

### Marco teórico.

La mecánica molecular es un conjunto de técnicas de que aplican la mecánica clásica para simular sistemas moleculares. Puede ser utilizada para estudiar sistemas moleculares que varían en tamaño y complejidad, desde moléculas orgánicas pequeñas, hasta sistemas biológicos complejos (proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos), o materiales que contienen miles de millones de átomos [1].

El modelado de moléculas de la Dinámica Molecular se basa en cuatro principios [1]:

- Los núcleos y los electrones se agrupan en partículas puntuales.
- Las partículas son esféricas (con un radio obtenido experimentalmente) y tienen una carga (obtenida a partir de la teoría).
- Las interacciones ente partículas están basadas en potenciales de la mecánica clásica.
- Las interacciones de la distribución espacial de las partículas y sus energías.

La Mecánica Molecular representa a las moléculas como un conjunto de esferas de diferente masa (m) y conectadas por muelles. Se distinguen distintos tipos de interacciones en este sistema de Esferas conectadas por muelles:

- Interacciones de enlace (tensión)
- Interacciones angulares (Flexión)
- Interacciones de Torsión
- Interacciones de van der Waals
- Interacciones electrostáticas
- Interacciones fuera del plano

La suma de todas las interacciones constituye la energía total de la molécula (figura 1).

$$E_{Total} = \sum E_{Enlaces} + E_{Flexiones} + E_{Torsiones} + E_{VdW} + E_{Elec} + E_{OOP}$$

Figura 1. Ecuación que describe la energía total de una molécula.

La simulación de dinámica molecular se basa, en la ecuación de movimiento de Newton. A cada átomo, parte del sistema molecular que se está modelando, se le asigna un vector de posición definido en función del tiempo. Este vector de posición luego fluctúa según las tensiones que actúan sobre el átomo a lo largo del tiempo [2]. Las tensiones que se pueden aplicar a cada átomo incluyen cualquier fuerza relevante, originada por “interacciones interatómicas, energía e

interacciones entre el sistema molecular y su entorno”, es decir, la presencia de moléculas de agua o sal. La dinámica molecular sustituyó a la anterior simulación de Monte Carlo. En una época en la que pocos físicos y químicos confiaban en las simulaciones por computadora en lugar de los métodos teóricos tradicionales, Alder y Wainwright pudieron modelar con éxito, utilizando tanto la simulación de dinámica molecular como Monte Carlo, las interacciones y la consiguiente transición de fase en un sistema molecular genérico de esfera dura. Posteriormente, entre 1960 y 1970, otros investigadores aplicaron la simulación MD para modelar sistemas de materiales cada vez más realistas, incluidos el cobre sólido y el argón líquido. Sin embargo, en septiembre de 1974, el químico Frank Stillinger y el físico Aneesur Rahman refinaron este modelo inicial para simular las interacciones moleculares de las moléculas de agua líquida a cuatro temperaturas diferentes. McCammon et al. amplió aún más las aplicaciones de la simulación MD, ejecutando una simulación de 9,2 picosegundos de la dinámica de una pequeña proteína globular plegada, un inhibidor de la tripsina pancreática bovina mantenido al vacío. El mismo estudio fue reelaborado once años después con el inhibidor de tripsina bovina ahora solvatado en agua, y se logró una duración de simulación mejorada de 210 picosegundos [3].

Groningen Machine for Chemical Simulators (GROMACS) es un paquete de software de dinámica molecular rápido, gratuito, fácil de usar y de alto rendimiento, creado en la Universidad de Groningen en los Países Bajos. Permite a los usuarios desarrollar un modelo molecular virtual de hasta millones de átomos que simula biomoléculas altamente complejas, a las que luego se puede aplicar la ecuación de movimiento de Newton. El paquete de software GROMACS se compone de tres programas distintos: un preprocesador, un MD paralelo y un programa de minimización de energía. En respuesta a los crecientes intereses de investigación, el software GROMACS se modifica constantemente para mejorar la flexibilidad, proporcionar un mejor manejo de los errores y minimizar los tiempos de ejecución de la simulación. GROMACS se programó inicialmente utilizando el lenguaje de programación C, pero recientemente ha incorporado ciertas secciones de código escritas en C++ para mejorar la versatilidad general. Sin embargo, es importante señalar que, aunque GROMACS ofrece a los usuarios la oportunidad única de visualizar el comportamiento dinámico de partículas en macromoléculas más grandes bajo estrés, solo es adecuado para la verificación de principios físicos, que son visualmente prominentes en la macroescala, lo que significa que, para determinar la verdadera precisión de cualquier simulación, los resultados deben confirmarse con datos experimentales equivalentes [4].

---

## Material y equipo.

Para esta práctica se utilizaron los siguientes materiales y recursos:

- Un equipo con acceso a internet.
- Un entorno de desarrollo para Python como Colab o Spyder.
- El paquete GROMACS.

---

## Desarrollo.

Se realizó la simulación de dinámica molecular de una ubiquitina en agua que abarcó 100 ps.

Inicialmente se cargó el archivo pdb de la ubiquitina desde la url del portal RCSB (figura 1)

```
!wget https://files.rcsb.org/download/1UBQ.pdb

--2024-04-11 04:05:06-- https://files.rcsb.org/download/1UBQ.pdb
Resolving files.rcsb.org (files.rcsb.org)... 128.6.159.245
Connecting to files.rcsb.org (files.rcsb.org)|128.6.159.245|:443... connected.
HTTP request sent, awaiting response... 200 OK
Length: unspecified [application/octet-stream]
Saving to: '1UBQ.pdb'

1UBQ.pdb          [ <=>          ] 76.73K  --.-KB/s   in 0.04s

2024-04-11 04:05:06 (1.96 MB/s) - '1UBQ.pdb' saved [78570]
```

Figura 1. Importación del archivo pdb de la ubiquitina.

Utilizando el comando grep de Linux se filtraron los renglones donde aparecen moléculas de agua dentro del archivo pdb (figura 2).

```
!grep -v HOH 1UBQ.pdb > 1UBQ_clean.pdb
```

Figura 2. Filtración de las moléculas de agua dentro del archivo pdb.

Posteriormente, se convirtió el archivo pdb filtrado a un formato compatible con GROMACS (figura 3).

```
!gmx pdb2gmx -f 1UBQ_clean.pdb -o 1UBQ_processed.gro -ff charmm27 -water spc
```

Figura 3. Conversión del archivo pdb a formato gromacs.

Se definió una caja la cual va a contener a la proteína sumergida en agua como se observa en la figura 4 y 5.

```
!gmx editconf -f 1UBQ_processed.gro -o 1UBQ_newbox.gro -c -d 1.0 -bt cubic
```

Figura 4. Código para definir el volumen de la caja.

```
Volume: 62.9497 nm^3, corresponds to roughly 28300 electrons
No velocities found
system size : 3.069 3.238 3.662 (nm)
diameter    : 4.491          (nm)
center      : 3.025 2.900 1.538 (nm)
box vectors : 5.084 4.277 2.895 (nm)
box angles  : 90.00 90.00 90.00 (degrees)
box volume  : 62.95          (nm^3)
shift       : 0.220 0.346 1.708 (nm)
new center  : 3.246 3.246 3.246 (nm)
new box vectors : 6.491 6.491 6.491 (nm)
new box angles : 90.00 90.00 90.00 (degrees)
new box volume : 273.54          (nm^3)
```

Figura 5. Resultado de la ejecución para definir la caja.

Se genero un archivo para llenar la caja con un solvente (figura 6 y 7).

```
!gmx solvate -cp 1UBQ_newbox.gro -cs spc216.gro -o 1UBQ_solv.gro -p topol.top
```

Figura 6. Código para generar el solvente dentro de la caja.

```

Generating solvent configuration
Will generate new solvent configuration of 4x4x4 boxes
Solvent box contains 31230 atoms in 10410 residues
Removed 4455 solvent atoms due to solvent-solvent overlap
Removed 1164 solvent atoms due to solute-solvent overlap
Sorting configuration
Found 1 molecule type:
    SOL ( 3 atoms): 8537 residues
Generated solvent containing 25611 atoms in 8537 residues
Writing generated configuration to 1UBQ_solv.gro

Output configuration contains 26842 atoms in 8613 residues
Volume           : 273.543 (nm^3)
Density          : 989.382 (g/l)
Number of solvent molecules: 8537

```

Figura 7. Resultado de la solvatación.

Se importó un archivo de iones de lisozima para neutralizar la mezcla (figura 8).

```

!wget http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/Files/ions.mdp

--2024-04-11 04:12:59-- http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/Files/ions.mdp
Resolving www.mdtutorials.com (www.mdtutorials.com)... 13.59.3.21
Connecting to www.mdtutorials.com (www.mdtutorials.com)|13.59.3.21|:80... connected.
HTTP request sent, awaiting response... 200 OK
Length: 1045 (1.0K)
Saving to: 'ions.mdp'

ions.mdp      100%[=====] 1.02K  --.-KB/s  in 0s

2024-04-11 04:12:59 (99.0 MB/s) - 'ions.mdp' saved [1045/1045]

```

Figura 8. Importación del archivo de iones.

Se agregaron los iones a la caja con el solvente de forma aleatoria (figura 9 y 10).

```

!gmx grompp -f ions.mdp -c 1UBQ_solv.gro -p topol.top -o ions.tpr

```

Figura 9. Código para cargar los iones al solvente.

```

Setting the LD random seed to -1687683193

Generated 20503 of the 20503 non-bonded parameter combinations
Generating 1-4 interactions: fudge = 1

Generated 17396 of the 20503 1-4 parameter combinations

Excluding 3 bonded neighbours molecule type 'Protein_chain_A'

Excluding 2 bonded neighbours molecule type 'SOL'
Analysing residue names:
There are: 76 Protein residues
There are: 8537 Water residues
Analysing Protein...
Number of degrees of freedom in T-Coupling group rest is 54912.00

```

Figura 10. Resultado de la importación de los iones.

Se remplazaron algunas moléculas de agua por los iones con el fin de neutralizar el solvente (figura 11).

```
%%writefile group13.txt
13

Writing group13.txt

!gmx genion -s ions.tpr -o 1UBQ_solv_ions.gro -p topol.top -pname NA -nname CL -neutral <group13.txt
```

Figura 11. Reemplazo de moléculas de agua por iones de lisozima.

Se cargo un archivo de minimización para la simulación de GROMACS (figura 12).

```
!wget http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/Files/minim.mdp

--2024-04-11 05:12:37-- http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/Files/minim.mdp
Resolving www.mdtutorials.com (www.mdtutorials.com)... 13.59.3.21
Connecting to www.mdtutorials.com (www.mdtutorials.com)[13.59.3.21]:80... connected.
HTTP request sent, awaiting response... 200 OK
Length: 1045 (1.0K)
Saving to: 'minim.mdp'

minim.mdp      100%[=====>]  1.02K  ---KB/s   in 0s

2024-04-11 05:12:37 (103 MB/s) - 'minim.mdp' saved [1045/1045]
```

Figura 12. Importación del archivo de minimización.

Se cargo el archivo de minimización al módulo de preprocesamiento de GROMACS.

```
!cp minim.mdp minim.mdp.txt

!gmx grompp -f minim.mdp -c 1UBQ_solv_ions.gro -p topol.top -o em.tpr
```

Figura 13, Importación del archivo de minimización.

Se ejecuto la simulación con los parámetros definidos mediante el archivo de minimización (figura 14).

```
!gmx mdrun -v -deffnm em 1>em21sep23.out.txt 2>em21sep23.err.txt
```

Figura 14. Código de la ejecución de la simulación.

Como se puede observar en cada paso de la simulación se redujo la fuerza máxima del modelo hasta que fuera menor que 1000 (figura 15).

```
em21sep23.err.txt X
334 Step= 278, Dmax= 7.6e-03 nm, Epot= -4.10495e+05 Fmax= 9.17684e+03, atom= 913
335 Step= 279, Dmax= 9.1e-03 nm, Epot= -4.10676e+05 Fmax= 3.22165e+03, atom= 913
336 Step= 280, Dmax= 1.1e-02 nm, Epot= -4.10515e+05 Fmax= 1.16577e+04, atom= 913
337 Step= 281, Dmax= 5.5e-03 nm, Epot= -4.10713e+05 Fmax= 4.20059e+03, atom= 913
338 Step= 282, Dmax= 6.6e-03 nm, Epot= -4.10750e+05 Fmax= 4.71141e+03, atom= 913
339 Step= 283, Dmax= 7.9e-03 nm, Epot= -4.10770e+05 Fmax= 6.02774e+03, atom= 649
340 Step= 284, Dmax= 9.5e-03 nm, Epot= -4.10794e+05 Fmax= 6.90335e+03, atom= 649
341 Step= 285, Dmax= 1.1e-02 nm, Epot= -4.10791e+05 Fmax= 8.58441e+03, atom= 649
342 Step= 286, Dmax= 5.7e-03 nm, Epot= -4.10919e+05 Fmax= 8.05071e+02, atom= 649
343
344 writing lowest energy coordinates.
345
346 Steepest Descents converged to Fmax < 1000 in 287 steps
347 Potential Energy = -4.1091884e+05
348 Maximum force = 8.0507117e+02 on atom 649
349 Norm of force = 3.5392308e+01
```

Figura 15. Resultados de la simulación.

Se obtuvieron los valores de la energía total de la simulación realizada (figura 16)

```
%%writefile edrpotential.txt
11 0

Writing edrpotential.txt

!gmx energy -f em.edr -o potential.xvg <edrpotential.txt
# type "10 0"
```

Figura 16. Obtención de la energía de la simulación.

Como se puede observar en la figura 17 la energía fue disminuyendo a medida que se desplazaron algunas moléculas de agua.

## GROMACS Energies

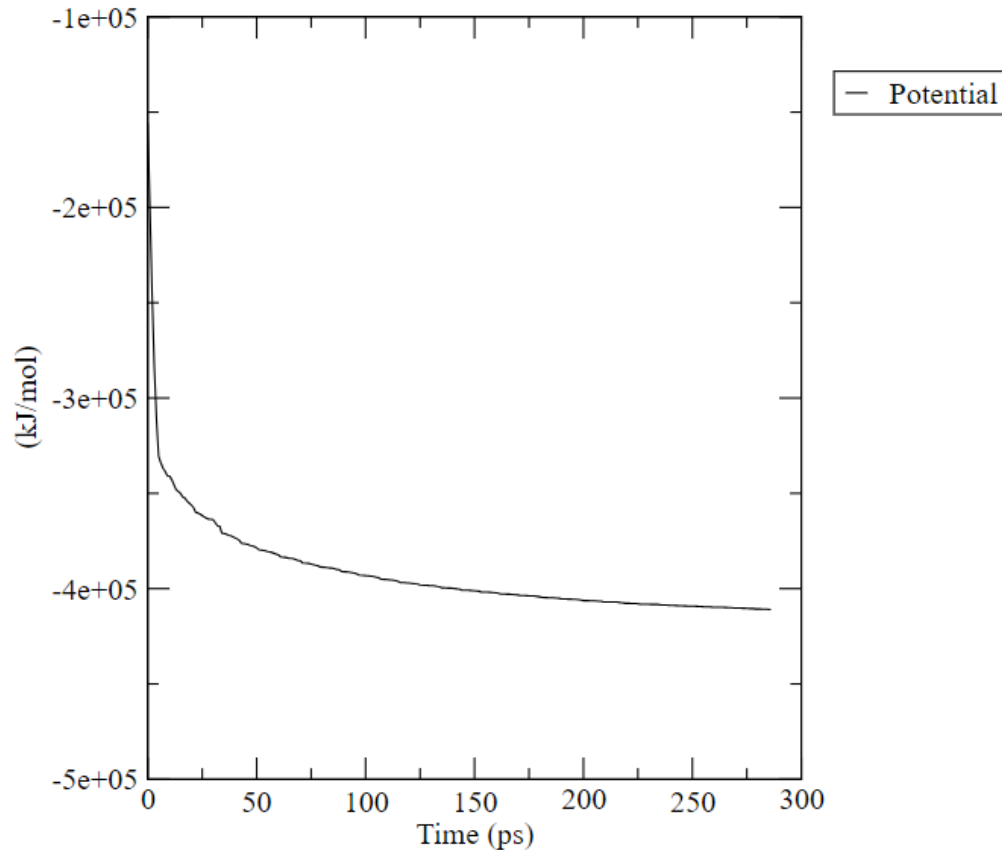


Figura 17. Gráfica de la energía potencial de la simulación.

Se realizó la importación de un archivo de parámetros para la simulación (figura 18).

```
!wget http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/Files/nvt.mdp

--2024-04-11 05:43:51-- http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/Files/nvt.mdp
Resolving www.mdtutorials.com (www.mdtutorials.com)... 13.59.3.21
Connecting to www.mdtutorials.com (www.mdtutorials.com)|13.59.3.21|:80... connected.
HTTP request sent, awaiting response... 200 OK
Length: 2369 (2.3K)
Saving to: 'nvt.mdp.1'

nvt.mdp.1      100%[=====>]  2.31K  ---KB/s   in 0s

2024-04-11 05:43:51 (239 MB/s) - 'nvt.mdp.1' saved [2369/2369]

!cp nvt.mdp nvt.mdp.txt
#!mv nvt.mdp.txt nvt.mdp
```

Figura 18. Importación del archivo de parámetros.

Se definió un numero de pasos de 50,000 que corresponde con 100 pico segundos de simulación (figura 19)

```
3 ; Run parameters
4 integrator          = md          ; leap-frog integrator
5 nsteps              = 50000       ; 2 * 50000 = 100 ps
6 dt                  = 0.002       ; 2 fs
```

Figura 19. Parámetros de la simulación.

Se cargo el archivo de parámetros definido previamente (figura 20)

```
#!/cp nvt.mdp nvt.mdp.txt
!mv nvt.mdp.txt nvt.mdp

!gmx grompp -f nvt.mdp -c em.gro -r em.gro -p topol.top -o nvt.tpr
```

Figura 20. Código donde se carga el archivo de parámetros.

Se ejecuto la simulación de 100 pico segundos como se muestra en la figura 21.

```
!gmx mdrun -deffnm nvt 1>nvt21sep23.out.txt 2>nvt21sep23.err.txt
```

Figura 21. Código de la ejecución de la simulación.

Se obtuvo la temperatura de la simulación a través de los pasos como se observa en la figura 22)

```
%%writefile edrtemperature.txt
17

Writing edrtemperature.txt

!gmx energy -f nvt.edr -o temperature.xvg <edrtemperature.txt
```

Figura 22. Obtención de la temperatura del modelo.

Como se puede observar en la figura 23, la temperatura de la simulación presento una oscilación alrededor de los 300 kelvin.



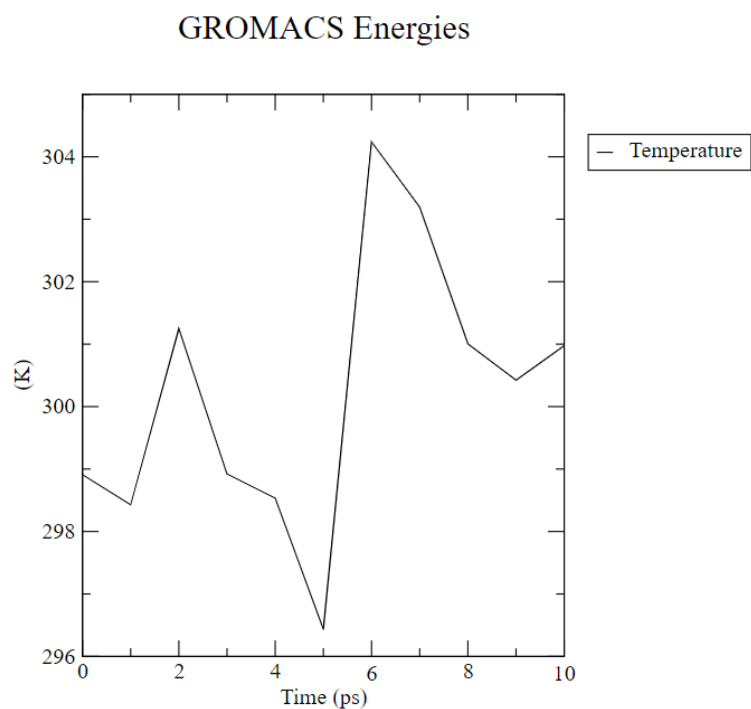


Figura 23. Gráfica de la temperatura de la simulación.

De igual forma, se obtuvo la presión de la simulación a través del tiempo (figura 24).

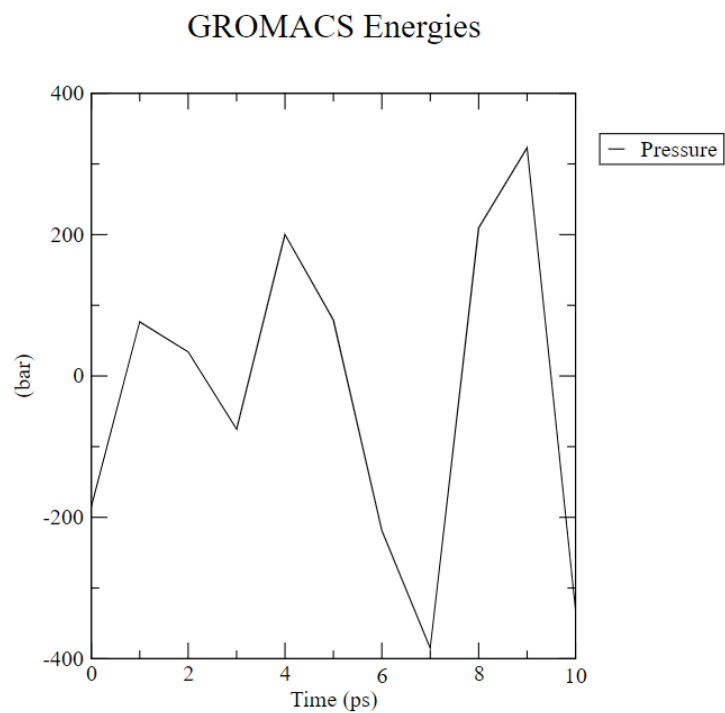


Figura 24. Presión de la simulación.

En esta sección se va a presentar un trabajo de investigación donde se aplicó dinámica molecular para estudiar las proteínas alimentarias.

En esta investigación se utilizó GROMACS para realizar las respectivas simulaciones.

A continuación, se presenta una tabla donde se muestran las proteínas alimentarias que se estudiaron y el proceso alimentario al que están asociadas, así como su tiempo de simulación (tabla 1) [5].

<b>Proteína alimentaria estudiada</b>	<b>Proceso alimentario estudiado</b>	<b>Tiempo de simulación.</b>
Ara h 6 maní	9 simulaciones: 27 _C, 107 _C y 151 _C sin campo eléctrico, con un campo eléctrico estático (0,05 V/nm), o con un campo eléctrico oscilante (0,05 V/nm, 2,45 GHz).	1 ns
Inhibidor de tripsina de soja	8 simulaciones: 27 _C, 70 _C, 100 _C y 121 _C sin campo eléctrico o con un campo eléctrico oscilante. campo (0,5 V/nm, 2,45 GHz).	5 ns
lactoglobulin en leche de vaca.	6 simulaciones: 60 _C, 75 _C y 90 _C sin campo eléctrico o con un campo eléctrico oscilante (0,5 V/nm, 2,45 GHz).	2ns
Act d 2	8 simulaciones: 27 _C, 52 _C, 77 _C y 102 _C sin campo eléctrico o con campo eléctrico oscilante (0,05 V/nm, 2,45 GHz).	2ns
Cora a 2 perfil en avellana	5 simulaciones: 27 _C, 77 _C, 127 _C, 177 _C, y 227 _C.	200ns
Avidin en huevos blancos 8	8 simulaciones: 27 _C, 60 _C, 70 _C y 80 _C sin campo eléctrico o con campo eléctrico oscilante (0,05 V/nm, 2,45 GHz).	2ns
Myofibrillar proteínas de pálido, suave, carne de pechuga de pollo exudativa	4 simulaciones: 0 V/nm, 0,0008 V/nm, Campo eléctrico pulsado de 0,0018 V/nm o 0,0028 V/nm.	30ns

Tabla 1. Proteínas simuladas y sus parámetros.

Después de un análisis se determinó que los modelos de dinámica molecular pueden ayudar a determinar las condiciones de procesamiento ideales para mejorar las propiedades funcionales, así como atenuar los componentes anti nutricionales, reducir la alergenicidad y mejorar la biodisponibilidad de las proteínas en los productos alimenticios.

Dada la diversidad de efectos potencialmente positivos en los productos alimenticios, no sólo en términos de comerciabilidad sino también en términos de beneficio general para la salud humana y animal, puede resultar importante en futuros estudios que involucren simulaciones de MD y procesos alimentarios adoptar un enfoque más multidisciplinario. acercarse. Involucrar a personas de diferentes orígenes, incluidos aquellos en ciencias de los alimentos, ingeniería y ciencias de la salud, podría ayudar a cerrar la brecha más fácilmente entre el modelo basado en computadora y el mecanismo y la aplicación de la vida real.

## Conclusiones y recomendaciones.

---

GROMACS es un paquete que permite simular sistemas químicos mediante dinámica molecular aplicando solventes e implementando algoritmos de minimización como descenso por gradiente, así como baróstatos y termostatos para regular la presión y temperatura del modelo.

Por otro lado, la simulación mediante dinámica molecular permite reproducir y estudiar diferentes procesos que se llevan a cabo a nivel molecular para realizar un análisis más profundo que permita comprender como interactúan algunos de estos sistemas como el caso de las proteínas alimenticias con diferentes procesos.

---

## Referencias.

- [1] G. Torres, F. Nájera, Y. Vida (2009). Tema 1: Introducción a la Química Computacional. OCW-Universidad de Málaga, <http://ocw.uma.es>
- [2]. Eom, K. Computer simulation of protein materials at multiple length scales: From single proteins to protein assemblies. Multiscale Sci. Eng. 2019, 1, 1–25. [CrossRef]
- [3]. Battimelli, G.; Ciccotti, G. Berni Alder and the pioneering times of molecular simulation. Eur. Phys. J. H Hist. Perspect. Contemp. Phys. 2018, 43, 303–335. [CrossRef]
- [4]. Dondapati, R.S. Overview of BIOVIA Materials Studio, LAMMPS, and GROMACS. In Molecular Dynamics Simulation of Nanocomposites Using BIOVIA Materials Studio, Lammmps and Gromacs; Sharma, S., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2019; pp. 39–100. [CrossRef]
- [5]. Smith A. Dong X. Raghavan V. (2022) An Overview of Molecular Dynamics Simulation for Food Products and Processes.