

Dynamic Monte Carlo characterization of hydrophilic pores in phospholipid membranes

Hugo E. Di Lorenzo¹, M. Silvina Moyano¹, Agustín N. Quiroga¹,
Ana P. Tapia¹, Santiago A. García¹, Evelyn D. Zuloaga¹, Ana M. Nuñez¹ and Michael Ferguson¹

¹ Facultad de Ingeniería, Universidad de Mendoza, Mendoza, Argentina.

Abstract— The mechanical properties of cells have been subject to decades worth of study and discussion due to the great number of mechanical processes which allow each cell to carry out its basic functions. For many physiological processes, such as membrane fusion, ion transfer, and the delivery of drugs and genes into the cells, the presence of transmembrane pores and other membrane defects is necessary. The behaviour of lipid bilayers can be studied through computer simulations by employing models which adequately describe the interactions between the individual components of the system. Herein, we describe the use of Monte Carlo algorithms to analyse defects in the form of pores in binary DOPC:DOPE lipid bilayers. The aim is to characterise the hydrophilic transmembrane pores obtained from equilibrium molecular dynamics simulations, in an automatic and efficient manner, for systems with a large number of atoms. Through the application of Monte Carlo and linked-cell techniques, the dynamic Monte Carlo algorithm presented achieved a 16% increase in efficiency when compared to non-dynamic algorithms, furthermore high-quality estimations of the defects dimensions were obtained.

Keywords— Monte Carlo, membranes, Python, molecular dynamics, pores.

Resumen— Las propiedades mecánicas de las células han sido sujeto de estudio y discusión durante décadas debido al gran número de procesos mecánicos que lleva adelante cada unidad para cumplir con sus funciones básicas. Para que muchos procesos fisiológicos tales como la fusión de membranas, el transporte de iones y el ingreso de genes y drogas a las células sean posibles, es necesaria la presencia de poros y otros tipos de defectos. El comportamiento de bicapas lipídicas puede ser estudiado mediante simulaciones computacionales, utilizando modelos que describan adecuadamente las interacciones entre los diversos componentes del sistema. En el presente trabajo recurriremos al uso de algoritmos de Monte Carlo para analizar defectos en forma de poros en bicapas lipídicas binómicas simétricas de DOPC:DOPE. El objetivo es caracterizar poros transmembrana hidrofílicos obtenidos a partir de simulaciones de dinámica molecular en equilibrio, de forma rápida y automática, para sistemas con gran número de átomos. Mediante la aplicación de técnicas de Monte Carlo asociadas a celdas vinculadas, Monte Carlo dinámico, se logró una eficiencia del 16% superior a la obtenida por algoritmos de Monte Carlo no dinámicos, además de una buena estimación de las dimensiones de los defectos.

Palabras clave— Monte Carlo, membranas, Python, dinámica molecular, poros.

I. INTRODUCCIÓN

Las células son la unidad funcional básica de todos los organismos vivos, las cuales están compuestas por un gran número de elementos que le otorgan características mecánicas distintivas. Para llevar adelante sus funciones, las células controlan una serie de eventos internos y externos, muchos de los cuales involucran fenómenos mecánicos. La mecánica celular abarca una serie de procesos esenciales para la vida de la célula tales como el mantenimiento de la forma, la motilidad celular, la adhesión y la interacción con su entorno. [1]

Las células se separan del ambiente externo por una delgada bicapa lipídica que consiste en una mezcla de fosfolípidos, glucolípidos, colesterol y una amplia gama de proteínas transmembrana. Los fosfolípidos, que son los más abundantes, son anfipáticos y tienen una parte hidrofílica que reside en la superficie externa de la bicapa y una parte hidrófoba en el interior de la misma. [1] La composición de la membrana determina sus características estructurales y le

confiere propiedades mecánicas específicas. Los lípidos en solución acuosa suelen formar agregados, más comúnmente en forma de bicapas. Tanto la composición del grupo polar como la longitud de las colas varían, por lo que sus propiedades y características también lo hacen. La composición de lípidos de membrana es variada y responde a cambios en variables termodinámicas intensivas tales como temperatura, presión, pH o la concentración de solventes. [2]

Los lípidos de membrana se clasifican en lamelares y no lamelares. Los más abundantes son los lamelares como la dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) y los no lamelares como la dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE). La proporción entre estos dos tipos de lípidos modifica las propiedades mecánicas de la bicapa. Diversos trabajos sugieren que la presencia de lípidos no lamelares es necesaria para la formación de defectos (entre ellos poros). [3]

Los poros hidrofílicos son defectos que se caracterizan por la rotación de los lípidos de membrana generando un canal hidrofílico que comunica el exterior y el interior de la célula

a través de un canal de agua. Existen diversas técnicas experimentales de formación de poros en bicapas lipídicas: sometimiento a estrés, sometimiento a campos eléctricos intensos, iluminación óptica, implosión de burbujas, adhesión a un sustrato, pinzas ópticas y perforación con indentador. [4] [5] [6]

Hace más de una década las simulaciones de dinámica molecular han demostrado ser una herramienta poderosa en el estudio de la formación de poros en membranas debido a que son defectos estructuralmente débiles y de tiempo de vida corto. Este trabajo presenta simulaciones computacionales de dinámica molecular aplicando el campo de fuerza de grano grueso MARTINI. El granulado grueso mapea muchos átomos individuales y sus interacciones con una sola partícula, lo que permite que ~ 150 átomos de moléculas de lípidos sean simulados por solo 12 partículas. El campo de fuerza MARTINI fue diseñado para biomoléculas y ha demostrado ser popular entre la comunidad de simulaciones biomoleculares. [7] [8] [9] [10]

Se aplica a bicapas lipídicas binómicas simétricas hidratadas con iguales proporciones de lípidos DOPC:DOPE.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar los poros hidrofílicos a través de la implementación de un algoritmo de Monte Carlo.

Uno de los ejemplos más famoso del uso de Monte Carlo (MC) es el de la estimación del valor de π comparando las áreas de un cuadrado y un círculo.

Dado que un círculo de radio desconocido puede ser perfectamente encerrado por un cuadrado de longitud lateral desconocida, es posible afirmar que el radio del círculo es la mitad de la longitud lateral del cuadrado. Por lo tanto, se puede demostrar que el área del círculo es un factor de $\pi/4$ más pequeño que el área del cuadrado.

Para estimar esta relación, se arrojan muchos puntos al azar sobre el área del cuadrado ya que el concepto de usar aleatoriedad repetida es crucial para los algoritmos de Monte Carlo (MC).

Si un punto cae dentro del círculo, se acepta, de lo contrario, se rechaza. La proporción de puntos aceptados contra el número total de puntos lanzados es aproximadamente igual a $\pi/4$. Por lo tanto, multiplicando la razón por 4 da una estimación de π . En general, cuantos más puntos se arrojen, mejor será la estimación. Este concepto tiene muchas aplicaciones y se utiliza aquí para estimar los volúmenes de poros transmembrana que se observan en las simulaciones por computadora.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo estudia las características estructurales de poros hidrofílicos presentes en bicapas lipídicas binarias hidratadas con agua, Figura 1. El sistema está compuesto por 32016 átomos de MARTINI ubicados en una caja de simulación que posee un volumen de 1520nm^3 ($L_x = L_y = 12,65\text{nm}$; $L_z = 9,5\text{nm}$). La membrana es simétrica y está compuesta por 288 lípidos de DOPC:DOPE en partes iguales. La misma está hidratada por 28560 átomos corresponden a las 9520 aguas polarizables.

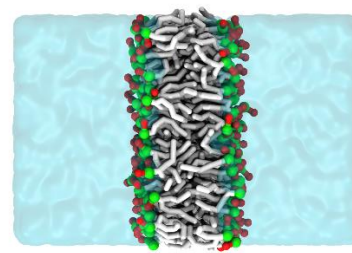


Figura 1: Representación gráfica del Sistema

En las simulaciones de dinámica molecular en equilibrio, defectos tales como los poros transmembrana no aparecen espontáneamente ni de manera predecible, es decir, se debe aplicar una fuerza externa para generarlos y sus coordenadas no pueden conocerse a priori. Por lo tanto, se deben generar deliberadamente y detectar y analizar de manera dinámica. Para la formación de los defectos se realizó un estiramiento simétrico de la membrana en el plano x-y con redistribución de las coordenadas y se realizó una estabilización con volumen y temperatura constantes. Para la detección y análisis, es importante contar con una herramienta de detección que sea capaz de buscar, encontrar y caracterizar defectos de membrana. Las herramientas preexistentes logran esto mediante el uso de diferentes técnicas de detección de superficie, empleando algoritmos basados en triangulación o en partículas α para determinar el volumen del espacio ocupado por una especie dada [11] [12] [13] [14] [15]. Este volumen se resta del volumen total para calcular el volumen desocupado, es decir, el volumen del defecto. Otro método efectivo para buscar y caracterizar defectos es usar un algoritmo de Monte Carlo, que muestrea una gran cantidad de puntos distribuidos aleatoriamente en un sistema y luego, según el cumplimiento de los criterios de selección, los puntos son aceptados o rechazados. La relación entre los puntos aceptados y el número total de puntos se usa para determinar la característica deseada.

Al igual que Till *et al.*, [16] se utiliza el método de Monte Carlo para buscar defectos de membrana. Considerando criterios de distancia de corte para determinar las aceptaciones de puntos muestrales. Si un punto de muestra se encuentra dentro del radio determinado y la partícula lipídica en el sistema, será rechazado, de lo contrario será aceptado. Sin embargo, antes de desarrollar el algoritmo propuesto, se consideró lo siguiente: 1) En las simulaciones de dinámica molecular no sesgadas, los defectos en los sistemas basados en membranas, como los poros transmembrana, no evolucionan de manera predecible. Por lo tanto, su posicionamiento espacial no puede conocerse a priori; 2) Las membranas son objetos no estáticos y propensos a fluctuaciones, por lo tanto, es importante considerar que las dimensiones y/o el perfil de la membrana pueden cambiar durante una simulación; 3) Las simulaciones de dinámica molecular se basan en condiciones de contorno periódicas (PBC por sus siglas en inglés) para lograr la eficiencia. Por lo tanto, al buscar defectos, se ha de considerar la periodicidad de la celda de simulación en los cálculos; 4) Calcular la distancia entre objetos en tres dimensiones puede ser computacionalmente costoso y el algoritmo debe optimizarse teniendo esto en cuenta; y 5) Las membranas biológicas no son viables en ambientes no acuosos por lo que se sumergen en agua durante las simulaciones. Las partículas de agua no deben considerarse durante los cálculos de distancia.

La primera consideración se resuelve asegurando que los puntos de muestra se proyecten aleatoriamente en el rango completo de vectores de celdas en las direcciones x e y . La explicación de la combinación de las consideraciones 2 y 3 es la parte más compleja de la presente implementación, y es el origen del carácter dinámico del algoritmo propuesto.

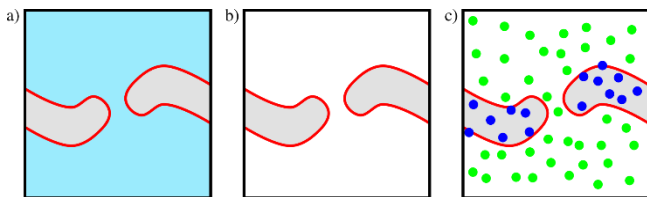


Figura 2: Esquema de Monte Carlo Estático en una membrana curvada.

Imagine un sistema de una membrana altamente curvada con un poro transmembrana ubicado en el origen xy , es decir, el centro de la celda de simulación, Figura 2-a). Luego, elimine las moléculas de agua del sistema, ya que deben ignorarse, Figura 2-b). Finalmente, coloque N puntos de muestra en todo el sistema y busque posiciones de espacio vacío. En la Figura 2-c) esto se representa con los puntos de color verde. Tenga en cuenta que muchas posiciones fuera de la membrana que son aceptadas por los criterios de Monte Carlo corresponden al agua *bulk* y no al poro transmembrana. Para atenuar este error, se divide el plano xy de la membrana en $N_x \cdot N_y$ secciones ortoedrales cuya dimensión en z se asigna dinámicamente con respecto a las posiciones de las partículas lipídicas en cada cuadro de la simulación, Figura 3. Cada ortoedro se muestrea con el mismo número de puntos y se calcula su espacio desocupado. Obtener el espacio desocupado correspondiente al poro transmembrana es una simple suma de todos los componentes de volumen individuales. Los valores de N_x y N_y se pueden modificar para ajustar la región de muestreo y obtener los resultados más precisos posibles.

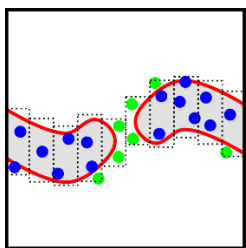


Figura 3: Esquema de Monte Carlo dinámico.

Desde los aspectos computacionales, la consideración más importante es la cantidad de distancias que deben calcularse para cada punto de muestra. Los algoritmos más básicos calculan la distancia entre cada punto de muestra y cada partícula lipídica. Esta metodología, para sistemas grandes como los que se usan comúnmente en simulaciones de dinámica molecular, se vuelve ineficiente debido al cálculo innecesario de grandes distancias en el sistema. En realidad, solo interesan las distancias entre el punto de muestra y las partículas lipídicas cercanas. Además se ha de tener en cuenta las condiciones periódicas de contorno aplicadas a las simulaciones. Para las moléculas ubicadas en los bordes de la caja de simulación, su vecino más cercano puede encontrarse a una distancia física superior a una caja de simulación en magnitud. Para superar esto, se incorpora un algoritmo de celdas vinculadas. En resumen, las coordenadas de las partículas en la celda de simulación original se fraccionan en subceldas de número de celdas vinculadas

(NCV). Por lo tanto, sabiendo en qué subcelda se encuentra un punto dado, es posible cotejar fácilmente a los vecinos más cercanos simplemente seleccionando las partículas en las subceldas vecinas inmediatas. En la Figura 4 se muestra una representación 2D simple de cómo funciona este enfoque.

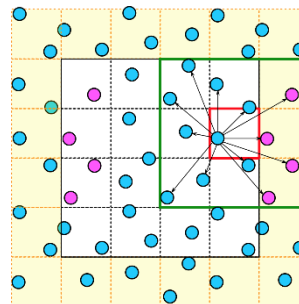


Figura 4: Representación pictórica de celdas vinculadas en 2D

En la Figura 4 la celda roja es la subcelda ocupada por la partícula y sus ocho subceldas vecinas están contenidas dentro del cuadro verde. Las subceldas resaltadas en amarillo son imágenes periódicas de las subceldas originales en los límites periódicos. El algoritmo determina las partículas en la imagen periódica como vecinas de la partícula original (magenta). Además, en la Figura 4 se observa que el número de distancias a calcular se reduce drásticamente considerando solo la celda que contiene partículas y sus ocho vecinos. En tres dimensiones, esto se extiende a 26 subceldas vecinas. El tamaño de las subceldas se elige en función de la relación entre el número de distancias a calcular y el tiempo requerido para fraccionar las coordenadas en las subceldas. En el caso particular que se estudia en el presente trabajo se fraccionan las coordenadas de los lípidos, ya que ignoramos el agua, en 8000 subceldas correspondientes a 20 secciones en cada dimensión ($NCV = 8000$). Se considera la caja de simulación completa ya que el algoritmo no puede saber de antemano dónde se encuentra ubicada la membrana.

Con las coordenadas fraccionadas en las subceldas, se puede emplear el algoritmo Monte Carlo descrito anteriormente. Se divide el plano xy de la membrana en 100 secciones ortoedrales, $N_x = N_y = 10$ y la altura de cada ortoedro se determina individualmente dependiendo de las coordenadas máximas y mínimas de los lípidos en z . Usando un total de 250000 puntos de muestra ($N_{PT} = 250000$), se muestrean 250 puntos en cada ortoedro individual. Si un ortoedro determinado está en el borde de la celda de simulación, el algoritmo de celda vinculada detecta el vecino periódico desde el borde opuesto y calcula la distancia mínima entre los puntos de muestra y su vecino periódico de la siguiente manera:

$$d(j) = (Muestra(j) - Partícula(j)) \times \text{int} \left(\frac{(Muestra(j) - Partícula(j))}{L_j} \right)$$

Donde j representa la dirección x , y o z y la expresión ubicada a la derecha del producto indica que se tomará el entero más cercano al cociente correspondiente, necesario para implementar las PBC. Luego,

$$distancia = \sqrt{d(x)^2 + d(y)^2 + d(z)^2}$$

da la distancia total entre un punto de muestra y una partícula. Para ser considerado como un espacio vacío por el

algoritmo no debe haber ninguna partícula a una distancia menor o igual a 0.5nm del punto de muestra, esto es aproximadamente el radio de van der Waals, de lo contrario se rechaza el punto. Una vez que se consideran los 250 puntos de muestra para un ortoedro dado, el espacio libre de lípidos en el mismo se determina de la siguiente manera;

$$Vol_{vacío} = \frac{N_{aceptado} \times Vol_{cuboide}}{500}$$

Una vez que se muestrean los 100 ortoedros, el espacio desocupado total de lípidos es una simple suma del espacio desocupado en cada ortoedro individual.

Aunque Python 2.x [17] sigue siendo popular para las aplicaciones científicas, su fecha de finalización se establece el 1 de enero de 2020, por lo tanto, se optó por la compatibilidad directa con Python 3.x [17] para escribir el presente algoritmo. Además de sus características generales, como un lenguaje fácil de leer e interpretar, la elección de Python fue basada en sus numerosas funciones y bibliotecas integradas con una filosofía de software libre. Más allá de estas ventajas, existe una comunidad de programación grande y altamente activa que es de gran ayuda en el desarrollo de un código robusto.

Para el algoritmo, se hizo uso del módulo NumPy [18], muy popular y eficiente, para administrar la gran cantidad de datos basados en arreglos que son típicos de los archivos de trayectoria producidos por los códigos de dinámica molecular. El algoritmo propuesto carga las coordenadas de trayectoria completa en una matriz 3D con cada *frame* de la matriz que representa una configuración diferente en el tiempo. Una vez cargados, se corta la matriz para eliminar las partículas relacionadas con el agua, dejando solo coordenadas de partículas lipídicas en la matriz. A partir de ahí, se hace uso de la función de búsqueda vectorizada *numpy.argwhere()* para determinar las partículas que pertenecen a cada subcelda del sistema. Con las partículas organizadas, se recorre el plano xy en 100 espacios ortoedrales cuyos volúmenes se calculan dinámicamente en cada configuración. Luego, se utiliza la función *numpy.random()* para muestrear aleatoriamente los puntos de Monte Carlo en cada volumen, y así poder encontrar el volumen desocupado de lípidos. Finalmente sólo resta guardar los resultados para la configuración y pasar a la siguiente. Este proceso se muestra esquemáticamente en la Figura 5.

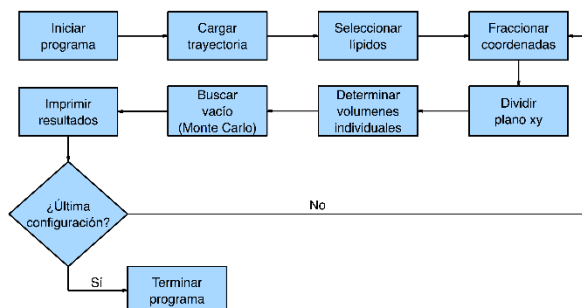


Figura 5: Diagrama de flujo del algoritmo propuesto

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para evaluar el algoritmo se hizo uso de una computadora personal del año 2015 equipada con un procesador 2,7GHz Intel Core i5-5257U (Dual-Core) y 8GB de 1867MHz DDR3 RAM. Con el fin de demostrar la efectividad del algoritmo dinámico propuesto, se comparó con una versión no dinámica, la cual posiciona puntos de Monte Carlo uniformemente en todo el plano xy dentro de las coordenadas globales máxima y mínima de los lípidos en z.

Se realizaron diferentes análisis sobre trayectorias completas para distintos defectos. Se seleccionó un frame base para comparar el algoritmo de MC estático con el algoritmo de MC dinámico desarrollado en el presente trabajo. Utilizando la versión no dinámica para analizar una trayectoria, el tiempo requerido aproximado es de 212 segundos por configuración y el 43% de los puntos de Monte Carlo colocados son aceptados, obteniendo un volumen estimado de poro de 402,1 nm³. El nuevo algoritmo propuesto fue más rápido logrando un tiempo de análisis de 180 segundos por configuración y un porcentaje de puntos aceptados de 27%, lo que corresponde a un volumen de poro de 158,9 nm³. Se esperaba una disminución en la tasa de aceptación ya que los volúmenes de los ortoedros cambian constantemente y permiten que se aplique un límite más estricto para los puntos de muestra. Es posible evidenciar esto en la Figura 6, donde se compara la cantidad de puntos aceptados por los dos algoritmos. En la Figura 6-a) se muestran los puntos aceptados por el algoritmo dinámico y se comparan con los aceptados por el no dinámico, Figura 6-b). Se puede observar que solo algunos puntos son aceptados fuera del área del poro cuando se aplica el algoritmo propuesto. Vale la pena destacar que en la Figura 6-a) parece que hay ortoedros de puntos aceptados que exceden el límite mínimo, esto es el resultado de que el ortoedro está completamente vacío de partículas lipídicas y su altura está determinada por el cuadro anterior. Sin embargo, debe recordarse que la altura del ortoedro es aproximadamente igual al ancho de la membrana y, por lo tanto, la precisión del cálculo del volumen de poro no se ve afectada. Se esperaba que el nuevo algoritmo tuviera una eficiencia comparable, si no menos, que su contraparte no dinámica, sin embargo, se observa una ventaja adicional del algoritmo en su aumento del 16% en la eficiencia del cálculo.

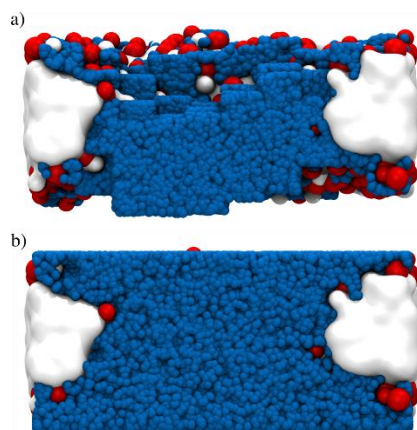


Figura 6: Puntos aceptados con ambos métodos

IV. CONCLUSIONES

El algoritmo desarrollado permite mejorar la caracterización de poros hidrofílicos en simulaciones computacionales de membranas.

Además, se consiguió disminuir los tiempos de cálculo requeridos para realizar estos análisis.

Ambos logros aportan una clara ventaja en comparación a los métodos tradicionales de análisis y constituyen una solución muy prometedora para la caracterización eficiente y precisa de los poros hidrofílicos en los sistemas de membrana.

Como trabajos futuros se buscará optimizar aún más el código a través de la utilización de la tarjeta gráfica y mejorar la accesibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento de este proyecto a la Dirección de Investigaciones de la Universidad de Mendoza (DIUM), resolución HCS N° 81/2016 y a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Mendoza, Mendoza, Argentina.

REFERENCIAS

- [1] R. D. Kamm and M. R. K. Mofrad. Cytoskeletal Mechanics: Models and Measurements in Cell Mechanics. Cambridge Texts in Biomedical Engineering. Cambridge University Press. 2006. ISBN-13 978-0-511-24934-1.
- [2] T. Heimburg. Thermal Biophysics of Membranes. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA. 2007. ISBN-13: 978-3-527-40471-1
- [3] W. Ding, M. Palaiokostas, W. Wang and M. Orsi. Effects of Lipid Composition on Bilayer Membranes Quantified by All-Atom Molecular Dynamics. The Journal of Physical Chemistry B, vol. 119, N° 49, 2015, pages 15263-74. DOI:10.1021/acs.jpcc.5b06604.
- [4] T. V. Tolpekina, W. K. den Otter and W. J. Briels. Simulations of Stable Pores in Membranes: System Size Dependence and Line Tension The Journal of Chemical Physics, vol. 121, N° 16, 2004, p. 8014-20. DOI:10.1063/1.1796254.
- [5] T. Kotnik, L. Rems, M. Tarek, y D. Miklavčič, «Membrane Electroporation and Electroporabilization: Mechanisms and Models», Annu. Rev. Biophys., vol. 48, n.o 1, pp. 63-91, may 2019.
- [6] S. J. Marrink, A. H. de Vries, y D. P. Tieleman, «Lipids on the move: Simulations of membrane pores, domains, stalks and curves», Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, vol. 1788, n.o 1, pp. 149-168, ene. 2009.
- [7] S. J. Marrink, A. H. de Vries, y A. E. Mark, «Coarse Grained Model for Semiquantitative Lipid Simulations», J. Phys. Chem. B, vol. 108, n.o 2, pp. 750-760, ene. 2004.
- [8] S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov, D. P. Tieleman, y A. H. de Vries, «The martini force field: coarse grained model for biomolecular simulations», J. Phys. Chem. B, vol. 111, n.o 27, pp. 7812-7824, jul. 2007.
- [9] S. O. Yesylevskyy, L. V. Schäfer, D. Sengupta, y S. J. Marrink, «Polarizable Water Model for the Coarse-Grained MARTINI Force Field», PLoS Comput Biol, vol. 6, n.o 6, p. e1000810, jun. 2010.
- [10] M. G. Saunders y G. A. Voth, «Coarse-Graining Methods for Computational Biology», Annu. Rev. Biophys., vol. 42, n.o 1, pp. 73-93, may 2013.
- [11] J. Buša, S. Hayryan, C.-K. Hu, J. Skřivánek, y M.-C. Wu, «Enveloping triangulation method for detecting internal cavities in proteins and algorithm for computing their surface areas and volumes», J. Comput. Chem., vol. 30, n.o 3, pp. 346-357, feb. 2009.
- [12] T. Paramo, A. East, D. Garzón, M. B. Ulmschneider, y P. J. Bond, «Efficient Characterization of Protein Cavities within Molecular Simulation Trajectories: trj_cavity», J. Chem. Theory Comput., vol. 10, n.o 5, pp. 2151-2164, may 2014.
- [13] V. Ribeiro, J. A. C. Tamames, N. M. F. S. A. Cerqueira, P. A. Fernandes, y M. J. Ramos, «Volarea - A Bioinformatics Tool to Calculate the Surface Area and the Volume of Molecular Systems», Chem Biol Drug Des, vol. 82, n.o 6, pp. 743-755, dic. 2013.
- [14] P. Schmidtke, A. Bidon-Chanal, F. J. Luque, y X. Barril, «MDpocket: open-source cavity detection and characterization on molecular dynamics trajectories», Bioinformatics, vol. 27, n.o 23, pp. 3276-3285, dic. 2011.
- [15] Q. Yan y J. J. de Pablo, «Hyper-parallel tempering Monte Carlo: Application to the Lennard-Jones fluid and the restricted primitive model», The Journal of Chemical Physics, vol. 111, n.o 21, pp. 9509-9516, dic. 1999.
- [16] M. S. Till, y G. M. Ullmann. McVol - A Program for Calculating Protein Volumes and Identifying Cavities by a Monte Carlo Algorithm. Journal of Molecular Modeling, vol. 16, N° 3, 2010, pages 419-29. DOI: 10.1007/s00894-009-0541-y.
- [17] G. van Rossum, Python tutorial, Technical Report CS-R9526, Centrum voor Wiskunde en Informatica (CWI), Amsterdam, Mayo, 1995
- [18] Walt S.v.d., Colbert S.C., and Varoquaux G. The numpy array: A structure for efficient numerical computation. Comput. Sci. Eng., 13(2):22–30, 2011. doi:10.1109/MCSE.2011.37.



Bioing. Hugo Ezequiel Di Lorenzo es Bioingeniero. Docente investigador en la Facultad de Ingeniería, Universidad de Mendoza. Jefe de Bioingeniería del Hospital Humberto Notti de Mendoza.



Bioing. María Silvina Moyano es Bioingeniera. Docente investigadora en la Facultad de Ingeniería, Universidad de Mendoza. Becaria doctoral CONICET.



Dr. Michael Ferguson es Doctor en Química. Docente investigador en la Facultad de Ingeniería, Universidad de Mendoza. Becario postdoctoral de CONICET.