

Nieuw tijdperk van lipidentargeting

Peptideantibiotica

Rhythm Shukla

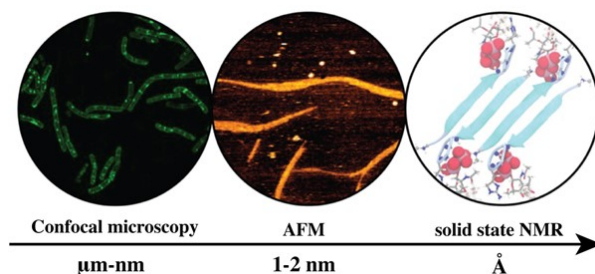
Antimicrobiële resistentie (AMR) is een wereldwijd gezondheidsprobleem. De momenteel gebruikte antibiotica worden steeds ineffectiever en de klinische pijnlijken van nieuwe antimicrobiële stoffen is zo goed als leeg. Nieuwe antibiotica met nieuwe werkingsmechanismen zijn nodig om antibioticumresistentie te bestrijden.

De zogeheten macrocyclische depsipeptide antibiotica als teixobactine en clovibactine vormen een nieuwe groep die specifiek binden aan bacteriële lipiden in biologische membranen. Het moleculaire mechanisme van deze antibiotica is lastig te onderzoeken. Veel van deze lipidegerichte antibiotica maken gebruik van supramoleculaire mechanismen en oligomeriseren op membraanoppervlakken nadat ze aan het doel gebonden zijn. Om het algemene mechanisme van dergelijke antibiotica te begrijpen is het noodzakelijk om verschillende technieken te combineren, zodat deze processen op verschillende resoluties en tijdschalen bestudeerd kunnen worden. In de studies beschreven in dit proefschrift introduceren we een nieuwe methode, gebaseerd op vaste stof *nuclear magnetic resonance* (vsNMR), met aanvullende geavanceerde microscopietechnieken zoals hogesnelheid *atomic force microscopy* (HS-AFM) en confocale microscopie, en biofysische technieken zoals isothermale titratie-calorimetrie (ITC), om de moleculaire mechanismen van deze antibiotica op atomair niveau in relevante membraanomstandigheden te bestuderen (zie *figuur 1*). Dit maakt het mogelijk het supramoleculaire mechanisme van lipidebindende geneesmiddelen op biologische membranen holistisch te beschrijven.

Teixobactine en clovibactine zijn geïsoleerd uit (voorheen) niet-kweekbare grondbacteriën. Beide antibiotica richten zich op de voorlopers van de

biosynthetische route van peptidoglycaan, de lipide II-cyclus. Lipide II en andere celwandprecursoren zoals lipide I en C55PP zijn essentiële lipiden in het bacteriële celmembraan en zijn sterk geconserveerd (zie *figuur 2, pagina 42*). Middelen gericht op lipide II of andere voorlopers van celwandbiosynthese hebben per definitie zeer veel potentie om effectieve antibiotica te worden.

Figuur 1. Het deduceren van het werkingsmechanisme van antibiotica in verschillende resoluties (micrometer tot Ångström) met behulp van confocale microscopie, AFM en vsNMR, rechtstreeks op levende bacteriële cellen of in relevante membraanomgevingen.

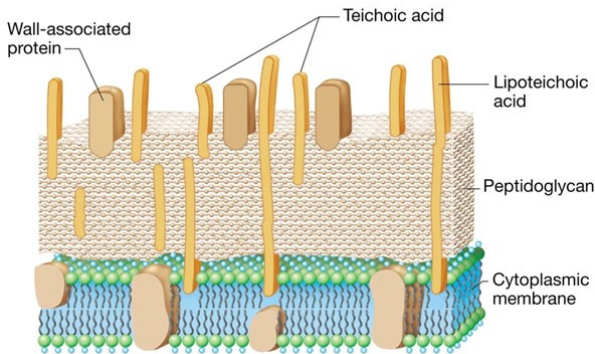


Uit ons onderzoek is gebleken dat teixobactine een dubbele werking heeft:

- i) het remmen van de peptidoglycaansynthese door binding aan lipide II;
- ii) het verstoren van het membraan door het vormen van grote supramoleculaire structuren die de bacteriële membraan destabiliseren.

Dr. R. Shukla, postdoctoral candidate AMOLF.
Correspondentieadres: r.shukla@amolf.nl.

Figuur 2. Een schematische weergave van de gram-positieve celenvlop, waarbij de prominente peptidoglycaanlaag in gram-positieve bacteriën duidelijk zichtbaar is.



Ons onderzoek heeft aangetoond dat de enduracididine C-terminale kopgroep van teixobactine specifiek bindt aan de pyrofosfaat-suikergroep van lipide II, terwijl de N-terminus het pyrofosfaat van een ander lipide II-molecuul verplaatst. Deze configuratie bevordert de vorming van een β -sheet van aan het doelwit gebonden teixobactinen, waardoor een supramoleculaire fibrillaire structuur ontstaat. Deze supramoleculaire fibrillaire structuren tasten het bacteriële membraan vervolgens verder aan.

Clovibactine richt zich op de sterk geconserveerde pyrofosfaat (PPi)-groep van belangrijke celwandprecursoren zoals C55PP, lipide I, lipide II en lipide IIIWTA en vormt een 'hydrofobe handschoen' rond de PPi-groep. Zo'n ongewone interactie is vermoedelijk entropisch gunstig door het verwijderen van de fosfaatgebonden watermoleculen. De efficiënte en selectieve binding aan lipide II-precursoren wordt bereikt door de supramoleculaire complexvorming en daaropvolgende oligomerisatie tot de onomkeerbare assemblage van fibrillen. In tegenstelling tot de fibrillen van teixobactine zijn de fibrillen van clovibactine mobieler en nestelen ze zich niet zo diep in het membraanoppervlak. Omdat clovibactine geen specifieke interacties met de suikers heeft, is het nog beter bestand tegen de ontwikkeling van resistentie. Hoewel ze structureel verwant zijn, binden teixobactine en clovibactine dus op verschillende manieren aan de lipiden. De specifieke binding aan de geconserveerde componenten van de bacteriële celenvlop verklaart

waarom resistentieontwikkeling nagenoeg ontbreekt. Overkoepelend is wel duidelijk dat oligomerisatie en structuurvorming de kern vormen van hoe verschillende lipide II-gerichte antibiotica werken. En dus selectief op membranen die lipide II bevatten, waardoor geen toxiciteitsprobleem voor eukaryote cellen te verwachten is.

Het effect van membraanlading op het mechanisme van teixobactine

Bacteriële membranen zijn zeer dynamische structuren. Bacteriële cellen moduleren de samenstelling van hun membranen tijdens verschillende stadia van de groeicyclus en kunnen dit ook doen als reactie op externe stressfactoren zoals antibiotica. De bindingsaffiniteit van teixobactinen aan lipide II wordt sterk beïnvloed door de aanwezigheid van anionische lipiden. Het is dus belangrijk om de effecten van verschillende lipiden op het mechanisme van teixobactine te begrijpen, om een potentieel scenario van resistentie te begrijpen.

Op basis van onze huidige vsNMR-data blijkt dat niet alleen de lading, maar ook de verhouding van lipiden in het membraan de bindingsmodus van teixobactine sterk beïnvloedt. Verder onderzoek toont aan dat de negatief geladen lipiden, die ruim aanwezig zijn in bacteriële membranen, elektrostatic de binding van teixobactine aan het membraan vergemakkelijken. In het licht van deze resultaten speculeren we dat anionische lipiden een nucleatieplaats bieden waar vrije peptiden ook kunnen binden in niet-stoichiometrische verhoudingen. Het kan mogelijk aanleiding geven tot verschillende conformaties en tot veranderingen in de kinetiek van het systeem.

De inzichten over hoe deze nieuwe antibiotica werken tezamen met de verschillende technieken beschreven in dit proefschrift maken het mogelijk om nog betere middelen en therapieën te ontwikkelen om bacteriële pathogenen te doden, zonder de ontwikkeling van resistentie.

Dit artikel is gebaseerd op het proefschrift New Era of Lipid-Targeting Peptide Antibiotics, 2023, <https://doi.org/10.33540/1631>, ISBN 978-90-393-7535-8.