

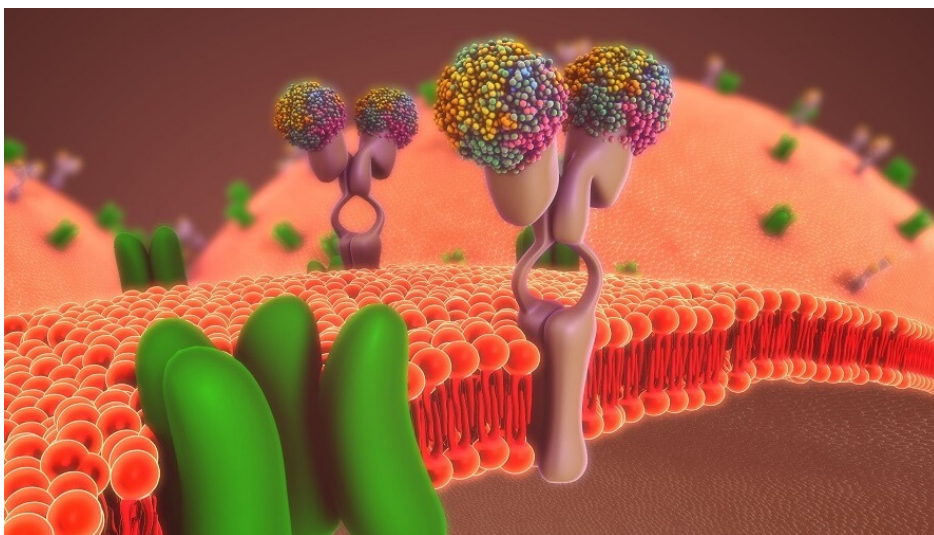


Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии Российской академии наук
Лаборатория моделирования мембран и ионных каналов

«Ты не пройдешь!»:
как биофизика мембран помогает бороться с
инфекционными заболеваниями



Строение биологических мембран

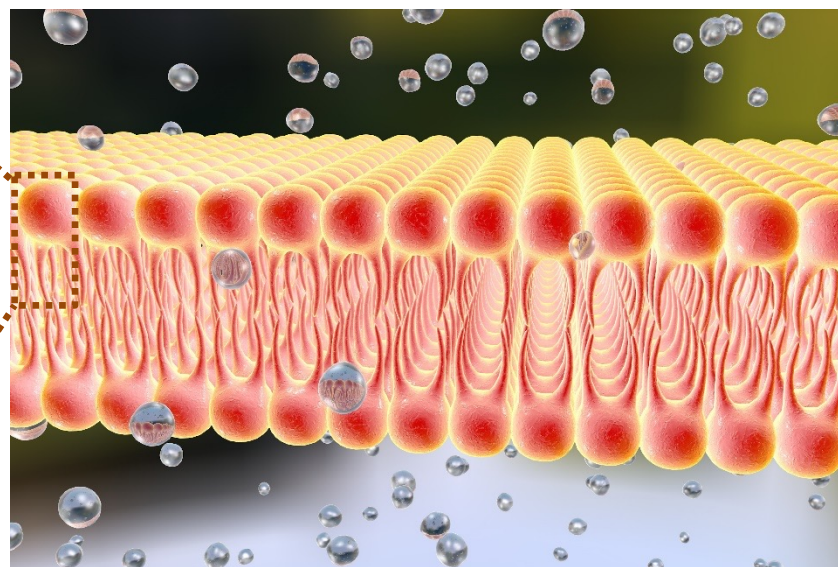
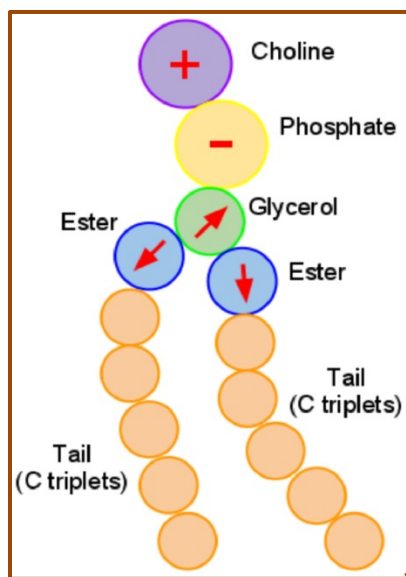


Липидный бислой –
основа биологических
мембран

«головка»

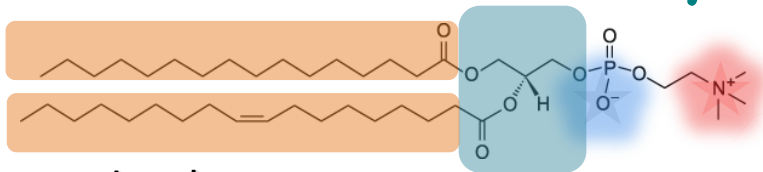
«шейка»

«хвосты»

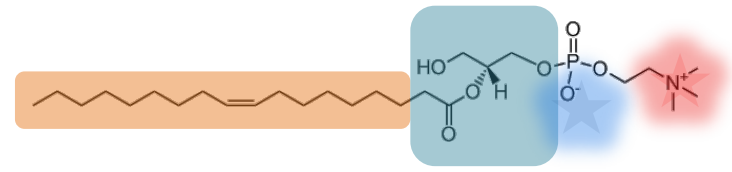


Разнообразие липидов в биологических мембранах

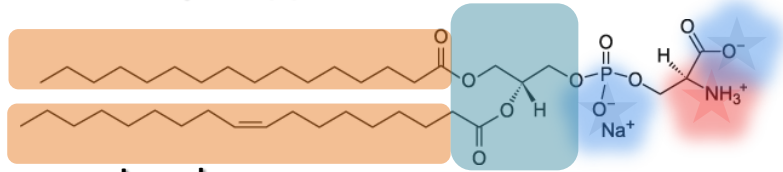
Глицерофосфолипиды



Фосфатидилхолин

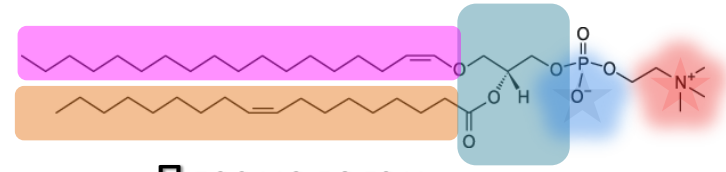


Лизофосфатидилхолин



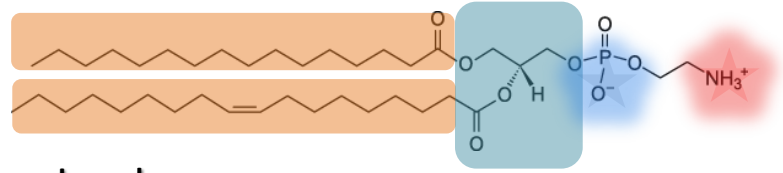
Фосфатидилсерин

(раковые клетки, вирусы)



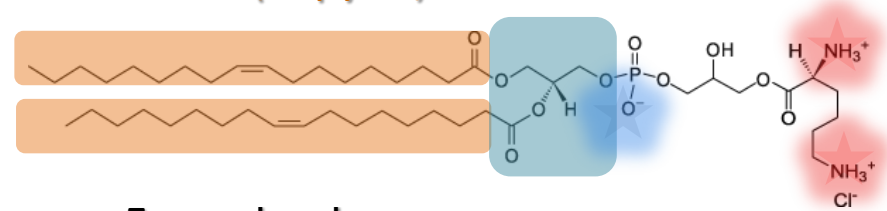
Плазмалоген

(вирусы)



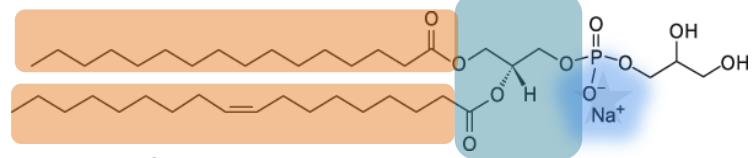
Фосфатидилэтаноламин

(раковые клетки, вирусы)



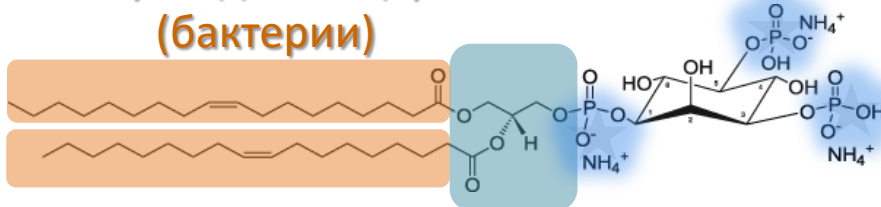
Лизилфосфатидилглицерин

(резистентные бактерии)

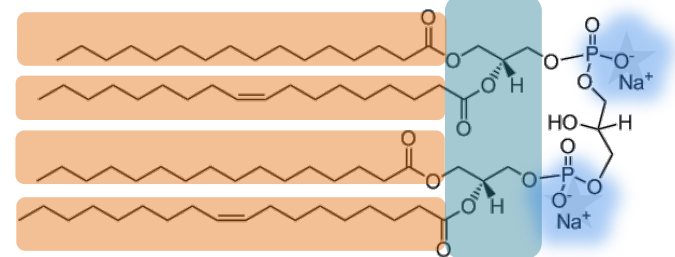


Фосфатидилглицерин

(бактерии)



Фосфатидилинозитол

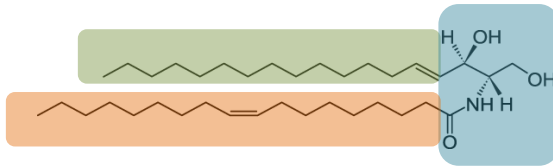


Кардиолипин

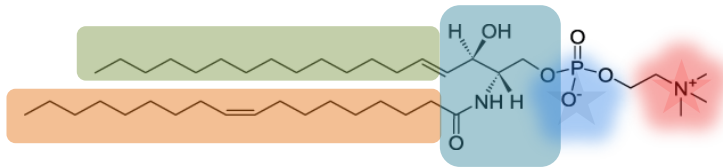
(бактерии, митохондрии)

Разнообразие липидов в биологических мембранах

Сфинголипиды

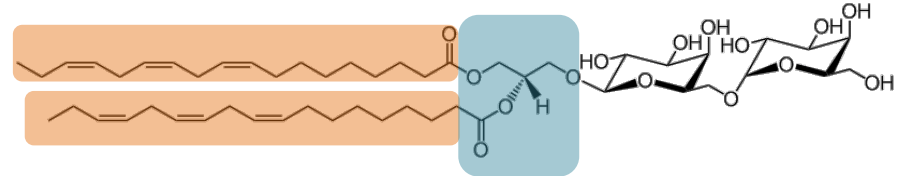


Церамид

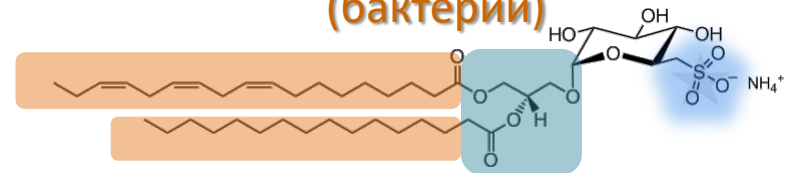


Сфингомиелин

Глицерогликолипиды

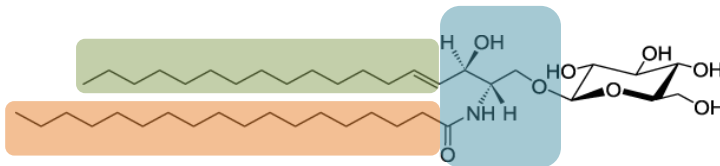


Дигалактозилдиацилглицерин
(бактерии)

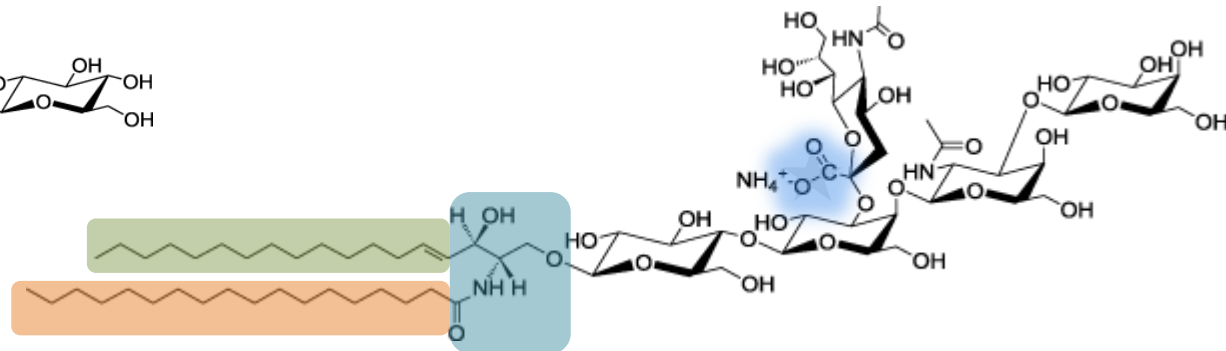


Сульфохиновозилдиацилглицерин
(цианобактерии)

Сфингогликолипиды



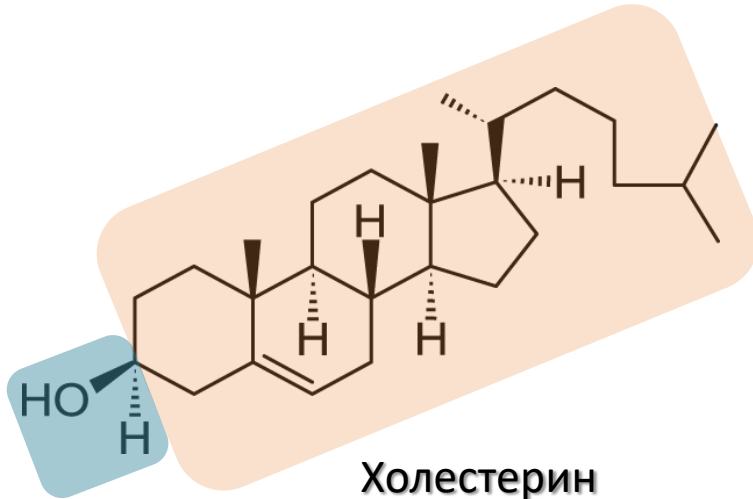
Глюкоцереброзид



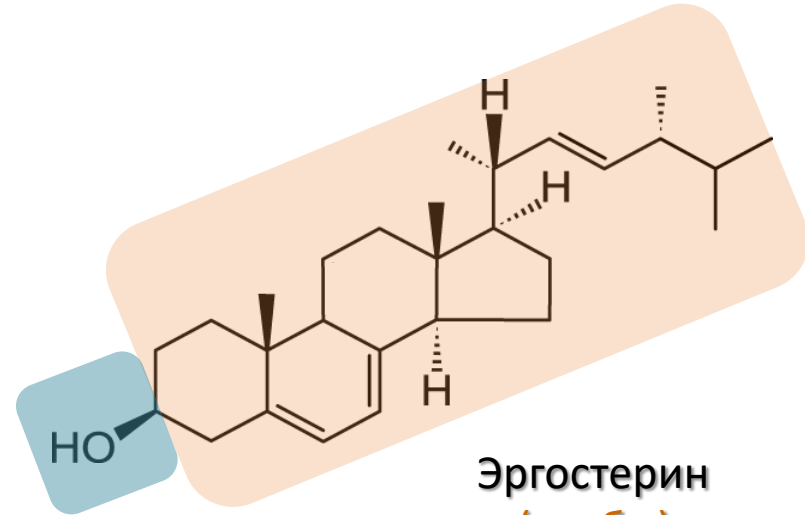
Ганглиозид G_M1

Разнообразие липидов в биологических мембранах

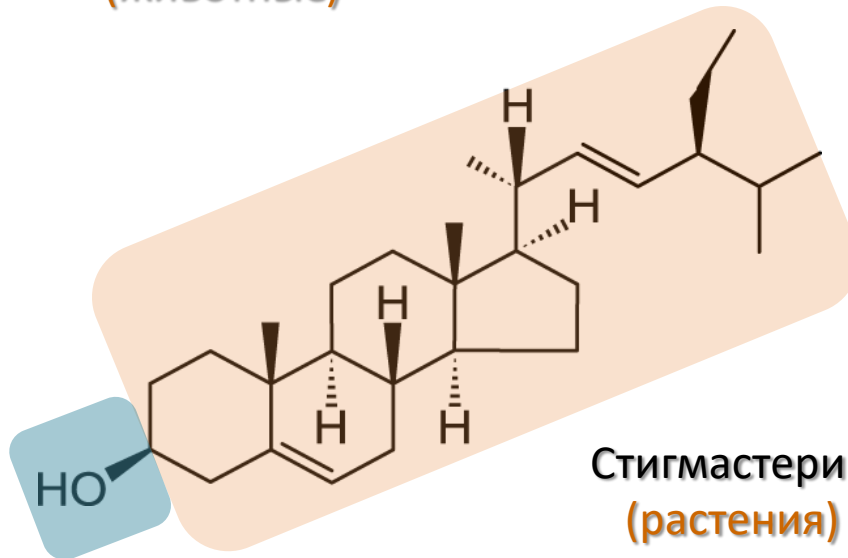
Стерины



Холестерин
(животные)

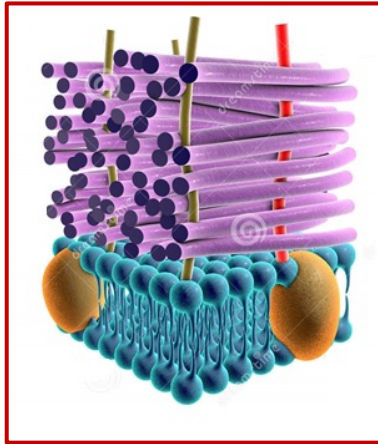


Эргостерин
(грибы)

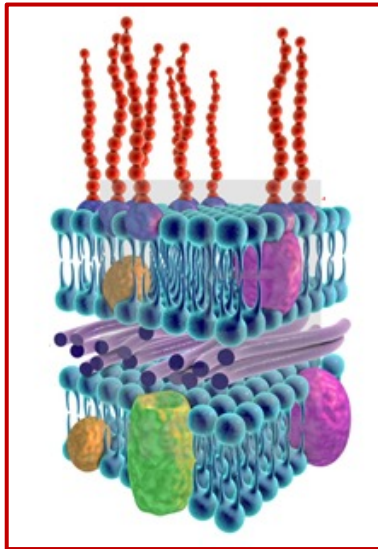
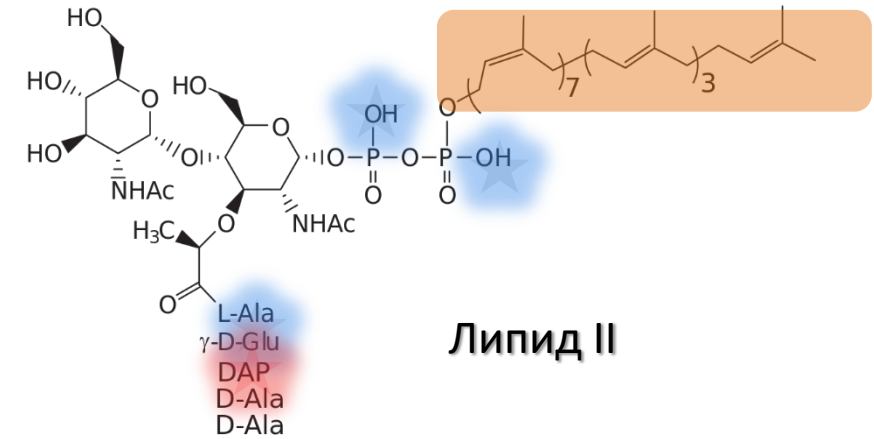


Стигмастерин
(растения)

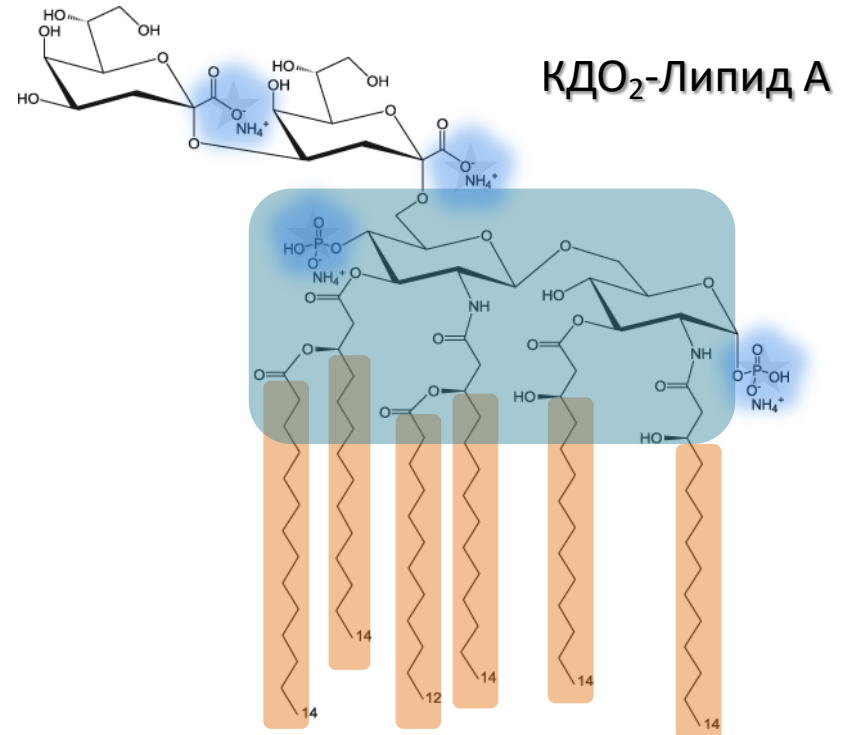
Специфические липиды бактериальных мембран



Грамположительные бактерии



Грамотрицательные бактерии



Список ВОЗ приоритетных возбудителей заболеваний для НИОКР в области создания новых антибиотиков

1 категория приоритетности: КРИТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ПРИОРИТЕТНОСТИ

- *Acinetobacter baumannii*, устойчивы к карбапенемам
- *Pseudomonas aeruginosa*, устойчивы к карбапенемам
- Enterobacteriaceae, устойчивы к карбапенемам, вырабатывают БЛРС

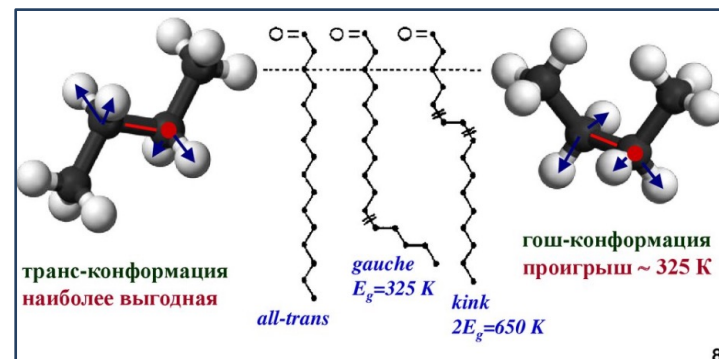
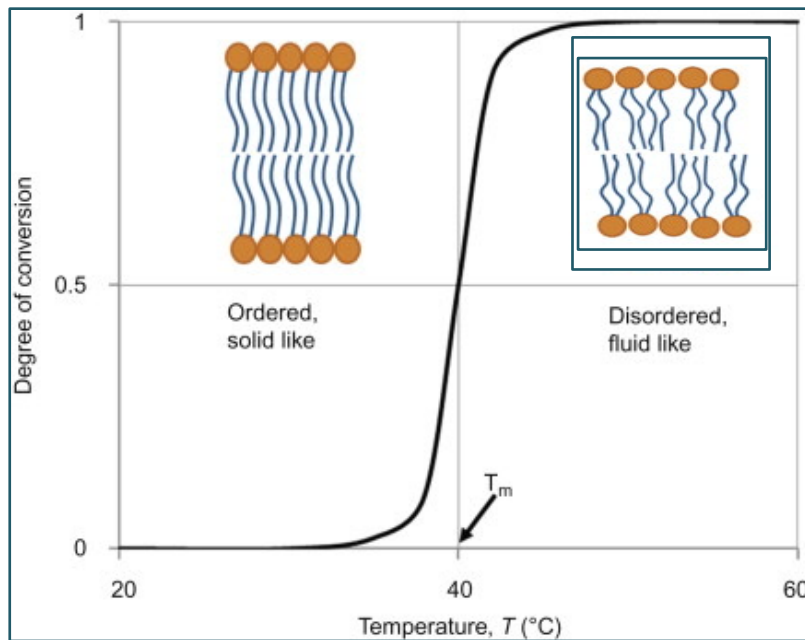
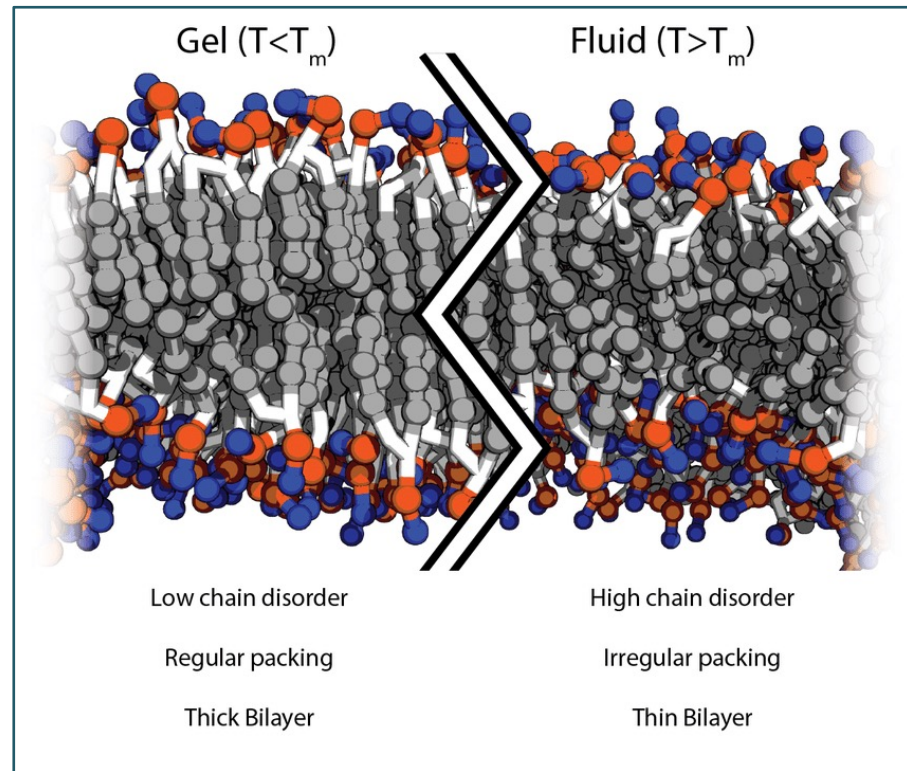
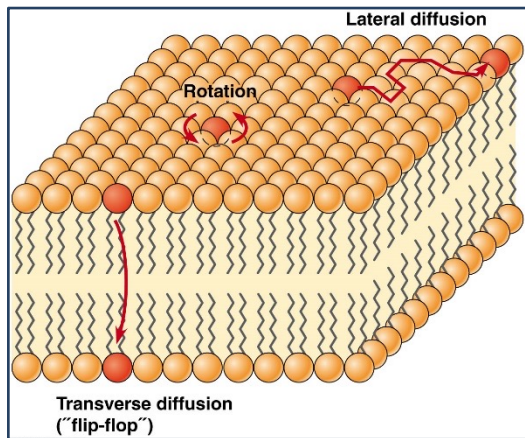
2 категория приоритетности: ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ПРИОРИТЕТНОСТИ

- *Enterococcus faecium*, устойчивы к ванкомицину
- *Staphylococcus aureus*, устойчивы к метициллину, умеренно чувствительны или устойчивы к ванкомицину
- *Helicobacter pylori*, устойчивы к кларитромицину
- *Campylobacter* spp., устойчивы к фторхинолонам
- *Salmonellae*, устойчивы к фторхинолонам
- *Neisseria gonorrhoeae*, устойчивы к цефалоспорином, фторхинолонам

3 категория приоритетности: СРЕДНИЙ УРОВЕНЬ ПРИОРИТЕТНОСТИ

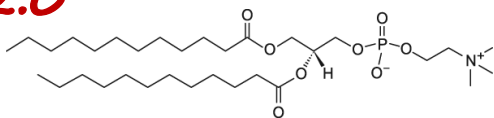
- *Streptococcus pneumoniae*, не чувствительны к пенициллину
- *Haemophilus influenzae*, устойчивы к ампициллину
- *Shigella* spp., устойчивы к фторхинолонам

Плавление мембранных липидов

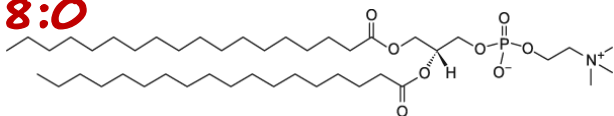


Температуры плавления мембранных липидов

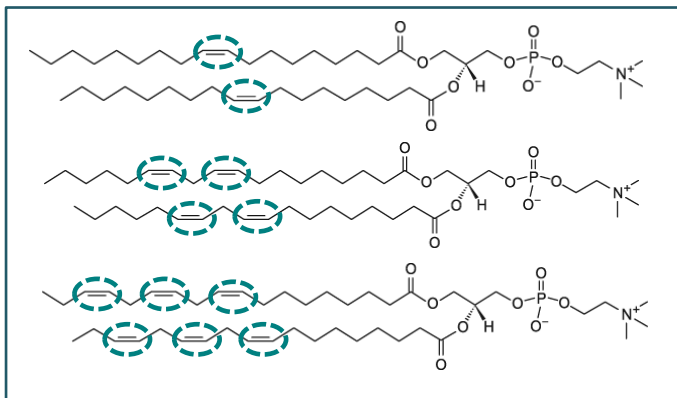
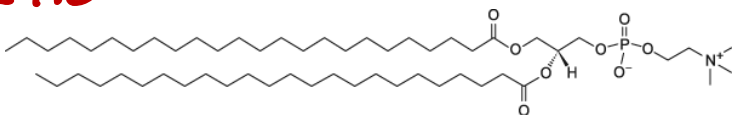
12:0



18:0



24:0



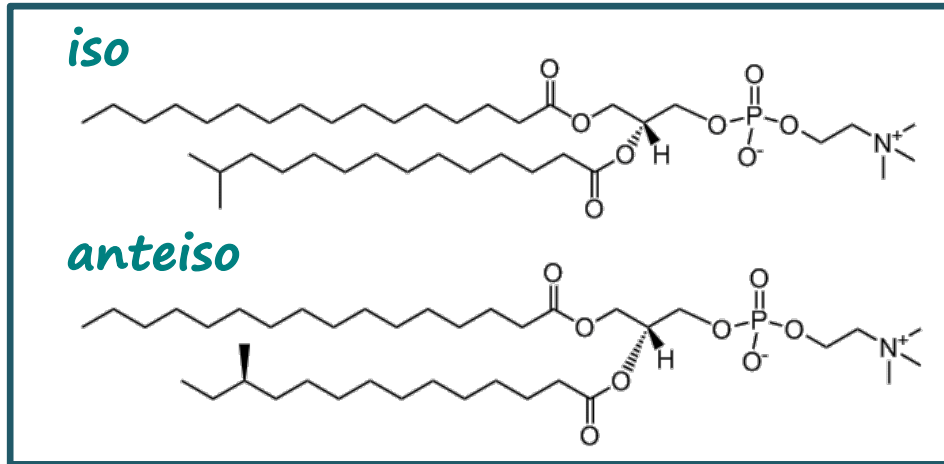
Phosphatidylcholine		Phosphatidylglycerol (Sodium Salt)	
Product	T _m (°C)	Product	T _m (°C)
12:0 PC (DLPC)	-2	12:0 PG (DLPG)	-3
13:0 PC	14	14:0 PG (DMPG)	23
14:0 PC (DMPC)	24	16:0 PG (DPPG)	41
15:0 PC	35	18:0 PG (DSPG)	55
16:0 PC (DPPC)	41	18:1 PG (DOPG)	-18
17:0 PC	50	16:0-18:1 PG (POPG)	-2
18:0 PC (DPPC)	55	Phosphatidylserine (Sodium Salt)	
19:0 PC	62	14:0 PS (DMPS)	35
20:0 PC	66	16:0 PS (DPPS)	54
21:0 PC	71	18:0 PS (DSPS)	68
22:0 PC	75	18:1 PS (DOPS)	-11
23:0 PC	79.5	16:0-18:1 PS (POPS)	14
24:0 PC	80.3	Phosphatidic Acid (Sodium Salt)	
16:1 PC	-36	12:0 PA (DLPA)	31
18:1n-7 PC (DOPC)	-17	14:0 PA (DMPA)	52
18:1n-9 PC	12	16:0 PA (DPPA)	65
18:1n-6 PC	1	18:0 PA (DSPA)	75
22:1n-13 PC	13	18:1 PA (DOPA)	-4
18:2 PC	-57	16:0-18:1 PA (POPA)	28
18:3 PC	-60	Cardiolipin	
		14:0 CL	47
		16:0 CL	62.2



Фазовое разделение в мембранах из смеси липидов с разной температурой плавления

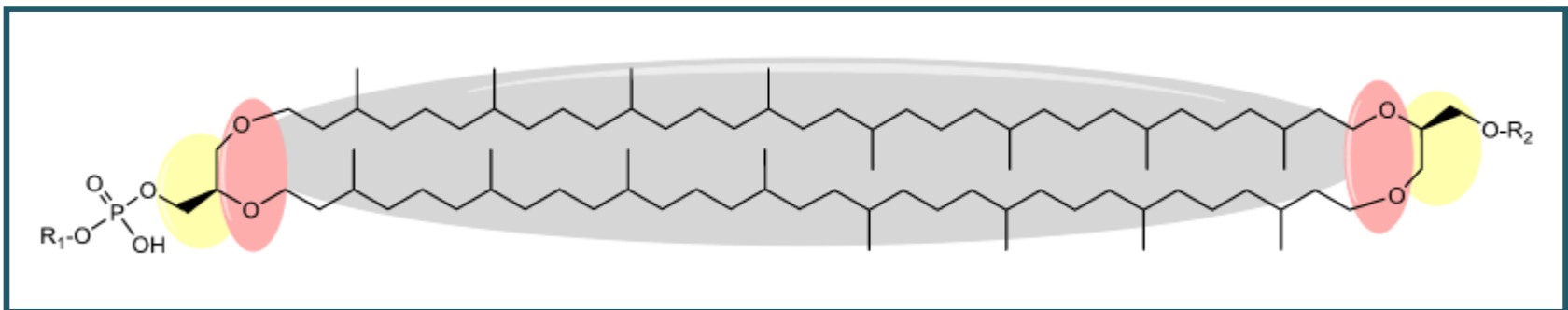
Особенности липидного состава бактериальных мембран

«Разветвление» ацильных цепей



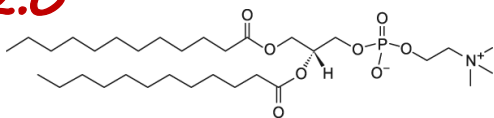
структура	$T_m, ^\circ\text{C}$
15:0	34
<i>iso</i> 15:0	6
<i>anteiso</i> 15:0	-16

Особенности липидного состава термофильных архей

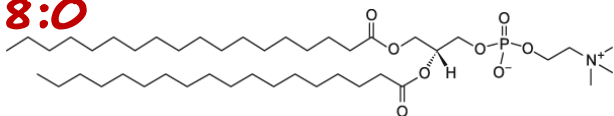


Температуры плавления мембранных липидов

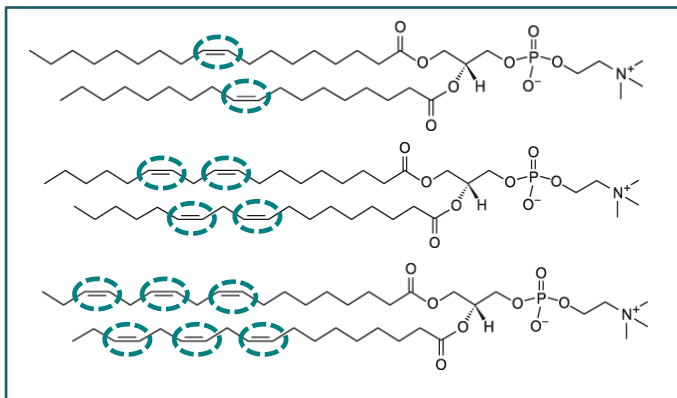
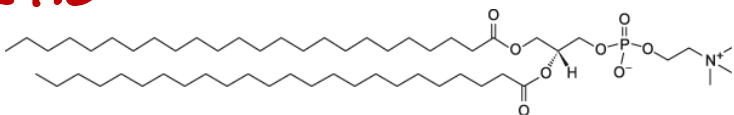
12:0



18:0



24:0

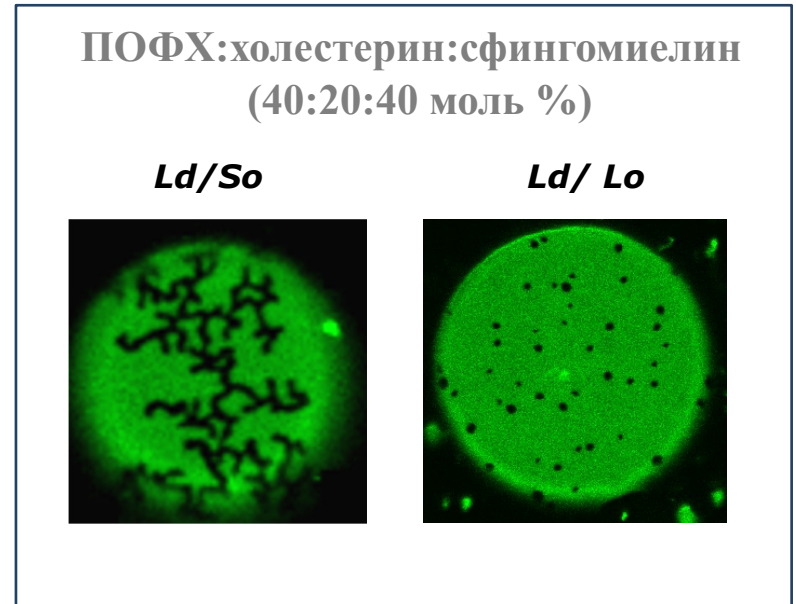
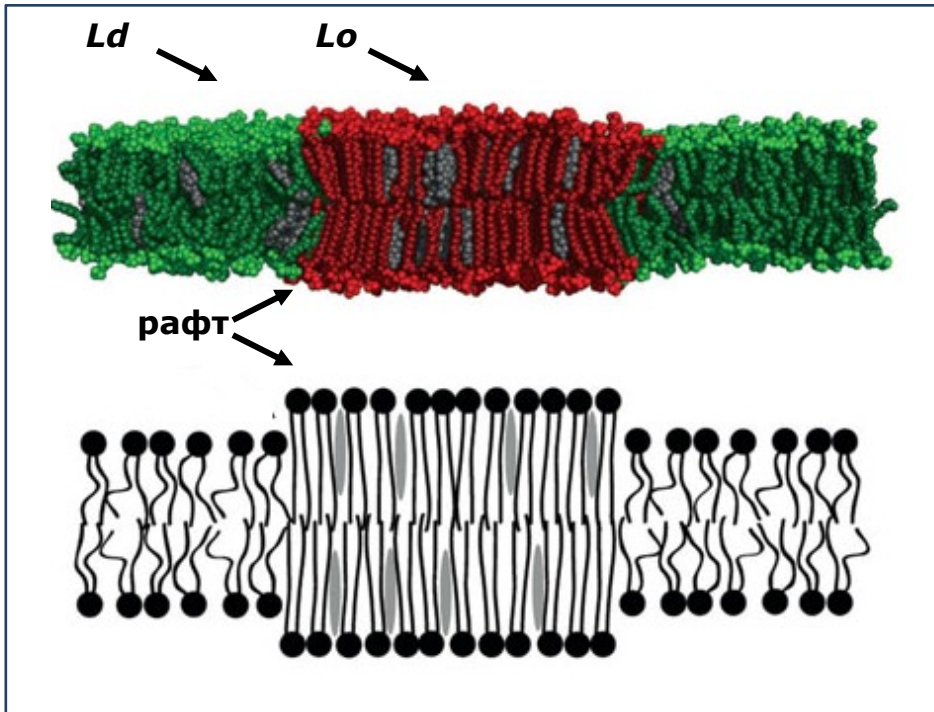
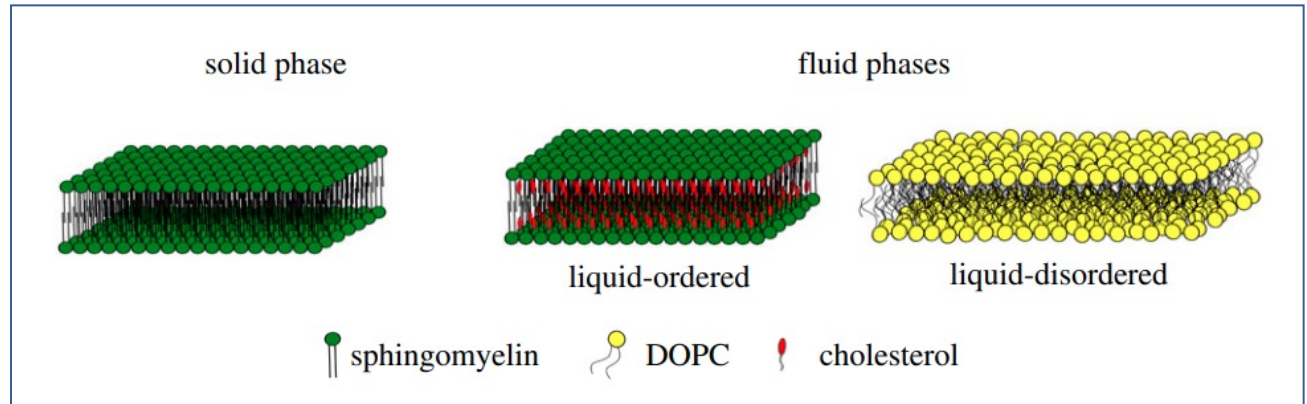
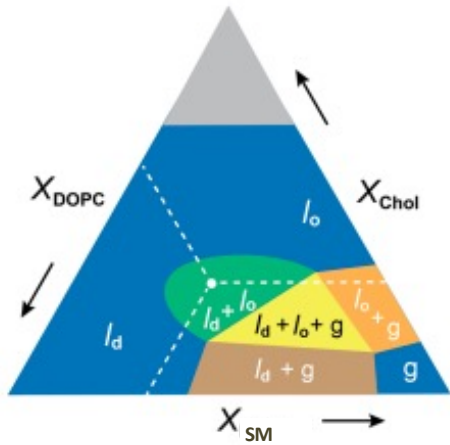


Phosphatidylcholine		Phosphatidylglycerol (Sodium Salt)	
Product	T_m (°C)	Product	T_m (°C)
12:0 PC (DLPC)	-2	12:0 PG (DLPG)	-3
13:0 PC	14	14:0 PG (DMPG)	23
14:0 PC (DMPC)	24	16:0 PG (DPPG)	41
15:0 PC	35	18:0 PG (DSPG)	55
16:0 PC (DPPC)	41	18:1 PG (DOPG)	-18
17:0 PC	50	16:0-18:1 PG (POPG)	-2
18:0 PC (DSPC)	55	Phosphatidylserine (Sodium Salt)	
19:0 PC	62	14:0 PS (DMPS)	35
20:0 PC	66	16:0 PS (DPPS)	54
21:0 PC	71	18:0 PS (DSPS)	68
22:0 PC	75	18:1 PS (DOPS)	-11
23:0 PC	79.5	16:0-18:1 PS (POPS)	14
24:0 PC	80.3	Phosphatidic Acid (Sodium Salt)	
16:1 PC	-36	12:0 PA (DLPA)	31
18:1c9 PC (DOPC)	-17	14:0 PA (DMPA)	52
18:1t9 PC	12	16:0 PA (DPPA)	65
18:1c6 PC	1	18:0 PA (DSPA)	75
22:1c13 PC	13	18:1 PA (DOPA)	-4
18:2 PC	-57	16:0-18:1 PA (POPA)	28
18:3 PC	-60	Cardiolipin	
		14:0 CL	47
		16:0 CL	62.2

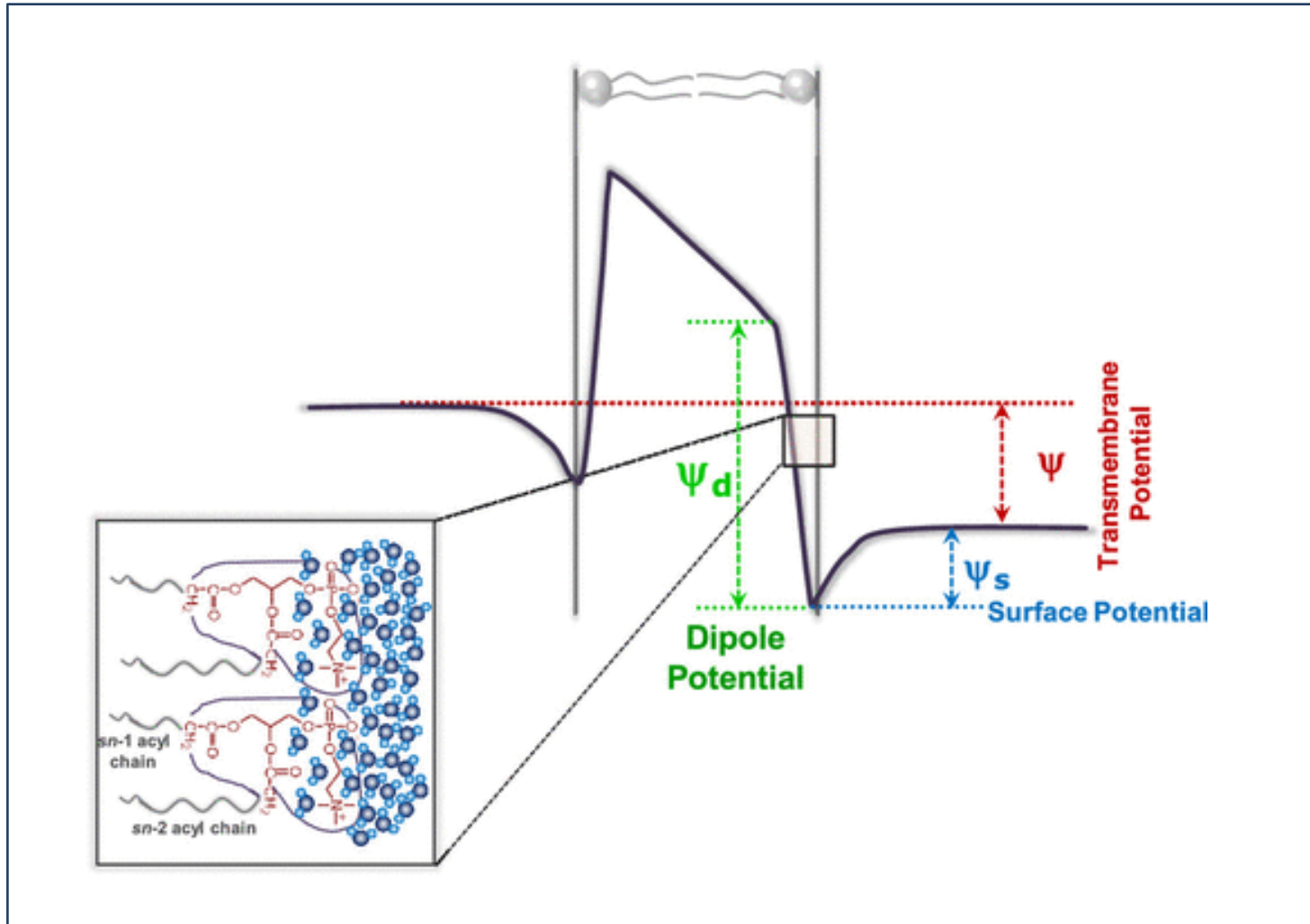


Фазовое разделение в мембранах из смеси липидов с разной температурой плавления

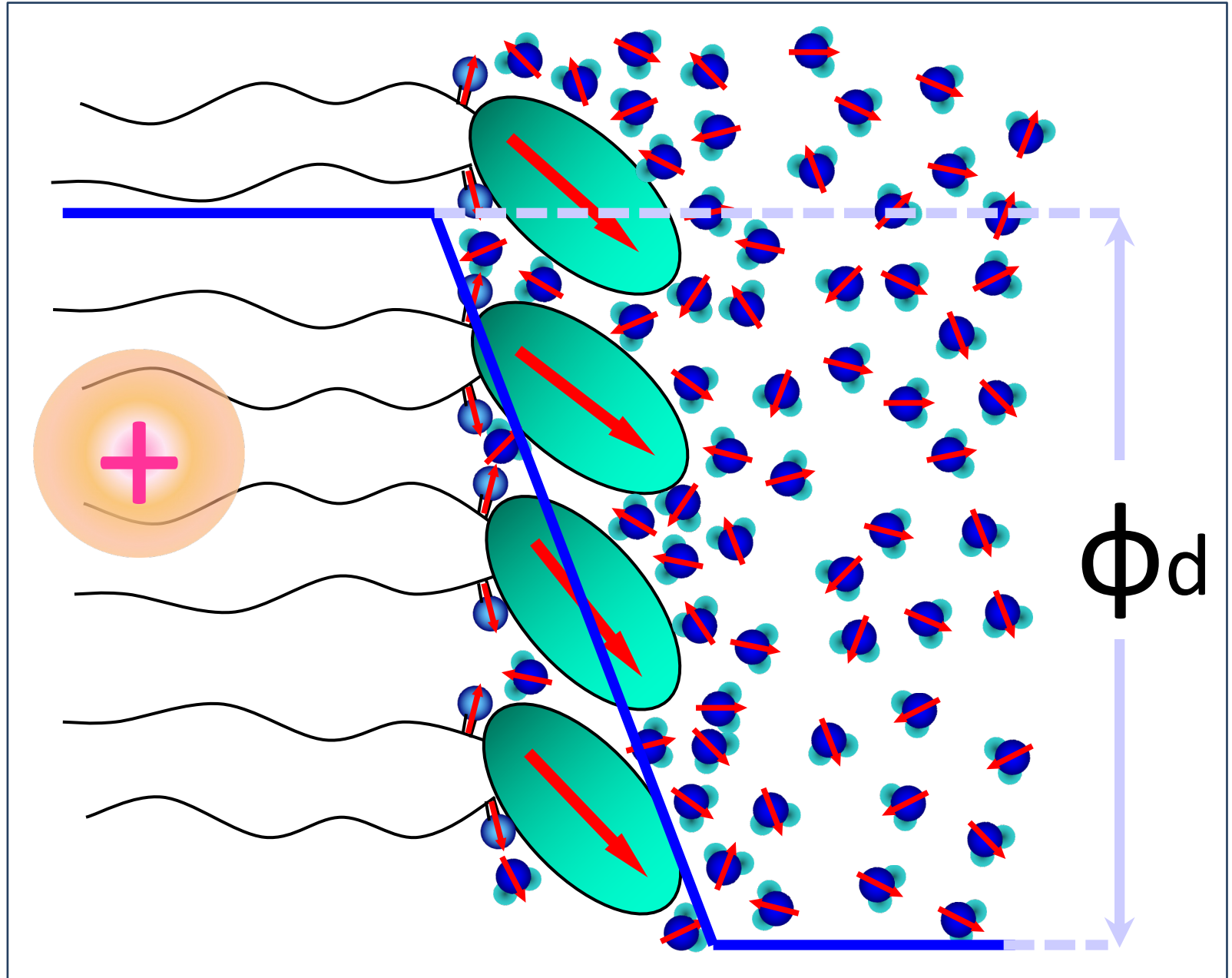
Фазовое разделение в липидных бислоях из смеси двух липидов и стерина



Граничный потенциал мембраны

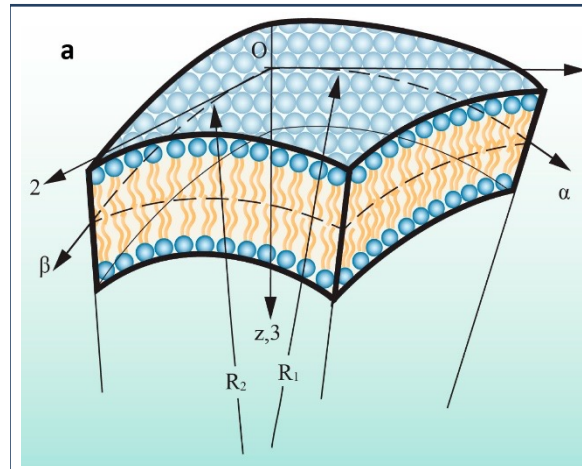
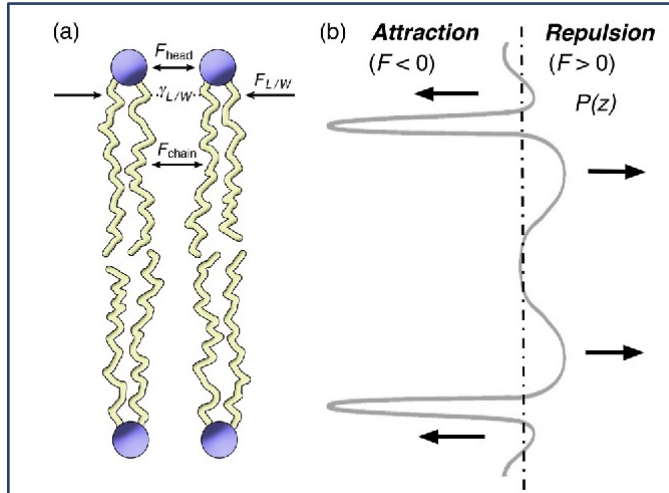


Дипольный потенциал мембраны



Профиль латерального давления в мембране.

Спонтанная кривизна



$$H = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2}; \quad K = \frac{1}{R_1} \frac{1}{R_2}$$

$$F_{Helfrich} = \int_{surface} \left[\frac{\kappa}{2} (H - H_0)^2 + \kappa_G K \right] dA$$

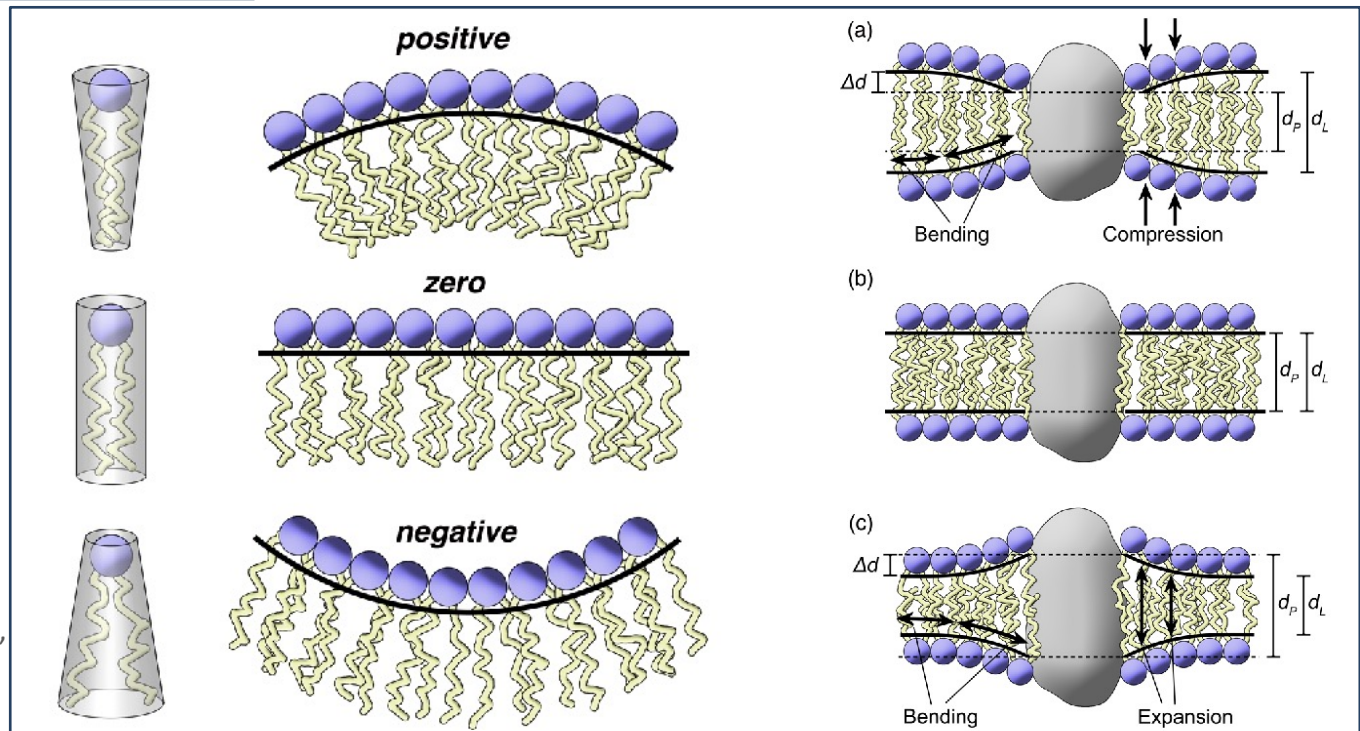
Schamberger et al., Adv. Mat., 2023

Bavi et al., Membranes, 2016

Параметр упаковки

$$P = \frac{V}{lS_0}$$

Lindman, Wennerström, Biochemistry, 2012



Мембрана как мишень

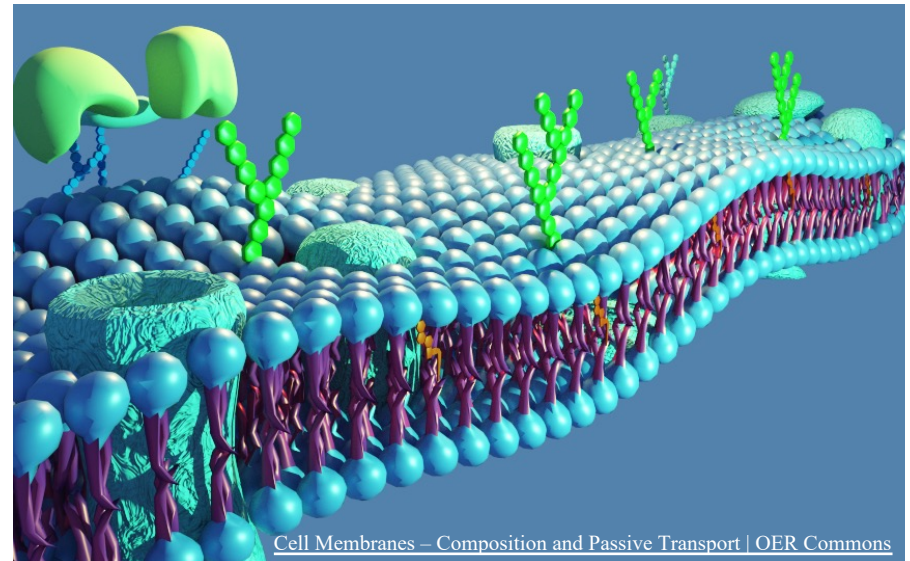
Большинство мишеней лекарственных соединений относятся к белкам:

- *Рецепторам*
- *Ферментам*
- *Ионным каналам*
- *Другим транспортным системам*

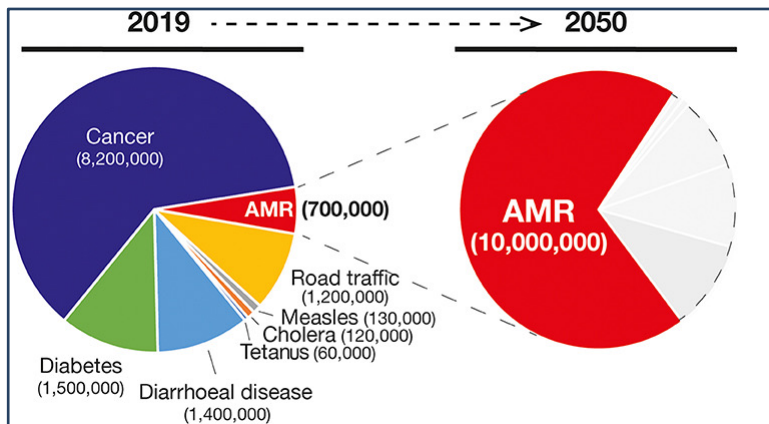
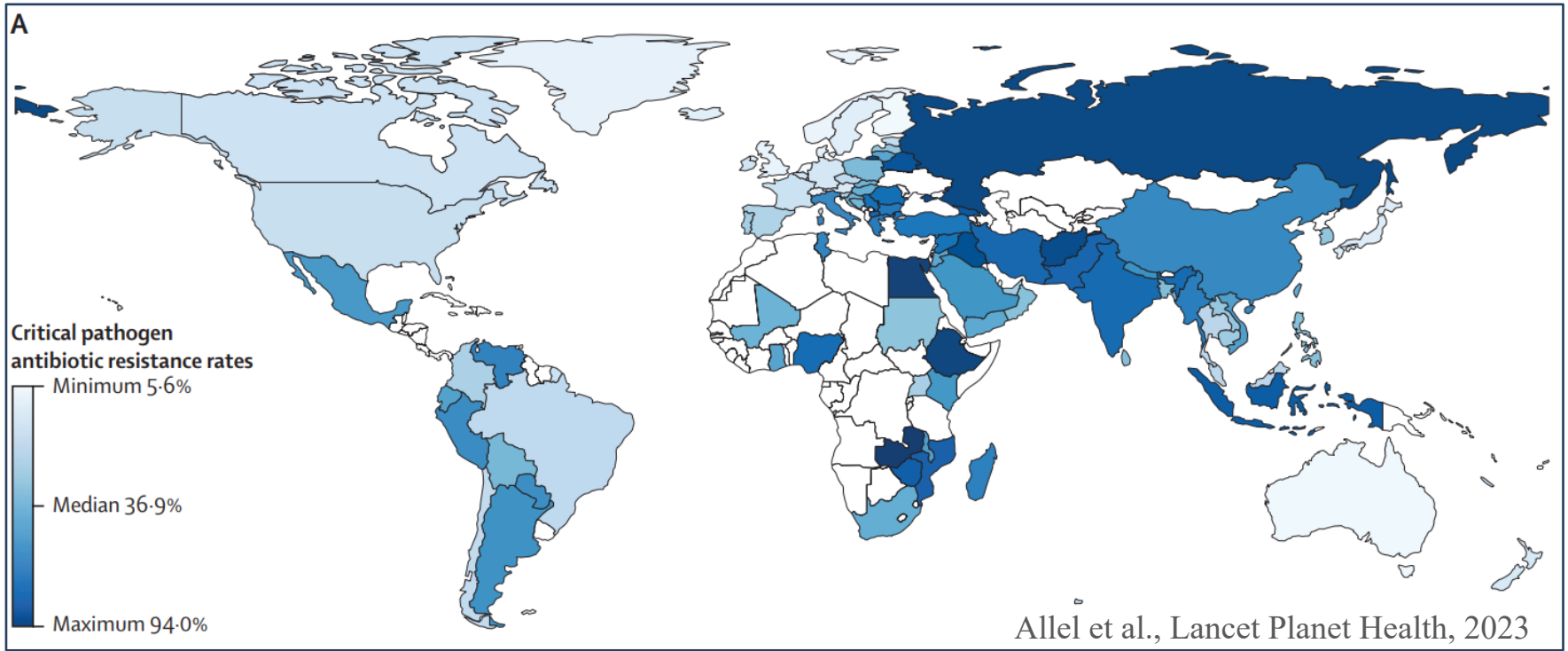
Проблема: *высокая вариативность и, как следствие, развитие резистентности*

Одно из решений:

липидный матрикс клеточных мембран может служить альтернативной мишенью



Устойчивость к антибиотикам критических патогенов человека. Прогноз ВОЗ на 2050 г.



Rosini et al., Front. Immunol, 2023

COVID-19 CREATED A PERFECT STORM

The U.S. lost progress combating antimicrobial resistance in 2020

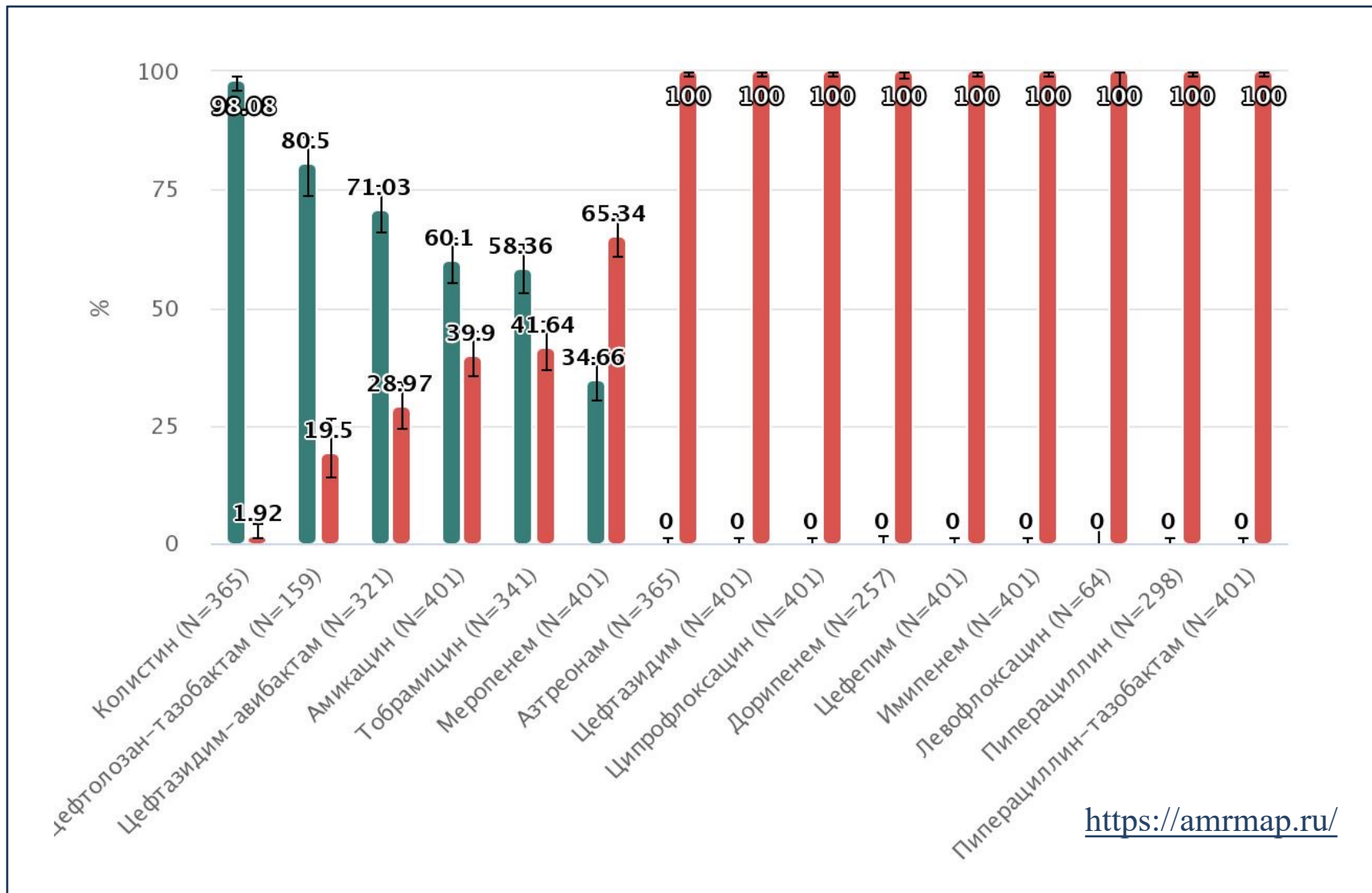
- ↑15%** Antimicrobial-resistant infections and deaths increased in hospitals in 2020.
- ~80%** Patients hospitalized with COVID-19 who received an antibiotic March-October 2020.
- !** Delayed or unavailable data, leading to resistant infections spreading undetected and untreated.

INVEST IN PREVENTION.

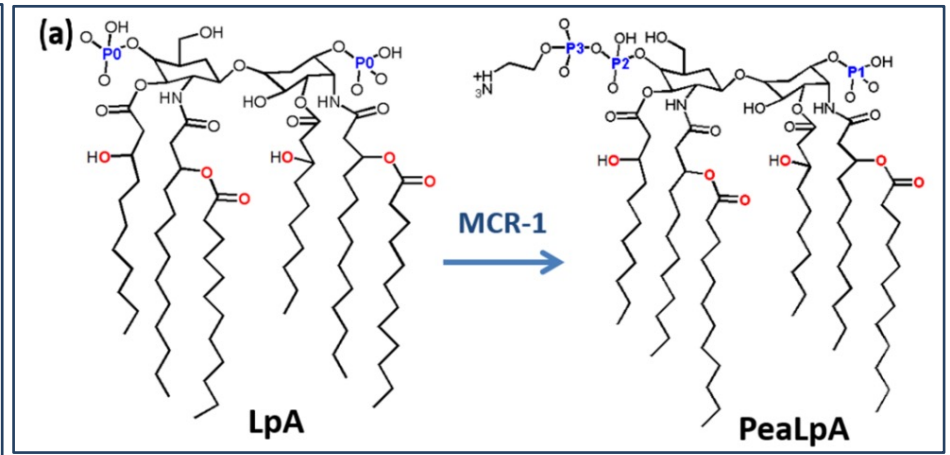
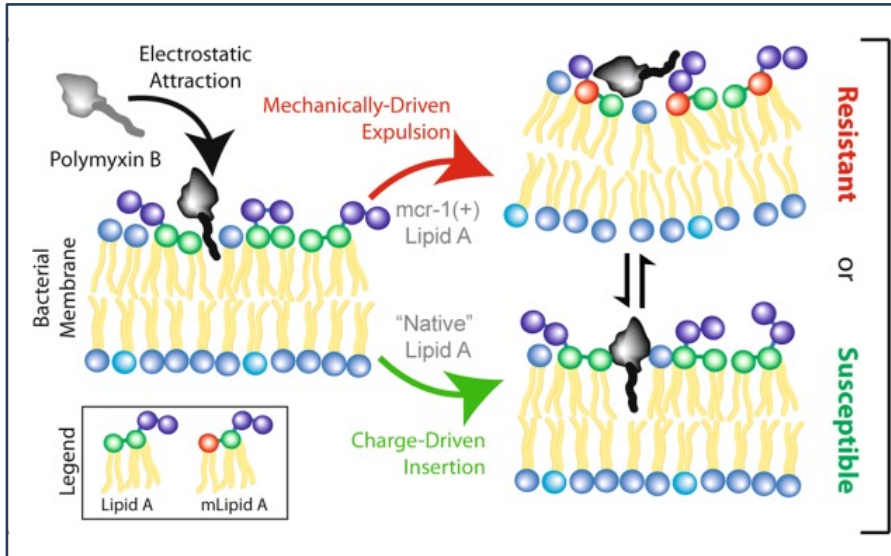
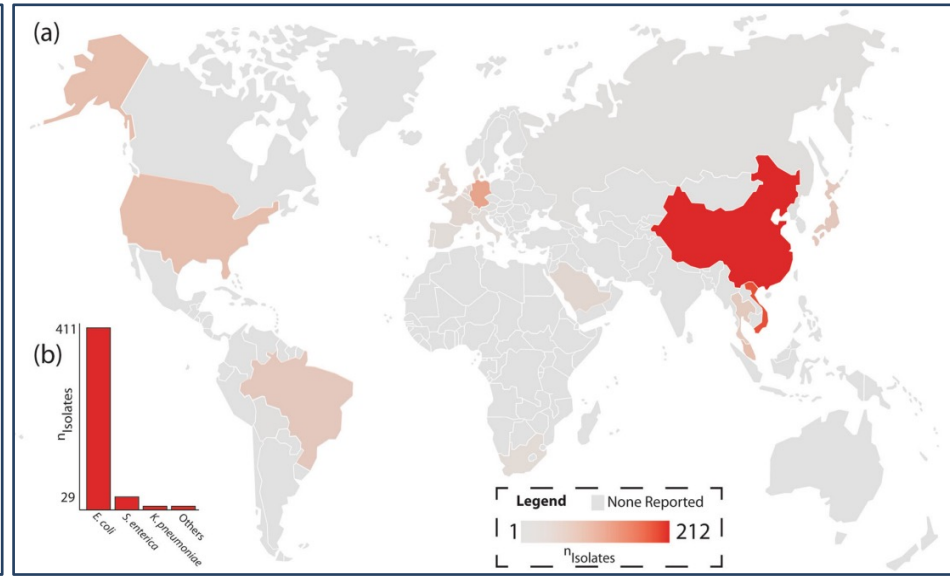
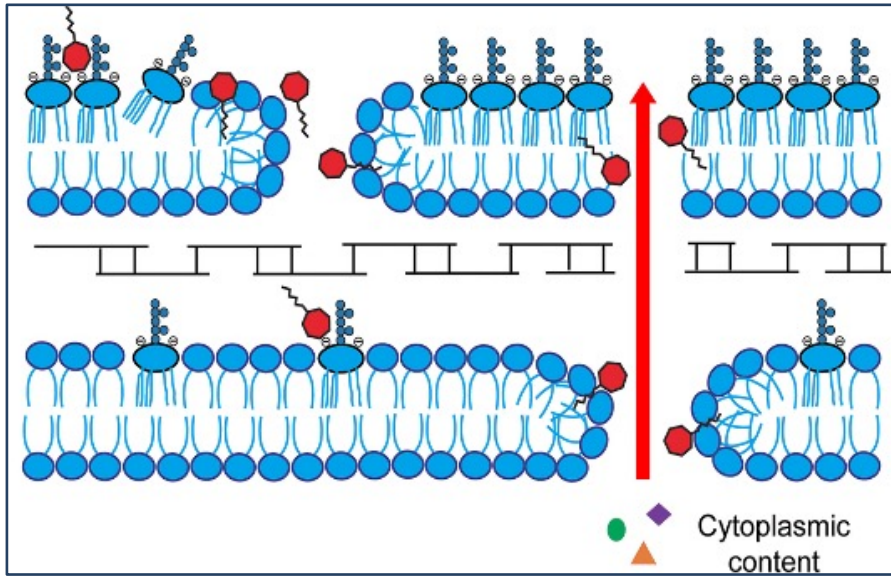
Setbacks to fighting antimicrobial resistance can and must be temporary.

Learn more: <https://www.cdc.gov/drugresistance/covid19.html>

Санкт-Петербург: чувствительность *Pseudomonas spp.* к различным антибиотикам



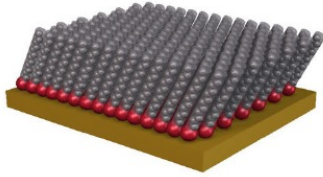
Действие колистинов. Механизмы возникновения резистентности к колистинам



Khondker and Rheinstädter, Comm. Biol., 2020;
Sun and Palzkill, mBio., 2021

Искусственные модели клеточных мембран

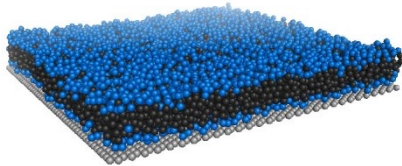
- Липидные монослои



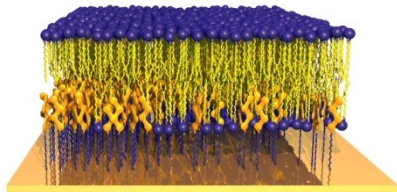
- Плоские липидные бислои



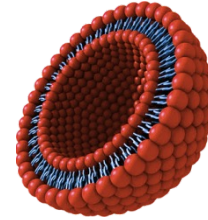
- Бислои на подложке



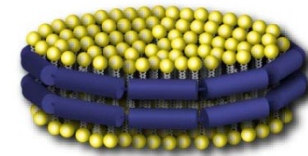
- Связанные бислои



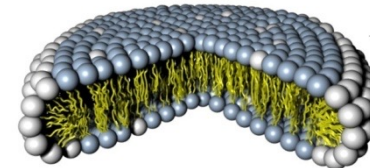
- Липосомы



- Нанодиски

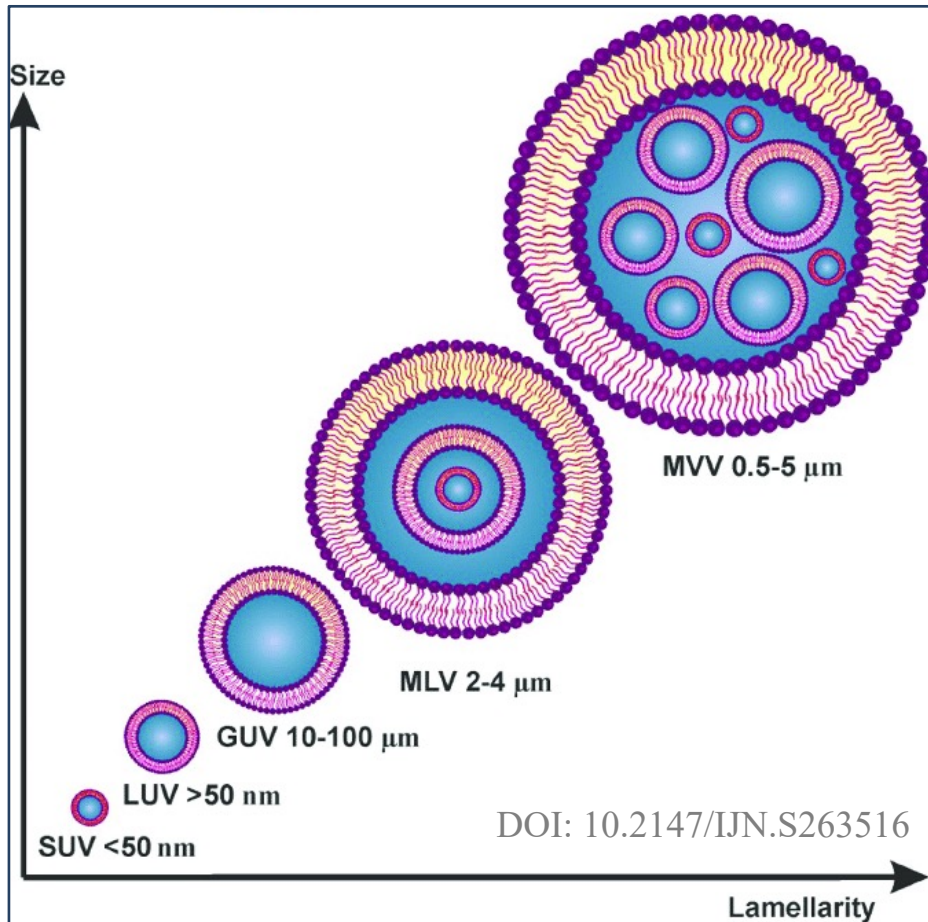


- Бицеллы



Липосомы

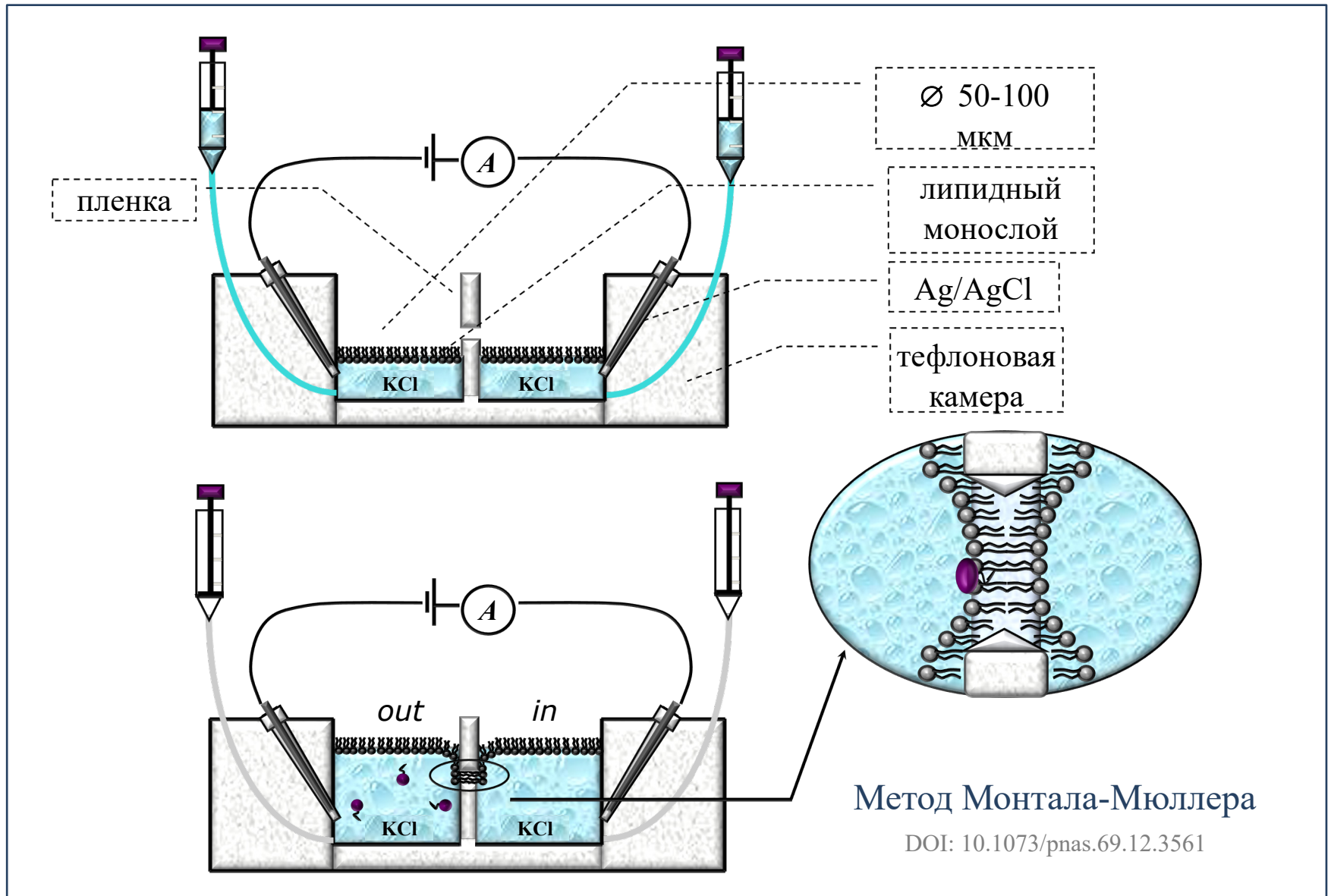
Классификация



Методы получения:

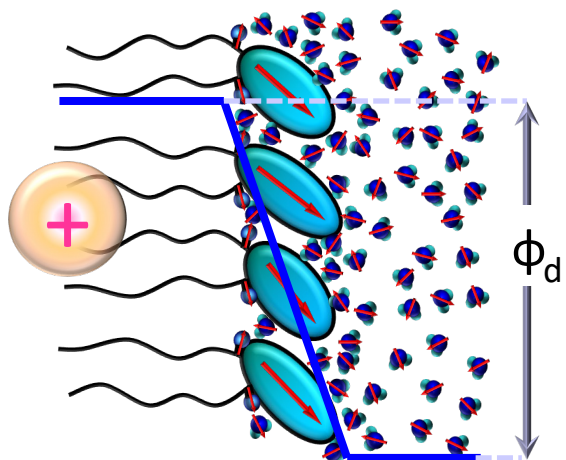
- Пленочный метод (MLV)
- Замораживание/оттаивание (MLV)
- Экструзия через мембранные фильтры (SUV/LUV)
- Ультразвуковое озвучивание (SUV)
- Электроформация (GUV)

Плоские липидные бислои

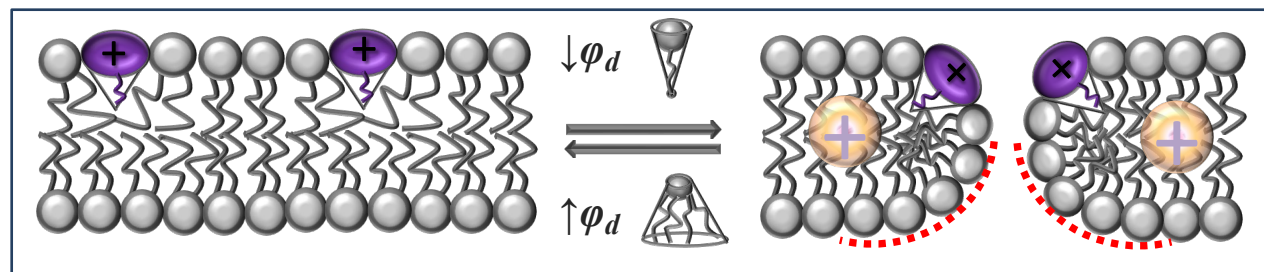
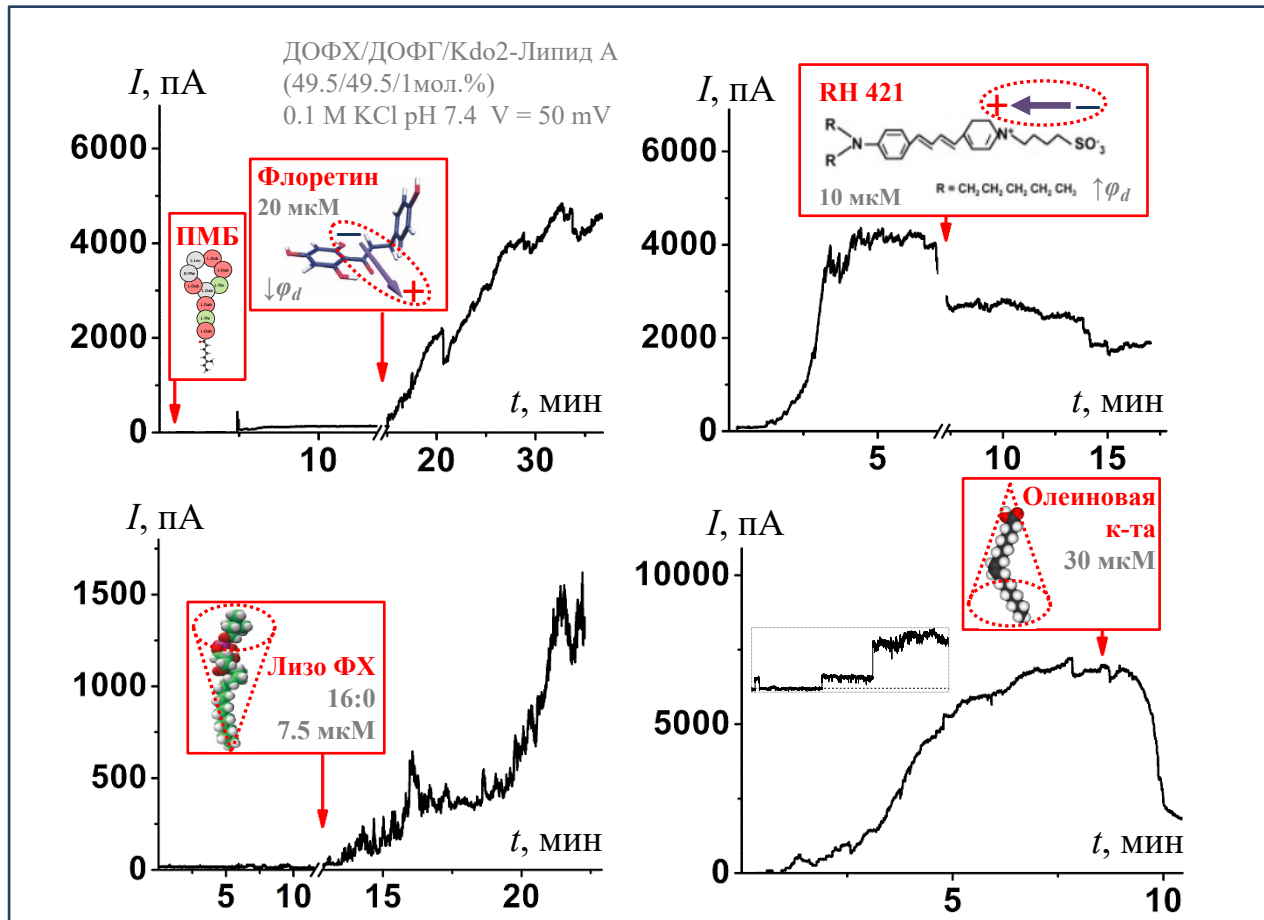
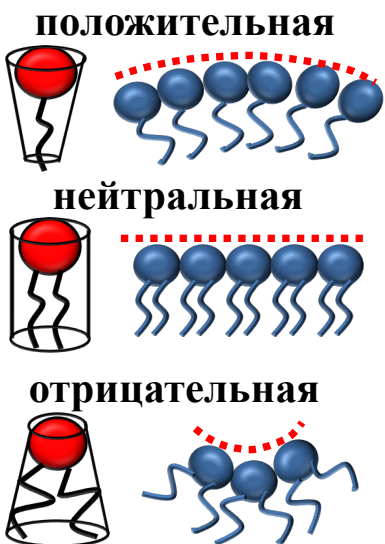


Механизмы влияния липидного микроокружения на ионные каналы, формируемые полимиксином Б

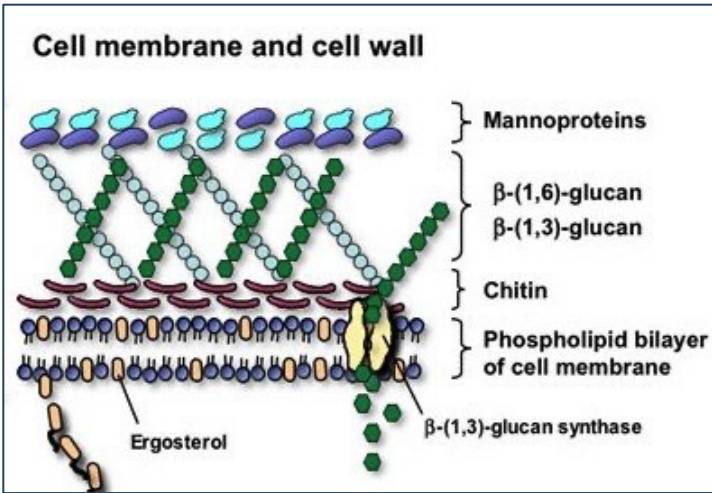
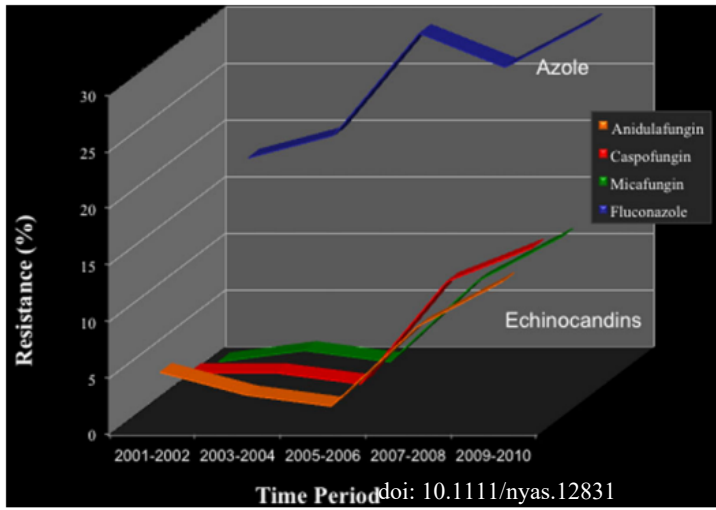
Дипольный потенциал



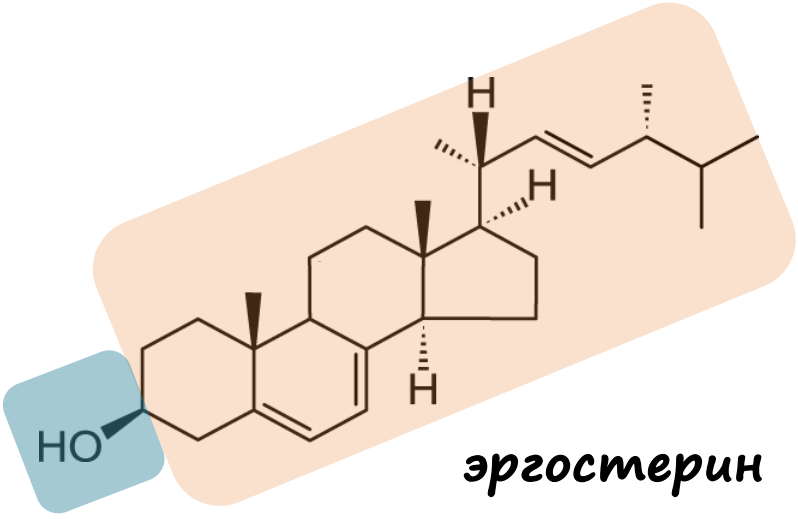
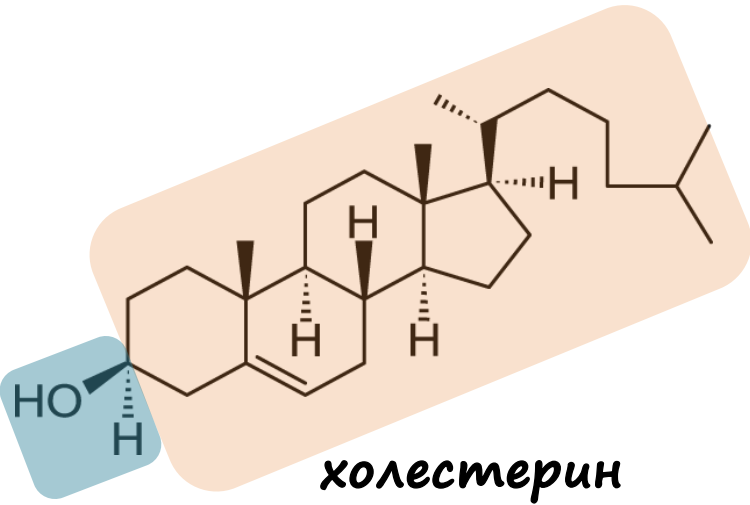
Спонтанная кривизна



Устойчивость грибковых патогенов к антифунгальным препаратам

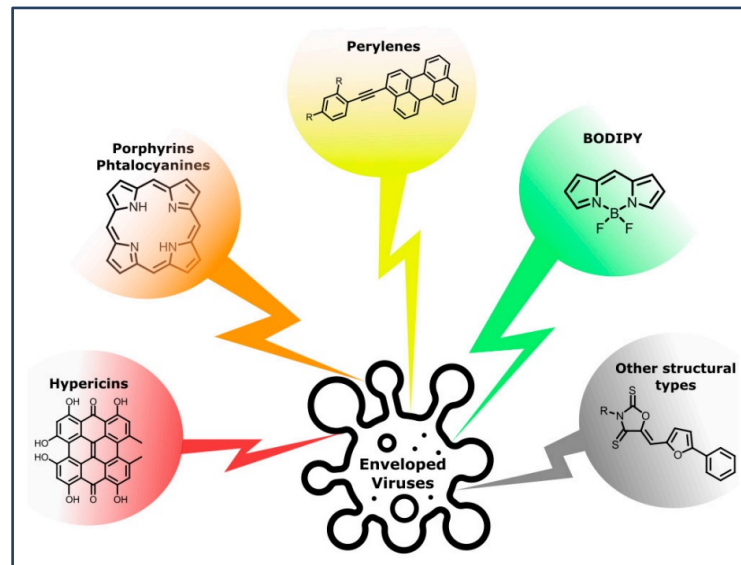
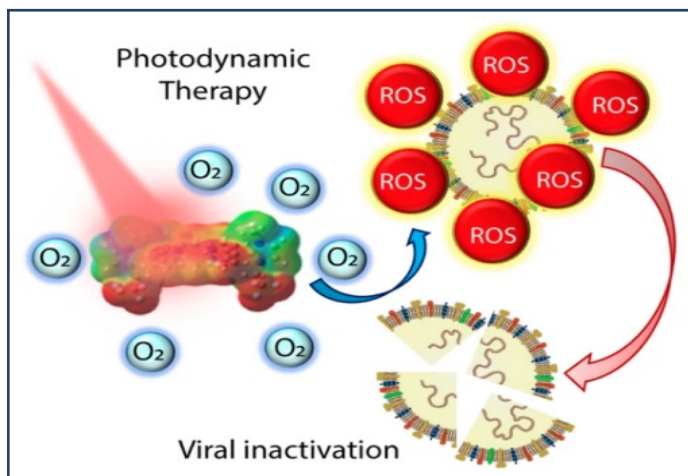


Принципы нацеливания на мембраны грибковых клеток. Стерины



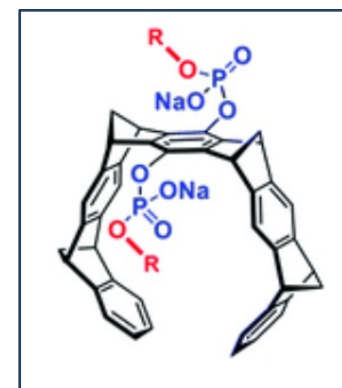
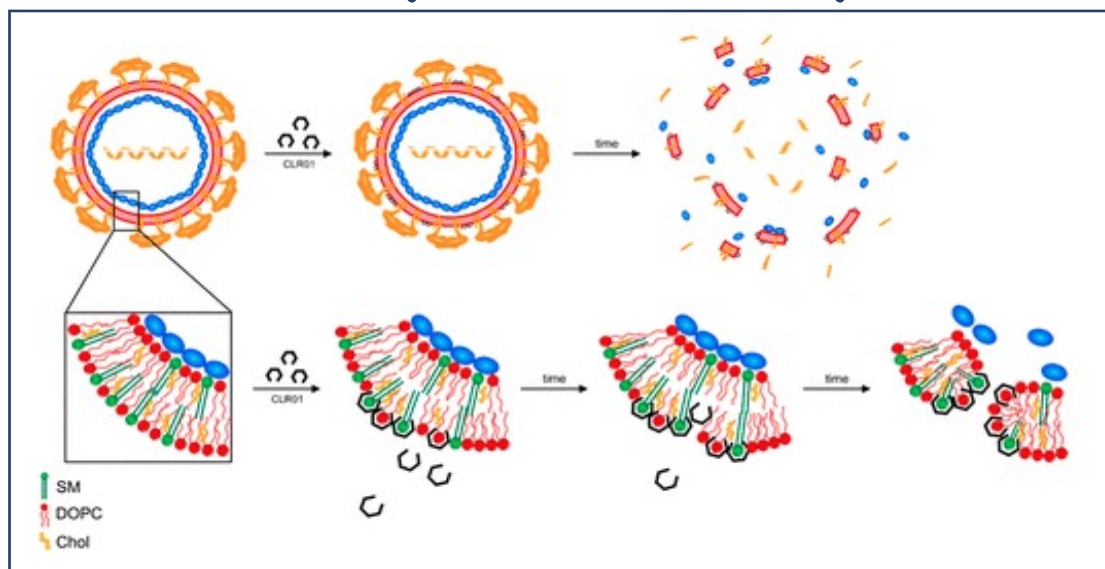
Разрушение липидной оболочки вирусов

1. Фотосенсибилизаторы



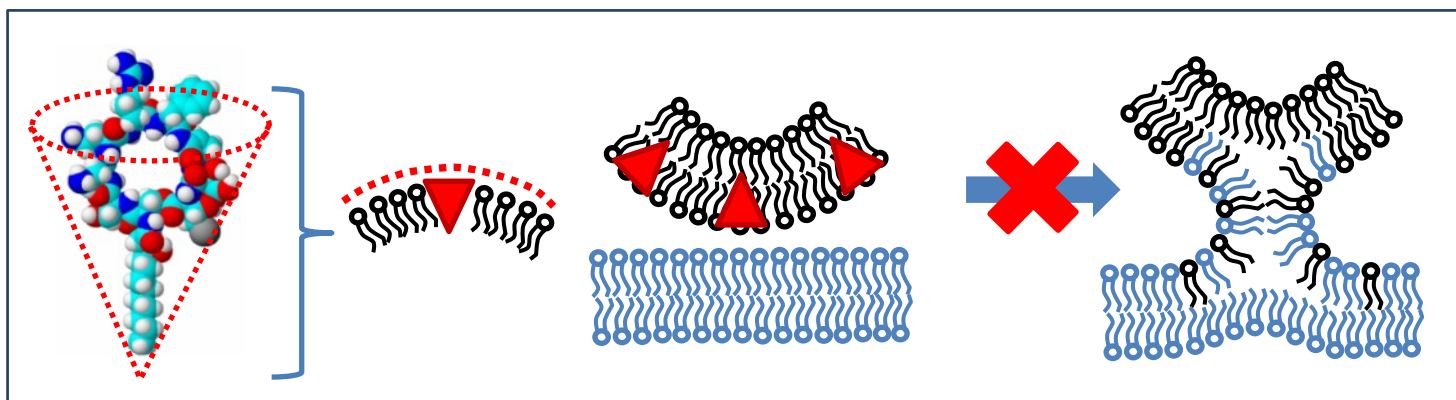
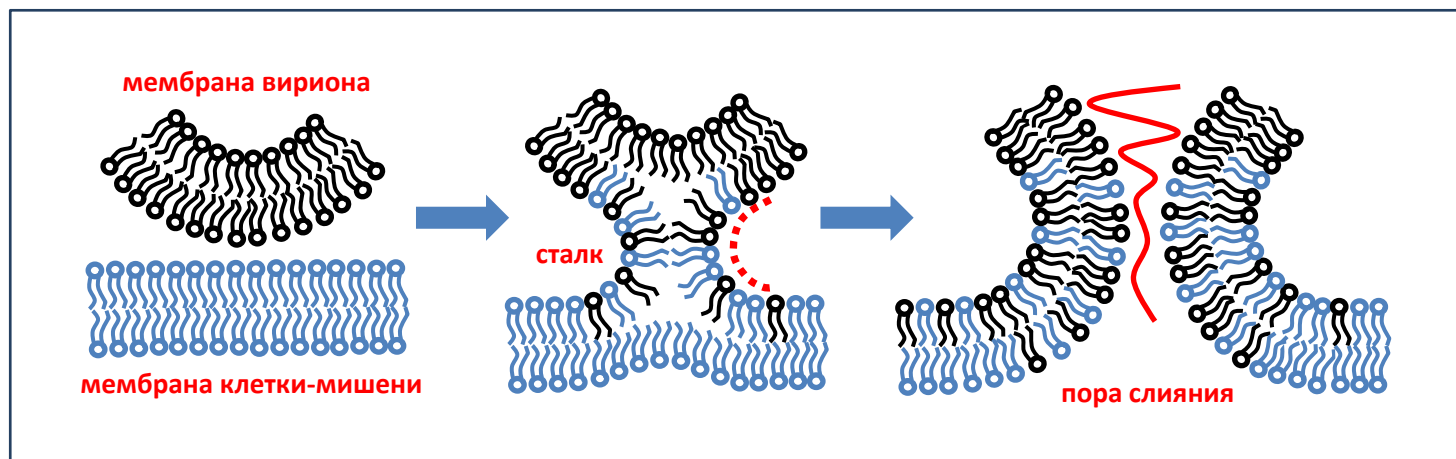
DOI: 10.3390/molecules26133971

2. Молекулярные твизеры



Weil et al., J. Am. Chem. Soc., 2020;
Weil et al., JACS, 2022

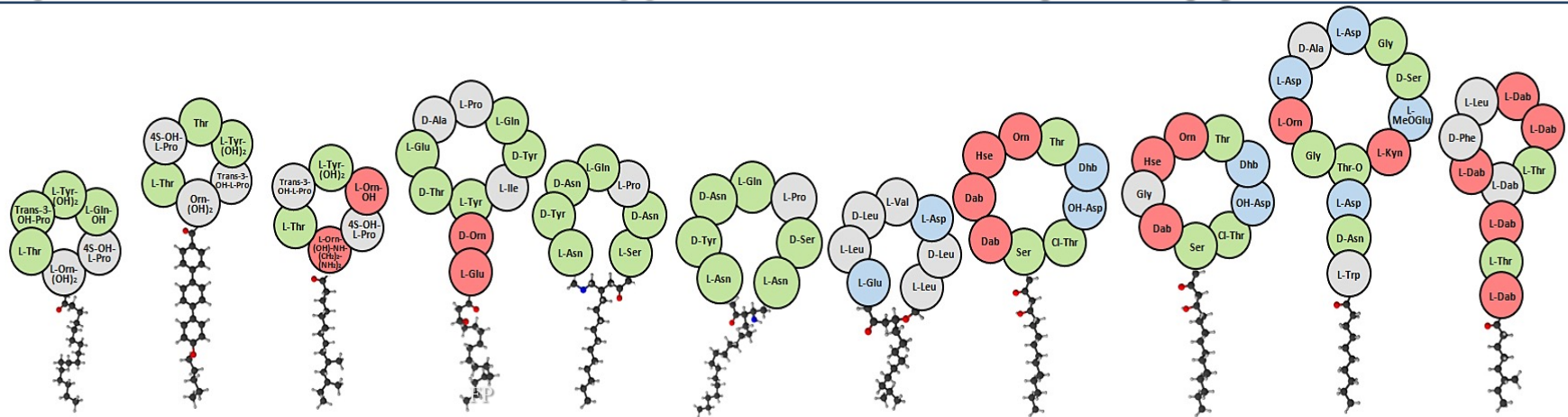
Ингибиторы слияния, увеличивающие спонтанную кривизну



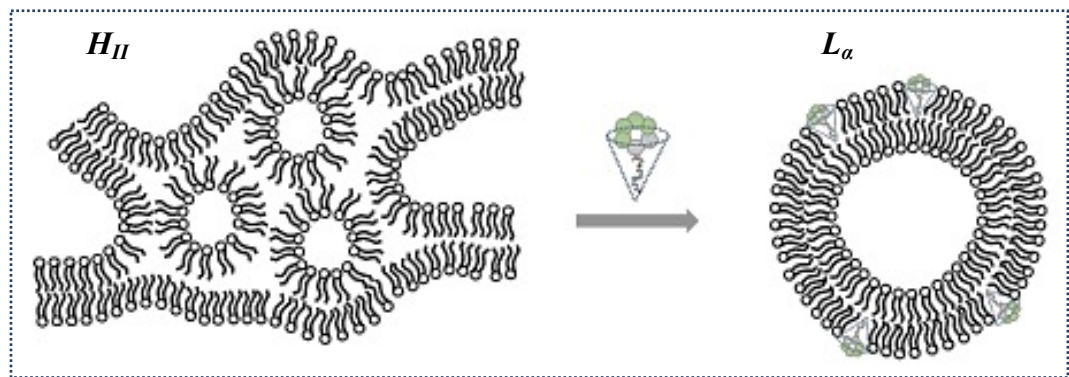
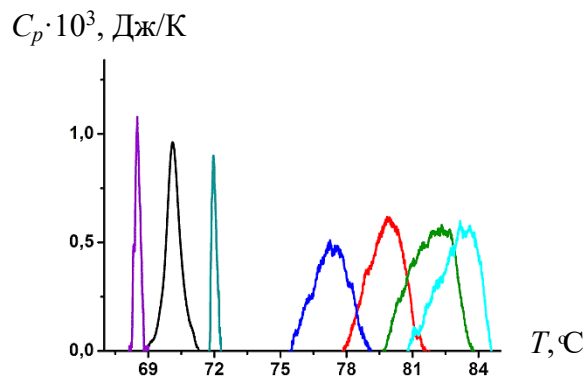
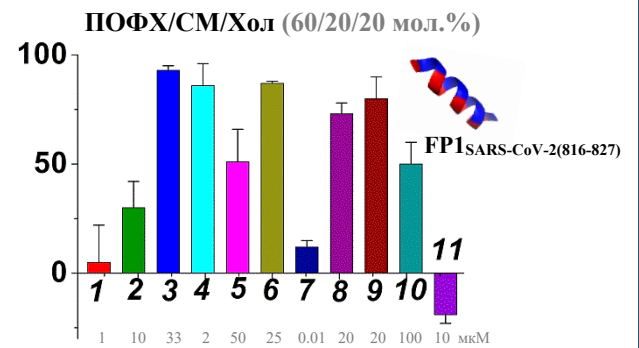
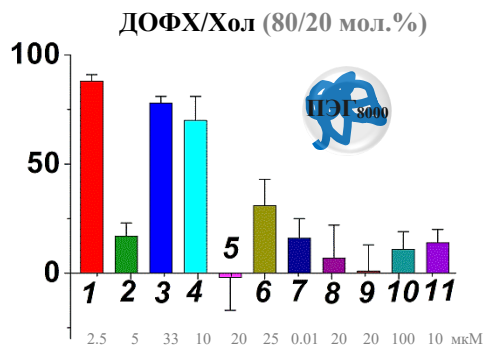
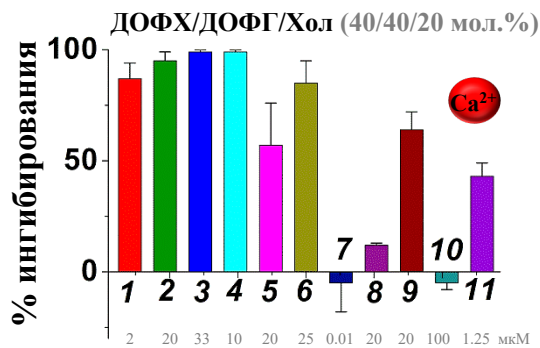
Преимущества нацеливания на липидную оболочку вирусов:

1. Уменьшения риска развития резистентности, так как нет воздействия на белковые мишени
2. Расширение спектра действия, потенциальная эффективность в отношении «родственных» вирусов, предотвращение новых эпидемий

Циклические липопептиды как ингибиторы вирусного слияния



1 Акулеацин А 2 Анидулафунгин 3 Каспофунгин 4 Фенгицин 5 Итуриин А 6 Микосубтилин 7 Сурфактин 8 Сиригостатин А 9 Сириготоксин Б 10 Даптомицин 11 Полимиксин Б



Противовирусная активность циклических липопептидов

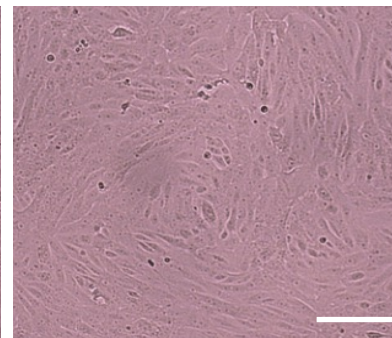
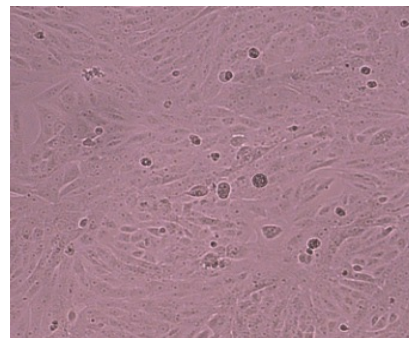
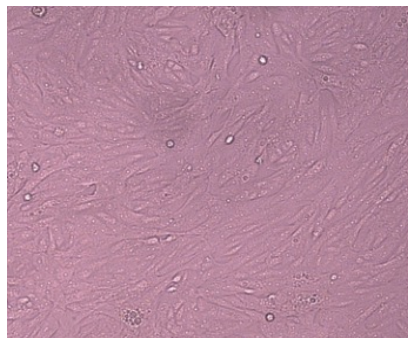
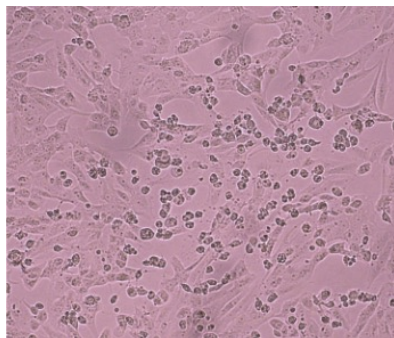
положительный контроль

микосубтилин

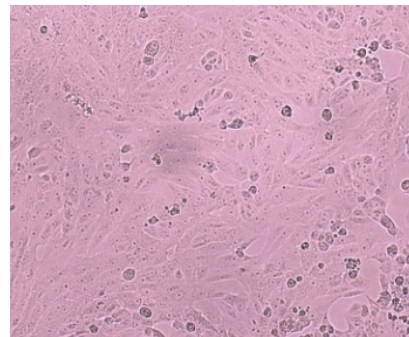
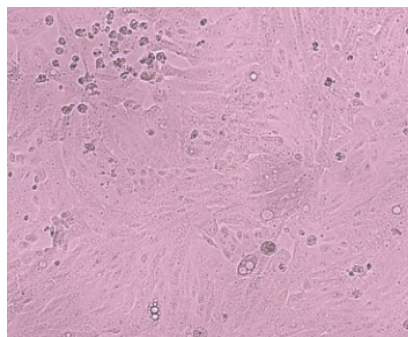
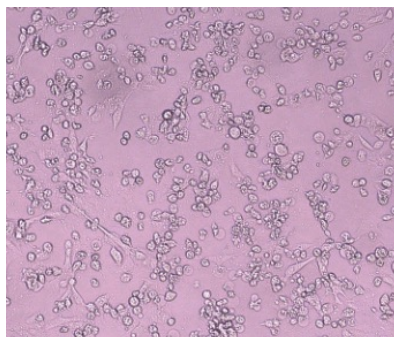
итурин А

отрицательный контроль

24 ч.



48 ч.



Vero (ATCC CCL81)

SARS-CoV-2

Микосубтилин: 12.5 мкг/мл

Итурин А: 25 мкг/мл

Масштабная линейка: 100 мкм

липопептид	ЦК ₅₀ , мкг/мл	ИК ₅₀ , мкг/мл	lgTCID ₅₀ /мл	ТИ
Акулеацин А	61 ± 4	1.3 ± 0.3	3.0	47
Анидулафунгин	42 ± 3	5.4 ± 1.0	2.0	8
Каспофунгин	> 200	> 200	5.5	1
Итурин А	136 ± 11	11.1 ± 2.0	3.5	12
Микосубтилин	115 ± 8	2.8 ± 0.4	3.0	41
Сурфактин	0.61 ± 0.10	> 0.4	5.5	1
Даптомидин	0.74 ± 0.10	> 0.4	5.5	1
Полимиксин Б	1.1 ± 0.2	> 0.8	5.5	1
Плацебо	-	-	5.5	-

ЦК₅₀ – 50% цитотоксическая концентрация липопептида;

ИК₅₀ – 50% вирус-ингибирующая концентрация липопептида;

lgTCID₅₀ – вирусный титр при максимальной нетоксичной концентрации липопептида;

ТИ – терапевтический индекс липопептида (отношение ЦК₅₀ и ИК₅₀)

Ключевые точки

- Мембрана – это универсальная мишень для разработки лекарственных препаратов.
- Управление физическими свойствами мембраны – ключ к направленной модификации и оптимизации лекарственных средств.



Углеводы, белки? Главное – липиды!

Лаборатория моделирования мембран и ионных каналов

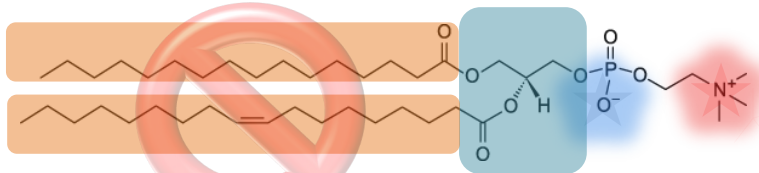


Спасибо за внимание!

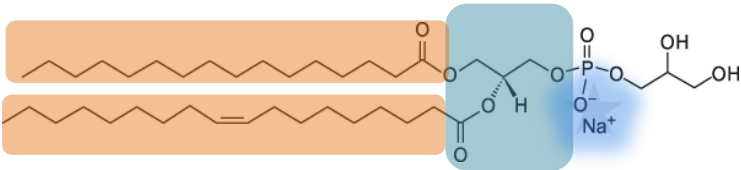
Принципы нацеливания на мембраны бактерий.

Липиды бактериальных мембран

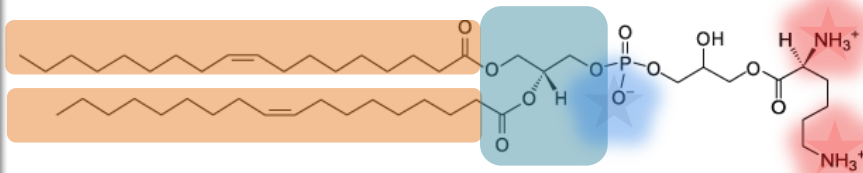
Глицерофосфолипиды бактерий



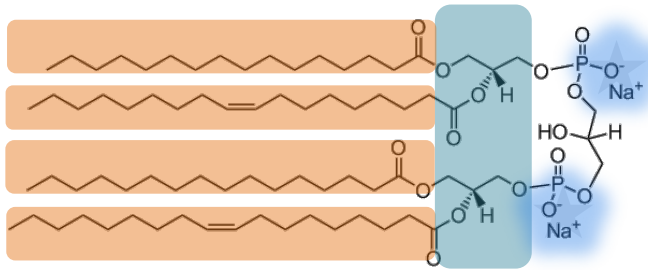
фосфатидилхолин



фосфатидилглицерин



лизилфосфатидилглицерин

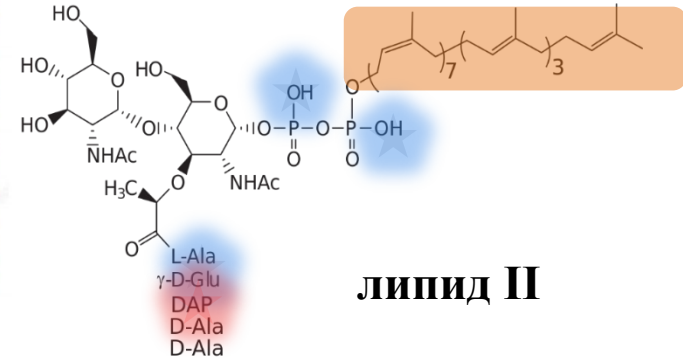
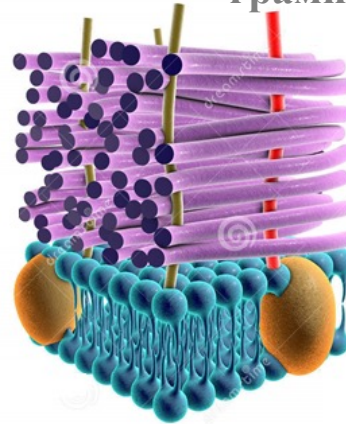


кардиолипин

Специфические липидные адьюванты

грамположительные бактерии

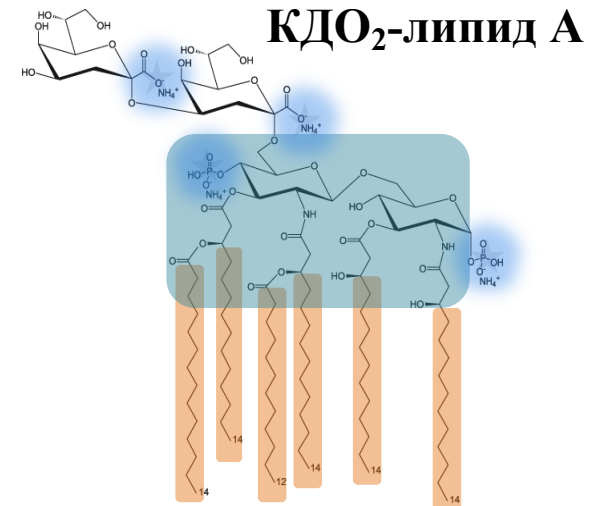
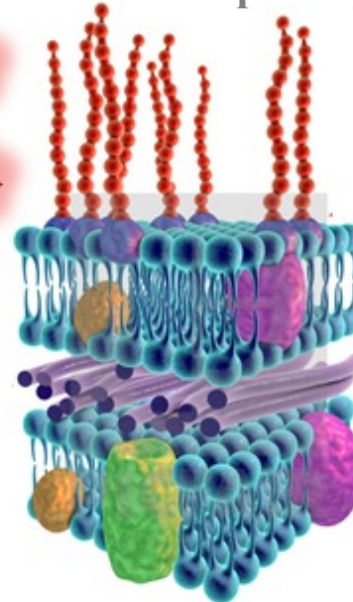
пептидогликаны



липид II

грамотрицательные бактерии

липополисахариды



КДО₂-липид А