

UNIVERSIDAD
DE MURCIA

EJERCICIO ENTREGABLE

SIMULACIÓN Y ANÁLISIS DE DINÁMICA MOLECULAR EN SOLUCIÓN ACUOSA

Máster en Bioinformática

Modelado Molecular

Simulaciones de dinámica molecular
del tripéptido alanina-arginina-asparagina

Apellidos y nombre: Cabanes Madrid, José Alberto

Curso: 2023-2024





INDICE

1. PREPARACIÓN DE ARCHIVOS	1
2. CREAR TOPOLOGÍA	3
2. ESTABLECER LAS CONDICIONES DE CONTORNO PERIÓDICAS	3
3. NEUTRALIZACIÓN Y EQUILIBRIO	4
4. EJECUCIÓN DE LA SIMULACIÓN (RUN)	6
5. ANÁLISIS DE LA SIMULACIÓN	8
5.1. ANÁLISIS DEL RADIO DE GIRO	8
5.2. DISTANCIAS DE ENLACE ENTRE DOS ÁTOMOS	8
5.3. ÁNGULOS DE ENLACE ENTRE TRES ÁTOMOS	10
5.4. ÁNGULOS DIEDROS ENTRE CUATRO ÁTOMOS	11
5.5. TEMPERATURA DEL SISTEMA	12
5.6. VELOCIDADES ATÓMICAS	12
5.7. ENERGÍA CINÉTICA	14
5.8. ENERGÍA TOTAL	14
6. ACTIVIDAD EXTRA	15
6.1. HISTOGRAMA DE TEMPERATURA	15
6.2. VELOCIDAD ATÓMICA	15
6.3. DIAGRAMA DE RAMACHANDRAN	16

1. PREPARACIÓN DE ARCHIVOS

En primer lugar, se enlistan los archivos empleados como punto de partida del proceso de simulación y análisis del tripéptido seleccionado, indicando su ruta original y las posibles modificaciones realizadas sobre los mismos:



arn.pdb

Ruta: `../for-students/tripeptides`

Descripción: archivo `.pdb` con información estructural del tripéptido A-R-N (alanina-arginina-asparagina ([Fig. 1a](#))), incluyendo las coordenadas tridimensionales de los átomos que componen la molécula.



equiNVT.mdp

Ruta: `../for-students/equilibration-mdp/equiNVT.mdp`

Descripción: archivo `.mdp` con los parámetros necesarios para la etapa de equilibrio de la simulación bajo condiciones constantes de número de átomos (N), volumen (V) y temperatura (T). A través de este archivo se ajustan las condiciones iniciales del sistema para que el tripéptido alcance un estado estructural estable una vez solvatado. En concreto, se modificarán los parámetros para incrementar el número de pasos de la simulación (*nsteps*) y el intervalo de tiempo entre cada paso (*dt*), y generaremos dos archivos, `equiNVT298.mdp` y `equiNVT400.mdp`, con valores de temperatura de 298K y 400K, respectivamente.



runNVT.mdp

Ruta: `../for-students/run-mdp/runNVT.mdp`

Descripción: archivo `.mdp` con los parámetros necesarios para la etapa de ejecución (run) de la simulación bajo las mismas condiciones descritas en `equiNVT.mdp`. A través de este archivo, se ejecutará la simulación durante un período de tiempo más largo una vez que el sistema ha alcanzado la estabilidad tras la etapa de equilibrio.

A lo largo de la práctica, todos los archivos se han ido copiando a los distintos subdirectorios generados dentro de `/home/alumno03/Working-Directory/practica-arn`, directorio desde el que han sido descritas las rutas originales de los archivos enlistados. En los subdirectorios de esta ruta se irán ejecutando cada uno de los pasos de la simulación y análisis.

Asimismo, a través del comando `pymol arn.pdb`, se ejecutó el programa de visualización molecular PyMOL para obtener una primera representación tridimensional de la estructura del tripéptido A-R-N contenido en `arn.pdb` ([Fig. 1b](#)). Se observa cómo sus extremos C- α y N- α han sido reemplazados por grupos terminales ACE y NME.

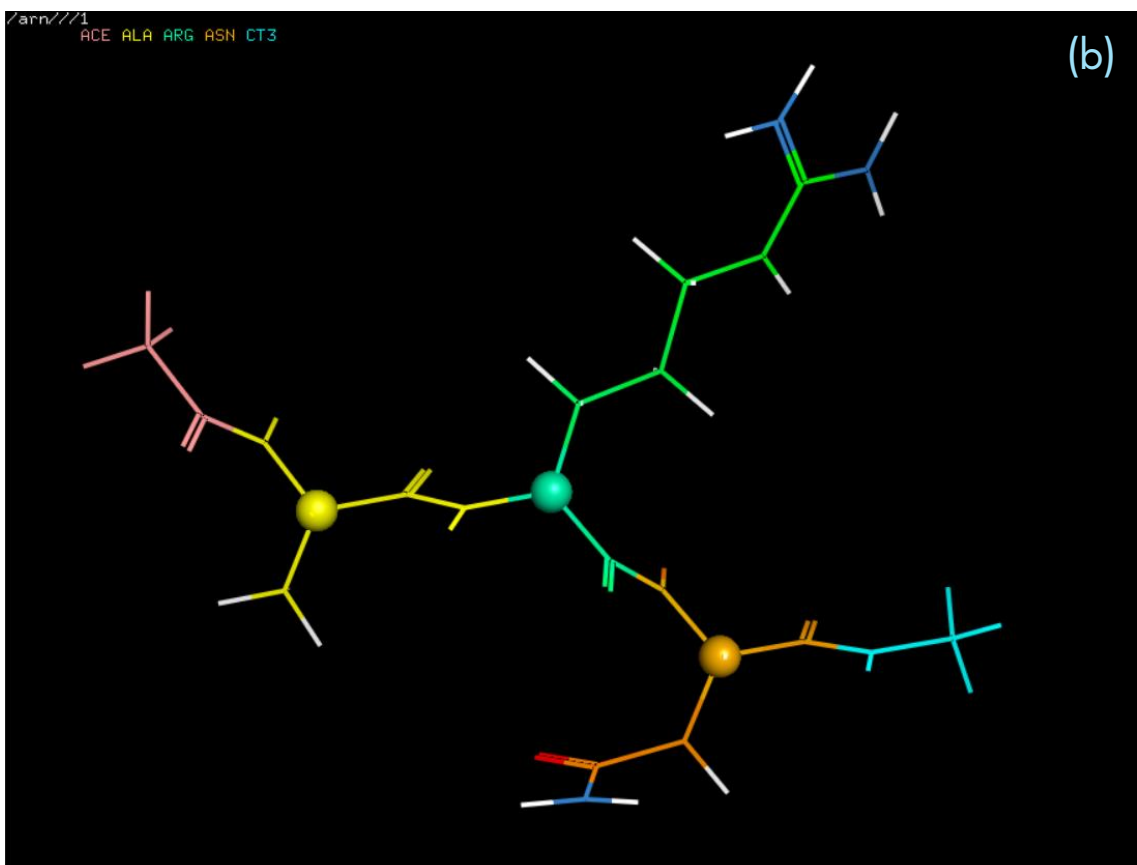
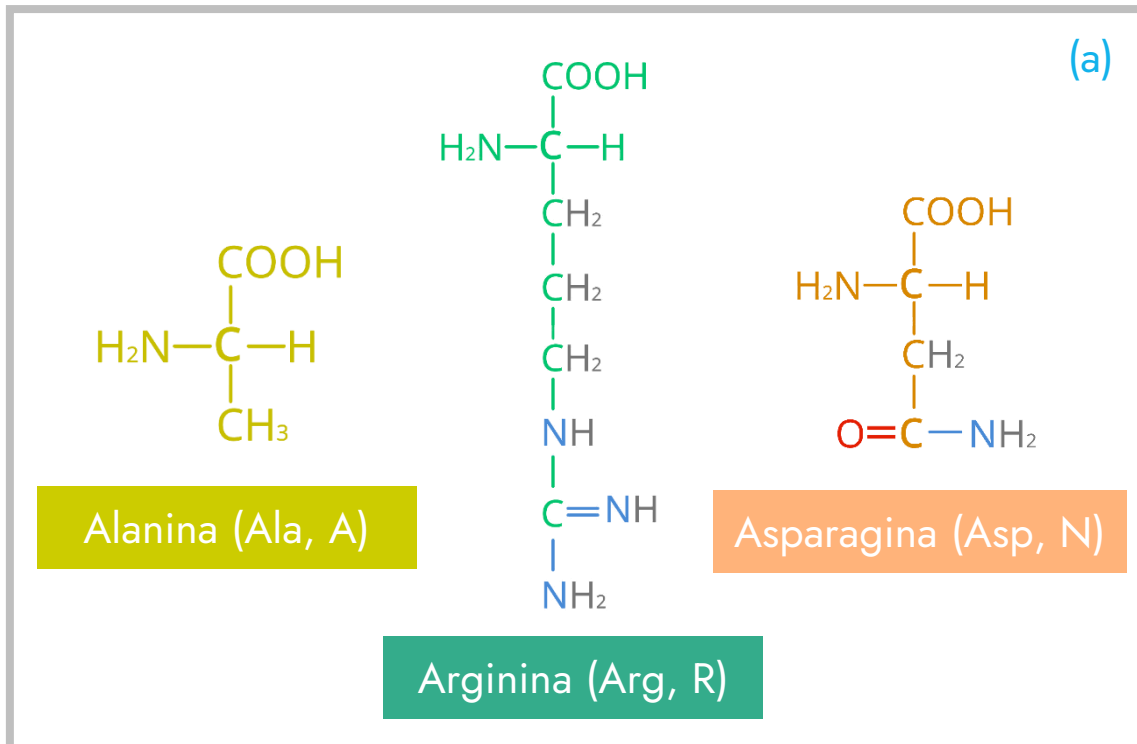


Figura 1. a. Representación en 2D de la estructura de los aminoácidos alanina, arginina y asparagina.
b. Estructura tridimensional del tripéptido ACE-A-R-G-NME, cada uno de sus residuos identificado por un color, y sus carbonos alfa representados como esferas. Los átomos de H, O y N de las cadenas laterales han sido destacados en blanco, rojo y azul, respectivamente.

2. CREAR TOPOLOGÍA

El proceso de simulación de dinámicas del tripéptido y posterior análisis de resultados será llevado a cabo en su totalidad a través del paquete GROMACS, a cuyas herramientas se accederá a través del comando `gmx`.

El primer paso de toda simulación de dinámica molecular es la creación de la topología: indicar al programa la estructura molecular y *forcefield* a emplear. Este último contiene un conjunto de parámetros que describen las interacciones entre los átomos en una molécula.

En el paquete GROMACS, la topología es creada con la herramienta `gmx pdb2gmx`. Esta será ejecutada dentro de *1-build*, el primero de los subdirectorios generados en el directorio *Working-directory/practica-arn*, y que contiene el archivo *arn.pdb*:

```
[alumno03@dayhoff 1-build]$ gmx pdb2gmx -f arn.pdb -o arn.gro -p arn.top -ter
----- PLEASE NOTE -----
You have successfully generated a topology from: arn.pdb.
The Charmm27 force field and the tip3p water model are used.
```

Entre otras especificaciones, se indica a la herramienta la selección de CHARMM27 como *forcefield* a emplear, y TIP3P como modelo de disolución acuosa. Asimismo, se indica que la molécula ya presenta extremos ACE y NME, no siendo necesario añadirlos.

El archivo *arn.gro* generado contiene las coordenadas atómicas del tripéptido generado a partir del archivo *arn.pdb*. Por su parte, el archivo *arn.top* generado contiene toda la información necesaria para la simulación: la topología, los parámetros del *forcefield* y otros parámetros de simulación especificados (enlaces, ángulos, torsiones...). Ambos archivos, *.gro* y *.top*, serán empleados como entrada para las simulaciones posteriores.

2. ESTABLECER LAS CONDICIONES DE CONTORNO PERIÓDICAS

Las condiciones de contorno periódicas son aquellas aplicadas en dinámica molecular para simular sistemas infinitos. Así, el siguiente paso consiste en establecer dichas condiciones: ajustar la celda unitaria y solvatar la molécula en un entorno de solvente concreto.

A fin de editar las configuraciones de la celda, se emplea la herramienta `gmx editconf`:

```
[alumno03@dayhoff 1-build]$ gmx editconf -f arn.gro -o arn-box.gro -bt cubic -box 3.0
box vectors : 1.358 0.665 1.261 (nm)
box angles  : 90.00 90.00 90.00 (degrees)
box volume  : 1.14 (nm^3)
new box vectors : 3.000 3.000 3.000 (nm)
new box angles  : 90.00 90.00 90.00 (degrees)
new box volume  : 27.00 (nm^3)
```

A través de este comando, se ha indicado el uso de celdas cúbicas de 3 nanómetros. El archivo *arn-box.gro* contendrá las coordenadas del tripéptido y las nuevas especificaciones de forma y tamaño sobre la celda.

Tras ello, se emplea *arn-box.gro* como archivo de entrada de la herramienta *gmx solvate*, a fin de solvatar el tripéptido: se agregan moléculas de agua alrededor de la estructura para simular un entorno acuoso, teniendo en cuenta la topología establecida en *arn.top* para definir las interacciones con el solvente. El archivo resultante es *arn-box-solv.gro*:

```
[alumno03@dayhoff 1-build]$ gmx solvate -cp arn-box.gro -cs -o arn-box-solv.gro -p arn.top
Generated solvent containing 2580 atoms in 860 residues
Writing generated configuration to arn-box-solv.gro

Output configuration contains 2640 atoms in 865 residues
Volume          :      27 (nm^3)
Density         :    980.083 (g/l)
Number of SOL molecules:    860
```

En este punto, y tras la conversión de *arn-box-solv.gro* a un archivo *.pdb*, un nuevo vistazo a través de PyMOL permite visualizar el progreso hasta el momento (Fig. 2).

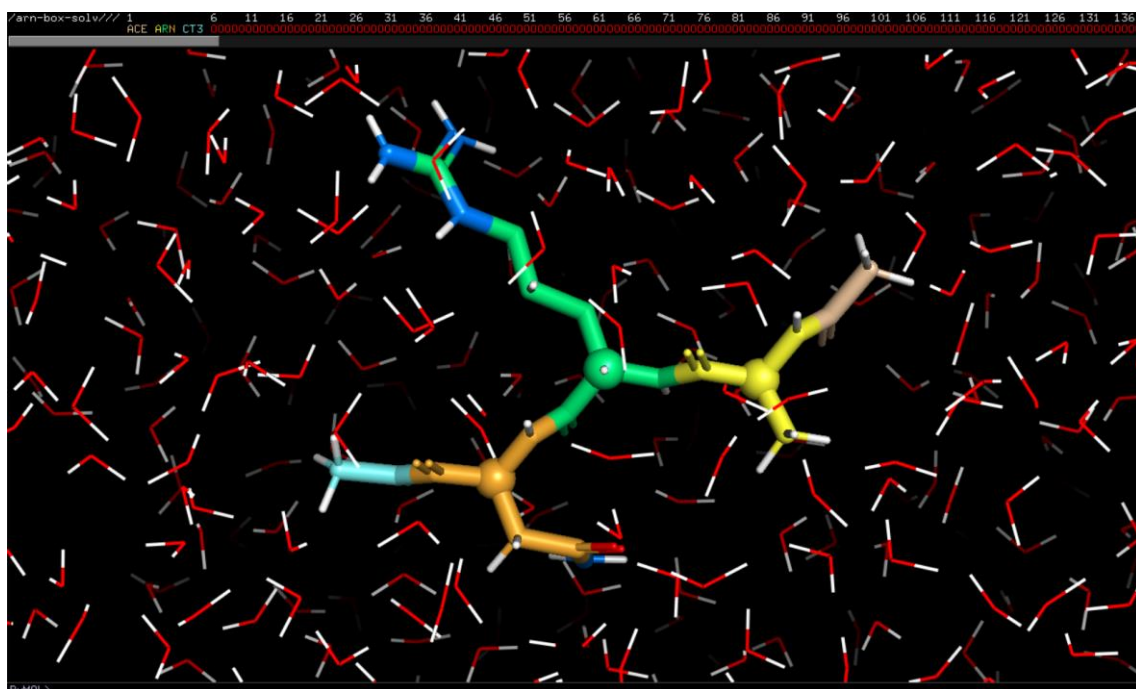


Figura 2. Representación tridimensional del tripéptido embebido en un entorno acuoso, a raíz de los datos contenidos en *arn-box-solv.gro*. La estructura peptídica ha sido representada mediante sticks en vez de líneas para favorecer el contraste respecto a las moléculas de solvente.

3. NEUTRALIZACIÓN Y EQUILIBRIO

Tras crear el subdirectorio *2-equilibration* y copiar en él *arn-box-solv.gro* y *arn.top* para favorecer cierto orden durante el procedimiento, se hará uso de *equiNVT.mdp*, también incluido en dicho subdirectorio. Como se detalló en epígrafes anteriores, este archivo contiene los parámetros y opciones necesarias para llevar a cabo una simulación de equilibrio. En concreto, se modificarán los parámetros por defecto a fin de incrementar el número de pasos de la simulación (*nsteps*) hasta un total de 800.000, siendo el intervalo de tiempo entre cada paso (*dt*) de 0.5 fs.

A partir de este punto, se generarán dos archivos y se dividirá el proceso en dos vías de actuación idénticas, pero considerando temperaturas diferentes: en *equiNVT298.mdp* se indicará 298K como temperatura de la simulación, mientras que con *equiNVT400.mpd* se efectuarán las mismas simulaciones y análisis a 400K. Se emplearán *equiNVT298.mdp* y las simulaciones y archivos generados a partir de este a la hora de realizar las explicaciones pertinentes, habiendo procedido de manera similar con *equiNVT400.mpd*.

De este modo, se hizo uso de la herramienta `gmx grompp` para preprocesar la información antes de lanzar la simulación: combina la información del archivo de topología (*.top*) y de coordenadas (*.gro*) y genera un archivo de parámetros de topología *arn-a.tpr*:

```
[alumno03@dayhoff 2-equilibration298]$ gmx grompp -f equiNVT298.mdp -c arn-box-solv.gro -p arn.top -o arn-a.tpr
NOTE 1 [file arn.top, line 591]:
System has non-zero total charge: 1.000000
```

Esta herramienta también calcula las fuerzas, cargas y energía inicial del sistema, indicando que este presenta una carga total de +1.0. Se aplica, pues, la herramienta `gmx genion`, a fin de reemplazar una molécula de solvente por un ion monoatómico negativo (Fig. 3):

```
[alumno03@dayhoff 2-equilibration298]$ gmx genion -s arn-a.tpr -p arn.top -o arn.gro -nn 1
Number of (3-atomic) solvent molecules: 860
Processing topology
Replacing 1 solute molecules in topology file (arn.top) by 0 NA and 1 CL ions.
```

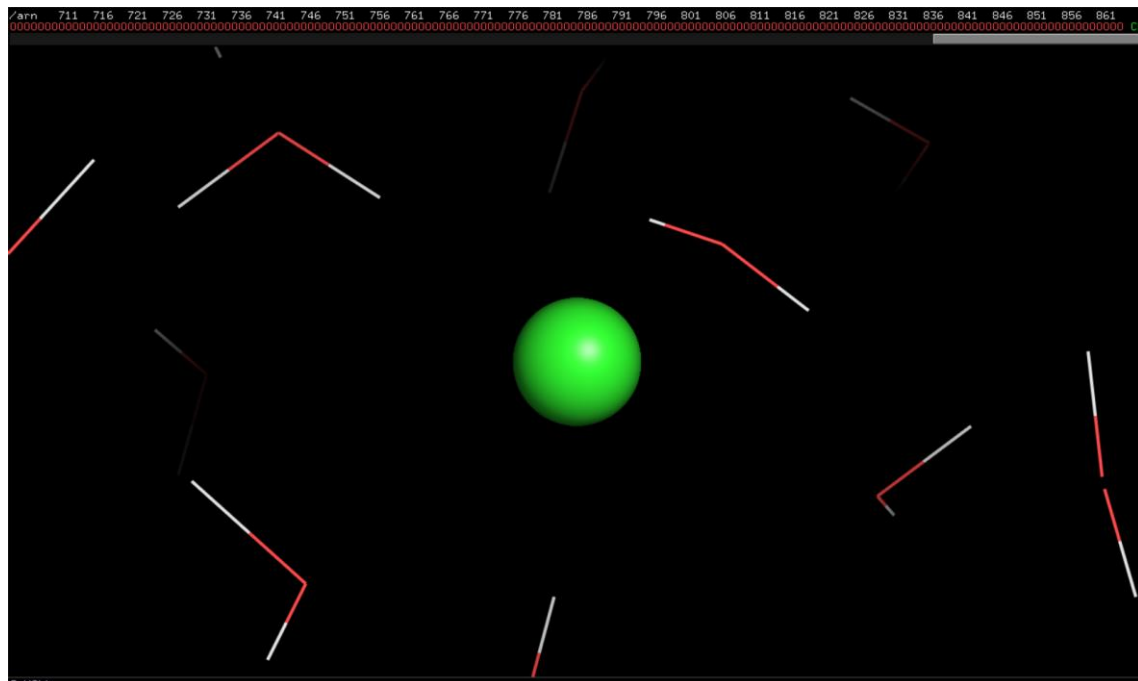


Figura 3. Representación del ion cloruro como una esfera verde rodeada de moléculas de agua del solvente. Este ion neutraliza la carga del sistema.

Ahora que el sistema es neutro, se emplea nuevamente `gmx grompp` en combinación con `equiNVT298.mdp` para generar el archivo `arn.tpr`, el cual será utilizado como archivo de entrada de `gmx mdrun` para iniciar la simulación de equilibrio. Este último comando será ejecutado a través de un `sbatch`:

```
#!/bin/bash
#
#SBATCH -p eck-q
#SBATCH --chdir=/home/alumno03/Working-directory/practica-arn/2-equilibration298
#SBATCH -J equilibrado
#SBATCH --cpus-per-task=1

date
gmx mdrun -deffnm arn -c arn.g96 -nt 1
date
```

El archivo resultante, `arn.g96`, contiene las coordenadas finales de todos los átomos del sistema, así como sus velocidades.

4. EJECUCIÓN DE LA SIMULACIÓN (RUN)

Finalmente, tras incluir en el subdirectorio `3-run` los archivos `arn.top` y `arn.g96` generados, se ejecutará nuevamente `gmx grompp` y `gmx mdrun` pero empleando `runNVT.mdp` como archivo de entrada en lugar de `equiNVT.mdp`. En esta ocasión, `runNVT.mdp` contiene los parámetros necesarios para la etapa de ejecución (run) de la simulación bajo las mismas condiciones descritas en `equiNVT.mdp`. Conviene decir que, como cabe esperar, a partir del archivo original se han generado `runNVT298.mdp` y `runNVT400.mdp` a fin de proceder tanto con las simulaciones a 298K como las simulaciones a 400K.

```
[alumno03@dayhoff 3-run298]$ gmx grompp -f runNVT298.mdp -c arn.g96 -p arn.top -o arn.tpr
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'
Excluding 2 bonded neighbours molecule type 'SOL'
Excluding 1 bonded neighbours molecule type 'CL'
Removing all charge groups because cutoff-scheme=Verlet
Analysing residue names:
There are:      5      Protein residues
There are:   859      Water residues
There are:      1      Ion residues
```

```
#!/bin/bash
#
#SBATCH -p eck-q
#SBATCH --chdir=/home/alumno03/Working-directory/practica-arn/3-run298
#SBATCH -J run298
#SBATCH --cpus-per-task=1

date
gmx mdrun -deffnm arn -c arn.g96 -nt 1
date
```

Los archivos obtenidos, `arn.tpr` y `arn.trr`, contienen respectivamente las especificaciones sobre la estructura (masa, fuerzas...) y coordenadas (distancias, velocidades...) del sistema.

El resultado final puede ser representado con PyMOL a través de la obtención de un archivo `.pdb` mediante `gmx traj`, herramienta capaz de leer y trazar las coordenadas, velocidades, fuerzas y resto de parámetros de los archivos anteriores:

```
[alumno03@dayhoff 3-run298]$ gmx traj -f arn.trr -s arn.tpr -oxt cartoon.pdb
Selected 0: 'System'
trr version: GMX_trn_file (single precision)
Last frame      2000 time      2.000
```

Se obtiene así una secuencia de 2000 fotogramas con los movimientos de las moléculas de agua y del tripéptido tanto a 298K como 400K (Fig. 4).

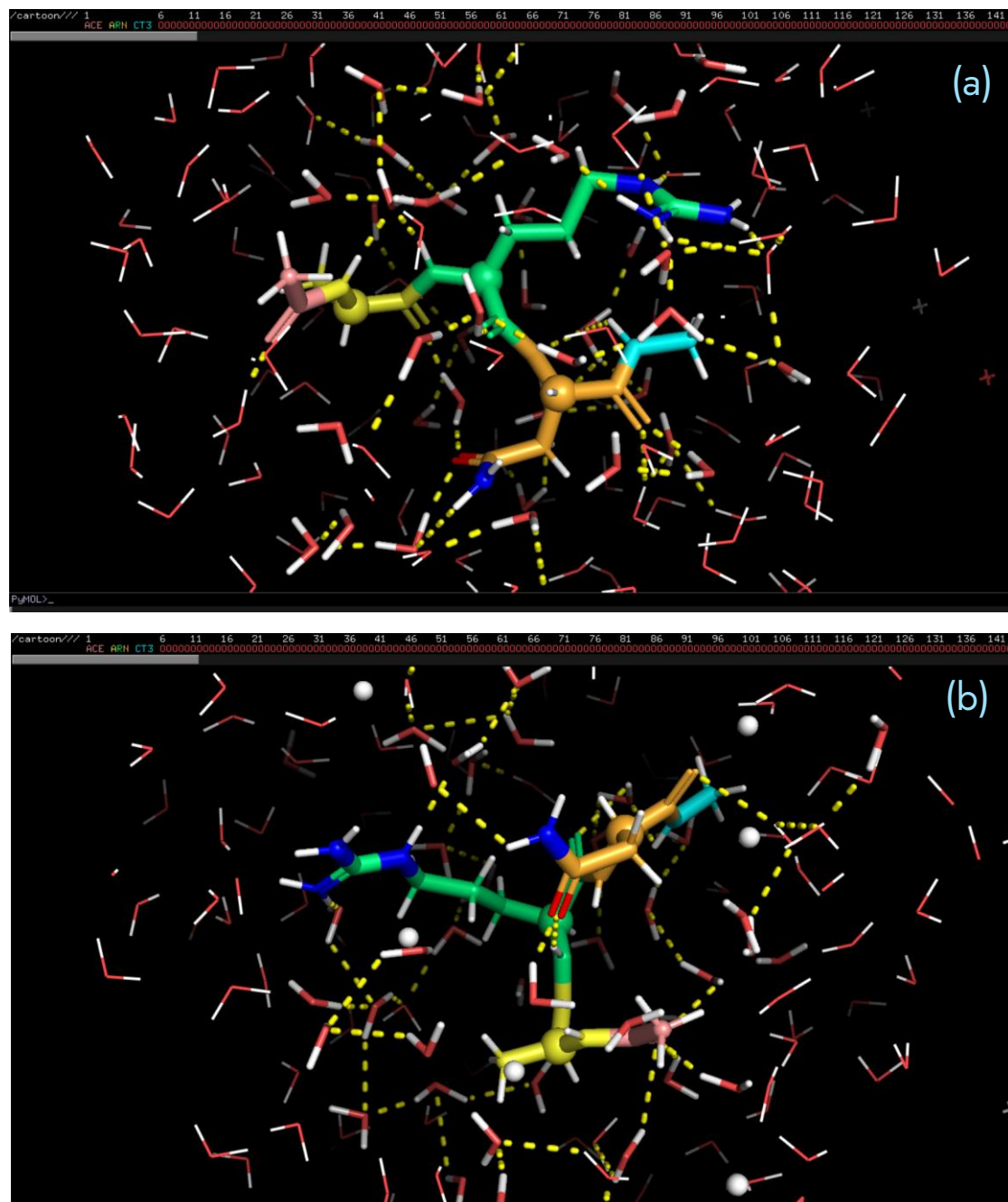


Figura 4. Fotogramas de la simulación representada con PyMOL a 298K (a) y 400K (b). Las líneas discontinuas amarillas representan puentes de hidrógeno establecidos en dicho lapso de tiempo.

5. ANÁLISIS DE LA SIMULACIÓN

Tras efectuar la simulación y representar el sistema en PyMOL, a continuación se establece *4-analysis*, subdirectorio donde se aplicará sobre *arn.trr* (coordenadas), *arn.tpr* (estructura) y *arn.edr* (energías) diferentes herramientas de GROMACS para obtener parámetros de interés e información sobre su comportamiento bajo ambas condiciones de temperatura.

5.1. ANÁLISIS DEL RADIO DE GIRO

El radio de giro es una medida de la compacidad de una molécula. Su valor indica si una molécula se encuentra más extendida o si es más compacta. Determinaremos dicho radio a través de la herramienta `gmx gyrate`, y lo representaremos mediante `gnuplot`:

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx gyrate -f arn.trr -s arn.tpr -xvg none
```

El resultado (Fig. 5) muestra cómo el radio de giro oscila en un rango de valores mayores a 298K (entre 0.424 y 0.446) que a 400K (entre 0.380 y 0.410). Los tripéptidos son mucho más pequeños y flexibles que una proteína completa, y su estructura e interacciones con el solvente se ven afectadas por la temperatura del medio, resultando en una estructura más o menos compacta.

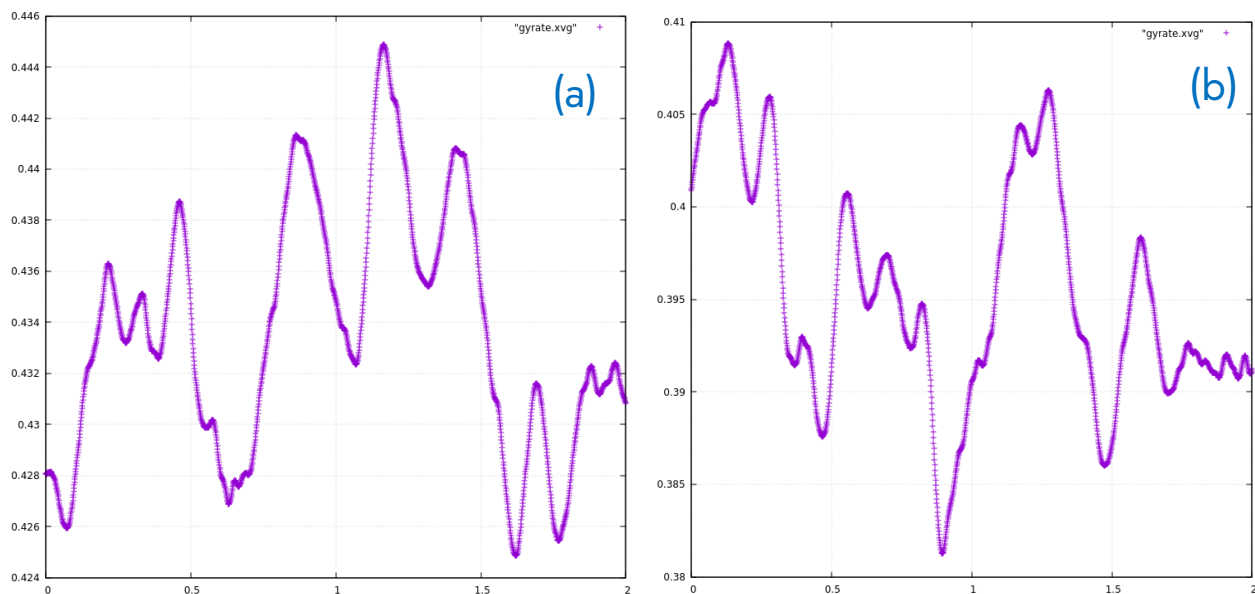


Figura 5. Gráfico de las variaciones en el radio de giro del tripéptido a temperaturas 298K (a) y 400K (b) a lo largo de la simulación.

5.2. DISTANCIAS DE ENLACE ENTRE DOS ÁTOMOS

Se empleará `gmx distance` en combinación con `gnuplot` para representar la evolución de la distancia de enlace entre dos pares de átomos, comparando los resultados obtenidos entre el sistema a 298K y el sistema a 400K:

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx distance -f arn.trr -s arn.tpr -n distances298.ndx -oall -xvg none
```

En concreto, se han seleccionado los pares CZ=NH1 y CZ-NE del residuo de arginina (Tabla 1), a fin de realizar una comparación entre la distancia de enlace carbono-nitrógeno en función de si se trata de un enlace simple o uno doble.

	Sistema 298K		Sistema 400K	
	Distancia media	Desviación	Distancia media	Desviación
CZ = NH1	0.133	0.0020	0.133	0.031
CZ – NE	0.134	0.0024	0.134	0.032

Tabla 1. Distancia media y desviación estándar determinados por gmx distance en el cálculo de enlace para CZ=NH1 y CZ-NE del residuo de arginina a 298K y 400K.

Los resultados (Fig. 6) reflejan, como cabría esperar, oscilaciones de menor amplitud sobre CZ=NH1 como resultado de la rigidez del enlace doble en comparación con el enlace simple CZ-NE. Asimismo, para un mismo enlace, las oscilaciones muestran una mayor amplitud a 400K que a 298K (la desviación estándar se incrementa en torno a un 50%).

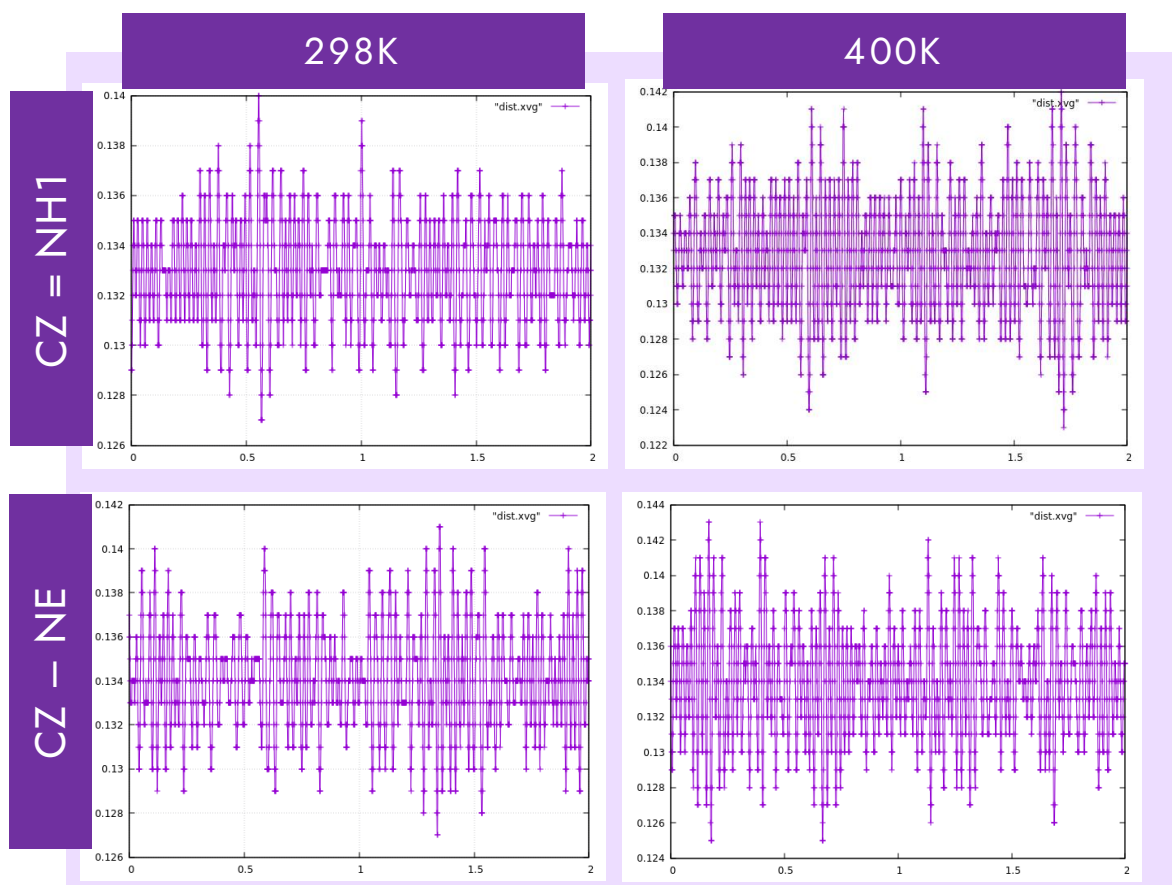


Figura 6. Evolución de la distancia de enlace entre los diferentes átomos y condiciones de temperatura.

Cabe decir que las diferencias observadas no se corresponden a lo verdaderamente esperado en una comparativa entre enlace simple y doble. Esto es debido a que el enlace CZ=NH1 presenta carácter parcial de doble enlace estabilizado por resonancia con CZ-NH2, por lo que la simulación no lo considera un enlace doble en el sentido estricto.

5.3. ÁNGULOS DE ENLACE ENTRE TRES ÁTOMOS

En esta ocasión, fueron seleccionados dos conjuntos de tres átomos a fin de analizar sus ángulos de enlace y su evolución en el tiempo a través de `gmx angle` y `gnuplot` (Tabla 2).

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx angle -f arn.trr -n distances298.ndx -ov -xvg none
```

En concreto, se escogió, por un lado, el C α esquelético de la arginina junto con el C-carbonílico y N-amínico correspondiente (N-CA-C) y, por otro lado, el primer C de la cadena lateral de la asparagina y su unión a dos H (HB1-CB-HB2).

	Sistema 298K		Sistema 400K	
	Ángulo	Desviación	Ángulo	Desviación
N-CA-C	111.00°	3.5°	112.31°	3.3°
HB1-CB-HB2	108.24°	3.8°	108.15°	5.2°

Tabla 2. Ángulo medio y desviación estándar determinados por `gmx angle` en el cálculo para N-CA-C (esqueleto principal de Arg) y HB1-CB-HB2 (grupo de la cadena lateral de Asp) a 298K y 400K.

Siendo similares entre ambos grupos, los resultados numéricos tampoco muestran diferencias significativas dentro de un mismo grupo para diferentes temperaturas. Es la representación de la evolución del ángulo frente al tiempo (Fig. 7) la que permite comprobar cómo el ángulo del esqueleto principal es más rígido que el formado entre los hidrógenos del grupo de la cadena lateral, así como que estas diferencias se acentúan a 400K.

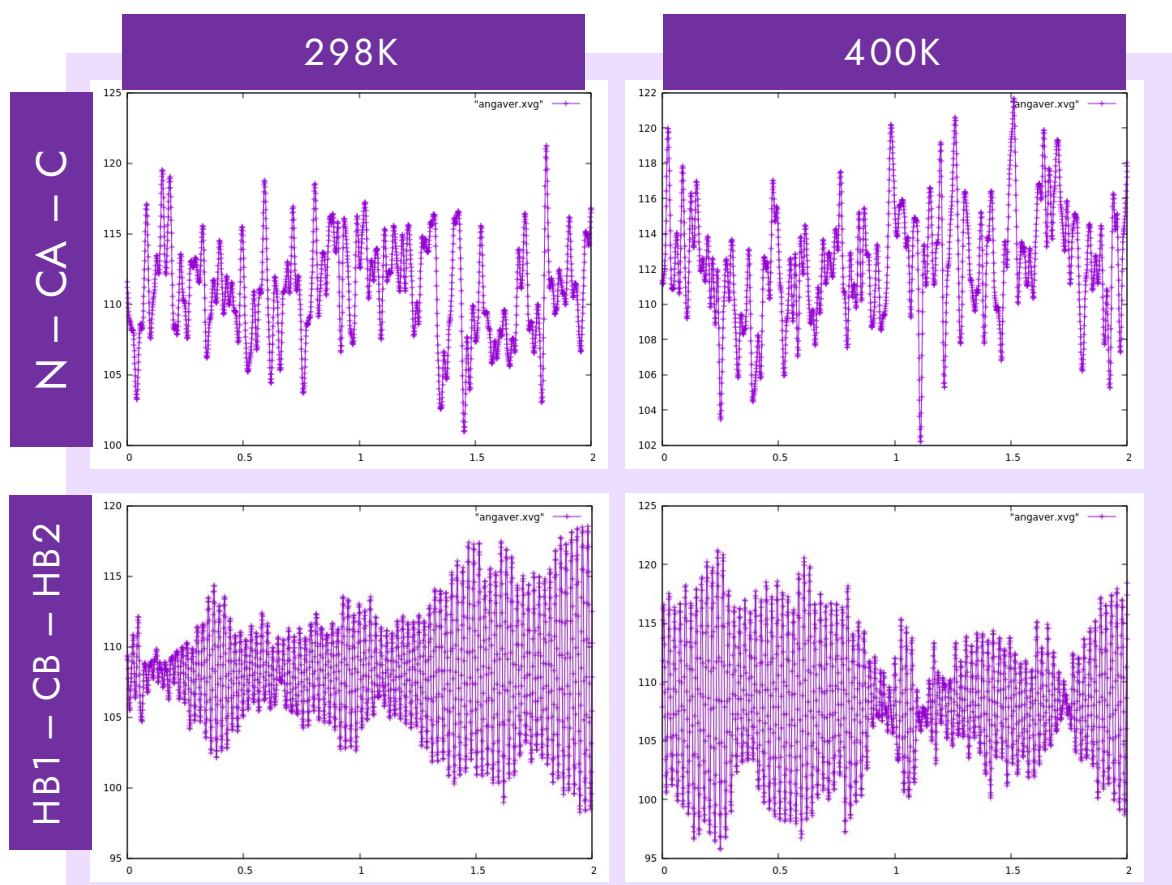


Figura 7. Evolución del ángulo de enlace entre los diferentes grupos y condiciones de temperatura.

5.4. ÁNGULOS DIEDROS ENTRE CUATRO ÁTOMOS

Para finalizar con las medidas de distancia y ángulos, se empleó `gmx rama` y `gnuplot` para analizar la evolución de ángulos diedros y valores de ϕ y ψ a diferentes temperaturas.

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx rama -f arn.trr -s arn.tpr -xvg none
```

En concreto, se seleccionaron los residuos de arginina (ARG-3) y asparagina (ASN-4) del tripéptido (Fig. 8). Se observa cómo la evolución de ϕ y Ψ es diferente a 298K y 400K.

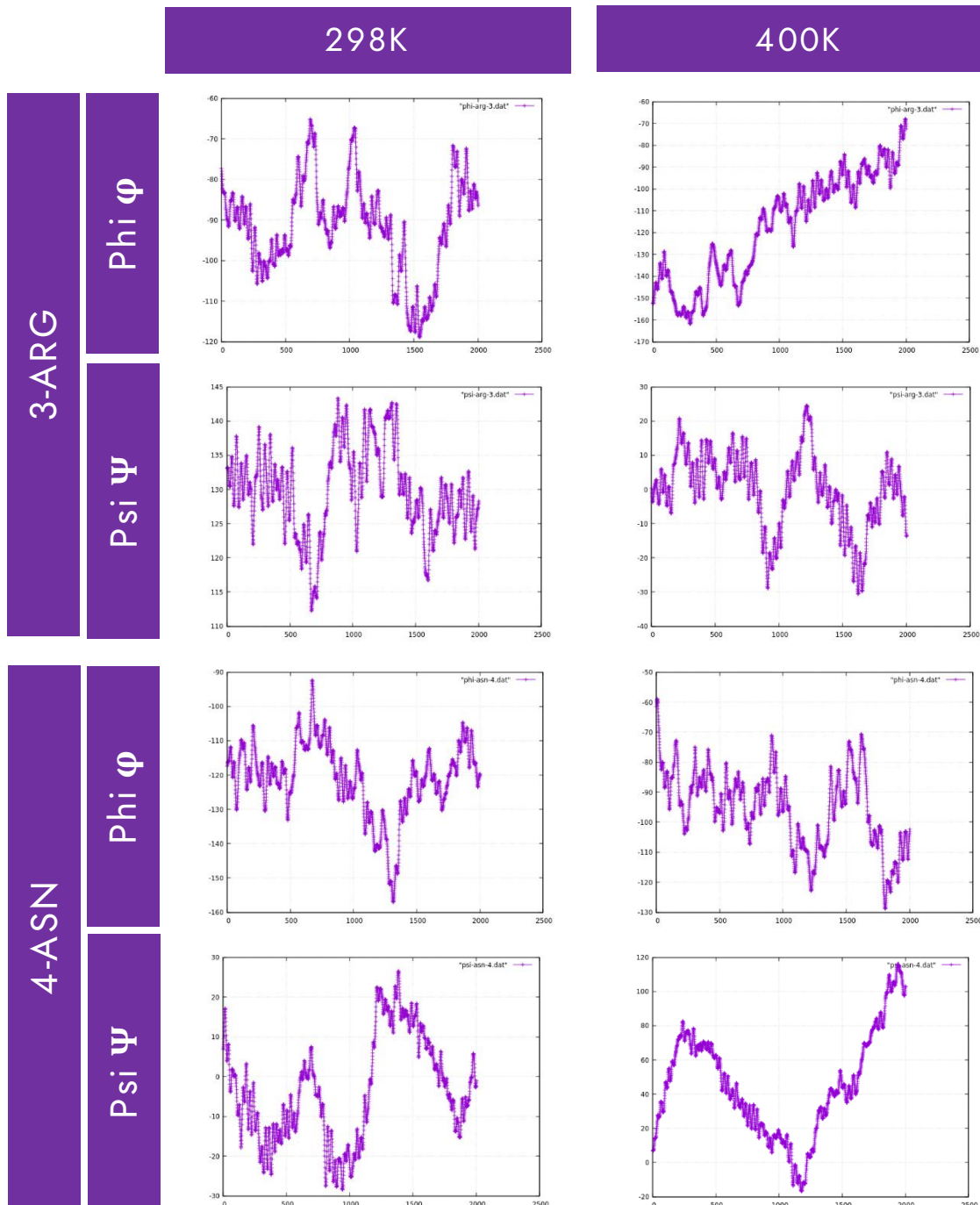


Figura 8. Evolución del ángulo diedro de los residuos a diferentes condiciones de temperatura.

5.5. TEMPERATURA DEL SISTEMA

Se emplearán `gmx traj` y `gnuplot` para representar la evolución de la temperatura y un histograma de la misma sobre ambas simulaciones (Fig. 9).

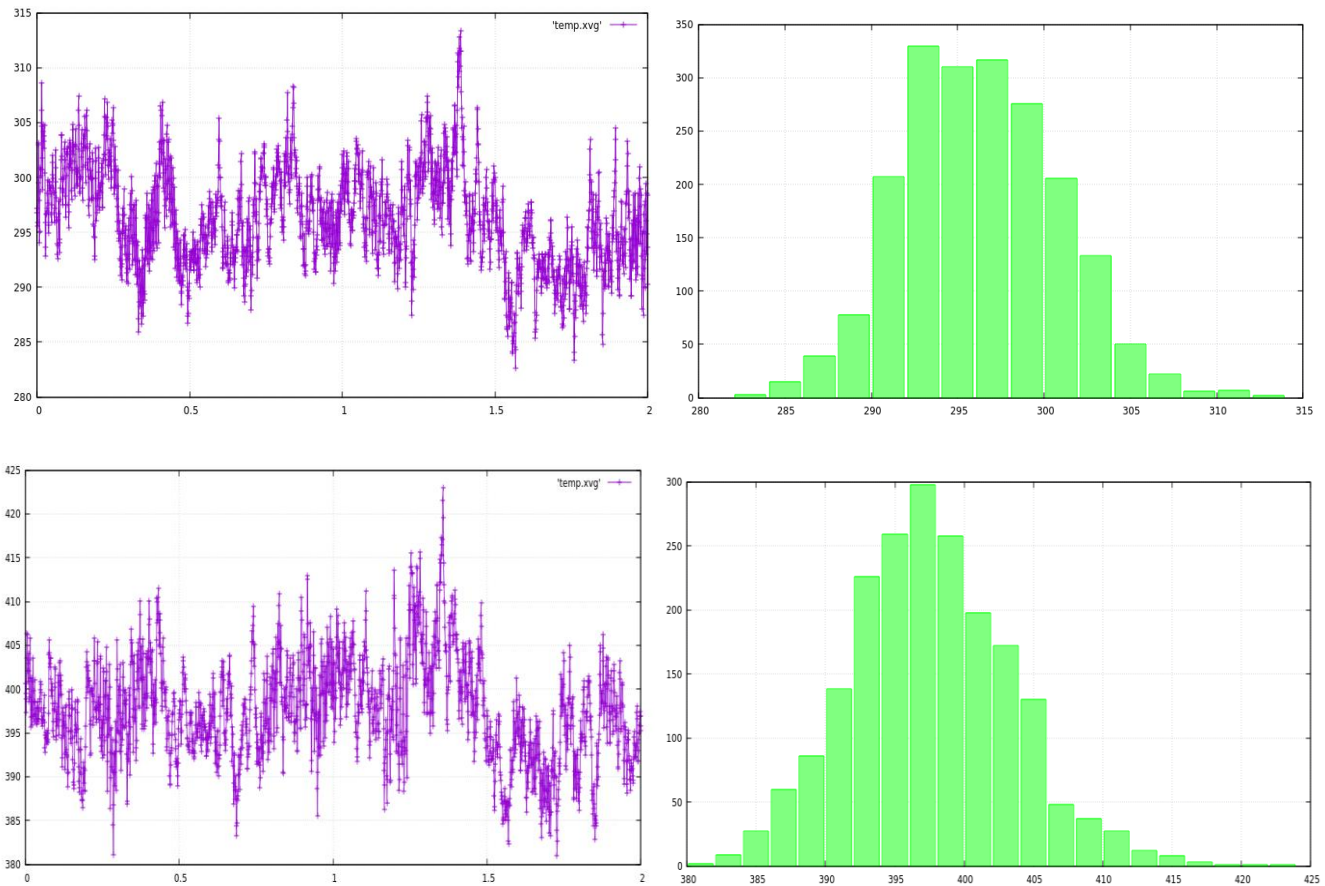


Figura 9. Gráfico e histograma de temperaturas a 298K (arriba) y 400K (abajo).

5.6. VELOCIDADES ATÓMICAS

Empleando `gmx traj` es posible obtener un archivo `veloc.xvg` donde la primera columna indica el tiempo y, a partir de esta, para cada átomo se establecen sucesivamente cuatro columnas: su velocidad en las tres direcciones del espacio (x , y , z) y el módulo de dicho vector de velocidad ($length$).

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx traj -f arn.trr -s arn.tpr -xvg none -ov -len
```

Puesto que el tripéptido cuenta con 60 elementos, se genera un archivo `veloc.xvg` de 241 columnas. Representando con `gnuplot` las columnas 5, 9, 13... frente al tiempo, se visualizará la evolución de la velocidad de cinco átomos diferentes a ambas temperaturas (Fig. 10). Se observa cómo la velocidad media se ve incrementada en todos los casos a 400K.

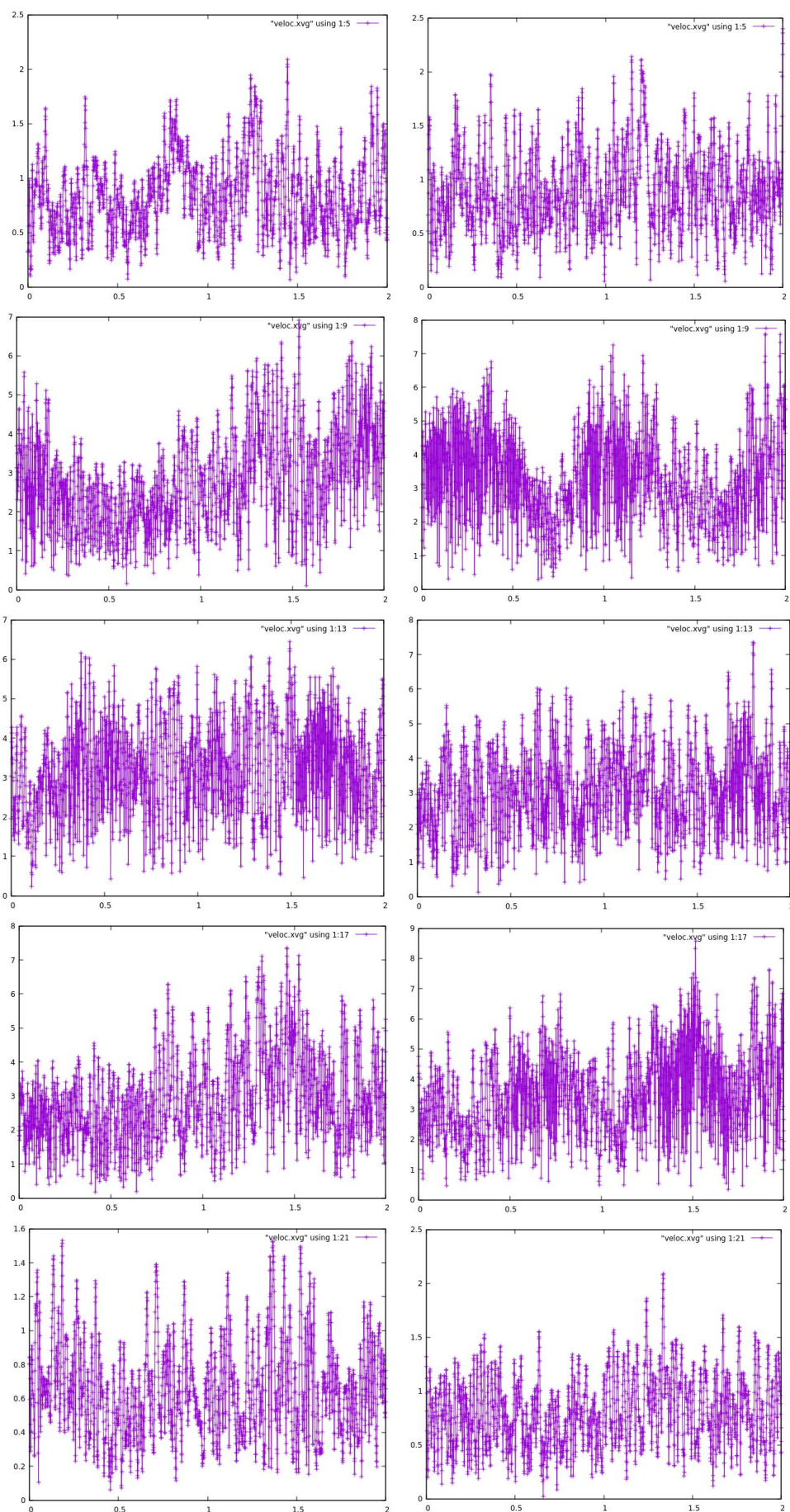


Figura 10. Representación de la evolución de la velocidad total frente al tiempo de 5 átomos del tripéptido a 298K (izquierda) y 400K (derecha).

5.7. ENERGÍA CINÉTICA

La energía cinética del sistema proporciona información sobre el movimiento de las partículas que lo componen. La herramienta `gmx energy` permite obtener su valor tanto para la simulación a 298K como a 400K:

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx energy -f arn.edr -s arn.tpr -xvg none
Energy                Average  Err.Est.      RMSD  Tot-Drift
-----
Kinetic En.           9748.05      30    149.098  -157.629 (kJ/mol)
```

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis400]$ gmx energy -f arn.edr -s arn.tpr -xvg none
Energy                Average  Err.Est.      RMSD  Tot-Drift
-----
Kinetic En.          13080      38    192.502  -77.0076 (kJ/mol)
```

Se obtuvieron valores de energía cinética de 9748.04 kJ/mol y 13080 kJ/mol para los sistemas a 298K y 400K, respectivamente. Estos se asemejan a los obtenidos a través de la fórmula termodinámica de la energía cinética según la temperatura, los grados de libertad o GL (número de átomos, 2548 en nuestro caso) y la constante de Boltzmann k_b (Tabla 3).

	gmx energy	$3/2 * k_b * T * GL$
E_c del sistema a 298K	9748	9471
E_c del sistema a 400K	13080	12713

Tabla 3. Energía cinemática del sistema (en kJ/mol) calculada mediante la herramienta `gmx energy` de GROMACS y mediante la fórmula termodinámica correspondiente.

La energía cinética está directamente relacionada con la temperatura del sistema. A mayor temperatura, mayor energía cinética, de ahí que su valor a 298K sea menor que a 400K.

5.8. ENERGÍA TOTAL

La energía total del sistema incluye todas las formas de energía presentes en este: la energía cinética (debido al movimiento de las partículas) y la energía potencial (debido a las interacciones entre las partículas). Esta última incluye términos como energía de enlace, de ángulo y de torsión, asociadas a los parámetros determinados en apartados anteriores. Se empleará nuevamente `gmx energy` para obtener su valor bajo ambas condiciones:

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis298]$ gmx energy -f arn.edr -s arn.tpr -xvg none
Energy                Average  Err.Est.      RMSD  Tot-Drift
-----
Total Energy          -26611.7      67    197.832  -214.864 (kJ/mol)
```

```
[alumno03@dayhoff 4-analysis400]$ gmx energy -f arn.edr -s arn.tpr -xvg none
Energy                Average  Err.Est.      RMSD  Tot-Drift
-----
Total Energy          -17969.6      88    264.148  -413.8 (kJ/mol)
```

Cambios en las energías de enlace, en las interacciones no enlazantes y en cambios conformacionales debido al aumento de la agitación térmica son responsables de la variación de la energía total del sistema entre ambas simulaciones.

6. ACTIVIDAD EXTRA

Tras generar un nuevo subdirectorio, *5-extra*, se repetirá en él el paso de ejecución de la simulación modificando el archivo *runNVT.mdp* de modo que se efectúe una simulación a 298K que genere resultados cada 10 fs, esto es, un total de 50.000 observaciones. Una vez obtenidos los archivos *.g96*, *.trr*, *.tpr* y *.edr* correspondientes, estos serán empleados como entrada en la realización de una serie de análisis adicionales sobre la simulación.

6.1. HISTOGRAMA DE TEMPERATURA

El histograma de temperatura del sistema (Fig. 11) se obtendrá a través de la combinación de *gmx traj* y *gnuplot*, a través del mismo procedimiento seguido en el apartado 5.5.

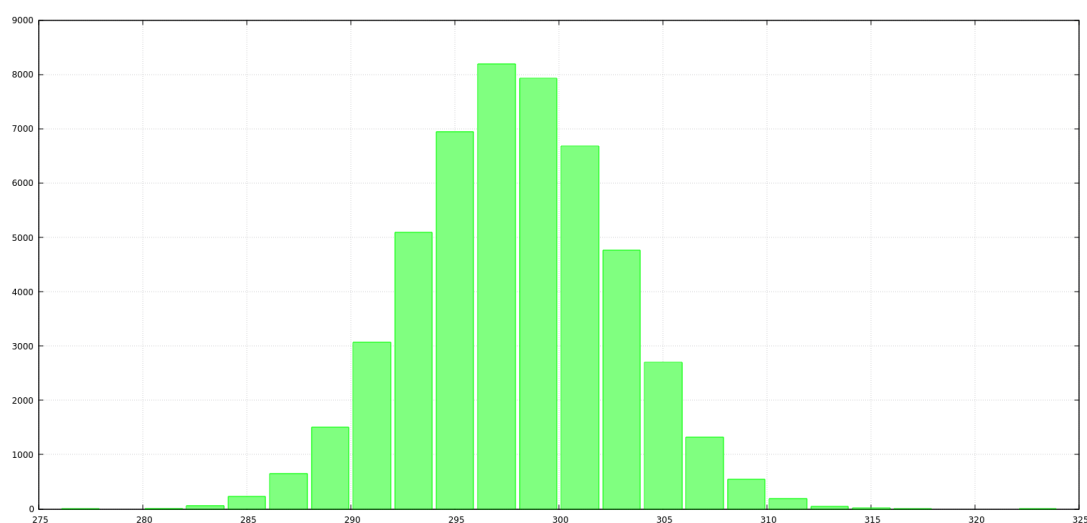


Figura 11. Histograma de temperaturas de la simulación adicional a 298K.

6.2. VELOCIDAD ATÓMICA

A través de un procedimiento similar al descrito en el apartado 5.6, se empleó *gmx traj* junto con *gnuplot* para generar, a partir de las columnas 2 (x), 3 (y) y 4 (z) del archivo *veloc.xvg*, un histograma que refleje la evolución de las tres componentes de velocidad de un átomo concreto del sistema (Fig. 12).

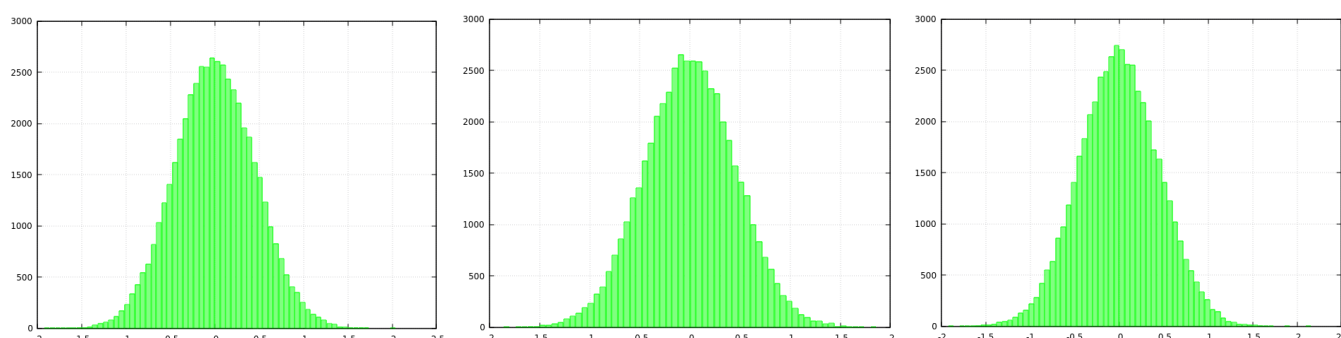


Figura 12. Histograma de velocidades en la coordenada x (izquierda), y (centro) y z (derecha) de un átomo concreto de la simulación.

6.3. DIAGRAMA DE RAMACHANDRAN

El diagrama de Ramachandran representará la distribución de los ángulos de torsión ϕ y ψ de los residuos de los aminoácidos del péptido, mostrando las regiones permitidas y las conformaciones de mayor probabilidad. A fin de obtener dicho diagrama, se hará uso de la herramienta `gmx rama` junto a `gnuplot`, enfrentando ϕ y ψ en una misma gráfica (Fig.13).

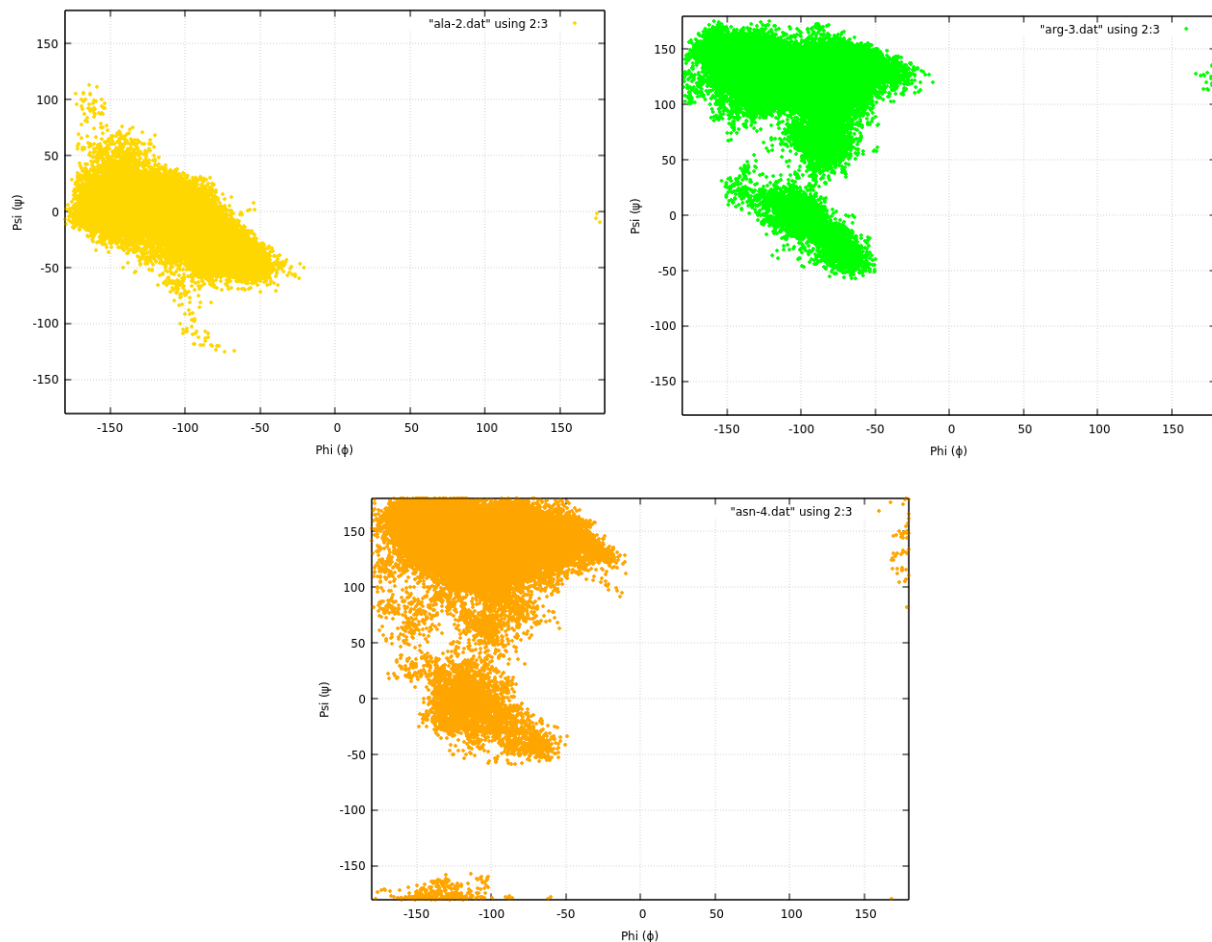


Figura 13. Diagrama de Ramachandran del residuo de alanina (amarillo), arginina (verde) y asparagina (naranja) del tripéptido A-R-N, representando los valores ϕ y ψ fruto de la simulación adicional.

La distribución de los puntos obtenidos en los diagramas obtenidos para los residuos Arg y Asn son muy similares, poblando por igual las regiones asociadas a conformaciones en hélice- α y el hoja β (cuadrante izquierdo inferior y superior, respectivamente). No es el caso del diagrama obtenido para el residuo Ala, sobre el que los puntos se acumulan, principalmente, en la región hélice- α . Si los tres diagramas se solapasen, la mayoría de puntos se situarían, por tanto, sobre la región hélice- α , siendo esta la conformación más probable del péptido atendiendo a los resultados del análisis de sus ángulos diedros. Si bien el diagrama de Ramachandran es una herramienta útil para predecir la conformación de los residuos de aminoácidos en una proteína, no debe olvidarse que se trata de una mera predicción, y más considerando una estructura tan corta como un tripéptido.