

GA-K4 андекапептидийн усан болон липид орчин дахь молекул динамикийн судалгаа

Г.Даваадулам¹, Ө.Энэрэлт², М.Цогбадрах^{2,*}

¹ ШУА-ийн Физик, Технологийн Хүрээлэн

² МУИС-ийн ШУС-ийн Биологийн тэнхим

Энэ ажлаар микроб, хавдрын эсрэг идэвхтэй GA-K4 андекапептидийн гурав хэмжээст бүтэц, түүний ус болон липидийн орчинтой (POPC, POPG) харилцан үйлчлэх шинж чанарыг молекул динамик симуляцийн аргаар судлав. Туршлагын үр дүнд GA-K4 андекапептид нь усан орчинд тодорхой бус бүтэцтэй боловч липид орчинд конформацийн хүчтэй өөрчлөлтөнд орж, хеликс бүтцийг үүсгэдэг ба липидийн төрлөөс шалтгаалж хеликс бүтцийн эзлэх хувь хамаарах бөгөөд POPG липидтэй сонгомлоор харилцан үйлчилж, бүтцээ өөрчилж, түүгээр үүсгэгдсэн хиймэл мембранаар нэвтрэн мембраны муруйлт үүсгэдэг болохыг тогтоов.

Түлхүүр үг: микробын эсрэг пептид, гурав хэмжээст бүтэц, липид, хеликс, мембран.

ОРШИЛ

1940-өөд оноос хойш өргөнөөр хэрэглэгдэж буй антибиотикүүдэд тэсвэртэй микроб бий болсноор тэдгээрийг устгах чадвартай шинэ антибиотикийн хэрэгцээ гарч ирсэн юм. Төрөлхийн дархлааны системд нь чухал үүрэг гүйцэтгэдэг, түүний генээр кодлогддог микробын эсрэг үйлчлэлтэй пептид амьд организмд нийлэгждэг бөгөөд түүнийг антибиотикийн шинэ төрөл болгон гарган авахад ашиглах нь ихээхэн ач холбогдолтой гэж судлаачид үзэж, энэ чиглэлийн судалгаа эрчимтэй хийгдэж байна [1-3]. Микробын эсрэг үйлчлэлтэй пептид нь мөөгөнцөр, вирус, грам-ээрэг ба грам-сөрөг бактери зэрэг өргөн мужид идэвхтэй үйлчилдэг [4-7] төдийгүй уг пептид нь хавдрын эсийг устгах болон инсулинтрофик идэвхтэй [8-10] болохыг олон судлаачид судалгаагаар илрүүлээд байна.

Микробын эсрэг идэвхтэй пептид (МЭП) болон эсийн мембран хоорондын сонгомол үйлчлэлийн механизм нь системд буй пептид болон липидийн төрлөөс хамаардаг [5,11]. МЭП-ийн хоёрдогч бүтэц, цэнэг, гидрофоб зэрэг шинж чанар түүний эсийн мембрантай үйлчлэх механизмыг тодорхойлоход чухал үүрэг гүйцэтгэдэг [12].

Эукариот эсийн мембран zwitterionic липидээс бүрддэг бол прокариот эсийн мембран том хэмжээтэй, сөрөг цэнэгжсэн болон

zwitterionic липидээс бүрддэг [13]. Иймд амфифатик, эерэг цэнэгтэй, альфа хеликс бүтэцтэй МЭП нь прокариот эсийн мембрантай хүчтэй харилцан үйлчлэлдэг байна [14]. Молекул динамик симуляци нь МЭП болон мембраны харилцан үйлчлэлийг судалдаг хүчтэй аргуудын нэг юм.

11 амин хүчлээс тогтох пептидийг андекапептид (undecapeptide) гэж нэрлэдэг. *Rana rugosa* мэлхийн арьсны шүүрлээс ялгасан 24 амин хүчлийн үлдэгдлээс (FLGALFKVASKVLPSVFCAITKKC) тогтох, микробын эсрэг үйлчлэлтэй Brevinin-1EMa гэж нэрлэгдэх пептидийн N-төгсгөлийн 11 амин хүчлийн үлдэгдлийн дарааллаас уламжлуулан, амин хүчлийг солих замаар (мутаци) шинээр гарган авсан (drug design) түүний аналог болох хэд хэдэн андекапептидийг гарган авч, тэдгээрийн нэг болох FLKWLFKWAKK амин хүчлийн дараалал бүхий GA-K4 гэж нэрлэгдэх андекапептид нь микроб болон хавдрын эсрэг идэвхтэй болохыг Bong-Jin Lee нар туршлагаар тогтоосон [15-16]. Өмнөх ажлаараа бид GA-K4 андекапептидийн мембрантай үйлчлэх механизмын судалгааг дугуй дихроизм, флуоресценцийн аргаар судлахад усан орчинд тодорхой бүтэцгүй харин липосом, мицеллийн орчинд конформацийн хүчтэй өөрчлөлтөд орж, хеликс бүтцийг үүсгэдэг бөгөөд хеликс бүтцийн эзлэх хувь липидийн төрөл, агууламж, концентрацаас хамаардаг болохыг тогтоосон ба

* Electronic address: tsogm@num.edu.mn

GA-K4 андекапептид нь toroidal pore механизмаар микроб төст загвар мембранд нүх үүсгэдэг гэсэн таамаглалыг дэвшүүлсэн [17].

Энэ ажлаар микроб, хавдрын эсрэг идэвхтэй GA-K4 андекапептидийн гурав хэмжээст бүтэц, түүний ус болон липидийн орчинтой (POPC, POPG) харилцан үйлчлэх шинж чанарыг молекул динамик симуляцийн аргаар судлах зорилго тавив.

ТООЦООЛЛЫН ХЭСЭГ

Пептид, липид

GA-K4 андекапептид: FLKWLFWAKK 11 амин хүчлийн дарааллын урттай ба гурав хэмжээст бүтцийг амин хүчлийн дарааллаас нь Swiss-Pdbviewer v4.1.0 програмаар байгуулсан.

Липид: POPC (1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) нь zwitterionic липидийн молекул. 128 POPC болон 2460 SPC загварын усны молекултай системд 1600 пикосекунд симуляци хийгдсэн файлыг <http://wcm.ucalgary.ca/tieleman/downloads> сайтаас татаж авсан. POPG (1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerol) сөрөг цэнэгтэй липидийн молекулыг Membrane builder II програмаар байгуулж, 2460 усны молекултай 1600 пикосекунд симуляци хийж, тооцоололд хэрэгтэй мембраны файлтай болсон.

Симуляци хийсэн арга зүй

Микроб болон хавдрын эсрэг идэвхтэй GA-K4 андекапептидийн амин хүчлийн дарааллаас гурав хэмжээст бүтцийг Swiss pdbviewer програмын тусламжтай угсарч, PROCHECK серверт

(<http://servicesn.mbi.ucla.edu/PROCHECK/>)

хандан уг бүтцийн чанарыг үнэлэв. Громакс 5.1.2 хувилбарын програмыг [18] ашиглан усан болон липид орчинд молекул динамик симуляцийн тооцоо болон анализыг хийв. GA-K4 андекапептидэд N-төгсгөл (NH₃⁺) болон C-төгсгөл (COO⁻) нэмэв. SPC (simple point charge) усны загварыг ашиглан усан орчны симуляци хийв [19]. Липидийн молекулд Berger-ийн параметрийг [20], бусад бүх молекулд GROMOS 53a6 хүчний орныг [21] хэрэглэв. Ус-андекапептид болон POPC, POPG мембран/ус-андекапептид системд 500 алхамтай (симуляцийн алхмын хугацаа нь 2 фемтосекунд) энергийн минимизаци хийв. Устөрөгчийн

атомуудын холбоосын уртыг тооцоходоо LINCS [22] болон SETTLE [23] алгоритмуудыг хэрэглэв. Урт хугацааны электростатиктай тул Particle-mesh (бөөмсийн торон сүлжээ) Ewald аргыг хэрэглэсэн бөгөөд Коуломб болон Леннард-Жонесийн cut-off буюу бөөмсийн хоорондох зайг 1.4 Å-аар тохируулав [24]. Системийг саармагжуулахын тулд эерэг болон сөрөг ионыг тодорхойлж, тухайн ионыг нэмэв. Түүнчлэн Nosé–Hoover термостаттай (300K) изотерм-изохор (NVT, бөөмийн тоо, эзлэхүүн, температур тогтмол) [25], Parrinello–Rahman баростаттай (1 атм) изотерм-изобар (NPT, бөөмийн тоо, даралт, температур тогтмол) [26] гэсэн нөхцөлтэйгөөр 100 пикосекундын хугацаанд системийг тэнцвэржүүлэв. Уг тэнцвэржилт болон симуляцийн явцад үелэх захын нөхцөлтэйгөөр (Periodic boundary condition) системийн хөдөлгөөний тэгшитгэлийг тооцоолсон. GA-K4/ус, GA-K4/POPC, GA-K4/POPG системийн симуляцийн хугацаа нь 100 наносекунд байв. Симуляциас гарсан үр дүнг боловсруулахдаа DSSP програмыг [27] хоёрдогч бүтцийг таамаглахдаа хэрэглэсэн ба молекулыг дүрслэн харуулахад VMD, Swiss-Pdbviewer v.4.1.0 програмыг ашиглав. Симуляци хийх дарааллыг зураг 1-т харуулав.



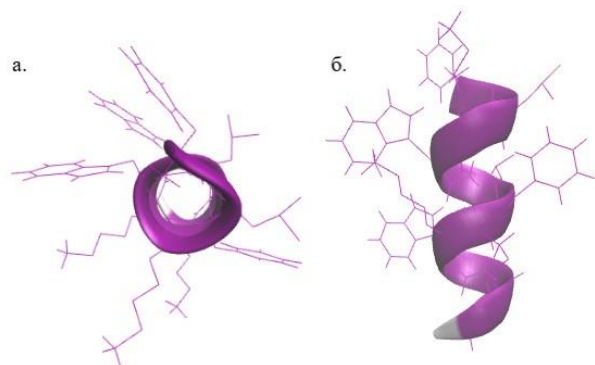
Зураг 1. Симуляци хийх дараалал.

ҮР ДҮН БА ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

а. Микроб хавдрын эсрэг идэвхтэй GA-K4 андекапептидийн гурав хэмжээст бүтцийн таамаглалын үр дүн

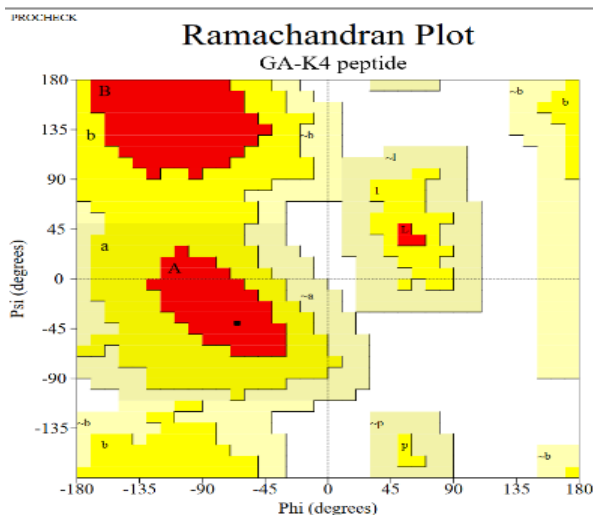
Микроб болон хавдрын эсрэг идэвхтэй GA-K4 андекапептидийн амин хүчлийн дарааллаас (FLKWLFWAKK) Swiss-Pdbviewer v.4.1.0 програмын SWISS MODEL хэрэгсэлийн тусламжтай гурав хэмжээст бүтцийг загварчилж, энергийн минимизаци хийхэд -58.7 кЖ/моль байв (Зураг 2). Түүний хоёрдогч бүтцийн элементийн агууламжийг хоёрдогч бүтцийн устөрөгчийн холбоосын энергээр таамагладаг DSSP програмаар тооцоолоход α-хеликс бүтцийн агууламж ба эмхлэгдээгүй буюу

coil бүтцийн агууламж харгалзан 86.4%, 13.6% байв.



Зураг 2. GA-K4 андекапептидийн амин хүчлийн шугаман дарааллаас загварчилсан 3 хэмжээст а) дээрээс б) хажуугаас харуулсан хеликс бүтэц. Нил ягаан өнгөөр хеликс бүтцийг, сааралаар эмхлэгдээгүй (coil) бүтцийг дүрслэв.

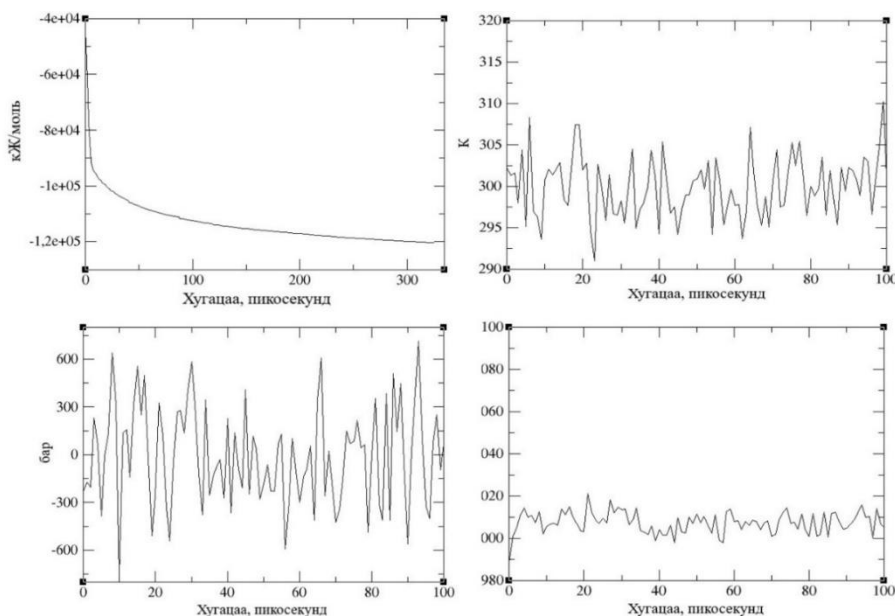
Уг хеликс бүтцийг үнэн зөв эсэхийг баталгаажуулахын тулд PROCHECK серверт хандан гурав хэмжээст бүтцийн чанарыг үнэлэхэд 1.5Å байв. Түүнчлэн загварчилсан бүтцийг шалгахад Рамачандрын координатад ϕ , ψ өнцгүүд зөвшөөрөгдөх мужид байв (Зураг 3).



Зураг 3. GA-K4 андекапептидийн таамагласан бүтцийн Рамачандрын график. Хамгийн тохиромжтой зөвшөөрөгдөх муж [A,B,L], нэмэлт зөвшөөрөгдөх муж [a,b,l,p], байж болохуйц зөвшөөрөгдөх муж [-a,-b,-l,-p], бусад нь үл зөвшөөрөгдөх муж.

б. Усан орчин дахь GA-K4 андекапептидийн симуляцийн үр дүн

Бид GA-K4 андекапептидийн бүтцийг угсарч, баталгаажуулснаар GA-K4 андекапептидийн усан орчинд оруулж симуляци хийхэд бэлэн болов.



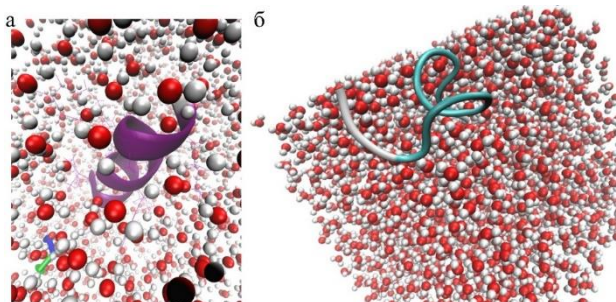
Зураг 4. Энергийн минимизаци болон тэнцвэржүүлэлтийн нөхцөл

Куб хайрцаг дотор GA-K4 андекапептид, SPC ус, ион хийгээд уг системд энергийн минимизаци явуулж, системийг тогтворжуулахын тулд изотерм-изобар, изотерм-изохор нөхцөлтэйгөөр 100 пикосекундын хугацаанд тэнцвэржүүлсэн ба үр дүнг Зураг 4-д харуулав. Тэнцвэржүүлэлтийн

явцад температур (~300K), даралт (~1 атм), нягт (~1000 кг/м³) тогтвортой хэлбэлзэж байна.

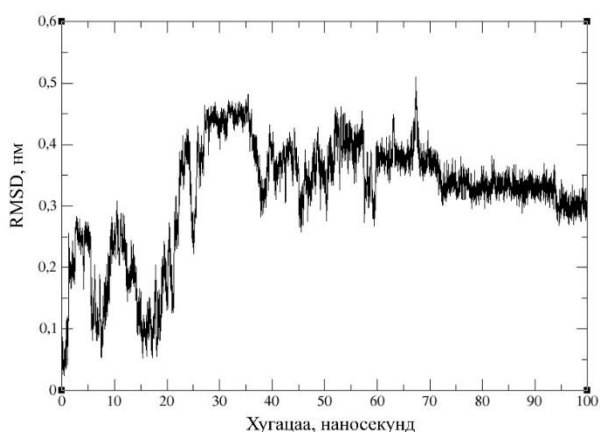
Тэнцвэржүүлэлтийн явцад GA-K4 андекапептидийн бүтцийн тогтвортой байдлыг тооцоолоход 86% байв. Тэнцвэржүүлсний дараагаар 100 наносекундын хугацаатай

симуляци хийж GA-K4 андекапептидийн гол хэлхээний (backbone) дундаж квадрат хазайлт, флуктуаци, эргэлтийн радиус (radius of gyration), хугацаанаас хамаарсан хоёрдогч бүтцийн өөрчлөлт зэргийг Громакс болон DSSP програмаар анализ хийж графикийг Xmgrace програм ашиглан байгуулав.



Зураг 5. Симуляци хийхээс өмнөх болон дараах GA-K4 андекапептидийн конформацийн өөрчлөлт. а) тэнцвэржүүлэлт хийсэн дүрслэл. б) симуляци хийсэн 100 наносекундын дараах харагдах байдал. Зургийг VMD програм ашиглан харуулав. Усны молекулын устөрөгч цагаан, хүчилтөрөгчийг улаан өнгөөр, GA-K4 андекапептидийн хеликс бүтцийг нил ягаан өнгөөр, эмхлэгдээгүй бүтцийг (coil) саарлалар, эргэлт (turn) бүтцийг хөх-ногоон өнгөөр дүрслэв.

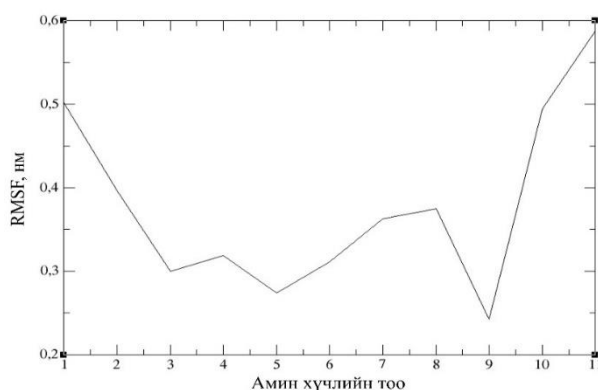
Зураг 6 –д симуляцийн явцад андекапептидийн бүтэц хугацаанаас хамаарч хэрхэн өөрчлөгдөж байгааг харуулж байгаа бөгөөд 70 наносекундээс эхлээд харьцангуй тогтворжиж байна.



Зураг 6. GA-K4 андекапептидийн гол хэлхээний дундаж квадрат хазайлт (RMSD).

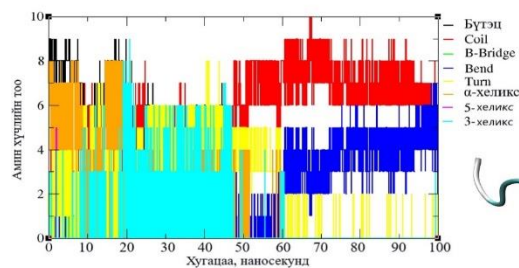
Динамиктай буюу хөдөлгөөнтэй байгааг дундаж квадрат флуктуациар (RMSF) илэрхийлдэг бөгөөд GA-K4 андекапептидийн бүтцийн төгсгөлийн амин хүчлүүд хөдөлгөөн ихтэй, конформацийн хүчтэй өөрчлөлтөнд орсон байгааг зураг 7 –т харуулав. Пептидийн

төгсгөлийн амин хүчлүүд нь дунд хэсгийнхээ амин хүчлүүдээс их флуктуаттай (~2-3 Å) байна.



Зураг 7. GA-K4 андекапептидийн дундаж квадрат флуктуаци (RMSF).

Иймд хугацаанаас хамаарсан GA-K4 андекапептидийн конформацийн өөрчлөлтийг DSSP програмаар анализ хийхэд симуляци хийхээс өмнө α -хеликс бүтцийн агууламж өндөр байсан симуляци хийсний дараа андекапептидийн α -хеликс бүтцийн агууламж багасч, эмхлэгдээгүй бүтцийн (coil) агууламж нэмэгдсэн байсан. Зураг 8 – аас харахад α -хеликс бүтэц нь конформацийн хүчтэй өөрчлөлтөнд орж, 60 наносекундээс эхлээд coil, turn, bend бүтэц ихсэх хандлага ажиглагдаж байна. Усан дахь симуляцийн дүнд GA-K4 андекапептидийн хоёрдогч бүтцийн элементүүдийн агууламж нь 52% эмхлэгдээгүй бүтэц (coil), 0.5% β -гүүр (β -bridge or sheet), 17% нумаралт (bend), 15% эргэлт (turn), 9% α -хеликс, 0.5% β -хеликс, 6% β -хеликсээс бүрдэнэ гэсэн тооцооны үр дүн гарав. Бүтцийн тогтвортой байдал 25% болтол буурсан байсан. Энэ нь андекапептид усан орчинд тогтвортой бүтэцгүй гэдгийг харуулж байгаа нь бидний өмнө нь хийсэн туршилтын үр дүнд давхар баталж байна [17].



Зураг 8. GA-K4 андекапептидийн хоёрдогч бүтцийн өөрчлөлт.

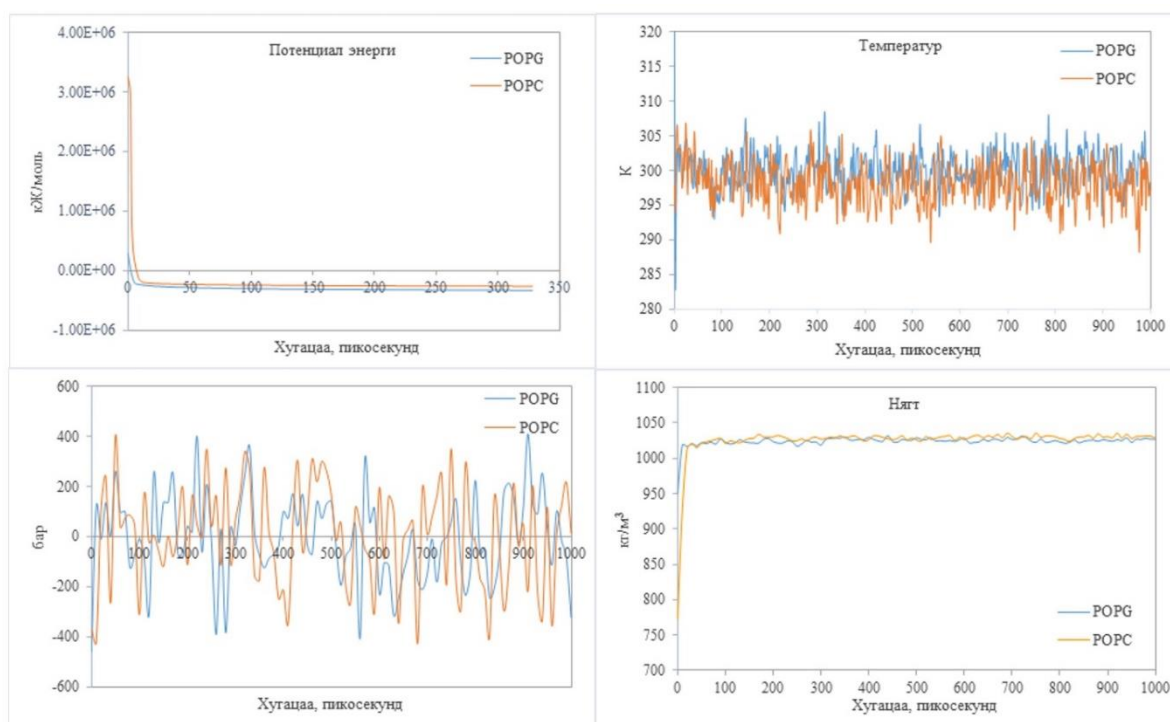
в. Липидийн орчин дахь GA-K4 андекапептидийн симуляцийн үр дүн

Бид POPC-ээс үүсгэгдсэн загвар мембран (zwitterionic буюу нэмэх хасах цэнэгтэй, эукариот төст мембран) болон POPG-ээс үүсгэгдсэн загвар мембран (сөрөг цэнэгтэй, микроб төст мембран) сонгон авч, липидүүдэд тохирох Berger-ийн параметр агуулсан хүчний орон (force field) бэлдэв. Хайрцаг дотор липид, андекапептид, SPC ус, ион хийгээд усан орчны симуляци хийсэнтэй адил замаар системд энергийн минимизаци хийж, системийг 1000 пикосекундын хугацаанд тогтворжуулсан үр дүнг зураг 9-д үзүүлэв. 2 системийн тэнцвэржүүлэлт харьцангуй тогтвортой хэлбэлзэж байна. Уг систем дэх GA-K4 андекапептидийн бүтцийн тогтвортой байдал 81% байв.

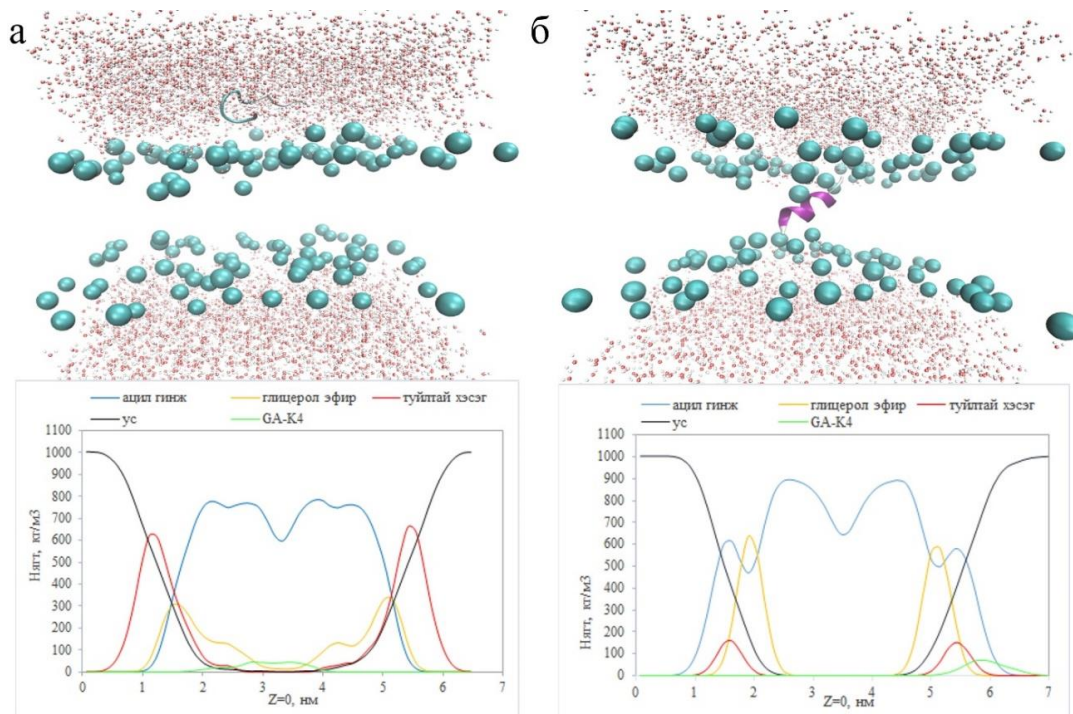
POPC, POPG загвар мембран/ус орчинд пептид, липидийн харьцаа 1:128 байхаар тооцон 100 наносекундын хугацаанд молекул динамик симуляци хийж, үр дүнд анализ хийв. Симуляцийн эхэнд GA-K4 андекапептидийг мембраны гадна дээд талд байрлуулсан бөгөөд андекапептид, липидийн хоорондын зай 10 Å байв.

Андекапептидийн харилцан үйлчлэлийг шалгахын тулд бид Громакс програмын gmx density програмыг ашиглан мембраны төвөөс алслагдах зайн функцээр GA-K4 андекапептидийн гол хэлхээ (backbone), POPC болон POPG липидийн туйлтай хэсэг (headgroup), глицерол, ацил гинж, усны массын нягтын түгэлтийг тус тус тооцоолж, Зураг 10-д үзүүлэв. GA-K4 андекапептид симуляцийн турш POPC мембраны гадаргуу руу нэвтрээгүй бөгөөд харин POPG мембран руу нэвтэрч орох ба липидийн үед муруйлт үүсгэж байгаа нь зургаас харагдаж байна.

POPG-ээр үүсгэгдсэн мембраны туйлт хэсэг, GA-K4 андекапептидийн харилцан үйлчлэлийн дүнд устөрөгчийн холбоо үүсэх бөгөөд GA-K4 андекапептидийн амин хүчил лизин амин хүчлийн хажуугийн групп устөрөгчийн холбоонд гол үүрэгтэй. GA-K4 андекапептид, POPG-ээр үүсгэгдсэн мембран хоорондын устөрөгчийн холбооны зайг тооцоход нь 2.8 Å байв. POPG-ээр үүсгэгдсэн мембранд GA-K4 андекапептид нэвтэрч орох үед пептид/липидийн устөрөгчийн холбооны тоо нэмэгдэж, пептид/усны устөрөгчийн холбооны тоо багасч байв.



Зураг 9. Энергийн минимизаци болон тэнцвэржүүлэлтийн нөхцөл.

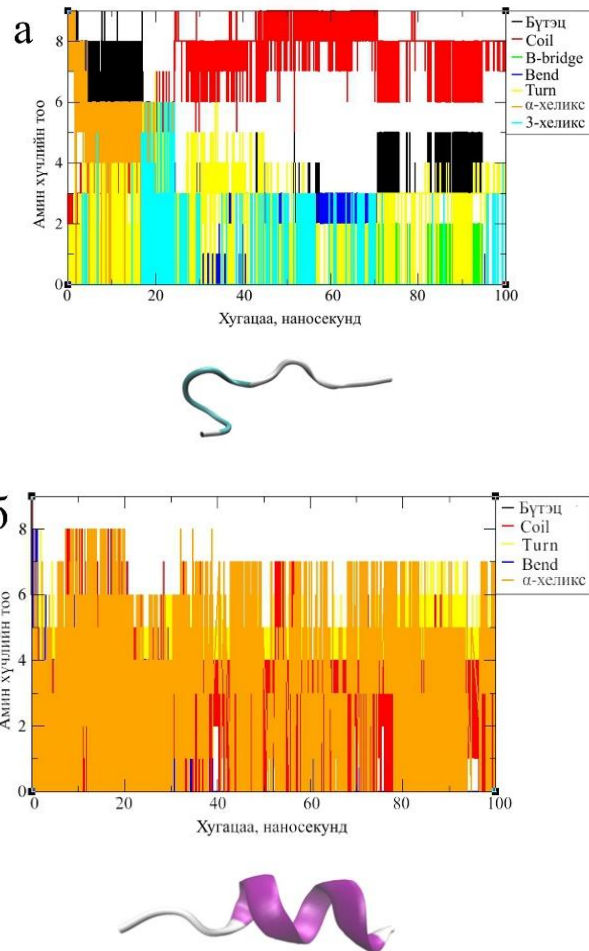


Зураг 10. 100 наносекундын симуляцийн дараах байдал, тэдгээрийн парциал нягт. Хэвтээ тэнхлэг дэх $z=0$ нь липидийн давхрааны гол хэсэг буюу төв. а) GA-K4/POPC систем, б) GA-K4/POPG систем.

Хүснэгт 1. GA-K4/POPC, GA-K4/POPG-ийн харилцан үйлчлэл.

Систем	Холболт, %	Устөрөгчийн холбоо	Холболтын зай, Å	Холбогдолтын энерги, ккал/моль
GA-K4/POPC	24	1.21 ± 0.72	11.8 ± 0.6	-2.1 ± 3.4
GA-K4/POPG	82	3.52 ± 0.54	7.2 ± 1.1	-30.7 ± 4.6

Хүснэгт 1-ээс харахад GA-K4 андекапептид нь zwitterionic буюу нэмэх хасах цэнэгтэй POPC-ээр үүсгэгдсэн мембранаас илүү POPG-ээр үүсгэгдсэн мембрантай илүү олон буюу хүчтэй устөрөгчийн холбоо үүсгэж байна. GA-K4 андекапептидийн POPC-ээс үүсгэгдсэн мембран болон POPG-ээс үүсгэгдсэн мембрантай холбогдох холбогдолтын энергийг mmpbsa програмаар тооцоолоход POPC-ээр үүсгэгдсэн мембраны тохиолдолд -2.1 ± 3.4 ккал/моль, POPG-ээр үүсгэгдсэн мембраны тохиолдолд -30.7 ккал/моль байгаа нь GA-K4 андекапептид zwitterionic буюу нэмэх хасах цэнэгтэй POPC-ээр үүсгэгдсэн мембранаас илүү POPG-ээр үүсгэгдсэн мембрантай хүчтэй харилцан үйлчилж байгааг давхар баталж байна.



Зураг 11. Хугацаанаас хамаарсан хоёрдогч бүтцийн өөрчлөлт. а) GA-K4 андекапептид/POPC-ээр үүсгэгдсэн мембран систем б) GA-K4.

андекапептид /POPG-ээр үүсгэгдсэн мембран систем

Микробын эсрэг идэвхт пептидийн хувьд хеликс бүтэц нь микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлох гол бүтцийн элемент гэж үздэг. POPC ба POPG-ээр үүсгэгдсэн мембран системтэй харилцан үйлчлэх үеийн GA-K4 андекапептидийн конформацын өөрчлөлтг тооцоолсон үр дүнг Зураг 11-д үзүүлэв. GA-K4 андекапептид/POPC-ээр үүсгэгдсэн мембран системийн 100 наносекундын дараах симуляцийн дүнд хоёрдогч бүтцийн элементийн агууламжийг тооцоолоход эмхлэгдээгүй бүтэц (coil) 64%, β -гүүр (β -bridge or sheet) 1%, нумаралт (bend) 17%, эргэлт (turn) 15%, α -хеликс 9%, 3-хеликс 6% байв. Харин GA-K4 андекапептид/POPG-ээр үүсгэгдсэн мембран системийн хувьд хоёрдогч бүтцийн элементийн агууламж нь эмхлэгдээгүй бүтэц (coil) 28%, нумаралт (bend) 12%, эргэлт (turn) 18%, α -хеликс 42% байв. GA-K4/POPC системийн бүтцийн тогтвортой байдал 31% байсан бол GA-K4 андекапептид/POPG-ээр үүсгэгдсэн мембран системийнх 58% байв. Энэ нь эукариот төст POPC мембрантай харилцан үйлчлэлцэхгүй харин микроб төст POPG мембрантай хүчтэй харилцан үйлчлэлцэж байгааг давхар баталж байна.

ДҮГНЭЛТ

GA-K4 андекапептид нь усан орчинд тодорхой бус бүтэцтэй боловч POPC, POPG липид орчинд конформацийн хүчтэй өөрчлөлтөнд орж, хеликс бүтцийг үүсгэдэг ба липидийн төрлөөс шалтгаалж хеликс бүтцийн эзлэх хувь хамаарах бөгөөд POPG липидтэй илүү сонгомлоор харилцан үйлчилж, бүтцээ өөрчлөн, түүгээр үүсгэгдсэн хиймэл мембранаар нэвтрэн мембраны муруйлт үүсгэдэг болохыг молекул динамик симуляцын аргаар тогтоов. Энэ нь бидний өмнөх туршлагын аргаар хийсэн судалгааны үр дүнг давхар баталж байгаа бөгөөд липидийн өөр өөр орчинд энэхүү судалгааг үргэлжлүүлэн явуулах нь онол, практикийн чухал ач холбогдолтой болохыг харуулж байна.

НОМ ЗҮЙ

- [1] Diamond G., Beckloff N., Weinberg A., Kisich K.O., The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Curr. Pharm. Des.* 15, 2377-2392 (2009)
- [2] Kim S.R., Hong M.Y., Park S.W., Choi K.H., Yun E.Y., Goo T.W., Kang S.W., Suh H.J., Kim I., Hwang J.S., Characterization and cDNA cloning of a cecropin-like antimicrobial peptide, papiliocin, from the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. *Mol. Cells.* 29, 419-423 (2005)
- [3] Zaiou M., Multifunctional antimicrobial peptides: therapeutic targets in several human diseases. *J. Mol. Med.* 85, 317-329 (2007)
- [4] Dong N, Ma QQ, Shan AS, Wang L, Sun WY, Li YZ., Influence of truncation of avian β -defensin-4 on biological activity and peptide-membrane interaction. *Protein Pept. Lett.* 19 (4), 430-8 (2012)
- [5] Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E.W., Peptide antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 491-511 (2006)
- [6] Rivas L., Luque-Ortega J.R., Andreu D., Amphibian antimicrobial peptides and Protozoa: lessons from parasites. *Biochim. Biophys. Acta.* 1788, 1570 (2009).
- [7] Ulvatne H., Antimicrobial peptides: potential use in skin infections. *Am. J. Clin. Dermatol.* 4, 591-595 (2003)
- [8] Gubern C., López-Bermejo A., Biarnés J., Vendrell J., Ricart W., Fernández-Real J.M., Natural antibiotics and insulin sensitivity: the role of bactericidal/permeability-increasing protein. *Diabetes* 55, 216-224 (2006)
- [9] Kim J.H., Lee J.O., Jung J.H., Lee S.K., You G.Y., Park S.J., Kim H.S., Gaegurin-6 stimulates insulin secretion through calcium influx in pancreatic β Rin5mf cells. *Regul. Pept.* 159, 123-128 (2009)
- [10] Papo N., Shai Y., Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. *Cell. Mol. Life Sci.* 62, 784-790 (2005)
- [11] Y. Shai, *Biopolymers*, 2002, 66, 236–248.
- [12] L. Liu, Y. Fang and J. Wu, *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, 1828, 2479–2486.
- [13] S. E. Blondelle, K. Lohner and M. Aguilar, *Biochim. Biophys. Acta*, 1999, 1462, 89–108

- [14] V. Teixeira, M. J. Feio and M. Bastos, *Prog. Lipid Res.*, 2012, 51, 149–177.
- [15] Hyung-Sik Won, Su-Jin Kang, Wahn-Soo Choi, Bong-Jin Lee, Activity optimization of an undecapeptide analogue from a frog-skin antimicrobial peptide. *Mol. Cells*, 31, 49-54 (2011)
- [16] Kang SJ, Kim DH, Mishig-Ochir T, Lee BJ., Antimicrobial peptides: Their physicochemical properties and therapeutic application. *Arch. Pharm. Res.* 35 (3), 409-413(2012)
- [17] Tsogbadrakh M, Davaadulam G, Altanchimeg J, Badamkhatan T, Galbadrakh Ch, Enerelt U, Chinar P and Bong-Jin L, Cellular Membrane Composition Requirement by Antimicrobial and Anticancer Peptide GA-K4, *Protein & Peptide Letters J*, 24, 197-205 (2017)
- [18] Abraham, M.J., Murtola, T., Schulz, R., Pall, S., Smith, J.C., Hess, B., Lindahl, E., GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *Software X* 2015, 1-2, 19-25.
- [19] Berendsen, H. J. C., J. P. M. Postma, W. F. Van Gunsteren, A. Dinola, and J. R. Haak. 1984. Molecular-dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 81:3684–3690.
- [20] Berger, O., Edholm, O., Jähnig, F., Molecular dynamics simulations of a fluid bilayer of dipalmitoylphosphatidylcholine at full hydration, constant pressure, and constant temperature. *Biophys J.* 1997, 72(5):2002-13.
- [21] Oostenbrink C, Villa A, Mark AE, van Gunsteren WF, A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *J Comput Chem.* 2004, 25(13):1656-76.
- [22] Hess, B., H. Bekker, H. J. C. Berendsen, and J. G. E. M. Fraaije. 1997. LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations. *J. Comput. Chem.* 18:1463–1472.
- [23] Miyamoto, S., and P. A. Kollman. 1992. SETTLE—an analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. *J. Comput. Chem.* 13:952–962
- [24] Essmann, U., L. Perera, M. L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, and L. G. Pedersen. 1995. A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.* 103:8577–8593.
- [25] Hoover, W.G., Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Phys Rev A Gen Phys.* 1985, 31(3):1695-1697.
- [26] Parrinello, M., Rahman, A., Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method, *Journal of Applied Physics* 52, 7182 (1981).
- [27] Kabsch W, Sander C. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. *Biopolymers.* 1983, 22(12):2577-637.