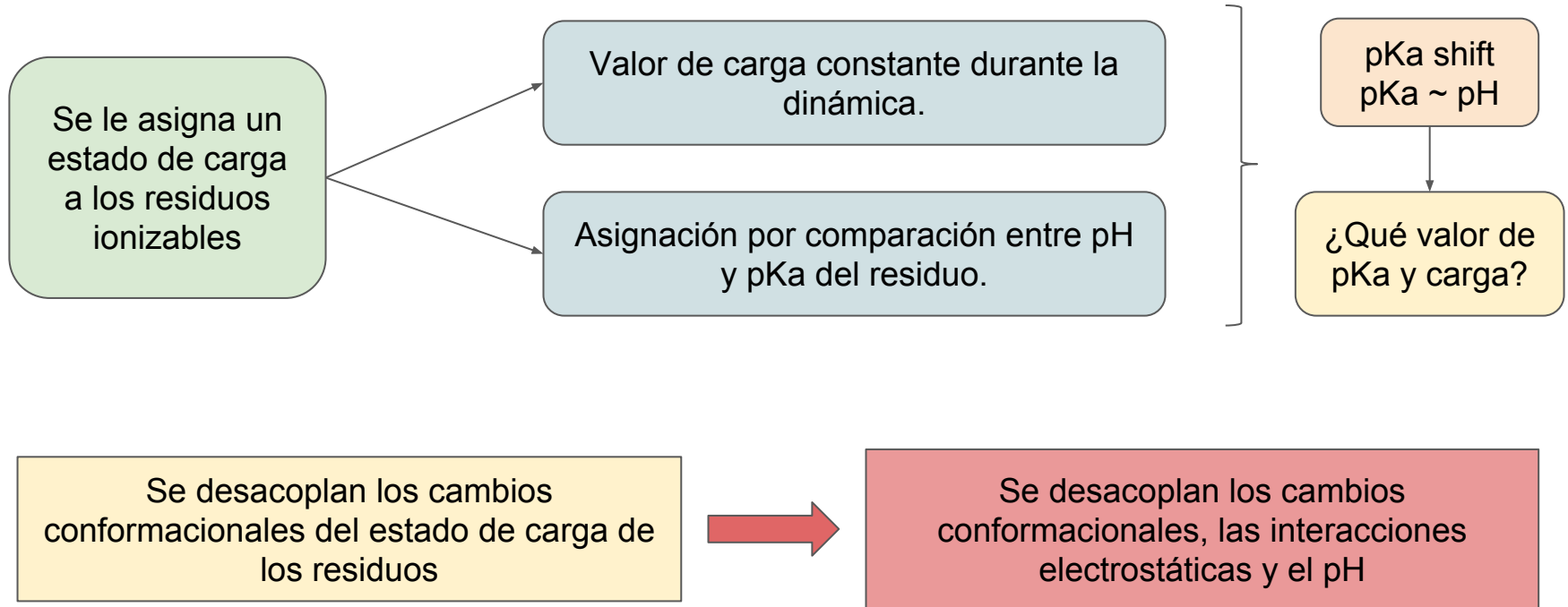


Dinámicas moleculares a pH constante y modelo AWSEM de grano grueso



¿Cómo ingresa el pH en las simulaciones actuales?

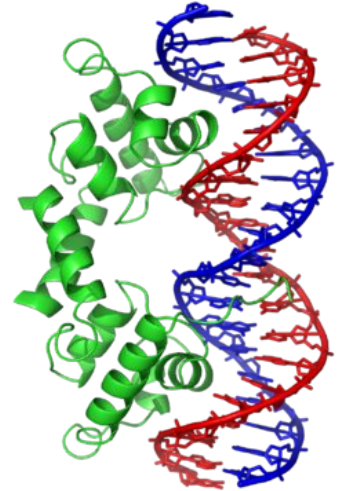


Simulaciones a pH constante (CpHMD)

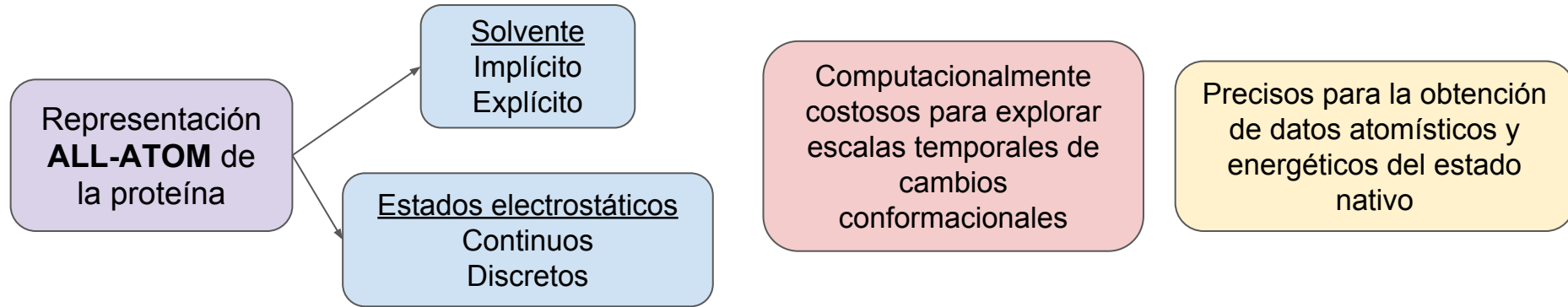


Permiten estudiar:

- pKa shifts.
- Cambios conformacionales asociados al pH.
- Agregación, unión de ligandos, sitios activos.
- Interacción entre proteínas.
- Unión de proteínas y ácidos nucleicos.



Métodos existentes a pH constante



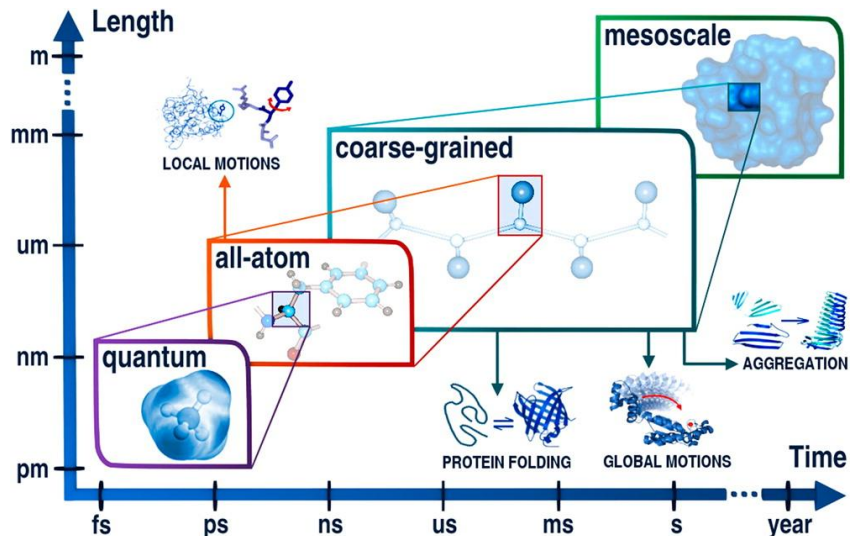
Comparison of the CpHMD methods

CpHMD	Solvent model	Advantage	Drawback
GB-based [20, 21, 16]	GB for both spatial and protonation space	Rapid pK_a convergence (500 ps)	Less accurate conformational dynamics; effects due to explicit ions neglected
Hybrid-solvent [24]	Explicit solvent for spatial space and GB for protonation space	Rapid pK_a convergence (1 ns); more accurate conformational dynamics	Mismatch of implicit and explicit solvent; effects due to explicit ions neglected
Explicit-solvent [25, 26]	Explicit solvent for both spatial and protonation space	Accurate conformational dynamics; accounts for effects due to explicit ions; simulation system is charge neutral	Slow pK_a convergence (10 ns for most residues); complicated electrostatic treatment (Chen and Shen, unpublished data)

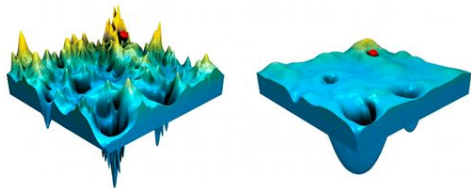
Solvente como dieléctrico continuo. Fuerza de Coulomb apantallada

Solvente explícitamente representado con todos los átomos

Modelos de grano grueso

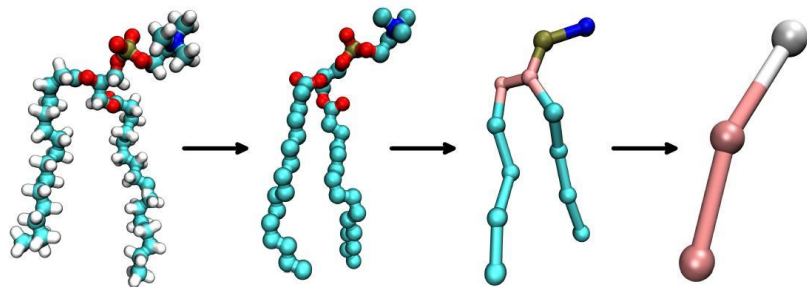


All-atom ↔ Coarse-grained



Buscamos una herramienta para explorar fenómenos en escalas espaciales y temporales donde ocurren cambios globales en la conformación de la proteína

Modelos de grano grueso
Coarse grained

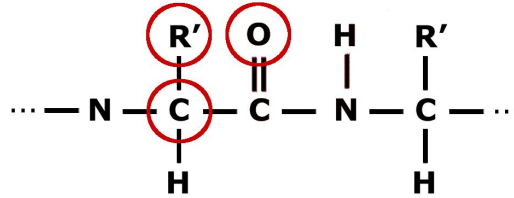


ALL-ATOM

Representación
Carbono α

Potencial AWSEM

Cada residuo es representado por **3** posiciones
Carbono α
Carbono β
Oxígeno



Solvente implícito
Su efecto se encuentra considerado en la forma y valores de los términos del potencial

$$V_{total} = V_{backbone} + V_{contact} + V_{burial} + V_{HB} + V_{AM} + V_{DSB}$$

El responsable de mantener la cadena principal con “**forma de proteína**”.
Ángulos correctos y estructura secundaria.

Interacciones entre los **Carbonos β** de distintos residuos lejanos en secuencia.
Dos rangos de interacción:
“Directo” 4.5 Å - 6.5 Å
“Proteína” 6.5 Å - 9.5 Å

Caracteriza la **tendencia** de los residuos a estar en ambientes con baja, media o alta **densidad** de residuos.

“**Associative memory**”

Penalidad por la formación de **vacío**

Puentes de hidrógeno para hélices y láminas

Potencial AWSEM

Interacción de largo alcance

Potencial electrostático de Debye-Hückel

$$V_{DH} = K_{elec} \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}} e^{-r_{ij}/l_D}$$

Toma en cuenta los efectos del solvente en el apantallamiento de la fuerza electrostática

AWSEM asigna **carga constante** a los residuos

Aspártico - Glutámico \ominus

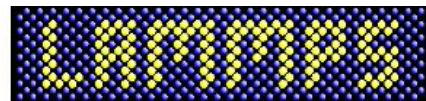
Lisina - Arginina \oplus

El resto no se consideran cargados

Apantallamiento dependiente de la temperatura y la constante dieléctrica del medio

$$l_D = \sqrt{\epsilon_r \epsilon_o k_B T / 2e^2 I}$$

El potencial AWSEM está implementado en la plataforma LAMMPS de simulación molecular en el lenguaje C++



Primera propuesta para simular a pH constante

Modelo 0

Representar **estados de protonación discretos** de residuos ionizables

Cambiar los estados de protonación **durante** la dinámica molecular

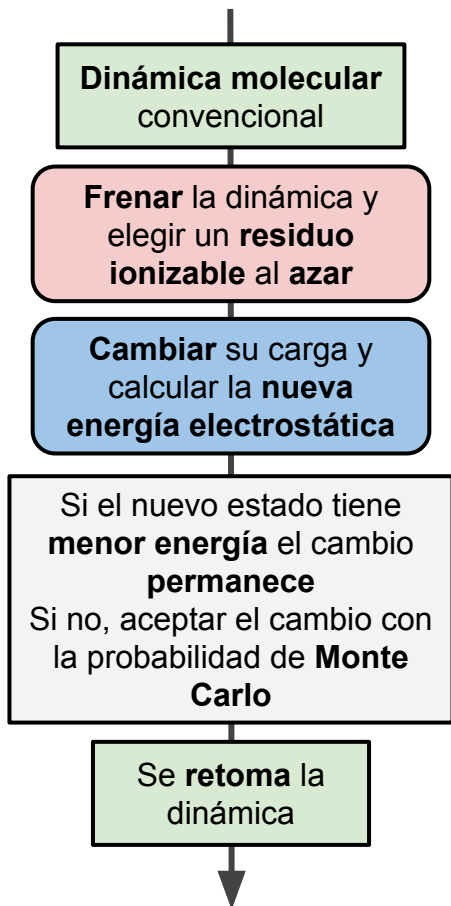
Utilizar el potencial **AWSEM** para la búsqueda conformacional

Cambios en la protonación **solo afectan** al término de **largo alcance** del potencial

La interacción electrostática solo se da entre **cadenas laterales**

Basada en el trabajo de Contessoto et al. 2016 donde usan una representación de Carbono α de la proteína

¿Cómo se elige el estado de protonación?



$$\Delta E = k_B T \ln(10)(pH - pK_a) + \Delta E_{elec}$$

Comportamiento del residuo frente al pH como si estuviera **solo en solución.**

Interacción con los demás residuos cargados

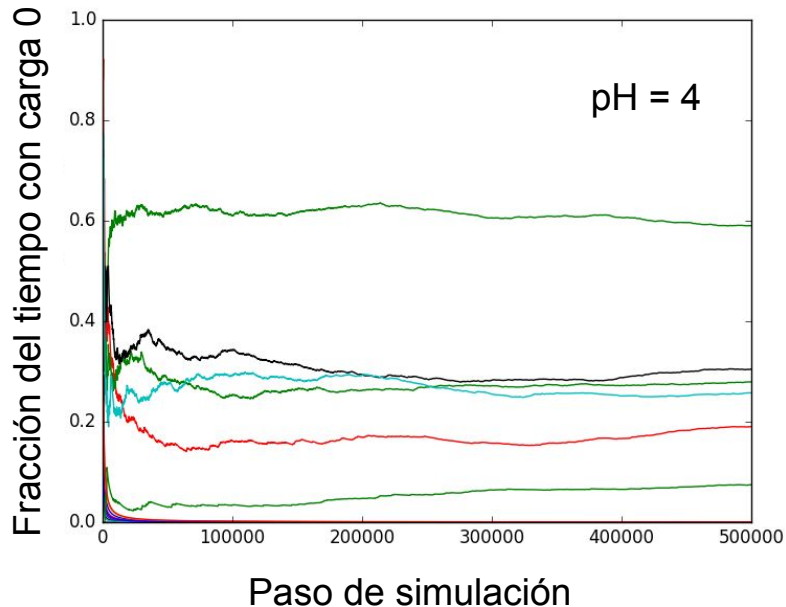
Probabilidad de aceptación de Monte Carlo

$$e^{-\Delta E / kT}$$

Este criterio de selección nos garantiza estados correspondientes a un sistema con **temperatura constante**

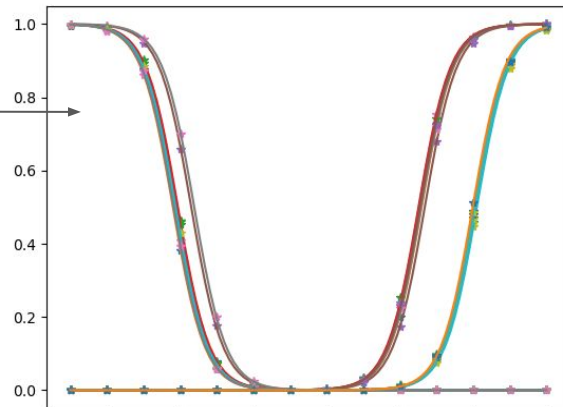
Datos de la simulación

Realizamos una dinámica a un pH fijo y **contamos** las veces que cada residuo se encuentra descargado



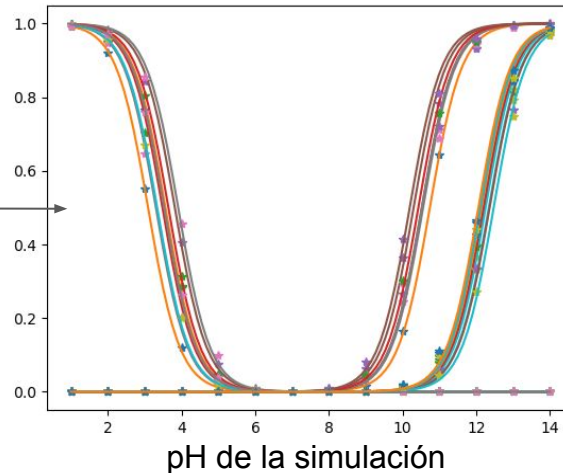
SIN considerar interacciones electrostáticas

Fracción descargada



Considerando interacciones electrostáticas

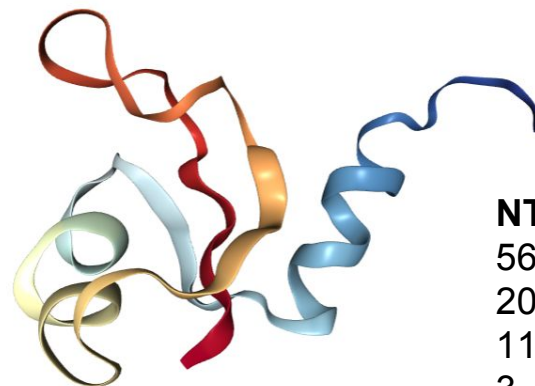
Corrimiento de los pKa



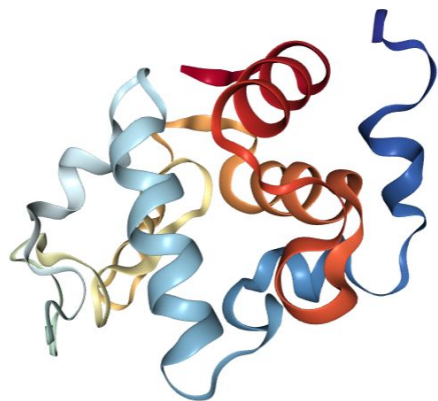
Residuos considerados y proteínas estudiadas

Residuos ionizables y pKas de referencia

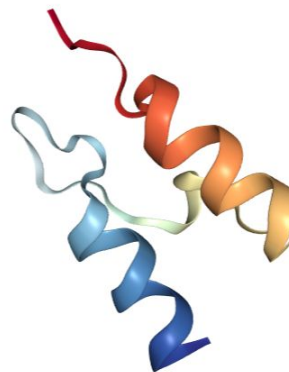
ASP	4.0	ARG	12.0
GLU	4.5	LYS	10.6
Cter	3.6	HIS	6.3
		Nter	7.5



NTL9 - 1cqu.pdb
56 residuos totales
20 cargados
11 Lys - 1 Arg - Nter
3 Asp - 3 Glu - Cter

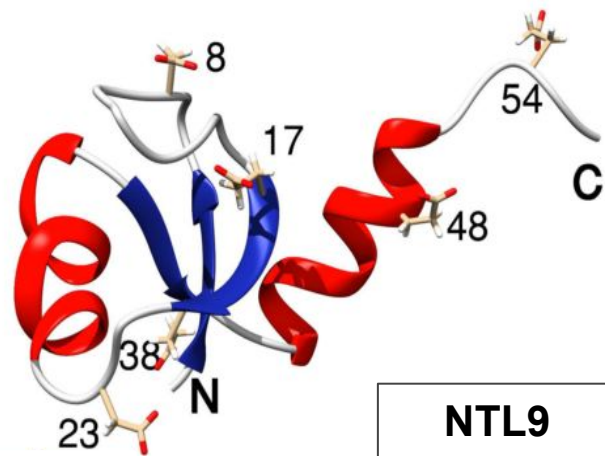
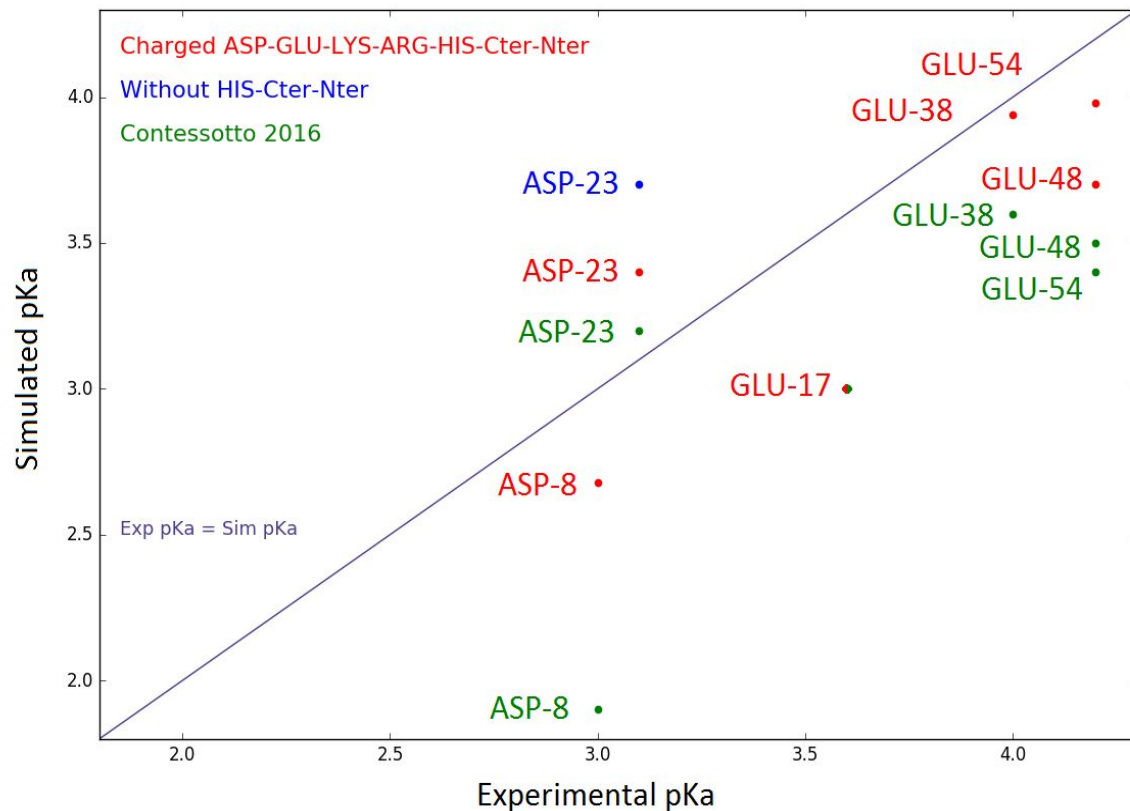


HEWL - 2lzt.pdb
129 residuos totales
29 cargados
6 Lys - 11 Arg - 1 His
7 Asp - 2 Glu
Nter - Cter



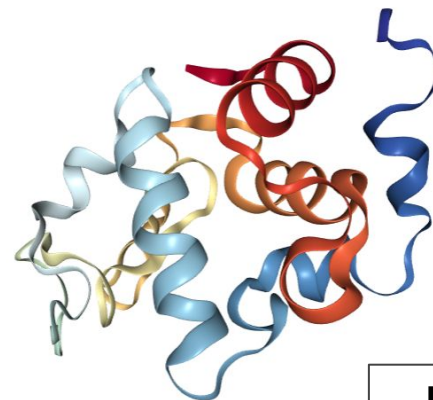
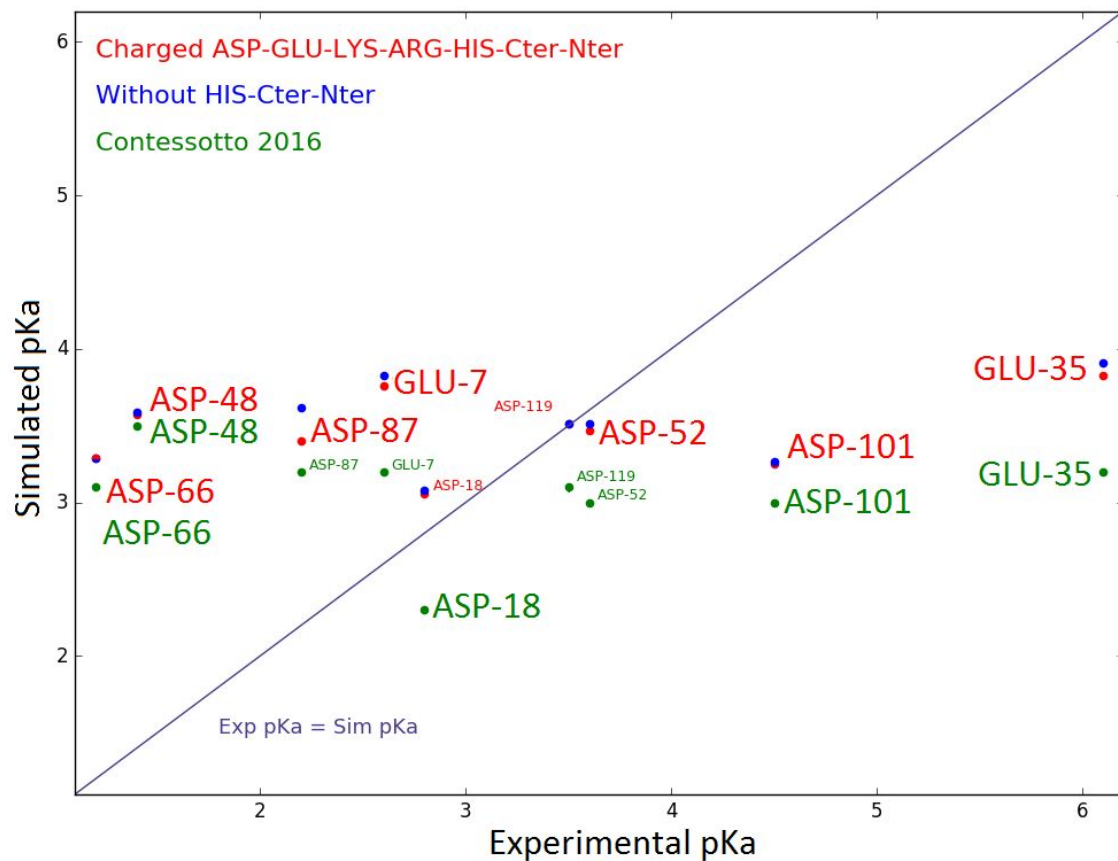
BBL - 1w4h.pdb
47 residuos totales
17 cargados
3 Lys - 4 Arg - 2 His
3 Asp - 3 Glu
Nter - Cter

Resultados



- Residuos expuestos
- Corrimiento de los pKas experimentales ~ 1.0
- Tendencia simulada sigue a la experimental

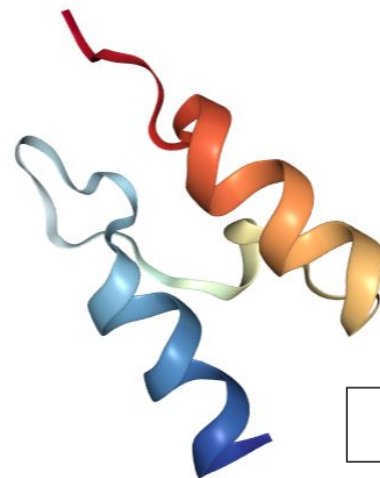
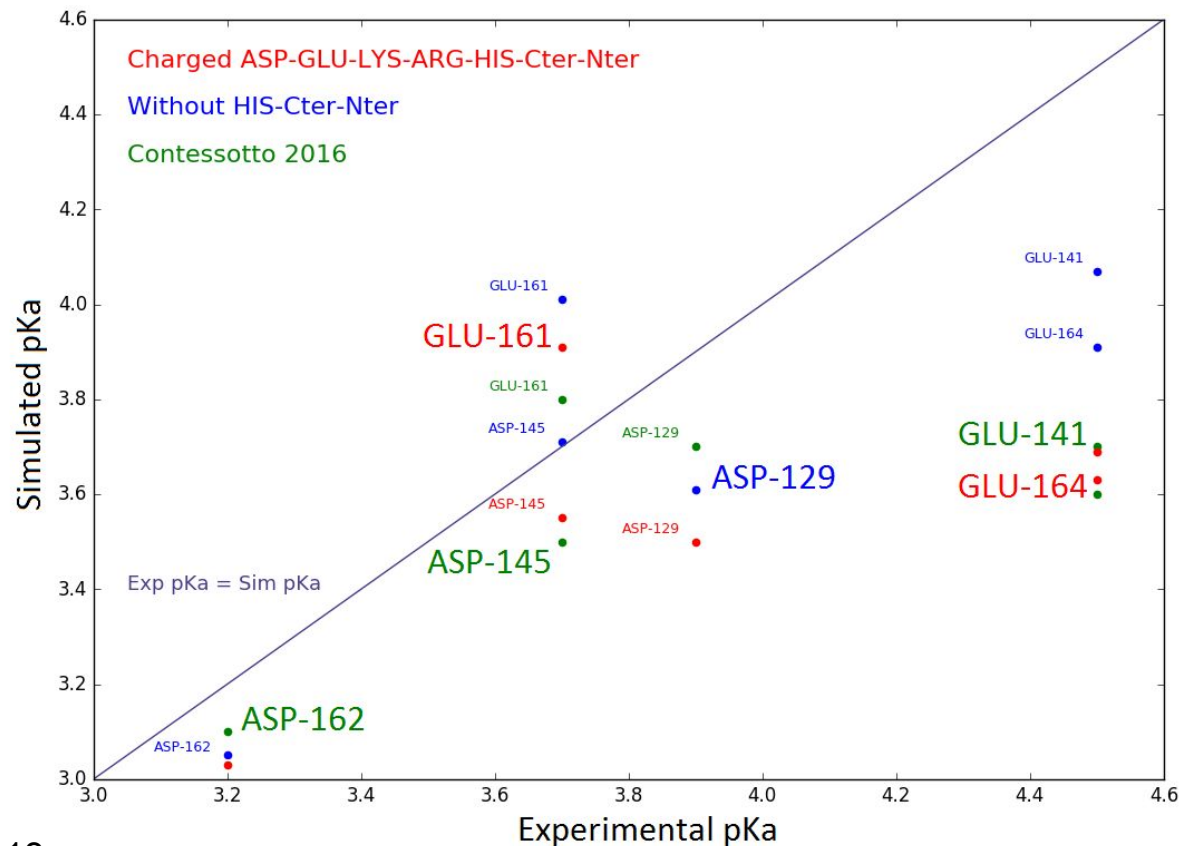
Resultados



HEWL

- Residuos expuestos y enterrados
- Corrimiento de los pKas experimentales ~ 2.0
- Tendencia plana. No sigue a la experimental

Resultados



BBL

- Residuos no enterrados pero involucrados en puentes de hidrógeno
- Corrimiento de los pKas experimentales ~ 1.0
- Tendencia inconsistente. No sigue a la experimental

Algunas conclusiones

- Los resultados muestran que para el caso de **NTL9** donde los residuos se encuentran expuestos la tendencia de corrimiento de los pKas se encuentra bien representada. El corrimiento **principalmente** se debe a **interacciones electrostáticas** con los demás residuos.
- En el caso de **HEWL** donde hay presentes residuos enterrados el modelo no captura lo observado experimentalmente. El corrimiento no se debe solo a la carga de los otros residuos sino que entran en juego las **características hidrofóbicas** del medio circundante.
- Para **BBL** la presencia de **puentes de hidrógeno** parece generar que los estados de protonación no estén bien representados.

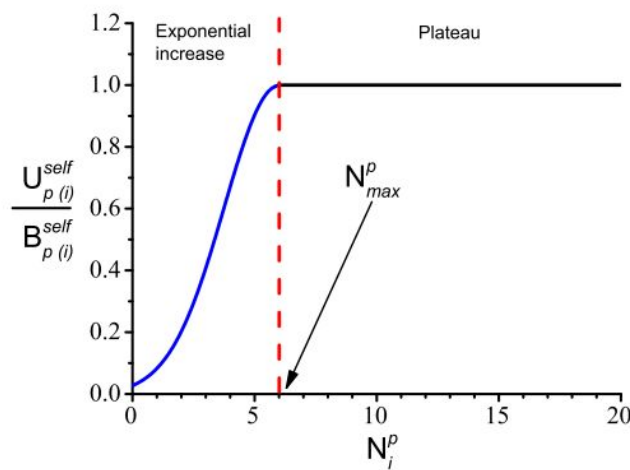
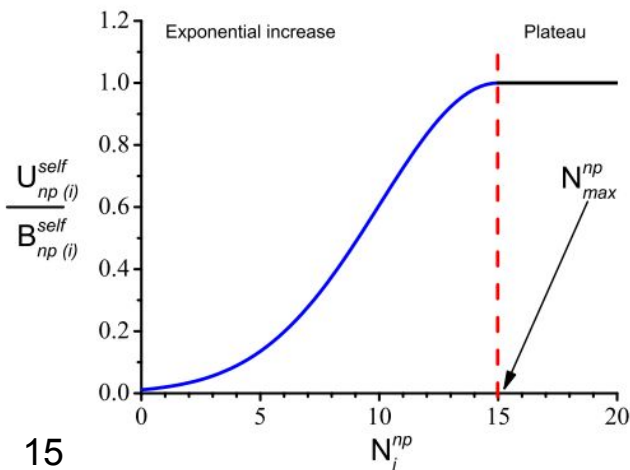
Agregando nuevos términos al modelo

Queremos tomar en cuenta la **polaridad** o **hidrofobicidad** del **medio** en el que un residuo se va a ionizar

MOLARIS - Coarse
Grained model
Arieh Warshel

Backbone
ALL ATOM
Cadena lateral
Simplificada

$$\Delta E = k_B T \ln(10)(pH - pK_a) + \Delta E_{elec} + \Delta E_{self}$$



Residue name	B_p^{self}	B_{np}^{self}
ASP	-0.5	2.5
GLU	-0.6	2.5
LYS	-0.5	2.0
ARG	-0.6	2.2
HIS	-0.3	4.0

Conteo

Radio polares : 5 Å

Radio no polares : 7 Å

Otras propuestas y cosas para incluir

- Interacción con la parte electrostática de la **cadena principal**
- Consideración de los residuos participantes en **puentes de hidrógeno**
- **Interacciones** proteína - proteína y proteína - ácidos nucleicos
- Relación entre **pH y Temperatura** - Curvas de **desplegado**
- Integrar la información de los **parámetros de AWSEM** al cálculo de diferencias de energía
- **Re-parametrizar** el potencial en la modalidad pH constante considerando a los residuos ionizables con 2 estados de parámetros

Gracias!