

Simulasi Dinamika Molekul Protein Apo MIP (*Macrophage Infectivity Potentiator*) dari *Legionella pneumophila*

Molecular Dynamic Simulations of Apo proteins of MIP (Macrophage Infectivity Potentiator) from Legionella pneumophila

Elisabeth Catherina Widjajakusuma¹, Arkenjela Girlani Naisuri¹, Margaretha Yuliani Br. Simatupang¹

¹ Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Surabaya
Corresponding author : ecwidj@ukwms.ac.id

Abstrak

Salah satu faktor virulensi yang dikaitkan dengan beberapa bakteri patogen adalah protein *macrophage infectivity potentiator* (MIP). Penelitian ini bertujuan untuk memahami stabilitas protein MIP dalam keadaan bebas (apo). Salah satu struktur awal protein apo diperoleh dari *protein data bank* 2VCD dengan menghilangkan Rapamycin, sedangkan dua struktur awal lainnya berasal dari protein apo 2UZ5 dan 1FD9. Simulasi dinamika molekul dijalankan pada ketiga protein apo dan dikombinasikan dengan penambahan potensial. Hasil simulasi memperlihatkan bahwa penambahan potensial memiliki efek terbesar pada rongga pengikatan dari protein apo 2VCD, sedangkan kedua protein apo lainnya tidak menunjukkan perubahan konformasi sebesar protein apo 2VCD. Hal ini menunjukkan fleksibilitas yang tinggi pada protein apo MIP dan adanya perbedaan fleksibilitas bila struktur awalnya berasal dari kompleks protein-Rapamycin yang Rapamycinnya dihilangkan.

Kata Kunci : *protein apo, MIP (macrophage infectivity potentiator), simulasi dinamika molekul*

Abstract

A virulence factor associated protein appeared to be important in the pathogenesis of several bacteria is the *macrophage infectivity potentiator* (MIP) protein. This study aimed to understand the stability of the MIP protein in apo form. One of the initial structures of the apo proteins was obtained from the 2VCD protein data bank without Rapamycin, while the other two initial structures were taken from the apo proteins 2UZ5 and 1FD9. Molecular dynamics simulations were carried out on the three apo proteins, combined with the flooding potential. The analysis of simulations showed that the flooding potential had the greatest effect on the binding cavity of the apo protein 2VCD, while the other two apo proteins did not show conformational change as much as the apo protein 2VCD. This indicates high flexibility in the apo MIP protein and a difference in flexibility when the initial structure was taken from the complex without its ligand.

Keywords : *apo protein, MIP (macrophage infectivity potentiator), molecular dynamics simulations*

PENDAHULUAN

Protein *macrophage infectivity potentiator* (MIP) dimiliki oleh berbagai bakteri patogen Gram negatif, misalnya pada *Legionella pneumophila*, *Trypanosoma cruci*, dan *Burkholderia pseudomallei* (Lohr et al. 2024). Protein ini merupakan anggota dari superfamili protein immunofilin dan berperan dalam proses infeksi tahap awal. Penghapusan gen yang mensintesis protein ini menyebabkan berkurangnya replikasi

bakteri di dalam sel inang (Cianciotto and Fields 1992, Debowski et al. 2023). Bakteri yang mengalami mutasi pada protein MIP berkurang kemampuannya untuk bertahan hidup dalam hewan coba marmut. Karena peranannya yang cukup vital, protein immunofilin menjadi target pengembangan obat sebagai pilihan terapi melawan infeksi bakteri. Namun demikian kemiripan struktur protein MIP dengan protein FKBP12, yang berperan dalam sistem imun manusia, merupakan tantangan tersendiri untuk pencarian ligan yang selektif terhadap protein MIP dan tidak bersifat immunosupresif (Kolos et al. 2018)

Penelitian sebelumnya telah membandingkan sifat dinamik antara protein MIP dan FKBP12 dan menunjukkan bahwa meskipun memiliki kemiripan struktur, kedua protein tersebut memiliki sifat dinamik yang berbeda (Widjajakusuma et al. 2022; Widjajakusuma, Frederica, and Kaweono 2023). Selanjutnya, residu-residu pada rongga pengikatan protein apo FKBP12 mengalami perubahan yang signifikan akibat penambahan potensial (Widjajakusuma et al. 2024). Pada penelitian ini, rongga pengikatan protein apo MIP diamati dengan simulasi dinamika molekul yang dikombinasikan dengan penambahan potensial.

METODE

Struktur awal simulasi untuk protein apo MIP diperoleh dari 2VCD (Ceymann et al. 2008) tanpa Rapamycin, 2UZ5 (Ceymann et al. 2008), dan 1FD9 (Ribolli-Tunncliffe et al. 2001). Keseimbangan temperatur 300 K dan tekanan 1 bar dicapai dengan menjalankan ensemble NVT dan NPT dengan kondisi batas periodik dengan menggunakan paket program GROMACS (van der Spoel Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., Berendsen, H. J. C. 2005) dan medan gaya AMBER ff99SB (Lindorff-Larsen et al. 2010). Sistem dikelilingi oleh molekul air TIP3P (Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W. 1983), yang ditempatkan dalam kotak berbentuk dodekahedron. Jarak antara atom terluar dari protein dan dinding kotak adalah 10 Å dan untuk menetralkan sistem simulasi ditambahkan ion Cl⁻. Algoritma *steepest decent* digunakan untuk meminimasi sistem. Termostat V-rescale (Bussi, Donadio, and Parrinello 2007) dan skema kopling Parrinello-Rahman (Parrinello and Rahman 1981) masing-masing digunakan untuk menjaga agar temperatur dan tekanan tetap konstan. Panjang ikatan kovalen yang melibatkan atom hidrogen dibatasi dengan menggunakan metode LINCS (Hess et al. 2008). Metode *particle-mesh* Ewald (PME) (Darden T. Pedersen L. 1993) digunakan untuk menghitung interaksi jarak jauh dengan jarak *cutoff* 12 Å. Sistem menjalani simulasi dinamika molekul selama 10 ns, dan kemudian ditambahkan *flooding potential* (Lange, Schäfer, and Grubmüller 2006) selama 10 ns, dan akhirnya *flooding potential* dihilangkan dan simulasi dinamika molekul dijalankan kembali selama 20 ns. Total waktu simulasi yang dijalankan pada masing-masing dari ketiga sistem adalah 40 ns. *Dihedral angle principal component*

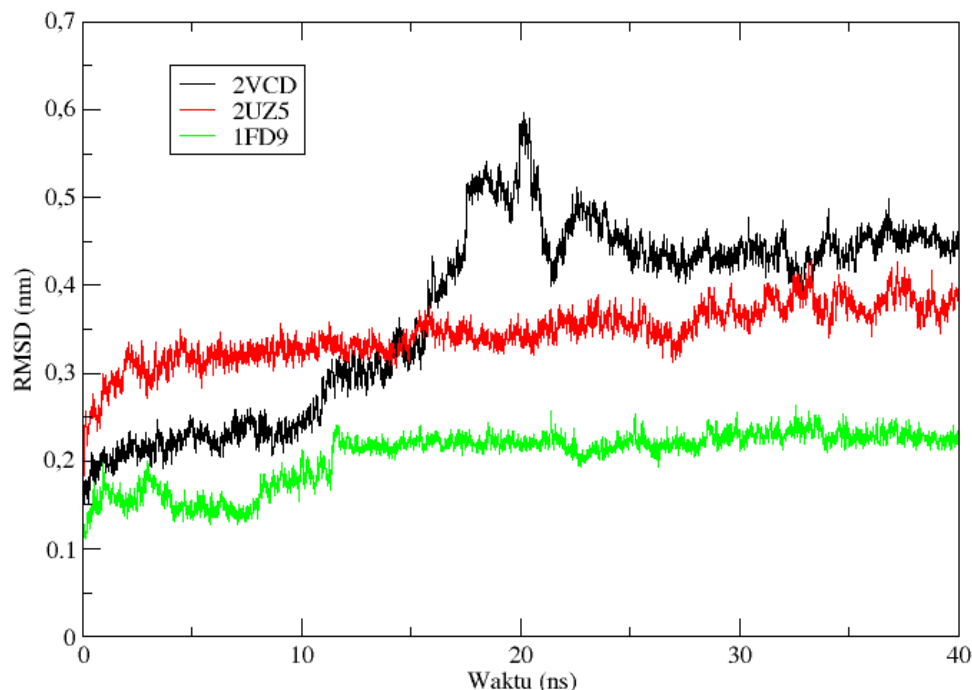
analysis (Altis et al. 2007; Mu, Nguyen, and Stock 2005) dilakukan untuk mendapatkan pemahaman lebih lanjut tentang sifat dinamik ketiga protein apo tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan RMSD (*root mean square deviation*) seperti yang diperlihatkan pada Grafik 1 dilakukan untuk mendapatkan gambaran global tentang perubahan konformasi yang terjadi selama 40 ns. Struktur awal simulasi digunakan sebagai struktur referensi dalam perhitungan ini. Dapat dilihat dari Grafik 1 bahwa protein apo 2VCD mengalami perubahan konformasi yang cukup tinggi hingga mencapai 0,6 nm akibat penambahan potensial. Sebaliknya, simulasi dengan struktur awal 2UZ5 tidak menunjukkan adanya perubahan konformasi yang drastis akibat penambahan potensial, namun hingga pada akhir simulasi, kondisi sistem sepertinya belum mencapai kesetimbangan. Hal ini ditunjukkan oleh grafik yang cenderung bertambah tinggi. Di lain pihak, simulasi dengan struktur awal 1FD9 memperlihatkan sifat dinamik yang berbeda selama waktu simulasi, yaitu tercapainya kesetimbangan justru ketika penambahan potensial dan kondisi ini tampaknya berlangsung hingga akhir simulasi.

Grafik 1:

Grafik RMSD selama waktu simulasi 40 ns dengan warna hitam untuk 2VCD, merah untuk 2UZ5 dan hijau untuk 1FD9 untuk semua atom pada residu 26-137



Untuk memahami perbedaan sifat dinamik dari protein apo yang sama tetapi berbeda struktur awalnya, RMSD dari ketiga struktur awal dihitung dan dibandingkan seperti yang terdapat pada Tabel 1. Kemudian, ketiga struktur awal ini ditumpangtindihkan dan residu-residu yang berperan dalam pengikatan ligan diperlihatkan seperti pada Gambar 1. Tampak jelas bahwa struktur protein apo 2VCD berbeda dengan kedua struktur awal protein apo lainnya dengan nilai RMSD lebih dari 0,3 nm. Residu Y109, yang membentuk kantong hidrofobik pada pengikatan dengan Rapamycin (Ceymann et al. 2008), masuk lebih dalam pada kantong pengikatan membentuk rongga lebih kecil pada protein apo 2VCD, sedangkan pada kedua protein apo lainnya, posisi residu Y109 menjauhi kantong hidrofobik terutama pada struktur awal protein apo 2UZ5.

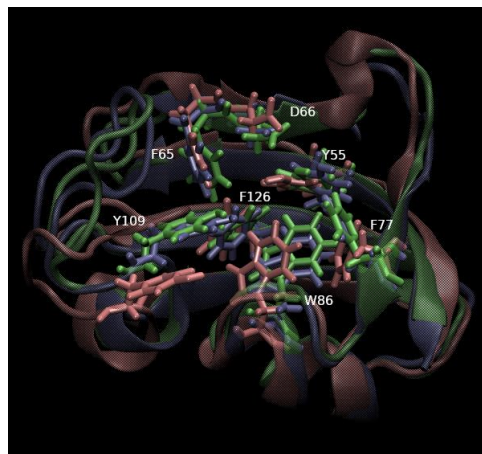
Tabel 1.

Perbandingan RMSD (nm) struktur awal simulasi. 1(a) adalah struktur dari 2VCD tanpa Rapamycin; 4(U): struktur dari 2UZ5; 7(F): struktur dari 1FD9.

	1(a)	4(U)	7(F)
1(a)	0	0,3389	0,3418
4(U)	0,3389	0	0,2208
7(F)	0,3418	0,2208	0

Gambar 1:

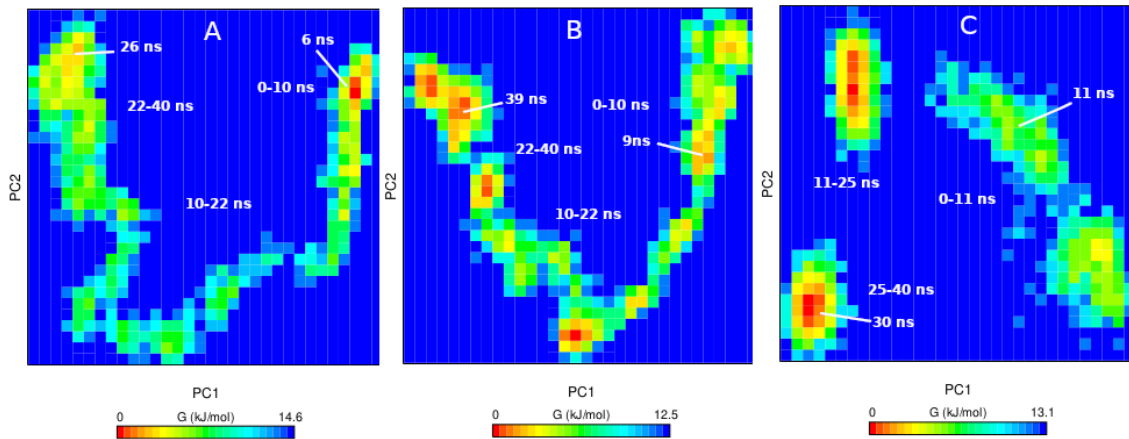
Struktur 3D protein apo pada titik minimum sebelum penambahan potensial yang ditumpangtindihkan untuk 1FKB (biru muda), 2PPN (merah muda), dan 1FKT (hijau). Residu Y55, F65, D66, F77, W86, Y109, F126 diperlihatkan pada kantong pengikatan.



Selanjutnya perbedaan sifat dinamik ketiga protein apo diamati melalui struktur representatif yang diperoleh dari dPCA (*dihedral angle principal component analysis*), seperti pada Gambar 2. Kemudian struktur-struktur tersebut dihitung RMSD-nya pada rongga pengikatan (residu 50-130) yang ditampilkan pada Gambar 3, dan divisualisasikan pada Gambar 4. Tampak dengan jelas bahwa dari keenam residu yang ditampilkan, residu yang mengalami perubahan konformasi secara drastis adalah F77, Y109, dan W86. Di samping Y109 yang sudah tidak lagi menjadi bagian dari kantong hidrofobik protein apo, perubahan konformasi dari F77 dan W86 tidak membuat kedua residu ini keluar dari kantong hidrofobik, tetapi mengubah bentuknya. Hal ini berbeda dengan protein apo FKBP12 yang tetap mempertahankan residu F46 yang menempati posisi F77 pada protein apo MIP (Widjajakusuma et al. 2024).

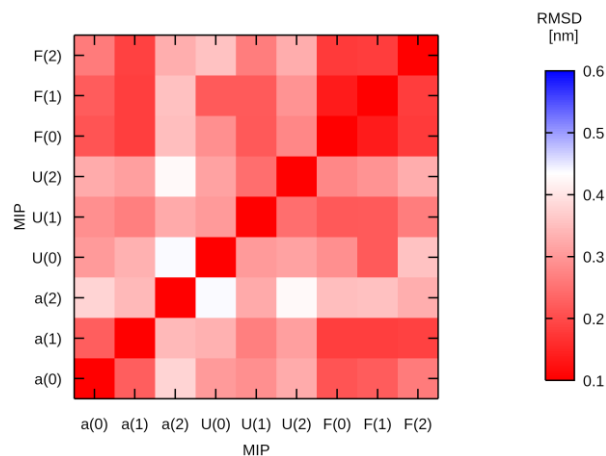
Gambar 2 :

Representasi 2D lanskap energi bebas ΔG (dalam kJ/mol) untuk 2VCD (A), 2UZ5 (B), dan 1FD9 (C)



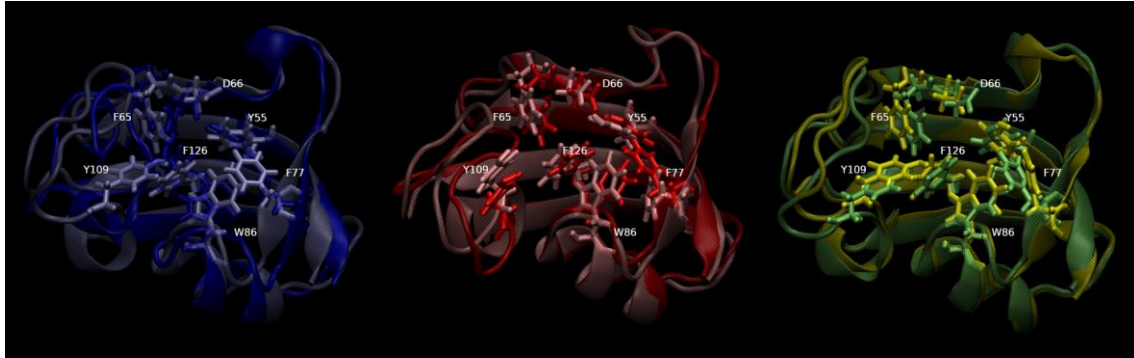
Gambar 3 :

Representasi 2D RMSD (dalam nm) pada residu 50-130 untuk 2VCD (a), 2UZ5 (U), dan 1FD9 (F) dengan 0, 1, dan 2 masing-masing untuk struktur PDB, struktur pada titik minimum dari lanskap energi bebas (Gambar 1) sebelum penambahan potensial dan sesudah penambahan .



Gambar 4:

Struktur 3D protein apo pada titik minimum pada Gambar 4 yang ditumpangtindihkan sebelum dan sesudah penambahan potensial untuk 2VCD (biru muda dan biru tua), 2UZ5 (merah muda dan merah), dan 1FD9 (hijau dan kuning)



KESIMPULAN

Struktur protein apo MIP secara tidak mengalami perubahan konformasi secara drastis. Namun demikian pada rongga pengikatan residu Y109 tidak lagi membentuk kantong hidrofobik. Di samping itu residu F77 dan W86 mengalami perubahan konformasi yang menyebabkan deformasi bentuk rongga hidrofobik.

DAFTAR PUSTAKA

- Altis, Alexandros, Phuong H Nguyen, Rainer Hegger, and Gerhard Stock. 2007. "Dihedral Angle Principal Component Analysis of Molecular Dynamics Simulations." *The Journal of Chemical Physics* 126: 244111. doi: 10.1063/1.2746330.
- Bussi, Giovanni, Davide Donadio, and Michele Parrinello. 2007. "Canonical Sampling through Velocity Rescaling." *Journal of Chemical Physics* 126 (1). <https://doi.org/10.1063/1.2408420>.
- Ceymann, Andreas, Martin Horstmann, Philipp Ehses, Kristian Schweimer, Anne-Katrin Paschke, Michael Steinert, and Cornelius Faber. 2008. "Solution Structure of the Legionella Pneumophila Mip-Rapamycin Complex." *BMC Structural Biology* 8 (17): 1–12. <https://doi.org/doi:10.1186/1472-6807-8-17>.
- Cianciotto, Nicholas P, and Barry S Fields. 1992. "Legionella Pneumophila Mip Gene Potentiates Intracellular Infection of Protozoa and Human Macrophages." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (11): 5188–91.
- Darden T. Pedersen L., York D. 1993. "Particle Mesh Ewald: An N.Log(N) Method for Ewald Sums in Large Systems." *J Chem Phys* 98: 10089–92.
- Debowski, Aleksandra W, Nicole M Bzdyl, David R Thomas, Nichollas E Scott, Christopher H Jenkins, Jua Iwasaki, Emily A Kibble, Chen Ai Khoo, Nicolas J Scheuplein, and Pamela M Seibel. 2023. "Macrophage Infectivity Potentiator

- Protein, a Peptidyl Prolyl Cis-Trans Isomerase, Essential for *Coxiella Burnetii* Growth and Pathogenesis.” *PLoS Pathogens* 19 (7): e1011491.
- Hess, B, C Kutzner, D van der Spoel, and E Lindahl. 2008. “GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation.” *J. Chem. Theory Comput* 4 (3): 435–47.
- Jorgensen W.L. , Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein M.L. 1983. “Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water” 79: 926–35.
- Kolos, Jürgen M, Andreas M Voll, Michael Bauder, and Felix Hausch. 2018. “FKBP Ligands—Where We Are and Where to Go?” *Front Pharmacol* 9: 1425. <https://doi.org/doi: 10.3389/fphar.2018.01425>.
- Lange, O.F., L.V. Schäfer, and H. Grubmüller. 2006. “Flooding in GROMACS: Accelerated Barrier Crossings in Molecular Dynamics.” *Journal of Computational Chemistry* 27: 1693–1702. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16900489/>.
- Lindorff-Larsen, Kresten, Stefano Piana, Kim Palmo, Paul Maragakis, John L. Klepeis, Ron O. Dror, and David E. Shaw. 2010. “Improved Side-Chain Torsion Potentials for the Amber Ff99SB Protein Force Field.” *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* 78 (8): 1950–58. <https://doi.org/10.1002/prot.22711>.
- Lohr, Theresa, Carina Herbst, Nicole M Bzdyl, Christopher Jenkins, Nicolas J Scheuplein, Wisely Oki Sugiarto, Jacob J Whittaker, Albert Guskov, Isobel Norville, and Ute A Hellmich. 2024. “High Affinity Inhibitors of the Macrophage Infectivity Potentiator Protein from *Trypanosoma Cruzi*, *Burkholderia Pseudomallei*, and *Legionella Pneumophila*— A Comparison.” *ACS Infectious Diseases*.
- Mu, Yuguang, Phuong H. Nguyen, and Gerhard Stock. 2005. “Energy Landscape of a Small Peptide Revealed by Dihedral Angle Principal Component Analysis.” *Proteins: Structure, Function and Genetics* 58 (1): 45–52. <https://doi.org/10.1002/prot.20310>.
- Parrinello, M., and A. Rahman. 1981. “Polymorphic Transitions in Single Crystals: A New Molecular Dynamics Method.” *Journal of Applied Physics* 52 (12): 7182–90. <https://doi.org/10.1063/1.328693>.
- Ribolli-Tunncliffe, A, B Konig, S Jessen, M S Weiss, J Rahfeld, J Hacker, G Fischer, and R Hilgenfeld. 2001. “Crystal Structure of Mip, a Prolylisomerase from *Legionella Pneumophila*.” *Nat Struct Mol Biol* 8: 7790783. <https://doi.org/10.1038/nsb0901-779>.
- Spoel Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., Berendsen, H. J. C., D van der. 2005. “GROMACS: Fast, Flexible and Free.” *J. Comp. Chem* 26: 1701–18. doi: 10.1002/jcc.20291.
- Widjajakusuma, Elisabeth Catherina, Monica Frederica, and Kornelius Kaweono. 2023. “Combined Classical and Flooding Molecular Dynamics Simulations of The

-
- Mip-Rapamycin and FKBP12-Rapamycin Complexes.” *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi* 26 (8): 300–309. <https://doi.org/10.14710/jksa.26.8.300-309>.
- Widjajakusuma, Elisabeth Catherina, Monica Frederica, Kornelius Kaweono, Arkenjela Shea, Gracia De Sales Lodhu Jawa, Yohanes Aliandra Kelan, Ajeng Indah, et al. 2022. “Studi Perbandingan Sifat Struktur Dan Dinamika Bentuk Apo Dan Holo Dari FKBP12 Dan Mip Dengan Menggunakan Simulasi Dinamika Molekul.” *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan* 9 (1): 24–29. <https://doi.org/10.33508/jfst.v9i1.4059>.
- Widjajakusuma, Elisabeth Catherina, Ajeng Indah Puspita, Dwi Vita Setiyoningsih, and Fildzah Miftaql Dina. 2024. “Simulasi Dinamika Molekul Protein Apo FKBP12.” In *Prosiding Seminar Nasional Ilmu Kesehatan Dan Keperawatan*, 1:216–25.