействий между пептидом и бислоем. Это позволяет анализировать адекватные временные отрезки. В данном контексте были поставлены следующие цели: 1) выявить характер взаимодействия между липидным бислоем и АМП в двух различных состояниях, поверхностном и погруженном; 2) определить эффект АМП на структуру липидного бислоя. В похожих исследованиях взаимодействий «пептид–липид» высказывались предположения, что пептид подходит к бислою в состоянии неупорядоченного клубка, но во время взаимодействия с липидным бислоем сворачивается в α -спиральную структуру на границе раздела фаз «липид–вода» [20, 21]. Таким образом, было проведено моделирование исследованных систем с α -спиральной структурой пептида, когда он взаимодействует с липидным бислоем.

Количество гидрофобных аминокислотных остатков и их распределение определяет взаимодействие пептида с мембраной, что наглядно иллюстрируется в схеме спирального колеса [22]. Было обнаружено, что ориентация пептида внутри поры зависит от гидрофобного несоответствия между гидрофобной длиной порообразующего пептида и гидрофобной толщиной липидного бислоя [23]. Другое исследование показало, что толщина и жесткость бислоя значительно влияют на свободную энергию, необходимую для образования поры [24]. В качестве следующего шага в понимании влияния гидрофобного несоответствия на взаимодействие и динамику АМП в липидном бислое было проведено МД-моделирование пептида LL-III на поверхности и внутри (в трансмембранной ориентации) в цвиттерионных мембранных липидных бислоях — более толстом

из 1-пальмитоил-2-олеил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина и более тонком из 1,2-димиристил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолина (ДМФХ). В данной работе с применением МД-расчетов были проанализированы ориентация и стабильность пептида и характер взаимодействия между пептидом и системами липидных бислоев. Затем были проведены структурный и конформационный анализ, а также расчет параметров упорядоченности для характеристики разрушения модельных мембран, взаимодействующих с пептидом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Стартовые структуры лазиоглоссина III. LL-III (VNWKKILGKIIKVVK) – это катионный антимикробный пептид с суммарным зарядом +5 при нейтральном pH. Атомные координаты пептида моделировались в α -спиральной конформации в программе Visual Molecular Dynamics версии 1.9.141 [25]. Для имитации экспериментальных условий N-конец и C-конец были заряжены. При нейтральных pH боковые цепи лизина в LL-III заряжены. Структура пептида LL-III была получена после минимизации энергии через 1000 шагов скорейшего спуска, после чего следовал расчет МД-траектории длительностью 100 нс в ячейке размером $50 \times 50 \times 50 \text{ \AA}$, где наряду с пептидом присутствовали примерно 4000 молекул воды и три противоиона Cl^- для поддержания электронейтральных условий. Последние рамки траекторий были отобраны в качестве стартовых структур для расчета траекторий систем пептид-липидный бислой.

Условия подготовки системы «пептид–липидный бислой». Начальная позиция и ориентация пептида в мембранном бислое были выбраны на основании различных стадий типичного действия АМП. В одной серии траекторий молекула пептида LL-III помещалась в водную фазу так, что центр масс пептида находился примерно в 1 нм от границы раздела фаз «мембрана–вода», при этом ось спирали пептида была параллельна поверхности раздела фаз. Похожую ориентацию придавали пептиду в недавней работе [26]. В другой серии траекторий пептид LL-III помещали в трансмембранную связанную позицию (транспозицию, транс-связанную позицию), пронзая оба листка бислоя. После введения пептида расчет вели по особому протоколу, когда с помощью силы величиной 100 кДж/моль/м^2 в транс-участке бислоя мембраны создавали отверстие, по размеру и форме соответствующее пептиду, в предварительно уравновешенных моделях липидного бислоя. Затем пептид погружали в полученное отверстие, после чего следовала минимизация энергии с позиционными ограничениями [27].

Расчеты траекторий молекулярной динамики. Все вычисления и анализ проводили с использо-

ванием пакета программ Desmond 2012 MD (Maestro-Desmond Interoperability Tools, версия 3.1, Schrödinger, Нью-Йорк, США) в силовом поле OPLS-AA (Optimized Parameters for Liquid Simulations All-Atom – Оптимизированные параметры для полноатомного жидкостного моделирования) [28, 29] с моделью воды TIP3P в изотермно-изобарном ансамбле в периодических граничных условиях [30]. Для МД-расчетов предварительно уравновешенные мембраны из 128 молекул липида ПОФХ с 2460 молекулами воды и 128 молекул липида ДМФХ с 128 ионами Na^+ и 3527 молекулами воды были получены из лаборатории П. Тилемана (P. Tieleman, the University of Groningen). Примерно 6400 молекул воды использовали для сольватации систем ПОФХ и ДМФХ при расположении пептида в мембранах, для электронейтральности системы добавлялись противоионы. Для каждой системы проводили три расчета траекторий МД, для каждого из них задавали разные начальные случайные скорости.

Изначальное уравновешивание проводили в течение 500 пс в изотермно-изохорных условиях, при этом тяжелые атомы пептида и фосфатных групп липидных головок были ограничены в окрестности своих референсных координат гармониками с постоянной силой $1000 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{нм}^{-2}$. Стабильная среда поддерживалась при температуре 300 К с помощью термостата с изменением масштаба скорости [31] с раздельным сопряжением для «растворенного вещества» (пептидов и липидов) и «растворителя» (воды и ионов) с временной константой 0.1 пс. Эта температура значительно выше температуры перехода в жидкокристаллическое состояние (268 К для ПОФХ и 297 К для ДМФХ). Эти системы в дальнейшем уравновешивали в течение 1 нс в изотермно-изобарных условиях в термостате Нозе–Гувера [32, 33]. Постоянное давление 1 атм поддерживали полуизотропным баростатом Паринелло–Рамана с временной константой 2.0 пс [34]. Нормаль к бислою (ось Z) и плоскость бислоя (плоскость XY) сопрягали отдельно, постоянное давление в 1 бар поддерживали во всех направлениях. Затем применяли алгоритм LINCS для ограничения всех длин связей молекул воды. Для дистантных электростатических взаимодействий применяли метод частичных сумм Эвальда с радиусом обрезания 1.2 нм для кулоновских взаимодействий [35]. После уравновешивания ограничения позиций пептида снимали и траекторию МД запускали для каждой системы на 100 нс в изотермно-изобарном ансамбле. Шаг интегрирования был равен 2 фс с сохранением координат, а скорости сохраняли для анализа каждые 20 пс. Полученные в результате траектории использовали для всех анализов. Программу PyMOL, созданную У.Л. ДеЛано (W.L. DeLano) и выпущенную на рынок компанией DeLano Scientific

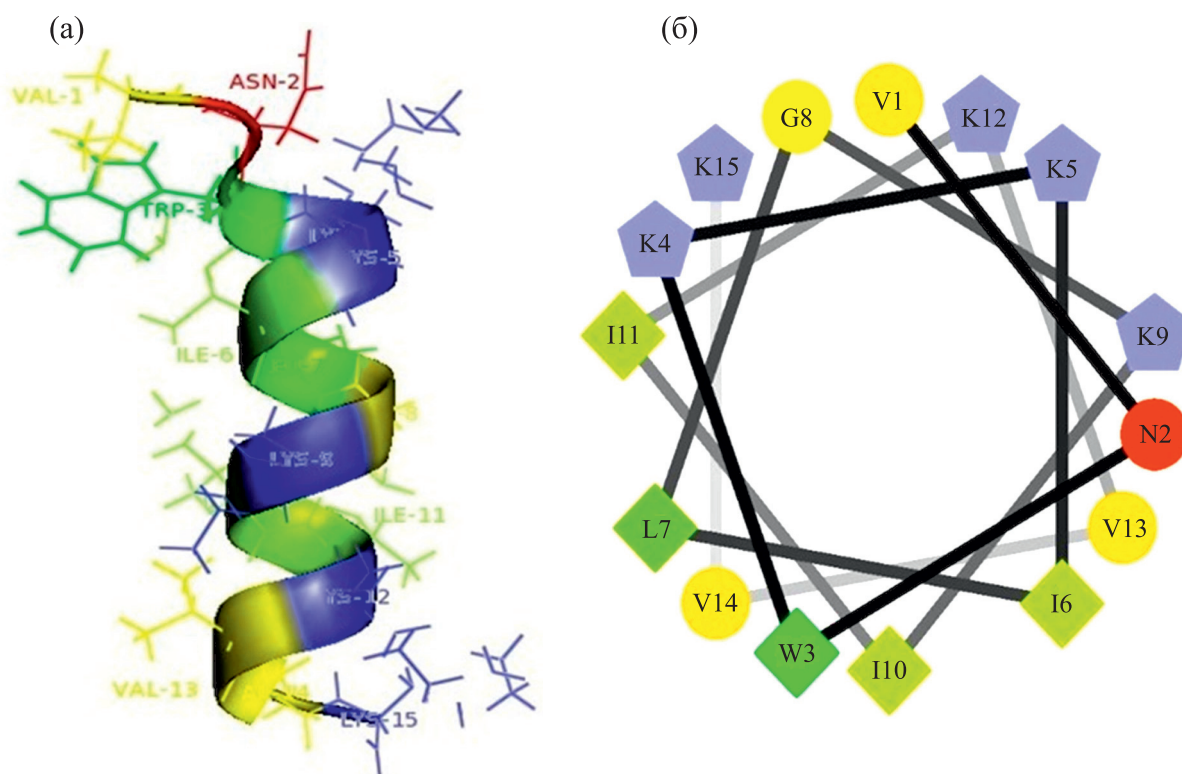


Рис. 1. Структура и схема спирального колеса для пептида LL-III. Пептид изображен в ленточном виде. Для диаграммы «спирального колеса» последовательность аминокислот отображена по часовой стрелке. Гидрофильные остатки изображены кружками, гидрофобные – ромбами, положительно заряженные – пятиугольниками.

LLC ([http:// www.pymol.org](http://www.pymol.org)), использовали для получения всех численных значений. Для каждого из четырех расчетов МД получали три независимые траектории, анализ данных проводили по всем трем независимым траекториям. В то же время результаты расчетов опубликованных ранее работ содержат анализ от одной до трех независимых траекторий. Также проводили временной анализ водородных связей в течение всего периода моделирования. В системах D–H---A–X, где D (донор) – это атом азота положительно заряженных групп пептида и А (акцептор) – атом кислорода остатков глицерина и фосфатных групп головок липидов, контакты с расстояниями D---А менее 3.5 Å и углами между Н и А более 120° рассматривали как водородные связи.

Расчеты свободной энергии связывания. Свободную энергию связывания пептидов с мембранными системами рассчитывали через решение уравнения Пуассона–Больцмана по методу ММ/РBSA [36]. Свободную энергию связывания оценивали как

$$G_{\text{binding}} = \Delta G_{\text{complex}} - \Delta G_{\text{ligand}},$$

где каждый терм энергии G оценивали как сумму молекулярно-механической энергии в газовой фазе E_{gas} и энергии сольватации G_{sol} по следующему уравнению:

$$G_{\text{total}} = E_{\text{gas}} + G_{\text{sol}},$$

при этом в E_{gas} входит электростатический терм (E_{ele}) и ван-дер-ваальсов терм (E_{vdw}). Более того, энергия сольватации также раскладывается на полярную энергию сольватации G_{ps} и неполярную энергию сольватации G_{nps} согласно следующему уравнению:

$$G_{\text{sol}} = G_{\text{ps}} + G_{\text{nps}}.$$

Неполярная энергия сольватации была рассчитана на основе площади поверхности, доступной для растворителя (solvent-accessible surface area – SASA), согласно уравнению

$$G_{\text{nps}} = \gamma \text{ SASA} + \beta.$$

Коэффициент поверхностного натяжения γ и константу β принимали равными 0,00542 ккал/(моль·Å²) и 0.92 ккал/моль, согласно литературе [37].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Расчет траекторий лазероглоссина III в липидных бислоях. Диаграмма Шиффера–Эдмунсона (диаграмма α -спирального колеса) для пептида LL-III показала, что остатки Lys расположены на одной стороне, а гидрофобные остатки Val, Leu,

Pe, Tgr — на другой стороне спирали (рис. 1а,б). Изначально взаимодействие LL-III с липидами ПОФХ и ДМФХ моделировалось в поверхностно-связанном состоянии. Чистые мембраны ДМФХ и ПОФХ — цвиттерионы с нейтральным суммарным зарядом. МД-система формировалась с пептидом, параллельным границе раздела фаз «бислоем—вода», без прямого контакта с областью головок липида. Кадры финальной конфигурации расчетов МД-траекторий приведены на рис. 2. Во всех случаях три независимых траектории давали сходные результаты.

Рис. 2 демонстрирует структуру пептида LL-III на поверхности липидных бислоев из ДМФХ и ПОФХ через 0, 50 и 100 нс моделирования. Как ожидалось, пептид сперва приближался к полярной поверхности, затем медленно проходил через полярную область и наконец достигал равновесного состояния близко к группе головок липидного бислоя. Мы наблюдали, что через 100 нс пептид LL-III также ориентируется в схожем, практически параллельном направлении к поверхности мембраны из ДМФХ (рис. 2б). Сходным образом LL-III взаимодействует с мембраной ПОФХ на границе раздела фаз «вода—липид» и ориентируется в предпочтительной позиции, в которой остатки лизина взаимодействуют с областью головок липидов (рис. 2д).

Также были проведены расчеты траекторий, когда пептид LL-III полностью погружался в бислою в транс-связанной позиции. Кадры финальной конфигурации расчета динамики пептида из транс-позиции в мембранах из ДМФХ и ПОФХ показаны на рис. 3. Пептид LL-III остается внутри бислоев мембраны в течение всего времени расчета. Кроме того, LL-III находится в очень развернутой и наклоненной ориентации после 100 нс динамики в мембранных бислоях. Большой наклон пептид демонстрирует в бислое ДМФХ (рис. 3б), чем в бислое ПОФХ (рис. 3д), что вполне ожидаемо, поскольку бислои ПОФХ обладают большей гидрофобной шириной, чем бислои ДМФХ.

Стабильность пептида в различных окружениях. Отклонения от изначальной конфигурации в течение динамики в основном происходят у остатков лизина в липофильных хвостах, на что указывает увеличение усредненной по остатку среднеквадратичной флуктуации остова примерно на 0.6 Å (рис. 4). Также из рис. 4 ясно, что усредненная по остатку среднеквадратичной флуктуации остова по своим значениям относительно более стабильна в бислое из ДМФХ, чем в бислое из ПОФХ.

Профили водородных связей взаимодействия «лазиоглоссин III—бислоем». Поскольку межмолекулярные взаимодействия играют важную роль во взаимодействии АМП с поверхностью липид-

ного бислоя мембраны, мы также исследовали образование водородных связей в процессе моделирования. Для этого был проведен анализ водородных связей между ними во времени по всем траекториям. В нашем случае атомы остова пептида в поверхностно-связанном состоянии на границе раздела фаз «липид—вода» были более доступны для образования водородных связей, чем в случае полностью погруженного транс-связанного состояния в бислое.

Как было проиллюстрировано моделированием динамики, боковая цепь лизина пептида LL-III в транс-связанной позиции обычно взаимодействует в среднем с двумя прилежащими молекулами ДМФХ и ПОФХ на протяжении всей траектории. Аминокислотные остатки пептидов обычно формируют Н-связи с карбонилами простых эфиров, фосфатными группами и молекулами воды на границе раздела фаз «мембрана—вода».

Представленные результаты также позволяют говорить о снижении количества водородных связей «вода—пептид» с соответствующим увеличением количества водородных связей «ПОФХ—пептид», во что вносят значительный вклад остатки лизина. Это также подтверждается расчетом среднего количества молекул, образующих водородные связи с пептидом, указывающим, что количество молекул фосфатидилхолина, образующих водородные связи, больше, чем таковых молекул воды (табл. 1) в поверхностно-связанном состоянии в случае обоих типов мембранных бислоев. Показано, что в обоих случаях остатки лизина присутствуют в середине липидного бислоя в гидрофобной области. Однако Lys4, Lys12 и Lys15 выступают из гидрофобной области, и пептид наклоняется после 100 нс моделирования динамики. Выступление Lys15 из гидрофобной области, как было показано, помогает предпочтительным взаимодействиям с липидами противоположного листка [38].

Профили структур мембранных бислоев по взаимодействию «пептид—бислоем». Погружение и проникновение пептидов ведет к нарушению структуры липидов. Для дальнейшего исследования различий во взаимодействии пептида с липидами, характеристика липидов проводилась на основе их близости к пептиду LL-III. Липид характеризуется как «образующий ассоциат» (ассоциированный), если он расположен на удалении менее 5 Å от пептида в любой временной точке моделирования. Все другие липиды характеризуются как «не образующие ассоциат» (неассоциированный) [20]. Количество ассоциированных и не ассоциированных липидов в каждом листке в различных траекториях приведено в табл. 2. Тенденция наличия ассоциированных и не ассоциированных липидов в каждом листке сходна для

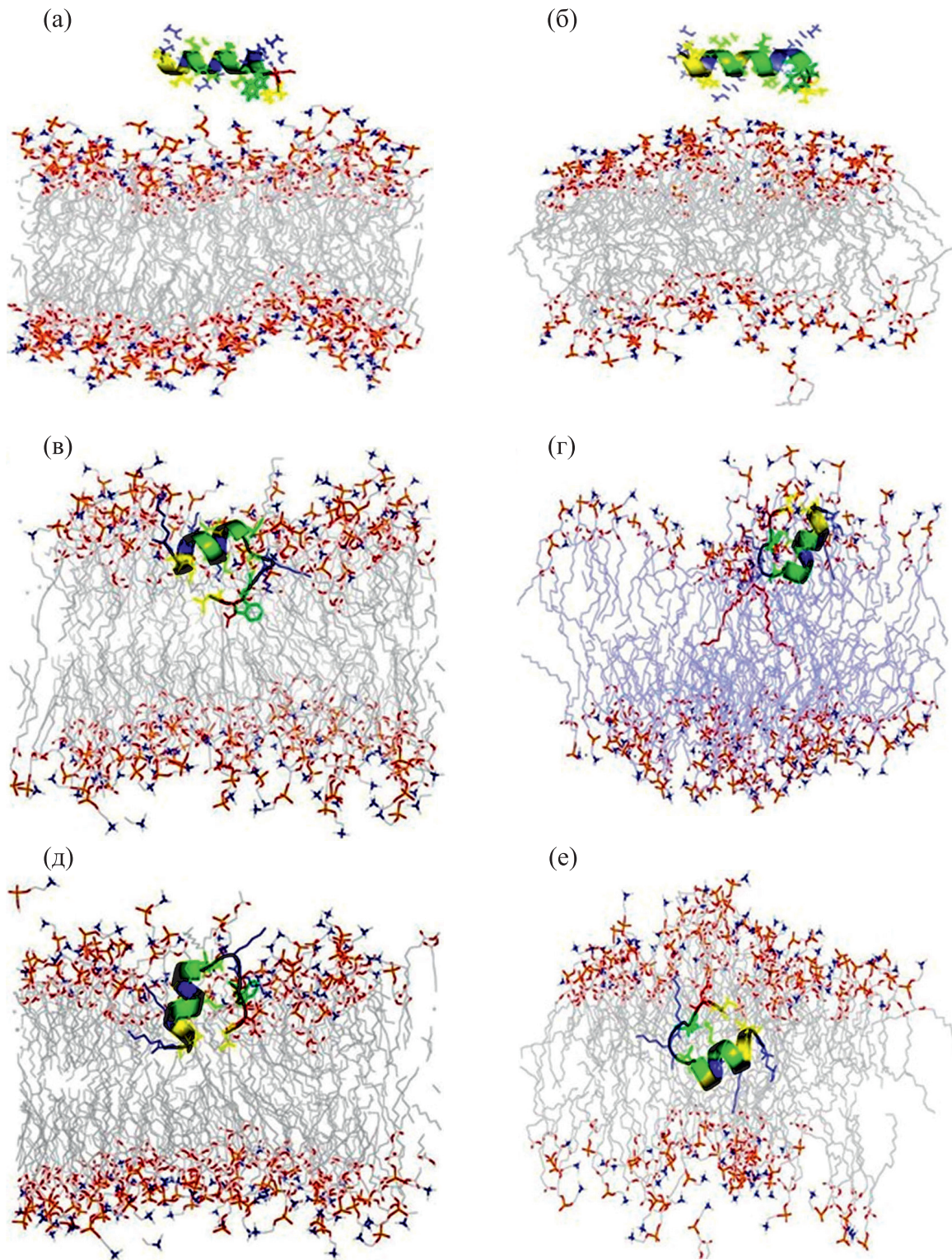


Рис. 2. Характерные снимки траекторий динамики систем поверхностно-связанного пептида в бислоях ДМФХ и ПОФХ: (а), (в), (д) – позиция пептида в точках 0, 50 и 100 нс на оси времени в бислое ДМФХ; (б), (г), (е) – позиция пептида в тех же временных точках в бислое ПОФХ. Пептид показан в ленточном виде и окрашен соответственно схеме спирального колеса. Молекулы воды удалены для наглядности.

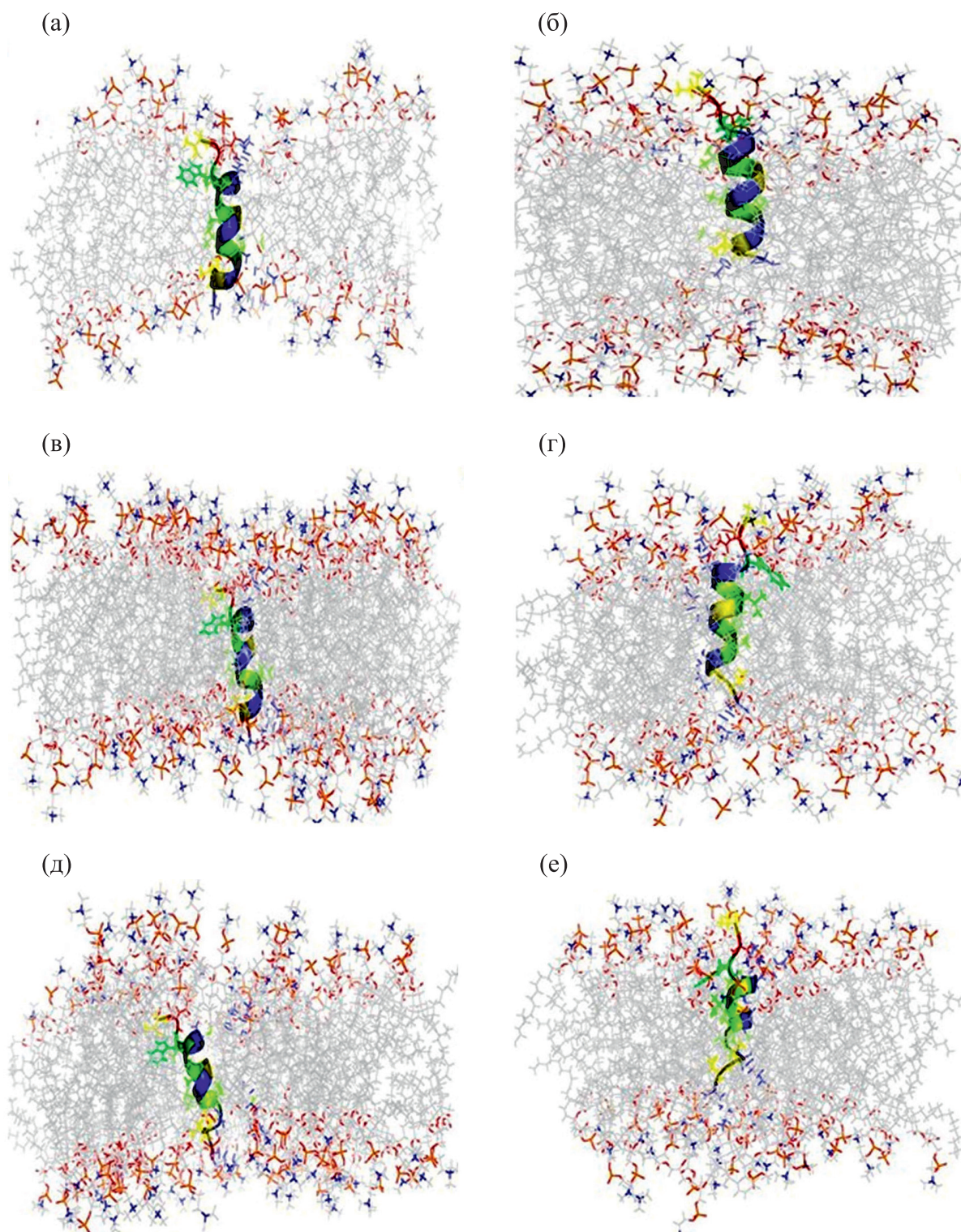


Рис. 3. Характерные снимки траекторий динамики транс-связанного пептида в бислоях ДМФХ и ПОФХ: (а), (в), (д) — положение пептида в точках 0, 50 и 100 нс на оси времени в бислое ДМФХ; (б), (г), (е) — позиция пептида в тех же временных точках в бислое ПОФХ. Пептид показан в ленточном виде и окрашен соответственно схеме спирального колеса. Молекулы воды удалены для наглядности.

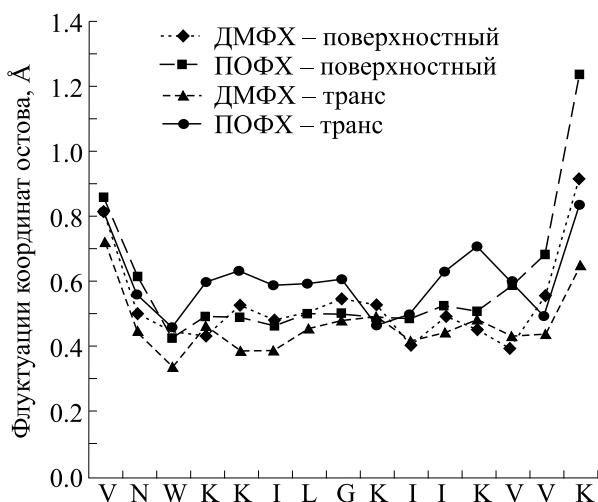


Рис. 4. Среднеквадратичные флуктуации координат остова в пересчете на остаток для поверхностно-связанного и транс-связанного пептида на траекториях соответствующих систем в течение 100 нс МД-расчета.

модельных липидных бислоев ДМФХ и ПОФХ. Ассоциированные липиды находятся ближе к центру бислоя в сравнении с неассоциированными. В целом липидные бислои демонстрируют присутствие локальных изгибов.

При моделировании пептидов в трансмембранном связанном состоянии количество ассоциированных липидов было больше, чем не ассоциированных, что неудивительно. Для понима-

ния общего влияния пептида на липидный бислой был построен график (рис. 5) позиций центров масс фосфатных групп липидов, образующих и не образующих ассоциаты, в течение 100 нс, причем центр масс пептида был взят за референсную точку (черный). Для пептидов в поверхностно-связанном и транс-связанном положениях в бислое ДМФХ нет явной разницы в относительном положении фосфатов ассоциированных и неассоциированных липидов в нижнем листке (рис. 5). Однако как в бислое ДМФХ, так и в бислое ПОФХ все другие листки демонстрируют выраженную разницу в позиции ассоциированных липидов относительно нормали к мембране по сравнению с неассоциированными липидами (рис. 5). Таким образом, из рис. 5 можно заключить, что ассоциированные липиды в верхнем листке ДМФХ и обоих листках ПОФХ ближе к центру масс пептида, чем неассоциированные липиды.

Рис. 6 показывает параметры упорядоченности миристиловых и пальмитиловых цепей ассоциированных липидов верхнего листка бислоя при моделировании пептида в поверхностно-связанном состоянии. Пальмитиловые цепи демонстрируют увеличение параметра упорядоченности в области головок липидов (номера атомов углерода 0–5), затем следует крутое снижение по следованию алкильных хвостов. Наиболее вероятно, что это изменение вызвано водородным связыванием остатков лизина с молекулами липидов, что уменьшает подвижность головок ли-

Таблица 1. Среднее количество молекул, образовавших водородные связи с пептидом

Бислои и позиция	Количество молекул воды, образующих водородные связи	Количество молекул ФХ, образующих водородные связи
ДМФХ – поверхностно-связанный	13.10 ± 0.14	21.80 ± 0.25
ПОФХ – поверхностно-связанный	14.30 ± 0.21	23.10 ± 0.30

Примечание. Все значения приведены как среднее ± стандартная ошибка среднего.

Таблица 2. Количество ассоциированных и неассоциированных липидов в системах мембранных бислоев

Бислои и позиция	Листок бислоя	Ассоциированные липиды	Неассоциированные липиды
ДМФХ – поверхностно-связанный	Верхний	36.20 ± 1.91	28.00 ± 0.58
	Нижний	27.00 ± 1.65	37.00 ± 1.52
ПОФХ – поверхностно-связанный	Верхний	38.00 ± 2.04	26.00 ± 0.94
	Нижний	29.00 ± 1.70	35.00 ± 1.70
ДМФХ – транс-связанный	Верхний	23.00 ± 1.85	41.00 ± 2.62
	Нижний	27.00 ± 1.65	37.00 ± 1.52
ПОФХ – транс-связанный	Верхний	25.00 ± 1.12	39.00 ± 2.15
	Нижний	29.00 ± 1.70	35.00 ± 1.70

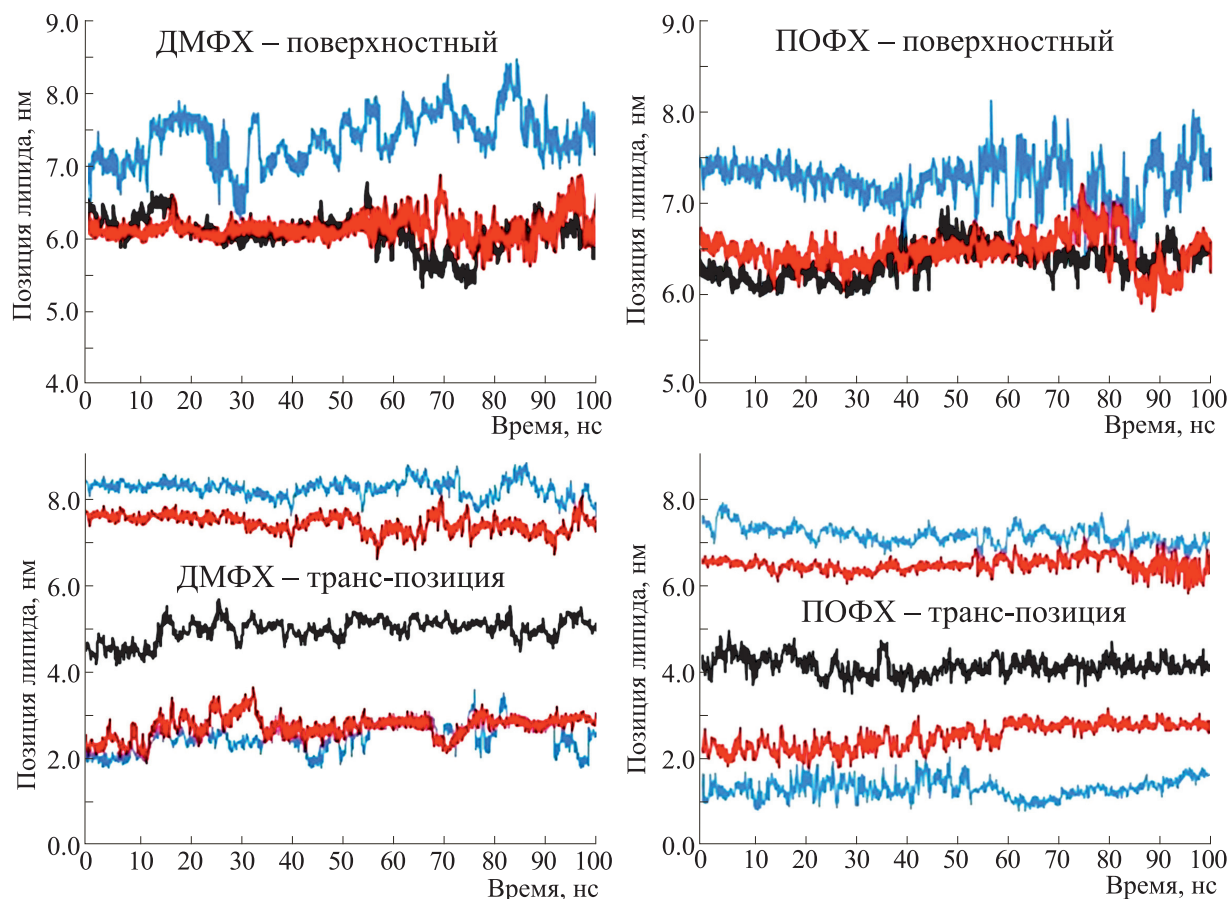


Рис. 5. Позиция ассоциированного (вблизи пептида, красный) и неассоциированного (вдали от пептида, синий) липидов в верхнем и нижнем листках бислоя на протяжении всего времени динамики. Позиция пептида, взятая как референсное значение, обозначена черным цветом.

пидов и таким образом увеличивает упорядоченность. Интересно, что в случае пептидов в поверхностно-связанном состоянии изначально имеется подъем степени упорядоченности атомов углерода миристиловых групп, но общая упорядоченность значительно снижена. В случае пептида в трансмембранной ориентации, пальмитиловые, олеиловые и миристиловые цепи ассоциированных липидов (рис. 6) показывают намного большую неупорядоченность, чем соответствующие липиды в поверхностно-связанном состоянии на тех же временных интервалах динамики. Также это воздействует на другие структурные характеристики бислоя, такие как толщину (рис. 7). Толщину мембраны анализировали по расчету проекции расстояния между центрами атомов фосфатов в двух листках бислоя на ось Z [39]. Наблюдалось, что снижение толщины мембраны для бислоя ДМФХ существенно выше в сравнении с бислоем ПОФХ. Также видно, что снижение более выражено, когда пептид находится в транс-связанном состоянии, чем когда он находится в поверхностно-связанном состоянии.

Поскольку пептид LL-III приобретает наклон после 100 нс расчета динамики в трансмембранной ориентации, мы также проанализировали угол наклона пептида в обеих моделях липидного бислоя. LL-III демонстрирует более выраженный наклон в бислое ДМФХ по сравнению с ПОФХ, что также может быть подтверждено из позиции и ориентации пептида в липидном бислое. Поскольку для точной количественной оценки угла наклона пептида в липидных бислоях требуется даже большее время, стандартные ошибки угла наклона в наших вычислениях довольно значительны. Расчеты МД показали, что ось спирали пептида LL-III наклонена под углом $11.80 \pm 3.9^\circ$ относительно нормали в бислоях ПОФХ, что можно сравнить с наклоном $19.60 \pm 5.6^\circ$ в бислоях ДМФХ (табл. 3). Толщина бислоя ДМФХ от карбонила до карбонила составляет около 23 \AA , в то время как ПОФХ имеет толщину 27 \AA , что может быть причиной более сильного наклона пептида в мембране из ДМФХ, чем из ПОФХ [40]. Интересно, что пептид LL-III почти сохранял свою ориентацию в бислое ПОФХ с малым углом наклона.

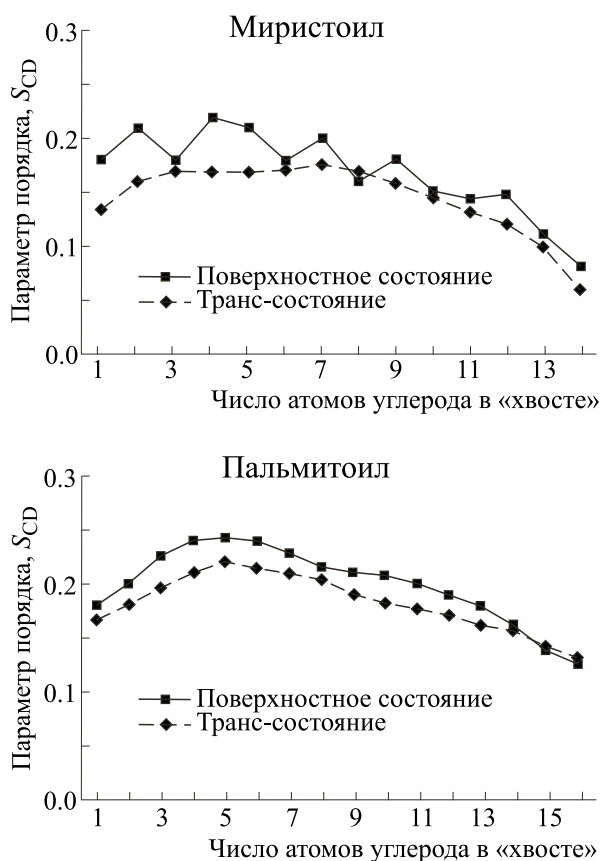


Рис. 6. Параметры упорядоченности липидных хвостов (вблизи пептида) верхнего листка бислоя в траекториях динамики пептида в поверхностно-связанном состоянии в липидных бислоях.

Профили свободных энергий взаимодействия «молекула–бислой». Для получения более детальной информации о взаимодействии пептидов в поверхностно-связанном состоянии в обоих типах бислоев нами с помощью утилиты `g_mmpbsa` были рассчитаны полные свободные энергии связывания и их различные слагаемые для взаимодействия пептида и модельного мембранного бислоя, перечисленные в табл. 5. Было обнаружено, что энергия связывания пептида LL-III в состоянии связывания с поверхностью липидного бислоя из ДМФХ (-124.41 ± 10.48 ккал/моль) была значительно выше, чем энергия связывания пептида в поверхностно-

Таблица 3. Средние углы наклона в липидных бислоях с пептидом LL-III в трансмембранной ориентации

Траектории (100 нс)	Угол наклона, град
ДМФХ	19.6 ± 5.6
ПОФХ	11.8 ± 3.9

Примечание. Все значения приведены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

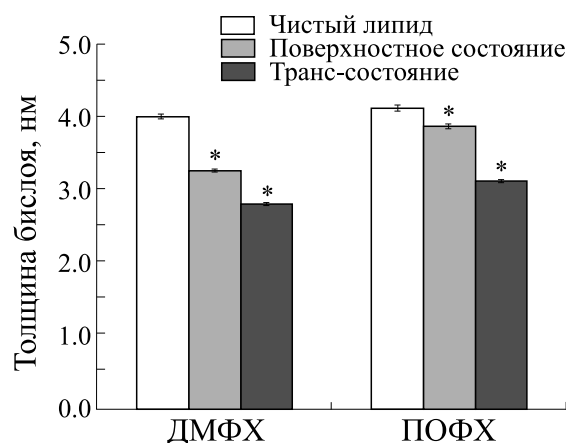


Рис. 7. Толщина бислоя в исследованных системах из ДМФХ и ПОФХ. Проводили по три независимых повторности расчетов. Все значения приведены как среднее \pm стандартная ошибка среднего; * – $p < 0.05$ относительно чистых бислоев ДМФХ/ПОФХ без пептида.

связанном состоянии с бислоем из ПОФХ (-103.42 ± 8.95 ккал/моль; табл. 4). Таким образом, пептид LL-III намного более стабилен в бислое ДМФХ, чем в бислое ПОФХ. Было обнаружено, что как ΔE_{ele} (-148.58 ± 11.15 ккал/моль), так и ΔE_{vdw} (-189.68 ± 14.35 ккал/моль) предпочтительны для стабильности пептида LL-III в поверхностно-связанном состоянии с липидным бислоем ДМФХ (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Многие антимикробные пептиды с катионными аминокислотными остатками функционируют по механизму взаимодействия с мембраной [41], включающему транслокацию через клеточные мембраны [42], разрушение липидного бислоя, текучесть модельных мембранных везикул [43]. Активность АМП обусловлена амфифильностью их последовательностей, и таким образом они приобретают хорошо упорядоченную α -спиральную структуру на границе мембраны [44]. Точный механизм, по которому пептид LL-III проникает в мембрану, еще предстоит выяснить. Понимание механизма взаимодействия АМП с мембраной на молекулярном уровне интересно с точки зрения биофизических задач. Поскольку активность LL-III может регулироваться взаимодействием с поверхностью раздела фаз «липид–вода», как и в случае других сшитых АМП, стоит продолжать исследования молекулярного механизма взаимодействия и переориентации этих пептидов в липидных бислоях. В данной работе для определения сложных взаимодействий между пептидом LL-III и липидными бислоями были

Таблица 4. Свободные энергии связывания в системах LL-III-мембрана, рассчитанные методом ММ/PBSA

Энергия (ккал/моль)	ДМФХ – поверхностно-связанный	ПОФХ – поверхностно-связанный
ΔE_{ele}	-148.58 ± 11.15	-121.18 ± 10.85
ΔE_{vdw}	-189.68 ± 14.35	-164.57 ± 12.62
ΔE_{gas}	-338.26 ± 15.40	-285.75 ± 14.06
ΔG_{nps}	-28.63 ± 4.28	-32.59 ± 5.09
ΔG_{ps}	242.48 ± 13.53	214.92 ± 12.12
ΔG_{sol}	213.85 ± 11.16	182.33 ± 10.75
$\Delta G_{\text{binding}}$	-124.41 ± 10.48	-103.42 ± 8.95

Примечание. Все значения приведены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

применены расчеты траекторий МД. Для этого было проведено четыре различных расчета: LL-III в поверхностном и транс-связанном состоянии с липидными бислоями из ПОФХ и ДМФХ, с длительностью траекторий по 100 нс. В частности, определялся характер взаимодействия пептида с мембраной, а также структура и сворачивание пептида в мембранных бислоях.

Тем не менее, поскольку для LL-III показана способность сильно взаимодействовать с мембранами, он не проникал насквозь через бислои, а его локализация ограничивалась верхним монослоем липида в поверхностно-связанном состоянии в случае бислоя из ДМФХ. Такой расчет противоречит предыдущим исследованиям АМП [45, 46]. Однако, например, моделирование таких АМП, как магаинин и меллитин, показало образование неупорядоченных тороидальных пор в бислоях из фосфатидилхолинов в течение 10 нс [45, 46]. АМП осуществляют образование пор через промежуточное состояние, при котором глубоко погруженный пептид образует сильные взаимодействия с молекулами растворителя и головками липидов, в результате чего образуется пора. Таким образом, результаты МД-расчетов для транс-погруженного состояния показывают, что стабильность пептида LL-III в наблюдаемой позиции и ориентации может быть вызвана межмолекулярными взаимодействиями остатков лизина с полярными участками головок липидов мембранных бислоев. Сходные взаимодействия также ответственны за заякоривание пептида LL-III в состоянии, связанном с поверхностью, в обоих типах липидных бислоев. Подобная тенденция согласуется с недавней работой [47], в которой было показано, что остатки лизина выступают из середины бислоя к доступному противоположному листку. Если принимать во внимание поведение связанного с поверхностью состояния пептида в ПОФХ, то более высокая частота взаимодей-

ствия может быть вызвана тем, что олеильный хвост бислоя ПОФХ имеет меньший параметр упорядоченности, что приводит к более высокой проницаемости и меньшим ограничениям на проникновение. В случае ДМФХ миристиловые хвосты короче, чем олеиловые и пальмитиловые, что ведет к уменьшению толщины, однако, поскольку эти хвосты полностью насыщены, параметр упорядоченности ДМФХ оказывается выше ПОФХ, что ведет к более упорядоченной структуре и большим затруднениям проникновения через мембрану.

Пептид LL-III в поверхностно-связанном состоянии демонстрировал более высокую дестабилизацию вторичной структуры, чем пептид в транс-связанном состоянии. Это согласуется с предыдущими теоретическими [48] и экспериментальными исследованиями *in vitro* [49], которые демонстрировали, что стабильность вторичной структуры зависит от способности боковых цепей закрывать водородные связи остова. Вдобавок чрезвычайно важно сравнивать структурные флуктуации структуры, усредненной по времени, без начальной структуры для каждой траектории. Согласно среднеквадратичным флуктуациям координат атомов по траекториям, пептид ясно демонстрирует большую структурную подвижность в бислое ПОФХ, чем в бислое ДМФХ. Амплитуда среднеквадратичных флуктуаций выше и составляет от 0.3 до 1.2 Å. В целом значения среднеквадратичных флуктуаций подтверждают, что пептид более стабилен в окружении ДМФХ, чем в окружении ПОФХ, в котором наблюдается неупорядоченное расположение остатков лизина пептида.

Когда пептид переходит в транс-позицию, большое индольное кольцо гидрофобного остатка Trp3 медленно проникает в район гидрофобного хвоста липида. В то же время, положительно заряженная боковая цепь Lys4 все еще взаимо-

действует с головкой липида, что нарушает взаимодействие типа катион- π между остатками Trp3 и Lys4. Такие характеристики пептида LL-III могут адекватно объяснить образование водородных связей пептидом LL-III. Эти результаты подтверждают данные предыдущих расчетов с другими АМП, такими, как гедистин [50] или магаинин-2, чьи взаимодействия с бислоем ПОФХ были рассчитаны на траектории 20 нс [51]. Остатки лизина могут занимать границу раздела фаз «липид–вода» как наиболее термодинамически предпочтительную позицию. Обнаружено, что боковые группы лизина занимают поверхность раздела фаз, в то время как полярные остатки тирозина обладают селективностью к участку вблизи карбониллов липидов [52]. Таким образом, мы можем предположить механизм, по которому пептид погружается в модельные липидные бислои. N-концевой остаток лизина пептида LL-III в изначальном поверхностно-связанном состоянии может высвободиться из верхнего листка и погружаться во внутренний листок, переходя в трансмембранное состояние [53]. Однако для того, чтобы окончательно делать такой вывод, необходимо провести более детальный анализ. Более того, другие остатки лизина и тирозина пептида также вносят вклад, представляя водородные связи для погружения пептида в бислои мембраны [53]. Результаты нашей работы согласуются с предыдущим исследованием, проведенным с мембрано-активным антимикробным пептидом в различных липидных бислоях [53]. Далее, тенденция наличия молекул липида, входящих и не входящих в ассоциат с белком, в обеих липидных бислоиных системах отражает, что липиды, стремящиеся в ассоциат, находятся ближе к центру бислоя, чем не стремящиеся. В целом липидные бислои демонстрируют наличие локальных изгибов.

Экспериментальные и вычислительные исследования показали, что АМП, включая магаинин, мелитин и другие, нарушают позицию углеродных атомов липидных хвостов как в поверхностном состоянии, так и в погруженном в мембрану [45]. Относительную упорядоченность липидных хвостов можно получить из параметра упорядоченности $S_{CD} = 3/2(\cos^2\theta - 1)$, где θ – угол между связью CD и нормалью к мембране [54]. Общая тенденция, полученная из расчетов упорядоченности, была такова, что у входящего во взаимодействие липида параметр упорядоченности уменьшается с течением траектории более сильно, когда пептид находится в транс-связанном состоянии, чем когда он находится в поверхностно-связанном состоянии. Мы можем сделать вывод, что ассоциированные липиды более возмущены, когда пептид находится в трансмембранной ориентации, чем когда он в поверхностно-

связанном состоянии, для обеих моделей бислоя, а это означает большую дестабилизацию мембранного бислоя. Вышеприведенные результаты расчетов согласуются с ранними вычислениями, проведенными на MB21 и укороченном дермисептине S3 [55]. Более того, наблюдаемое утоньшение липидной мембраны из-за пептида согласуется и с другими расчетами [56, 57]. Наивысшая степень деформации структуры наблюдалась в бислое ДМФХ, в котором толщина мембраны уменьшалась по мере приближения к пептиду, доказывая нарушение структуры мембраны пептидом [53].

Тренды наклонов в расчетах выражено согласуются с другими расчетными и экспериментальными данными [58]. Стоит отметить, что гидрофобное несоответствие может значительно влиять на мембранную ориентацию, наклон, конформацию пептида [38, 59, 60]. Более ранние исследования также показали, что АМП, такие как мелитин, в бислоях ДМФХ наклонены на угол до 9° в течение нескольких нс во время моделирования динамики [55]. Однако в нашем случае более высокие углы наклона пептидов относятся к более длительным временам траекторий. Эти результаты указывают на значительно больший наклон в бислоях ДМФХ, чем в бислоях ПОФХ, что, вероятно, вызвано большей гидрофобной шириной бислоев ПОФХ, чем бислоев ДМФХ, и, следовательно, неравенство между гидрофобной длиной LL-III и гидрофобной шириной бислоя больше в случае бислоев ДМФХ [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы наблюдали амплитуду изменений, происходящих при связывании и погружении пептида LL-III в мембранные бислои. Наши результаты убедительно показали более значительный наклон в бислоях ДМФХ, что согласуется с более ранним вычислительным исследованием, указывавшим на сходные изменения углов пептидов за 100 нс траектории [51]. Результаты определения свободной энергии также согласуются с более ранними данными по пептидам – производным бета-дефензина человека [37]. Мы полагаем, что наши результаты обеспечат весомое основание для дальнейших экспериментальных исследований пептида LL-III, а их комбинация позволит прояснить многие вопросы структуры, сворачивания и мембранной ассоциации.

ВЫВОДЫ

Мы применили метод молекулярной динамики для идентификации критически важных взаимодействий между мощным АМП LL-III и мембранными бислоями, а также для исследования

возможного механизма антимикробного действия. Наши результаты показывают, что:

1) остатки лизина пептида LL-III образуют водородные связи с атомами кислорода головок липидов в течение всего времени расчета траектории динамики;

2) пептид LL-III, будучи ориентирован на границе раздела фаз «липид–вода», связывался с головками липидов;

3) когда пептид был ориентирован трансмембранно, он оставался в таком состоянии в течение всего времени расчета, что может быть вызвано закориванием остатков лизина на наружном листке липидного бислоя;

4) ориентация пептида в бислоях также приводит к дестабилизации структуры бислоя, на что указывали параметры порядка упаковки липидных хвостов;

5) ориентация пептида в ДМФХ приводила к большему углу наклона, чем в бислое ПОФХ.

Таким образом, данное исследование внесло вклад в понимание влияния толщины бислоя на характер взаимодействия АМП с мембранами. Однако необходимы дальнейшие экспериментальные исследования для выявления механизма дестабилизации мембран из смешанных липидов пептидом LL-III.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Совет научных и промышленных исследований (Нью-Дели, Индия) за предоставление финансовой поддержки постдокторанту С. Сахе, а также Индийский технологический институт Гандинагара – за предоставленные вычислительные мощности.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

ЭТИЧЕСКАЯ ДЕКЛАРАЦИЯ

Данная статья не содержит результатов каких-либо исследований, проведенных на животных кем-либо из авторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. Zasloff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **84**, 5449 (1987).
2. A. Catte, M. R. Wilson, M. Walker, et al., Soft Matter **14**, 2796 (2018).
3. H. W. Huang, Biochemistry **39**, 8347 (2000).
4. K. J. Hallock, D. K. Lee, and A. Ramamoorthy, Biophys. J. **84**, 3052 (2003).
5. W. F. D. Bennett, C. K. Hong, Y. Wang, et al., J. Chem. Theor. Comput. **12**, 4524 (2016).
6. D. E. Schlamadinger, Y. Wang, J. A. McCammon, et al., J. Phys. Chem. B. **116**, 10600 (2012).
7. J. L. Velasco-Bolom, G. Corzo, and R. Garduño-Juárez, J. Biomol. Struct. Dyn. **36**, 2070 (2018).
8. M. Hong and Y. Su, Prot. Sci. **20**, 641 (2011).
9. L. Liu, Y. Fang, and J. Wu, Biochim. Biophys. Acta **1828**, 2479 (2018).
10. V. Cerovsky, M. Budesnsk, O. Hovorka, et al., ChemBioChem **10**, 2089 (2009).
11. S. Bandyopadhyay, M. Lee, J. Sivaraman, et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. **430**, 1 (2013).
12. B. Mishra, A. Basu, R. Saravanan, et al., RSC Adv. **3**, 9534 (2013).
13. Vaňková, P. Kašparová, N. Dulíčková, et al., FEMS Yeast Res. **20**, foaa020 (2020).
14. B. Mishra, A. Basu, R. R. Y. Chua, et al., J. Mater. Chem. B **2**, 1706 (2014).
15. A. Tanhaeian, M. B. H. Najafi, P. Rahnama, et al., Int. J. Pep. Res. Ther. **26**, 1021 (2020).
16. T. Hansson, C. Oostenbrink, and W. van Gunsteren, Curr. Opin. Struct. Biol. **12**, 190 (2002).
17. K. Hristova, C. E. Dempsey, and S. H. White, Biophys. J. **80**, 801 (2001).
18. T. Wiprecht, O. Apostolov, and J. Seelig, Biophys. Chem. **85**, 187 (2000).
19. K. J. Hallock, D. K. Lee, J. Omnaas, et al., Biophys. J. **83**, 1004 (2002).
20. B. S. Perrin and R. W. Pastor, Biophys. J. **111**, 1248 (2016).
21. C. Neale, C. Madill, S. Rauscher, et al., J. Chem. Theor. Comput. **9**, 3686 (2013).
22. A. Grau-Campistany, E. Strandberg, P. Wadhvani, et al., Sci. Rep. **5**, 09388 (2015).
23. A. Tuerkova, I. Kabelka, T. Králová, et al., Elife **9**, e47946 (2020).
24. Y. Hu, S. K. Sinha, and S. Patel, Langmuir **31**, 6615 (2015).
25. W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, J. Mol. Graph. **14**, 33 (1996).
26. C. M. Shepherd, H. J. Vogel, and D. P. Tieleman, Biochem. J. **370**, 233 (2003).
27. A. Ramamoorthy, S. K. Kandasamy, D. K. Lee, et al., Biochemistry **46**, 965 (2007).
28. K. J. Bowers, E. Chow, H. Xu, et al., in Proc. ACM/IEEE Conf. on Supercomputing (SC06) (Association for Computing Machinery, Tampa, FL, 2006).
29. A. Maciejewski, M. Pasenkiewicz-Gierula, O. Cramariuc, et al., J. Phys. Chem. B. **118**, 4571 (2014).

30. J. Aittoniemi, H. de Wet, F. M. Ashcroft, et al., PLoS Comput. Biol. **6**, e1000762 (2010).
31. G. Bussi, D. Donadio, and M. Parrinello, J. Chem. Phys. **126**, 014101 (2007).
32. S. Nosé, J. Chem. Phys. **81**, 511 (1984).
33. W. G. Hoover, Phys. Rev. A **31**, 1695 (1985).
34. M. Parrinello and A. Rahman, J. App. Phys. **52**, 7182 (1981).
35. U. Essmann, L. Perera, M. L. Berkowitz, et al., J. Chem. Phys. **103**, 8577 (1995).
36. P. A. Kollman, I. Massova, C. Reyes, et al., Acc. Chem. Res. **33**, 889 (2000).
37. M. D. Ghafari, I. Rasooli, and K. Khajeh, Int. J. Pept. Res. Ther. **26**, 2039 (2020).
38. U. Harzer and B. Bechinger, Biochemistry **39**, 13106 (2000).
39. S. Saha, E. Panieri, S. Suzen, and L. Saso, J. Membr. Biol. **253**, 57 (2020).
40. M. Bak, R. Schultz, T. Vosegaard, et al., J. Magn. Reson. **154**, 28 (2002).
41. L. T. Nguyen, E. F. Haney, and H. J. Vogel, Trends Biotechnol. **29**, 464 (2011).
42. M. Zorko, and U. Langel, Adv. Drug Delivery Rev. **57**, 529 (2005).
43. W. C. Wimley, and K. Hristova, J. Membr. Biol. **239**, 27 (2011).
44. L. Yang, T. A. Harroun, T. M. Weiss, et al., Biophys. J. **81**, 1475 (2001).
45. D. Sengupta, H. Leontiadou, A. E. Mark, et al., Biophys. Acta Biomembr. **1778**, 2308 (2008).
46. A. D. Cirac, G. Moiset, J. T. Mika, et al., Biophys. J. **100**, 2422 (2011).
47. J. A. Killian and G. von Heijne, Trends Biol. Sci. **25**, 429 (2000).
48. A. E. Garcia and K. Y. Sanbonmatsu, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99**, 2782 (2002).
49. T. Ghosh, S. Garde, and A. E. Garcia, Biophys. J. **85**, 3187 (2003).
50. G. Xu, M. Wu, L. Wang, et al., Biochim. Biophys. Acta **1788**, 2497 (2009).
51. S. K. Kandasamy and R. G. Larson, Biophys. J. **90**, 2326 (2006).
52. K. M. Sanchez, G. Kang, B. Wu, et al., Biophys. J. **100**, 2121 (2011).
53. M. Jafari, F. Mehrnejad, and F. Doustdar, PLoS One **10**, e0187216 (2017).
54. J. A. Lundbæk, S. A. Collingwood, and O. S. Andersen, J. Roy. Soc. Interface **7**, 373 (2010).
55. C. M. Shepherd, H. J. Vogel, and D. P. Tieleman, Biochem. J. **370**, 233 (2003).
56. K. J. Hallock, D-K. Lee, J. Omnaas, et al., Biophys. J. **83**, 1004 (2002).
57. A. Catte, M. R. Wilson, M. Walker et al., Soft Mat. **14**, 2796 (2018).
58. M. Bachar and O. M. Becker, Biophys. J. **78**, 1359 (2000).
59. T. M. Weiss, P. C. van der Wel, J. A. Killian, et al., Biophys. J. **84**, 379 (2003).
60. S. H. Park and S. J. Opella, J. Mol. Biol. **350**, 310 (2005).

Association of Antimicrobial Peptide Lasioglossin-III with Model Lipid Bilayers

S. Saha, P. Ratrey, and A. Mishra

Department of Materials Science and Engineering, Indian Institute of Technology Gandhinagar, Palaj, Gandhinagar, Gujarat, India

Lasioglossin-III is a small cationic peptide identified in the venom of the *Lasioglossum laticeps* and is reported to have a potent antimicrobial property with low hemolytic activity. Presently, we explore the nature of interactions and permeability of lasioglossin-III in different orientations to lipid bilayers using molecular dynamics simulations. We performed molecular dynamics simulations of lasioglossin-III at the surface and interior of the pure DMPC and 1-palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine bilayers to determine the membrane-peptide interactions and their effects. lasioglossin-III was found to interact with both the lipid bilayers at different rates and showed destabilization at the membrane/ water interface with respect to starting state of the peptide. These results suggest the specific interactions between the lysine residues of the peptide with the lipid head group regions, responsible for the overall stability of the peptide in the lipid bilayers. In addition, the results indicate a consistently higher tilt and binding free energy with a decrease in bilayer thickness of DMPC bilayers than in the 1-palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine bilayers due to the peptide insertion.

Keywords: lasioglossin-III, POPC, DMPC, molecular dynamics simulations