

SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS DE MEMBRANAS BACTERIANAS EM PRESENÇA DO CATION Al^{3+} USADO COMO ADJUVANTE EM VACINAS

Andresa Messias da Silva¹; Thereza Amélia Soares da Silva²

¹Estudante do Curso de Química Bacharelado - CCEN – UFPE; E-mail: andresamessias4@gmail.com,
²Docente/pesquisador do Depto de Química Fundamental – CCEN – UFPE. E-mail: thereza.soares@ufpe.br.

Sumário: Neste trabalho realizamos simulações computacionais de dinâmica molecular de bicamadas de Lipídio A hexaacilado (mono- e difosforilado) de *Escherichia coli* tendo o íon Al^{3+} como principal contraíon e com diferentes forças iônicas. Esse sistema tem grande relevância como adjuvante no desenvolvimento de vacinas e que ainda carece de mais informações microscópicas sobre sua estrutura e dinâmica. Evidencia-se o papel do íon alumínio como elemento estrutural importante na estrutura e dinâmica de bicamadas lipídicas de Lipídio A.

Palavras-chave: bicamadas lipídicas; lipídio A; simulação computacional;

INTRODUÇÃO

Neste trabalho utilizamos simulações computacionais de dinâmica molecular, para caracterizar a dinâmica, funcionalidade e estrutura de membranas de Lipídio A de *Escherichia coli* utilizando alumínio como contraíon. Lipopolissacarídeos (LPS) é o principal componente da membrana externa de bactérias gram-negativas e conhecido como importante ativador da resposta imunológica. Essas bactérias respondem a variações de condições ambientais através de modificações estruturais do LPS contribuindo para à integridade estrutural da bactéria e protegendo sua membrana de certos tipos de ataque químico. O LPS é constituído de uma cadeia de antígenos, um núcleo de oligossacarídeos e o lipídio A (endotoxina). O lipídio A é um dissacarídeo fosforilado que possui um número variável de cadeias aciladas sendo o principal responsável pela atividade endotóxica da bactéria. [1, 2].

É conhecido que modificações nas condições físico-químicas na estrutura das membranas de LPS provocam modificações estruturais na sua forma de agregação provocando transições de lamelar para não-lamelar. Este projeto visa estudar o efeito que íons trivalentes (Al^{3+}) provocam na estrutura de bicamadas de lipídio A hexaacilado (mono- e difosforilado) de *E. coli*. O íon Al^{3+} é comumente usado como coadjuvante de vacinas.[3,4] na forma de hidróxido, fosfato ou hidroxifosfato. No entanto, estudos da estrutura e dinâmica de bicamadas de lipídio A na presença do íon alumínio ainda não foram realizados.

Neste trabalho realizamos simulações de dinâmica molecular de bicamadas de lipídio A de *E. coli* hexaacilada (mono- e difosforilada), hidratadas e em três regimes de concentração iônica, a saber: (a) concentração iônica zero – apenas íons Al^{3+} suficientes para garantir a eletroneutralidade do sistema; (b) concentração iônica de 150mM de NaCl e (c) concentração iônica de 150mM de $AlCl_3$.

MATERIAIS E MÉTODOS

As simulações e análises dos sistemas estudados foram realizadas com o programa GROMACS 4.5.x [5]. Utilizou-se também ferramentas computacionais de análise desenvolvidas em nosso grupo afim de estudar o polimorfismo dos sistemas não-lamelares.

Utilizou-se parâmetros disponíveis na literatura para o íon Al^{3+} [6], além de uma extensão do campo de força GROMOS53A6 para o lipídio A [7]. A construção das bicamadas, solvatação, adição de íons foram realizadas utilizando as ferramentas disponíveis no programa GROMACS. Cada bicamada de Lipídio A (mono- e difosforilada) foi simulada em três diferentes situações de força iônica: (1) força iônica zero; 2) força iônica de 150 mM com o sal NaCl; e (3) força iônica de 150 mM com o sal $AlCl_3$. Após a construção das caixas de simulação, submeteu-se os sistemas minimizações de energia utilizando o algoritmo de *steepest descent*. O passo seguinte à minimização de estrutura foi a simulação por dinâmica molecular do sistema com o número de partículas, temperatura (300K) e pressão constante (1 atm) no ensemble NpT . Adotou-se um esquema de acoplamento semiisotrópico para pressão. A temperatura e a pressão do sistema foram controladas com uso dos algoritmos de Berendsen. As simulações se estenderam por um tempo suficiente longo para os sistemas atingirem a sua fase equilibrada (onde as propriedades energéticas e estruturais do sistema não variam mais com o tempo). Após atingido esse estágio, as médias das propriedades de interesse foram calculadas. Nas simulações feitas, foram utilizados os últimos 70 ns de trajetória equilibrada de cada simulação para análise de propriedades estruturais e dinâmicas dos sistemas.

RESULTADOS

As estruturas finais das membranas simuladas estão apresentadas na Figura 1. De maneira geral, as membranas de Lipídio A monofosforilado mantiveram a sua estrutura lamelar ao longo da simulação, ao contrário das membranas contendo Lipídio A difosforilado.

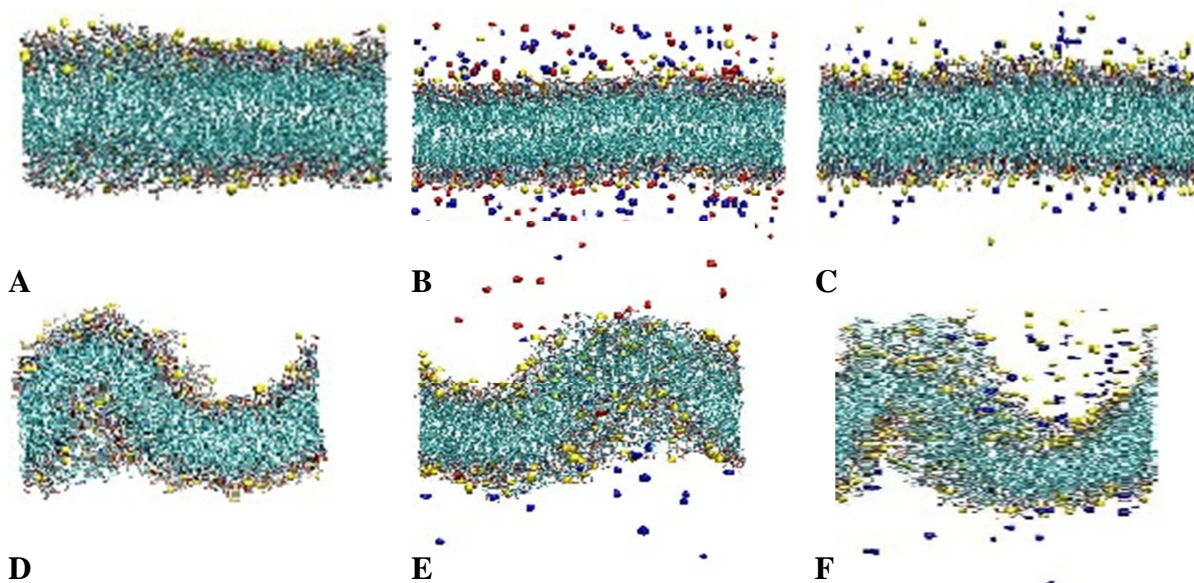


Figura 1: Estruturas finais das dos sistemas simulados, a saber (A) LpA_mph_0mM, (B) LpA_mph_0mM_150mM_NaCl, (C) LpA_mph_0mM_150mM_ $AlCl_3$ (D) LpA_dph_0mM, (E) LpA_dph_0mM_150mM_NaCl, (F) LpA_mph_0mM_150mM_ $AlCl_3$. Os íons alumínio, sódio e cloro estão representados por esferas amarelas, vermelhas azuis, respectivamente. As moléculas de água do sistema foram omitidas por clareza.

De maneira qualitativa, o fator predominante para a mudança na forma de agregação da membrana encontra-se na estrutura química da membrana. As simulações na presença de força iônica dos dois diferentes sais não influenciaram no polimorfismo assumido pelas membranas.

Estimamos a área por cabeça lipídica e conseguimos através dessa propriedade estimar a convergência de nossas simulações e o estado e forma de agregação da membrana. Os sistemas não-lamelares apresentaram uma queda no valor da propriedade, indicando a transformação estrutural do sistema.

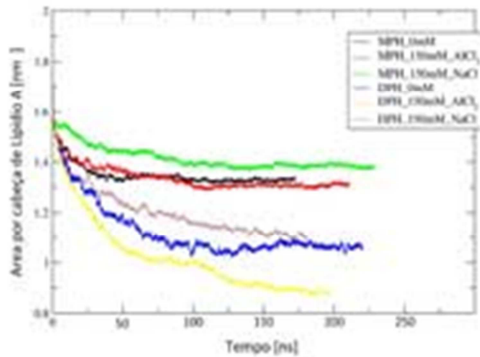


Fig 2. Área por cabeça de Lipídio A

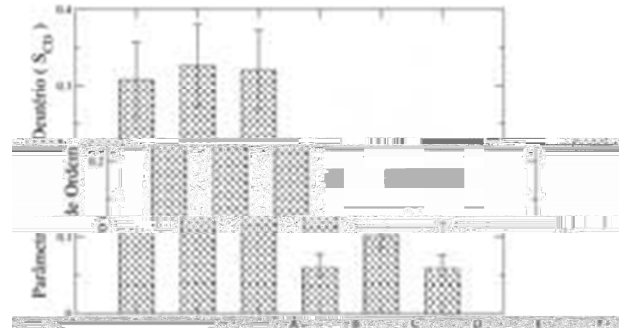


Fig 3. Parâmetro de ordem para as cadeias aciladas das membranas

Os parâmetros de ordem de deutério das cadeias aciladas fornecem informações sobre o grau de organização das cadeias da membrana. Quanto menor o valor da propriedade, mais desordenada encontram-se as cadeias aciladas (Fig 3). A área por cabeça está inversamente relacionada aos parâmetros de ordem das cadeias aciladas. A presença de íons sódio induzem um aumento do valor da área por cabeça nas membranas. A análise da distribuição de densidade de grupos químicos ao longo do eixo z da membrana é um excelente indicativo da organização estrutural das bicamadas. Os resultados estão apresentador na Figura 4 a seguir.

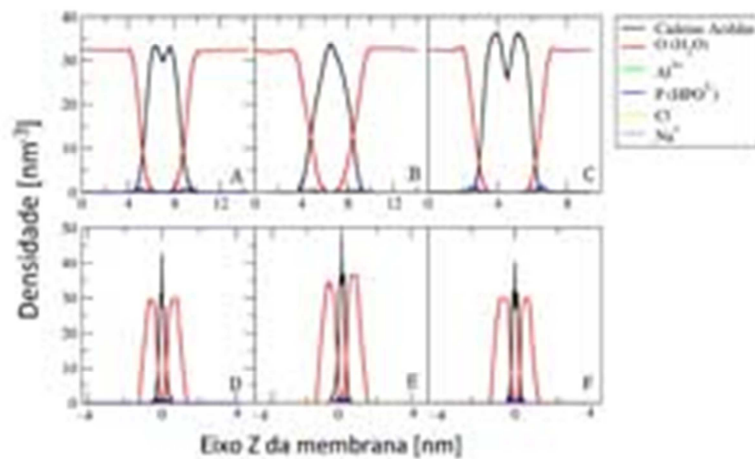


Figura 4: Parâmetro de ordem para as cadeias aciladas das membranas de Lipídio A.

Uma tendência observada é que os sistemas com força iônica proveniente do sal $AlCl_3$ apresentam um grau maior de ordenamento em ambos os fenotipos. Possivelmente o íon alumínio desempenha um papel estrutural de mantenedor da estrutura da bicamada.

DISCUSSÃO

Neste trabalho estudamos qual o papel estrutural que o íon alumínio provoca em bicamadas lipídicas de Lipídio A hexaacilado de *E. coli*. O fator determinante para a forma

de agregação deve-se a estrutura primária do Lipídio. As membranas difosforiladas apresentam forma de agregação não-lamelar contrastando com as membranas monofosforiladas que permanecem com estrutura lamelar ao longo da simulação. As simulações envolvendo força iônica não alteram a forma de agregação da membrana, mas alteram o grau de hidratação, fluidez e estruturação das membranas. Independente do fenótipo, as membranas simuladas com o sal AlCl_3 , apresentam um maior grau de hidratação na região hidrofóbica e maior interlace entre as cadeias de cada camada. Através do cálculo dos números de coordenação dos íons em cada sistemas, temos que o alumínio apresenta número de coordenação em torno de seis.

CONCLUSÕES

As simulações mostraram que a estrutura química primária do Lipídio A determina a sua forma de agregação na presença de íons alumínio (membranas difosforiladas tem forma de agregação não-lamelar, enquanto que as membranas monofosforiladas mantém a sua estrutura lamelar). As simulações com força iônica não influenciaram no polimorfismo da membrana, mas mostraram-se importante para definir propriedades estruturais e dinâmicas do sistema. O AlCl_3 tem papel semelhante nas membranas mono- e difosforiladas provocando um aumento no grau de hidratação do interior da membrana e uma maior fluidez nas cadeias aciladas do Lipídio A.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq e aos meus orientadores, Thereza A. Soares da Silva e Frederico José De S. Pontes, pelo apoio na realização de todo o projeto.

REFERÊNCIAS

1. Aderem, A.; Ulevitch, R. J. *Nature* **2000**, *406*, 782-787
2. Brandenburg, K.; Koch, M. H.; Seydel, U. *J. Struct. Biol.* **1990**, *105*, 11-21.
3. Marrack, P.; McKee, A. S.; Munks, M. W. *Nature reviews. Immunology* **2009**, *9*, 287-93.
4. Hogenesch, H.; *Front. Immunol.* **2013**, *3*, 1.
5. Pronk S.; Páll, S.; Schulz, R.; Larsson, P.; Bjelkmar, P.; Apostolov, R.; Shirts, M.; Smith, J.; Kasson, P.; van der Spoel, D.; Hess, B.; Lindahl, E. *Bioinformatics* **2013**, *29*, 845-854.
6. Faro, T. M. C.; Thim, G. P.; Skaf, M.S.; *J. Chem. Phys.* **2010**, *132*, 114509.
7. Pontes FJS, Rusu VH, Soares TA, Lins RD (2012)