

Simulación mediante dinámica molecular del comportamiento del tripéptido APA



Facultad de Biología

Modelado Molecular
Máster en Bioinformática

Curso 2023/2024
Juan Pedro López Marín

Índice

1	Introducción	2
2	Construcción de la biomolécula y su entorno	2
3	Equilibrado	6
4	Simulación	7
5	Análisis y Comparación de Resultados	8
5.1	Radio de Giro	8
5.2	Distancias de enlace	10
5.2.1	Enlace 1. C=O ALA-2	11
5.2.2	Enlace 2. C=O ALA-4	12
5.3	Ángulos de Enlace	13
5.3.1	Ángulo del Enlace 1. CA-N-CD PRO-3	13
5.3.2	Ángulo del Enlace 2. HD1-CD-HD2 PRO-3	14
5.4	Ángulos Diedros	15
5.4.1	Alanina 2	16
5.4.2	Alanina 4	17
5.5	Temperatura	18
5.6	Velocidades	19
5.6.1	Átomo 15 (C) de ALA-2	20
5.6.2	Átomo 16 (O) de ALA-2	21
5.6.3	Átomo 29 (C) de PRO-3	21
5.6.4	Átomo 39 (C) de ALA-4	22
5.6.5	Átomo 40 (O) de ALA-4	23
5.7	Energía Total y Cinética	24
6	Parte Opcional	25
6.1	Temperatura	26
6.2	Componentes de la Velocidad	26
6.3	Diagramas de Ramachandran	27
6.3.1	Alanina-2	28
6.3.2	Prolina-3	29
6.3.3	Alanina-4	30

1. Introducción

El estudio de las biomoléculas desde un punto de visto atómico es cada vez más relevante para comprender diferentes aspectos de estas, no solo en vista de explicar su funcionamiento, si no también diferentes rasgos estructurales o el por que de algunas interacciones que surgen entre biomoléculas. Uno de los grupos de biomoléculas más relevantes son las proteínas, es por ello que en este trabajo nos enfocaremos en la creación y análisis de una pequeña proteína conformada por tres aminoácidos, Alanina-Prolina-Alanina (APA). Para ello utilizaremos un paquete llamado *Gromacs*, el cual permite llevar a cabo simulaciones y cálculos de dinámica molecular.

Las proteínas consisten en cadenas lineales de aminoácidos, cuya secuencia determina en gran parte tanto su estructura tridimensional como por ende, su función biológica. Mediante técnicas de modelado molecular, podemos simular el comportamiento de estas proteínas en condiciones controladas, lo que nos permite entender mejor algunas de sus propiedades físicas y entender en parte el por qué de algunas de sus interacciones.

El objetivo principal de este trabajo es explorar cómo varía el comportamiento de la proteína en condiciones diferentes. En este caso, se va a estudiar el comportamiento de la proteína a diferentes temperaturas, para ello realizaremos simulaciones a dos temperaturas distintas: 298K (temperatura ambiente) y 400K, lo que nos permitirá observar si la proteína varía su estructura o su dinámica en respuesta a cambios térmicos significativos.

Además, analizaremos diversos parámetros durante las simulaciones, como la distancia de enlace entre algunos átomos, la velocidad de algunos de esos átomos, o incluso los ángulos dihedros adoptados por los diferentes residuos de la biomolécula en ambas situaciones. Estos análisis nos proporcionarán una visión detallada de cómo los aminoácidos interactúan y cómo se comportan los átomos dentro de la proteína en condiciones térmicas variables.

2. Construcción de la biomolécula y su entorno

Para este trabajo vamos a partir desde un fichero '*.pdb*' donde se encuentra recogida la información a nivel atómico de nuestra proteína APA. En dicho fichero se recoge desde el nombre asignado a cada átomo de la molécula, un número indicador para cada átomo, e incluso las coordenadas espaciales de cada átomo en Amstrongs (Figura 1).

Sin embargo, la proteína en estudio esta formada en un principio por 3 aminoácidos, siendo el primero de ellos un residuo de Alanina, pero en la Figura 1 el primer residuo que aparece recibe el nombre de '*ACE*'. La explicación a esto reside en que con el fin de evitar que las unidades más simples de proteínas, es decir, las diferentes moléculas de APA polimerizan entre sí, se añade un grupo acetilo (*ACE*) en el extremo N-terminal y un grupo amida (*NME*) en el extremo C-terminal de la molécula. Este aspecto se ha de tener en cuenta ya que dichos grupos acetilo y amida provocan que el tamaño total de la molécula y la numeración de sus componentes sea ligeramente diferente, y por lo tanto pueden inducir a errores de cálculo durante el análisis si no se tienen en cuenta.

ATOM	1	C	ACE	1	1.048	0.238	-0.245	1.00	0.00	C
ATOM	2	O	ACE	1	1.659	-0.755	-0.662	1.00	0.00	O
ATOM	3	CH3	ACE	1	-0.410	0.146	0.154	1.00	0.00	C
ATOM	4	1HH3	ACE	1	-0.529	-0.569	0.955	1.00	0.00	H
ATOM	5	2HH3	ACE	1	-0.762	1.110	0.490	1.00	0.00	H
ATOM	6	3HH3	ACE	1	-1.005	-0.170	-0.690	1.00	0.00	H
ATOM	7	N	ALA	2	1.662	1.368	-0.150	1.00	0.00	N
ATOM	8	CA	ALA	2	3.068	1.444	-0.538	1.00	0.00	C
ATOM	9	C	ALA	2	3.850	2.297	0.431	1.00	0.00	C
ATOM	10	O	ALA	2	3.428	3.387	0.835	1.00	0.00	O
ATOM	11	CB	ALA	2	3.126	1.974	-1.980	1.00	0.00	C

Figura 1: Fichero *apa.pdb*

Dicha biomolécula se puede observar gráficamente mediante el empleo de una herramienta gráfica llamada PyMOL. Dicha herramienta permite visualizar ficheros '*pdb*' de manera que se puede ver la estructura de nuestra proteína en estudio junto con los grupos acetilo y amida anteriormente mencionados (Figura 2).

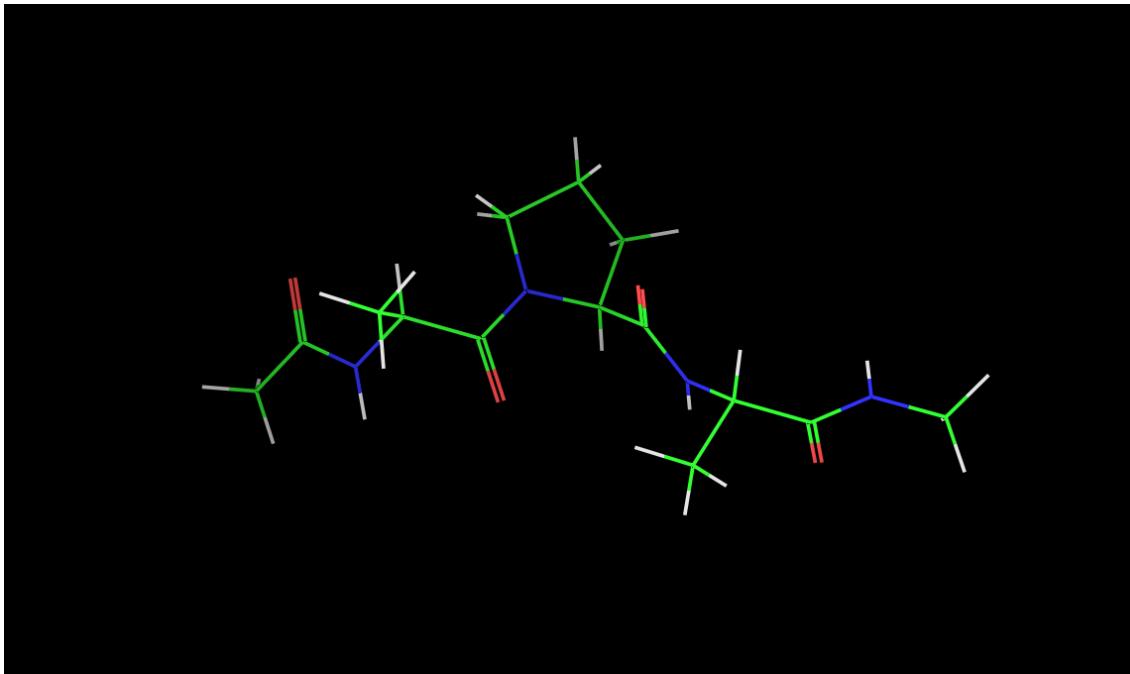


Figura 2: Biomolécula APA

El siguiente paso consiste en crear la **topología** de nuestra biomolécula. Para ello, lo único que hay que hacer es indicarle a Gromacs una serie de parámetros, como el *Campo de Fuerzas* o *Force Fields* (FF) queremos utilizar, el "Modelo de Agua" que vamos a emplear, o también aspectos referentes a los grupos acetilo y amida presentes en los extremos de la molécula.

Existen multitud de campos de fuerzas diferentes los cuales se pueden utilizar, en nuestro caso vamos a utilizar '*CHARMM27*'. Por otro lado, el modelo de agua que utilizamos para este experimento es '*TIP3P*' (Figura 3).

Esta topología concreta creada para nuestra molécula se guarda en un documento llamado *apa.gro*. Dicho fichero tiene una estructura muy similar al fichero *apa.pdb*, con la diferencia de que adopta un formato propio de Gromacs. Además, también nos genera un fichero llamado *apa.top* donde se almacenan todos los datos necesarios para que más adelante Gromacs sea capaz de crear la energía potencial de superficie

dado el campo de fuerzas que le hemos indicado.

```
gmx pdb2gmx -f apa.pdb -o apa.gro -p apa.top -ter
```

```
Select the Force Field:
PDB: '/usr/local/gromacs/share/gromacs/top':
1: AMBER03 protein, nucleic AMBER04 (Duan et al., J. Comp. Chem. 24, 1999-2012,
2003)
2: AMBER04 force field (Cornell et al., JACS 117, 5179-5197, 1995)
3: AMBER96 protein, nucleic AMBER04 (Kollman et al., Acc. Chem. Res. 29, 461-46
9, 1996)
4: AMBER99 protein, nucleic AMBER04 (Wang et al., J. Comp. Chem. 21, 1049-1074,
2000)
5: AMBER99SB protein, nucleic AMBER04 (Hornak et al., Proteins 65, 712-725, 200
6)
6: AMBER99SB TL0N protein, nucleic AMBER04 (Lindorff-Larsen et al., Proteins 78
, 1950-1958, 2010)
7: AMBERGS force field (Garcia & Sanbonmatsu, PNAS 99, 2782-2787, 2002)
8: CHARMM27 force field (CHARMM22 plus CMAP for proteins)
9: GROMOS59 43a2 force field
10: GROMOS59 43a2 force field (improved alkane dihedrals)
11: GROMOS59 45a3 force field (Schuler JCC 2001 22 1285)
12: GROMOS59 53a6 force field (JCC 2004 vol 25 pag 1659)
13: GROMOS59 53a6 force field (JCC 2004 vol 25 pag 1656)
14: GROMOS59 54a7 force field (Eur. Biophys. J. (2011), 40,, 843-856, DOI: 10.10
07/s00493-011-0910-9)
15: OPLS-AA/E all atom force field (2001 aminoacid dihedrals)
8

Using the Charmm27 force field in directory charmm27.ff
Opening force field file /usr/local/gromacs/share/gromacs/top/charmm27.ff/water
models.dat
```

(a) Selección del Campo de Fuerzas

```
Select the Water Model:
1: TIP3P   TIP 3-point, recommended
2: TIP4P   TIP 4-point
3: TIP3P CHARMM TIP 3-point with LJ on H's (note: twice as slow in GROMACS)
4: TIP5P   TIP 5-point (see http://redmine.gromacs.org/issues/1348 for issues)
5: SPC     simple point charge
6: SPC/E   extended simple point charge
7: None

Opening force field file /usr/local/gromacs/share/gromacs/top/charmm27.ff/amino
cids.r2b
Opening force field file /usr/local/gromacs/share/gromacs/top/charmm27.ff/rna.r2
b
Reading apa.pdb...
Read 46 atoms
Analyzing pdb file
Splitting chemical chains based on TER records or chain id changing.
There are 1 chains and 0 blocks of water and 5 residues with 46 atoms

chain #res #atoms
1   '      5    46
```

(b) Selección del Modelo de Agua

Figura 3: Parámetros de la topología.

Lo siguiente sería definir las **Condiciones Periódicas de Contorno**. En este caso no vamos a entrar a definir de forma exhaustiva en que consisten dichas condiciones, simplemente mencionar de forma resumida que se trata de definir un espacio tridimensional, en este caso una especie de 'caja', donde tanto nuestra biomolécula como las moléculas de solvente (agua en este caso) van a estar situadas. Una vez definida dicha caja, se divide el espacio en su totalidad en repeticiones de esta misma caja, cada una con su correspondiente biomolécula y moléculas de solvente. La idea es que todos los movimientos que ocurren en la caja central del espacio, se repiten de forma idéntica a lo largo de todas las cajas que hay en nuestro espacio,

En nuestro caso, se crea una caja tridimensional donde cada una de las aristas tiene una longitud de 3 nanómetros (Figura 4). Además, también se ha de seleccionar el solvente en el cual va a estar disuelto nuestra biomolécula. En este caso se ha optado por utilizar moléculas de agua (Figura 5).

```
gmx editconf -f apa.gro -o apa-box.gro -bt cubic
```

```
Read 46 atoms
Volume: 0.753362 nm^3, corresponds to roughly 300 electrons
No velocities found
  system size :  1.169  1.008  0.639 (nm)
  diameter    :  1.475                  (nm)
  center      :  0.516  0.331  0.082 (nm)
  box vectors :  1.169  1.008  0.639 (nm)
  box angles  :  90.00  90.00  90.00 (degrees)
  box volume  :  0.75                  (nm^3)
  shift       :  0.984  1.169  1.418 (nm)
  new center   :  1.500  1.500  1.500 (nm)
  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)
```

Figura 4: Selección Condiciones Periódicas de Contorno

```
gmx solvate -cp apa-box.gro -cs -o apa-box-solv.gro -p apa.top
```

```
Generating solvent configuration
Will generate new solvent configuration of 2x2x2 boxes
Solvent box contains 3618 atoms in 1206 residues
Removed 966 solvent atoms due to solvent-solvent overlap
Removed 48 solvent atoms due to solute-solvent overlap
Sorting configuration
Found 1 molecule type:
    SOL ( 3 atoms): 868 residues
Generated solvent containing 2604 atoms in 868 residues
Writing generated configuration to apa-box-solv.gro

Output configuration contains 2650 atoms in 873 residues
Volume : 27 (nm^3)
Density : 982.172 (g/l)
Number of SOL molecules: 868

Processing topology
Adding line for 868 solvent molecules to topology file (apa.top)
```

Figura 5: Selección del Modelo de Agua

Finalmente, se obtiene un fichero llamado *apa-box-solv.gro* el cual es muy similar al fichero *apa.pdb* inicial, solo que en este caso se han añadido todas las moléculas de agua y sus correspondientes átomos, por lo que el contenido del fichero en este caso es mucho mayor. Si se convierte el fichero a formato '*.pdb*', se puede visualizar la biomolécula junto con las moléculas de agua con PyMOL (Figura 6).

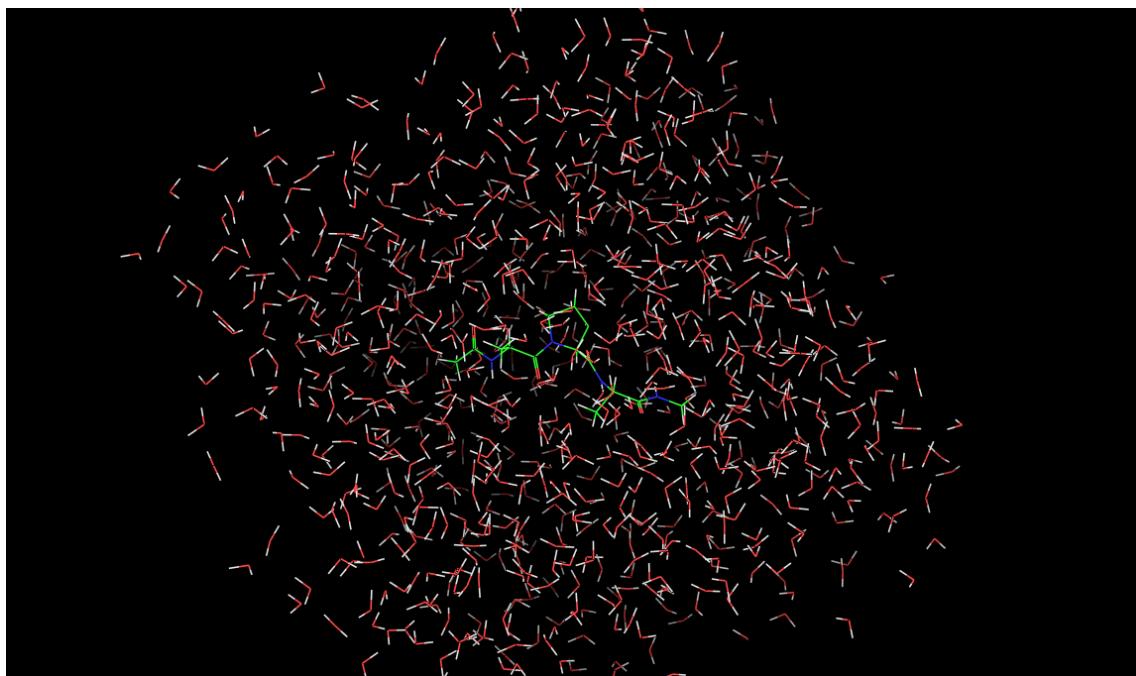


Figura 6: Proteína APA junto con moléculas de agua

3. Equilibrado

Una vez se ha creado la topología correspondiente a nuestra biomolécula y las condiciones que hemos elegido, a la vez que el documento que reúne la información con nuestra proteína y todas las moléculas de agua, el siguiente paso es llevar a cabo una etapa de **equilibrado** que servirá como paso previo a la simulación final. Dicho proceso de equilibrado tiene como objetivo, por un lado permitir que los átomos del sistema se estabilicen dentro de las condiciones termodinámicas las cuáles hayamos establecido; y, por otro lado, también sirve para generar unas velocidades iniciales aleatorias para todos los átomos del sistema, de manera que cuando realicemos la simulación, todas las partículas del sistema tendrán un valor de velocidad inicial acorde al contexto termodinámico que estemos empleando.

Para llevar a cabo dicho equilibrado, hay que definir las mencionadas condiciones termodinámicas en las cuáles va a estar nuestro sistema. Para ello se utiliza un fichero (*equiNVTmdp*) donde se establecen diferentes aspectos como: Tiempo de equilibrado, temperatura de referencia del sistema, intervalo de tiempo entre guardado y guardado de datos, etc... (Figura 7). En este ejercicio, se va a comparar el comportamiento de la molécula a 298K y 400K, por lo que tendremos que llevar a cabo 2 equilibrados diferentes, estableciendo en cada caso una temperatura de referencia diferente (Figura 8). Destacar que en este caso, el tiempo de equilibrado utilizado ha sido de 400 ps (nsteps = 800000), este aspecto es importante ya que para que el sistema se adecue correctamente a la temperatura establecida como referencia, es necesario realizar un equilibrado de al menos 100 ps.

```
; equiNVTmdp

; RUN CONTROL PARAMETERS
integrator      = md      ; leap-frog integrator
dt              = 0.0005 ; 0.5 fs
nsteps          = 800000 ; 20 ps
define          = -DFLEXIBLE -DCHARMM_TIP3P
constraints     = none
comm-mode       = Linear ; mode for center of mass motion removal
nstcomm         = 1000   ; number of steps for center of mass motion removal

; OUTPUT CONTROL OPTIONS
nstxout         = 4000   ; Save coordinates every 0.1 ps
nstvout         = 4000   ; Save velocities every 0.1 ps
nstfout         = 0       ; Save forces
nstlog          = 4000   ; Update log every 0.1 ps
nstenergy       = 4000   ; Save energies every 0.1 ps
nstcalcenergy   = 4000
```

Figura 7: Fichero *equiNVTmdp*

ref_t = 298 **ref_t = 400**

(a) Equilibrado a 298K

(b) Equilibrado a 400K

Figura 8: Temperaturas de equilibrado

Sin embargo, antes de llevar a cabo el proceso de equilibrado, se comprueba que la molécula no tiene carga neutra, es decir, que no presenta una carga total ni positiva ni negativa, para ello se utiliza otra vez un comando específico de Gromacs.

```
gmx grompp -f equiNVT.mdp -c apa-box-solv.gro -p apa.top -
o apa.tpr
```

```
Command line:
gmx grompp -f equiNVT.mdp -c apa-box-solv.gro -p apa.top -o apa.tpr

Setting the LD random seed to -1881305043
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'
Velocities were taken from a Maxwell distribution at 298 K
Removing all charge groups because cutoff-scheme=Verlet
Analysing residue names:
There are: 5 Protein residues
There are: 868 Water residues
Analysing Protein...
Number of degrees of freedom in T-Coupling group System is 7947.00
Determining Verlet buffer for a tolerance of 0.005 kJ/mol/ps at 298 K
Calculated rlist for 1x1 atom pair-list as 1.106 nm, buffer size 0.006 nm
Set rlist, assuming 4x4 atom pair-list, to 1.100 nm, buffer size 0.000 nm
Note that mdrun will redetermine rlist based on the actual pair-list setup
Calculating fourier grid dimensions for X Y Z
Using a fourier grid of 25x25x25, spacing 0.120 0.120 0.120
Estimate for the relative computational load of the PME mesh part: 0.19
This run will generate roughly 13 Mb of data
```

Figura 9: Comprobación de la carga de la biomolécula

En este caso, la molécula no parece presentar cargas positivas o negativas, por lo que no es necesario llevar a cabo ningún tipo de neutralización. Ahora sí, se puede ejecutar el proceso de equilibrado con las condiciones establecidas.

Una vez finaliza dicho proceso, se generan principalmente 2 nuevos ficheros con información referente a nuestro sistema:

- **apa.g96**: Fichero donde se ha almacenado tanto la posición como las velocidades de cada átomo a lo largo de la simulación
- **apa.log**: Fichero con información adicional acerca del sistema

4. Simulación

Una vez hemos equilibrado nuestro sistema para unas condiciones concretas, y hemos generado las velocidades iniciales para todos los átomos, podemos llevar a cabo una simulación de nuestro sistema con el fin de estudiar diferentes aspectos acerca de nuestra biomolécula. Para ello, de forma similar a cuando hemos realizado el equilibrado, vamos a utilizar un fichero llamado *runNVT.mdp* donde se establecen algunos de los parámetros de la simulación como el número de pasos, es decir, el tiempo de la simulación; cada cuanto tiempo se guarda información, la temperatura de referencia, o que por ejemplo no queremos que se generen velocidades iniciales ya que ya las hemos generado en el proceso de equilibrado (Figura 10).

Un aspecto a destacar dentro de los parámetros establecidos, es que el intervalo de tiempo entre cada guardado de información es de 0.5 fs, lo cuál es un intervalo muy pequeño. El por qué de utilizar un intervalo de guardado tan pequeño es para poder capturar correctamente el comportamiento de los átomos más pequeños del sistema y cuyo comportamiento varía completamente en cuestión de femtosegundos, estamos hablando de los átomos de hidrógeno. Para poder calcular correctamente

el comportamiento de los átomos de hidrógeno, es necesario utilizar una escala de tiempo tan pequeña como la mencionada anteriormente.

También destacar el hecho de que en este fichero se indica la temperatura de referencia, por lo que tendremos que llevar a cabo 2 procesos de simulación diferentes con ficheros *runVMT.mdp* diferentes, uno para cada temperatura.

```
; runNVT.mdp

; RUN CONTROL PARAMETERS
integrator      = md      ; leap-frog integrator
dt              = 0.0005 ; 0.5 fs
nsteps          = 4000   ; 2 ps
define          = -DFLEXIBLE -DCHARMM_TIP3P
constraints     = none
comm-mode       = Linear ; mode for center of mass motion removal
nstcomm         = 1000   ; number of steps for center of mass motion removal
```

Figura 10: Parámetros de la simulación final

Para realizar finalmente la simulación, primer ejecutamos un comando de Gromacs, y seguidamente llevamos a cabo la simulación. Para dicha simulación, se utiliza tanto el fichero *apa.g96* donde estaba almacenada información acerca de las posiciones y velocidades iniciales de los átomos; como el fichero *apa.top* donde esta almacenada la topología de nuestro sistema.

```
gmx grompp -f runNVT.mdp -c apa.g96 -p apa.top -o apa.tpr
```

El resultado de la simulación se almacena en 2 nuevos ficheros:

- **apa.trr**: Fichero donde se guarda información sobre la posición y la velocidad de los átomos a lo largo de la simulación
- **apa.tpr**: Fichero donde se guarda información relacionada con la topología y parámetros globales relacionados con la biomolécula.

5. Análisis y Comparación de Resultados

Finalmente, ya con los datos de la simulación final obtenidos, se pueden calcular y analizar diferentes parámetros físico-químicos a nivel de molécula, residuo, e incluso átomo. A continuación, vamos a comentar los diferentes aspectos que se van a analizar y que elementos se van a utilizar para llevar a cabo dicho análisis.

5.1. Radio de Giro

El radio de giro de una biomolécula sirve como medida de la extensión tridimensional en el espacio de dicha biomolécula. Generalmente, radios de giros muy grandes suelen ir asociados con estructuras tipo láminas beta, mientras que valores de radio de giro más pequeños suele asociarse a estructuras tridimensionales más compactas, como puede ser un glóbulo. Para obtener dicha medida se utiliza la función *gyrate* de Gromacs.

```
gmx gyrate -f apa.trr -s apa.tpr -xvg none
```

Dicha función da como salida un fichero llamado *gyrate.xvg* donde se almacena la información del radio de giro. Si se comparan los resultados obtenidos tanto a 298K como a 400K se obtiene lo siguiente:



Figura 11: Comparación del Radio de Giro a 298K y 400K

Temperatura	Media (nm)	Desviación (nm)
298K	0.38813	0.00779
400K	0.3895	0.00848

Cuadro 1: Radio de Giro

En la comparación de ambos radios de giro en diferentes condiciones se aprecia como ambos radios de giro mas o menos se mantienen en una escala similar, entorno a un valor de 0.4 aproximadamente. En ambos casos dicho valor de radio oscila entorno a un valor medio, lo que hace indicar que la biomolécula se encuentra en movimiento.

En principio una mayor temperatura podría entenderse como una situación favorable para que los átomos de la biomolécula aumentasen su movilidad o su flexibilidad, y por ende aumentase el radio de giro de la biomolécula; esto es de hecho lo que parece ocurrir en este caso, ya que el radio de giro a 400K parece ser ligeramente superior al radio de giro a 298K en ciertos momentos. Puede que el hecho de llevar a cabo una simulación tan corta como en este caso (2 ps) no permita apreciar del todo bien el comportamiento del radio en ambas situaciones. De todas maneras, el hecho de que la biomolécula en algunos momentos presente un mayor radio de giro a 400K que a 298K, indica que en ocasiones la proteína adopta conformaciones tridimensionales

más extendidas a 400K, mientras que a 298K se adopta una conformación algo más compacta.

5.2. Distancias de enlace

Otro aspecto que se puede medir es la *distancia de enlace* entre dos átomos cualesquiera los cuales estén enlazados entre sí. Teniendo en cuenta que dichos enlaces se comportan como osciladores armónicos, podemos medir la distancia de un enlace a 2 temperaturas diferentes y comparar su comportamiento. Para este ejercicio en concreto se ha decidido analizar la distancia de los siguientes enlaces:

- Enlace Carbonilo de la Alanina-2 (C=O ALA-2)
- Enlace Carbonilo de la Alanina-4 (C=O ALA-4)

Se ha decidido comparar dos enlaces los cuales son muy similares a priori con el fin de comprobar si el comportamiento de ambos es idéntico o no. En principio se trata del mismo tipo de enlace en el mismo tipo de residuo, pero se quiere comprobar si bien debido a la interacción con otros átomos o a la conformación de la biomolécula ambos enlaces presentan comportamientos diferentes.

Para llevar a cabo dicho análisis, primero definimos en un fichero adicional llamado *distancia1.ndx* con los enlaces cuyo comportamiento queremos medir, indicando el tipo y número de cada átomo.

Enlace	Átomos	Residuo
Enlace 1	C(15)=O(16)	ALA-2
Enlace 2	C(39)=O(40)	ALA-4

Cuadro 2: Enlaces a medir su distancia

Una vez se tiene dicho fichero, se calcula la distancia para cada enlace tanto a 298K como a 400K. Para ello se utiliza la función *distance* de Gromacs. Se ejecuta dos veces en para cada temperatura para poder obtener las medidas de los dos enlaces seleccionados.

```
gmx distance -f apa.trr -s apa.tpr -n distancia1.ndx -oall
dist1 -xvg none
gmx distance -f apa.trr -s apa.tpr -n distancia1.ndx -oall
dist2 -xvg none
```

Ya obtenidos los ficheros *dist1.xvg* y *dist2.xvg* para ambas temperaturas, se puede comparar el comportamiento de ambos enlaces a diferentes temperaturas.

5.2.1. Enlace 1. C=O ALA-2

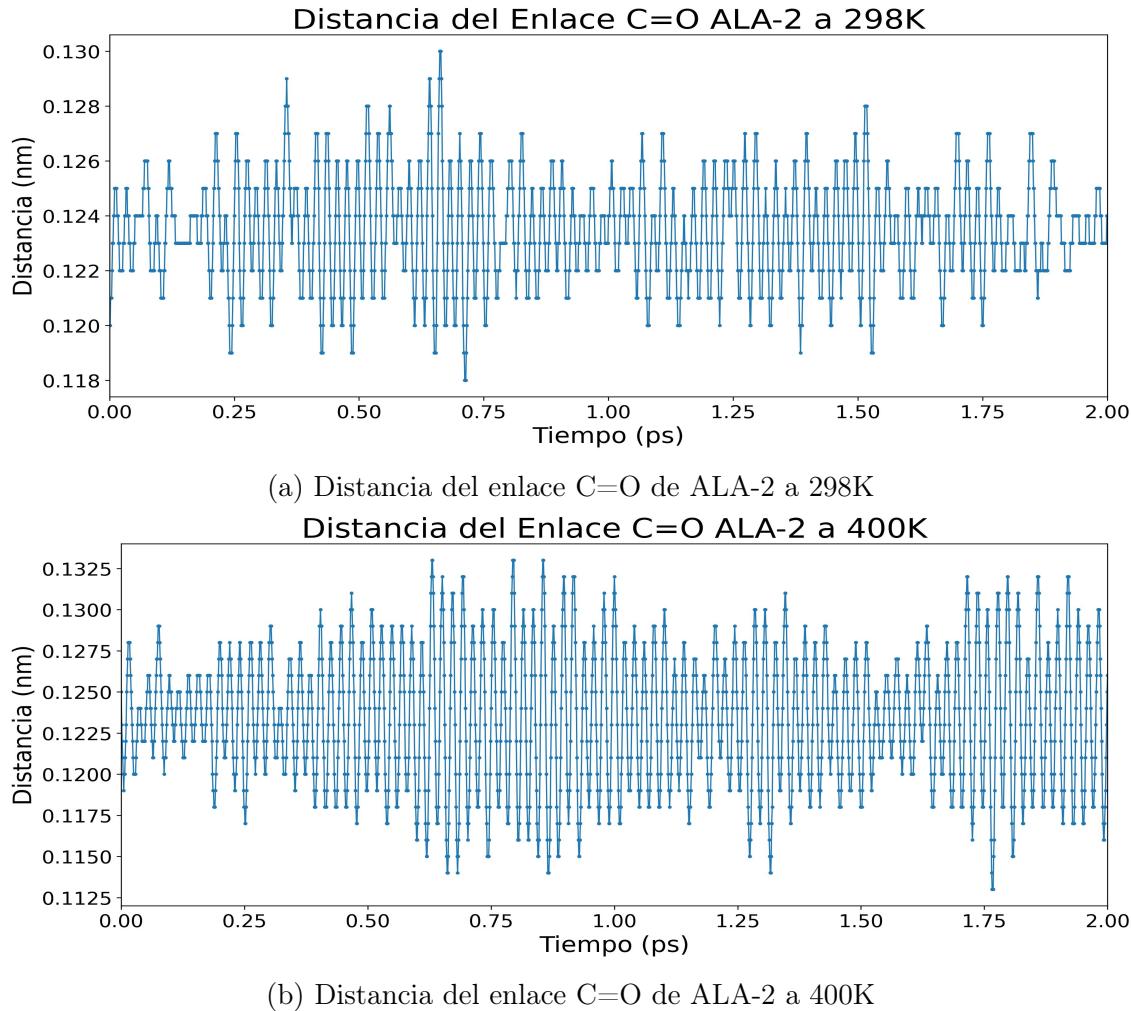


Figura 12: Distancia del Enlace C=O de ALA-2 a 298K y 400K

En el caso del primer enlace, es decir, el grupo carbonilo de la Alanina 2, al representar la distancia de enlace con respecto al tiempo se ve claramente como la distancia de dicho enlace a 298K oscila de manera mas pausada que a 400K, es decir, la frecuencia de oscilación del enlace a 400K parece ser mayor que a 298K (Figura 12). Si además de gráficamente, también comparamos su comportamiento de forma numérica, vemos como la distancia de enlace en promedio a diferentes temperaturas es muy similar (Tabla 3). Destacar también el hecho de que a mayor temperatura, mayores son los valores máximos y mínimos de distancia alcanzados por los dos átomos.

Temperatura	Media (nm)	Desviación (nm)
298K	0.12347	0.00189
400K	0.12340	0.00411

Cuadro 3: Distancia del Enlace 1

5.2.2. Enlace 2. C=O ALA-4

Para el segundo enlace, es decir, el grupo carbonilo de la Alanina 4, parece ser que la distancia de dicho enlace a 298K oscila a mayor velocidad que a 400K, es decir, la frecuencia de oscilación del enlace a 400K es menor que a 298K (Figura 13). Numéricamente se ve como al igual que antes, el valor promedio es muy similar (Tabla 4).

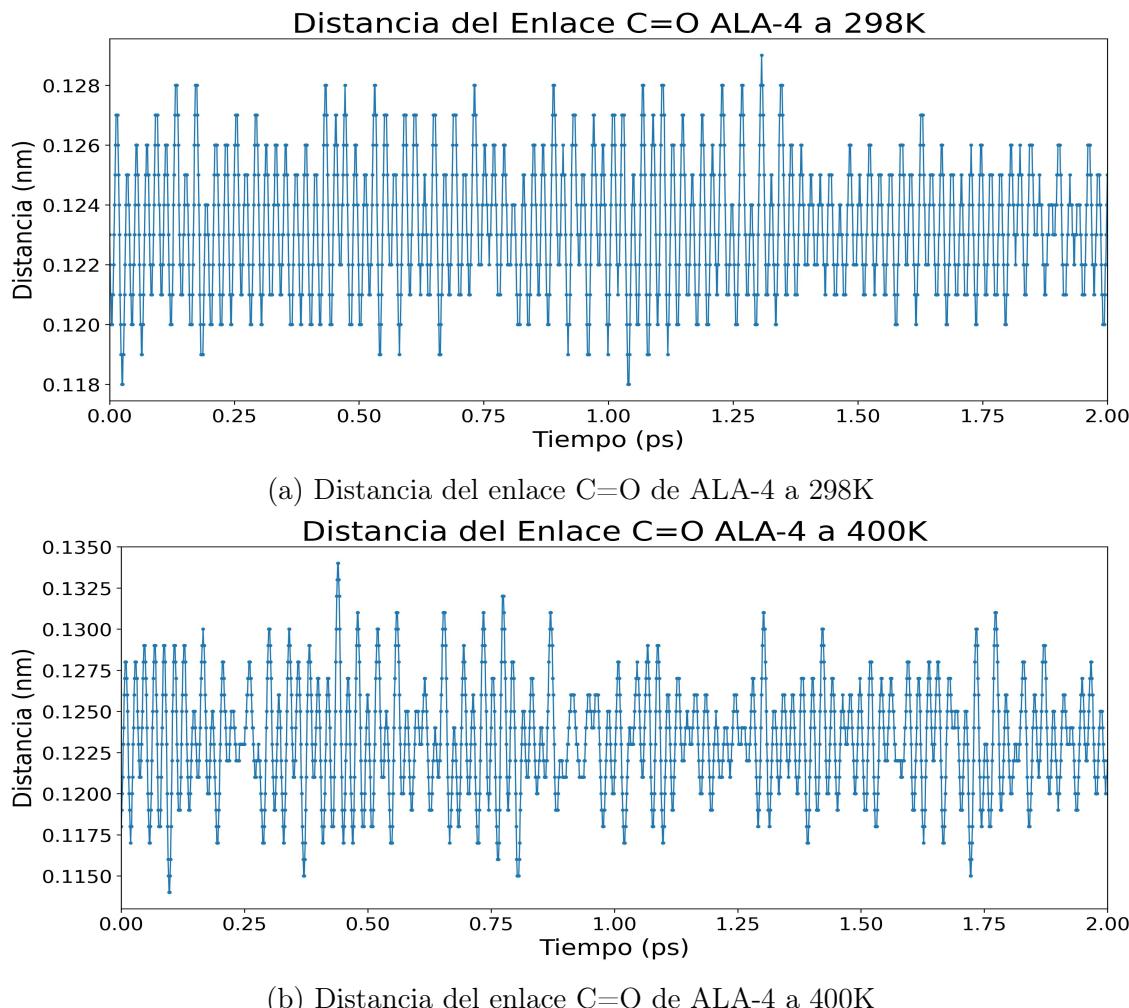


Figura 13: Distancia del Enlace C=O de ALA-4 a 298K y 400K

Temperatura	Media (nm)	Desviación (nm)
298K	0.12332	0.00213
400K	0.12324	0.00330

Cuadro 4: Distancia del Enlace 2

A priori lo normal sería que la frecuencia de oscilación aumentase conforme aumenta la temperatura, sin embargo en este caso ocurre lo contrario. Quizás esto se deba a que el cambio de temperatura provoca cambios conformacionales en la molécula, y esto tiene como consecuencia una limitación en el movimiento de este enlace en

concreto, aunque únicamente con estos datos no se puede tomar ninguna conclusión firme.

5.3. Ángulos de Enlace

Los ángulos de enlace permiten medir y estudiar el ángulo formado por 3 átomos diferentes. En este caso las 2 combinaciones de átomos escogidos para someter a análisis han sido:

- **Enlace 1. CA-N-CD de la Prolina-3**
- **Enlace 2. HD1-CD-HD2 de la Prolina-3**

El por qué de elegir estas combinaciones en concreto es para comprobar como el enlace 1 presenta una menor oscilación en su ángulo con respecto al enlace 2, ya que el enlace 2, al estar compuesto por un carbono y dos átomos de hidrógeno únicamente enlazados a dicho carbono, debería presentar una oscilación en su ángulo mayor que el ángulo formado por los átomos del enlace 1. Además, también se podrá contrastar el efecto de la temperatura en cada uno de los casos.

Para calcular este ángulo, se utiliza la función *angle* de Gromacs, y se generan 4 ficheros distintos; un fichero por cada enlace a ambas temperaturas. Al igual que en el cálculo de las distancias entre átomos, se utiliza un fichero extra (*distancia2.ndx*) donde se indica tanto el tipo como el número de los átomos que forman cada uno de los enlaces.

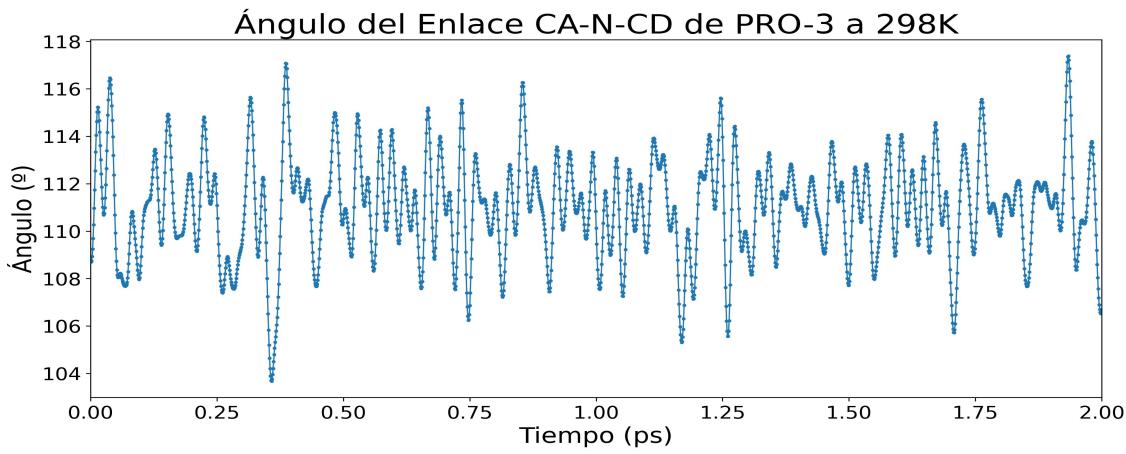
```
gmx angle -f apa.trr -n distancia2.ndx -ov ang1 -xvg none
gmx angle -f apa.trr -n distancia2.ndx -ov ang2 -xvg none
```

5.3.1. Ángulo del Enlace 1. CA-N-CD PRO-3

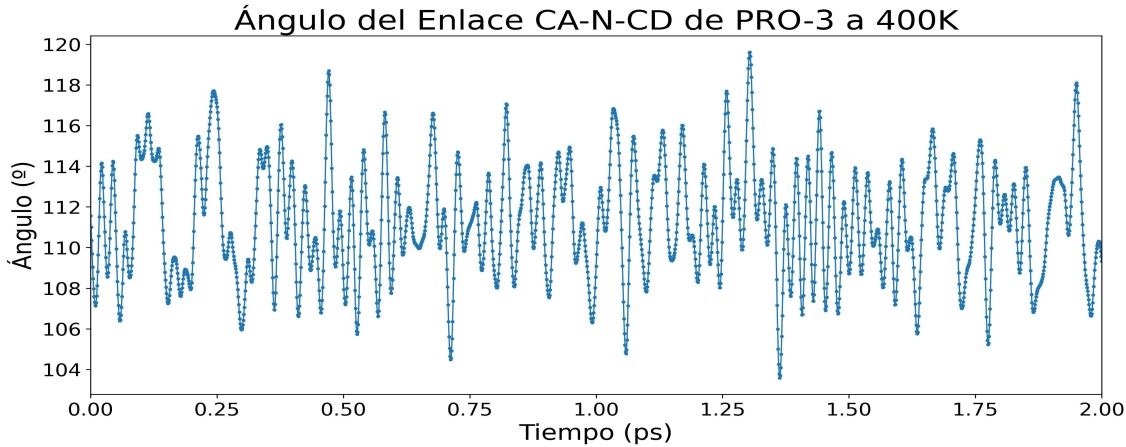
En el caso del primer enlace, la oscilación en el ángulo formado por los 3 átomos de este enlace no parece presentar una frecuencia muy elevada en comparación con la frecuencia mostrada por las distancias de enlace entre parejas de átomos (Figura 14). Siendo la temperatura de referencia 400K (Figura 14b), las oscilaciones parecen mostrar una amplitud ligeramente menor y una mayor frecuencia, aunque no es muy clara la diferencia entre una temperatura y otra. Lo que si parece ser bastante similar es el ángulo promedio para ambas temperaturas (Tabla 5).

Temperatura	Media (º)	Desviación (º)
298K	111.012	2.12378
400K	111.287	2.76843

Cuadro 5: Ángulo del Enlace 1



(a) Ángulo del enlace CA-N-CD de PRO-3 a 298K



(b) Ángulo del enlace CA-N-CD de PRO-3 a 400K

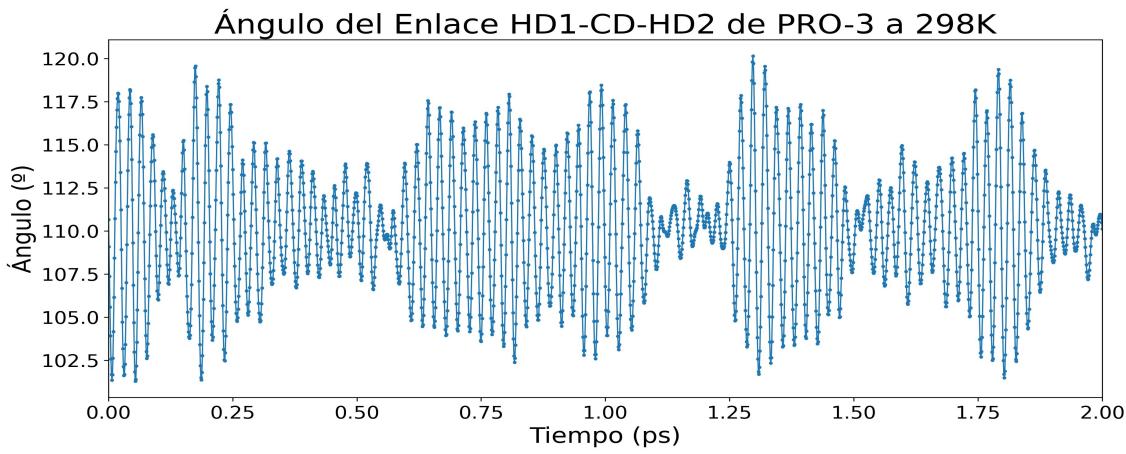
Figura 14: Ángulo del Enlace CA-N-CD de PRO-3 a 298K y 400K

5.3.2. Ángulo del Enlace 2. HD1-CD-HD2 PRO-3

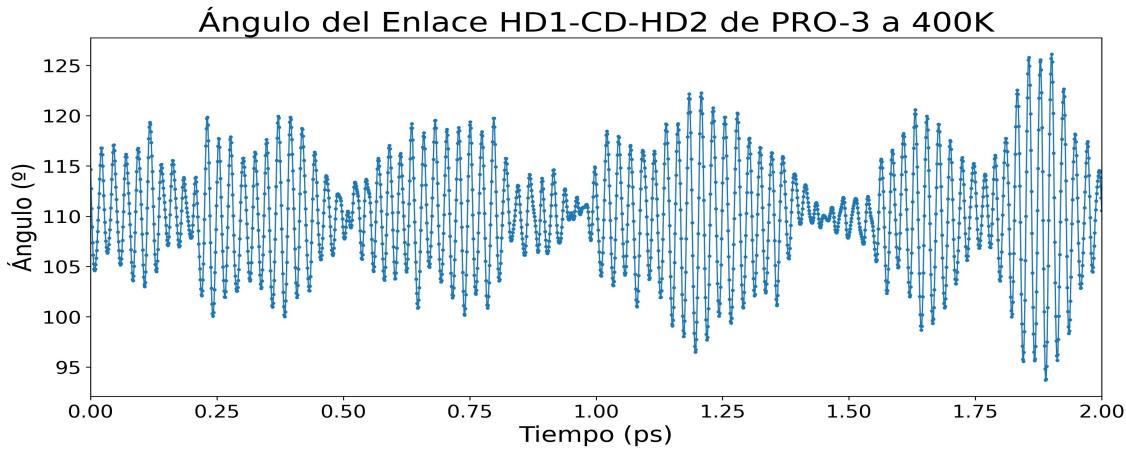
En el caso del segundo enlace, la oscilación en este caso presenta una frecuencia bastante mayor que en el caso del enlace 1 (Figura 15), tal y como se había previsto. Cuando se simula a 400K (Figura 15b) las oscilaciones parecen mostrar una frecuencia similar, aunque no es muy clara la diferencia entre una temperatura y otra. En este caso vuelve a ser bastante similar el ángulo promedio para ambas temperaturas, sin embargo, la desviación es mayor a 400K, lo que indica que la amplitud de las oscilaciones es mayor a esta temperatura (Tabla 6).

Temperatura	Media ($^{\circ}$)	Desviación ($^{\circ}$)
298K	110.148	3.83682
400K	110.068	5.38248

Cuadro 6: Ángulo del Enlace 2



(a) Ángulo del enlace HD1-CD-HD2 de PRO-3 a 298K



(b) Ángulo del enlace HD1-CD-HD2 de PRO-3 a 400K

Figura 15: Ángulo del Enlace HD1-CD-HD2 de PRO-3 a 298K y 400K

En definitiva, se puede ver como el enlace formado por los átomos CA-N-CD presenta una frecuencia de oscilación mucho menor que el ángulo formado por los átomos HD1-CD-HD2. Además, el principal efecto de la temperatura sobre estos ángulos parece estar en la amplitud, obteniéndose una mayor amplitud de onda cuanto mayor es la temperatura. Esto se puede comprobar al comparar la desviación del ángulo para cada enlace a 298K y a 400K.

5.4. Ángulos Diedros

Los ángulos diedros son ángulos definidos por la rotación alrededor de los enlaces en una cadena peptídica, y los cuales son cruciales en la determinación de la conformación tridimensional de la proteína. En este caso, se van a estudiar principalmente los ángulos **phi** (Φ) y **psi** (Ψ) de los residuos de Alanina 2 y 4. Para ello, emplearemos la función *rama* de Gromacs. Dicha función genera un fichero *rama.xvg* con diferentes datos, entre los cuáles se encuentran tanto el ángulo phi como el ángulo psi para cada uno de los residuos de nuestra biomolécula. Por ello, para poder analizar dichos ángulos, se ha extraer la información correspondiente a los residuos que nos interesan y almacenarla en nuevos ficheros, para ello utilizamos una tubería de comandos en bash.

```

gmx rama -f apa.trr -s apa.tpr -xvg none
grep ALA-2 rama.xvg | awk '{print $2}' | cat -n > phi-ala
-2.dat
grep ALA-2 rama.xvg | awk '{print $2}' | cat -n > psi-ala
-2.dat
grep ALA-4 rama.xvg | awk '{print $1}' | cat -n > phi-ala
-4.dat
grep ALA-4 rama.xvg | awk '{print $2}' | cat -n > psi-ala
-4.dat
join phi-ala-2.dat psi-ala-2.dat > ala-2.dat
join phi-ala-4.dat psi-ala-4.dat > ala-4.dat

```

5.4.1. Alanina 2

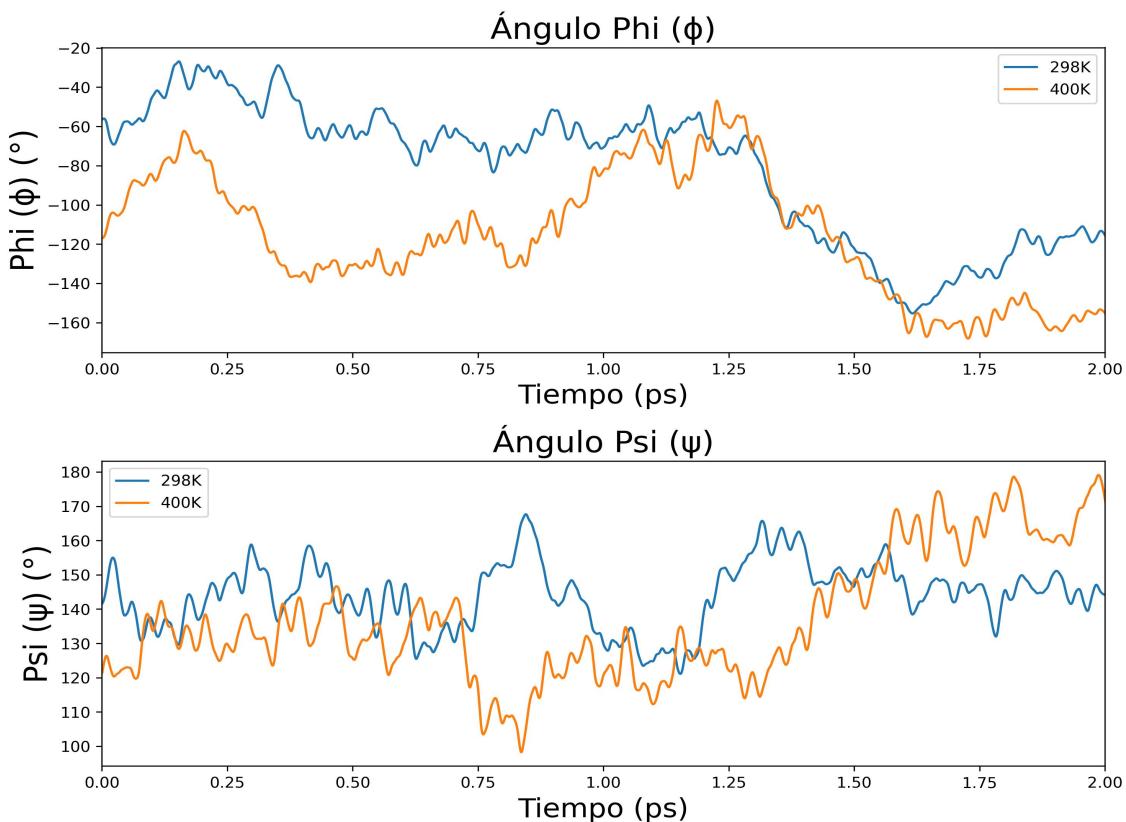


Figura 16: Comparación del Ángulos Phi y Psi de ALA-2 a 298K y 400K

Comparando los valores a diferentes temperaturas, se ve como el ángulo *phi* si que parece variar más sus valores según si la temperatura es una u otra. En el caso del ángulo *psi* los valores parecen ser más o menos similares salvo en momentos muy concretos. Sin embargo, la mejor manera de analizar dichos ángulos es haciéndolo de manera conjunta, representando cada uno de ellos en un eje, de esta manera se pueden estudiar las diferentes combinaciones de ángulos que presenta un residuo determinado, es decir, las posibles conformaciones que puede adoptar dicho residuo a lo largo de toda la simulación.

En el caso de la Alanina 2, aunque ambos ángulos se mantienen en una escala similar tanto a 298K como a 400K, si está claro que las combinaciones de ambos difieren

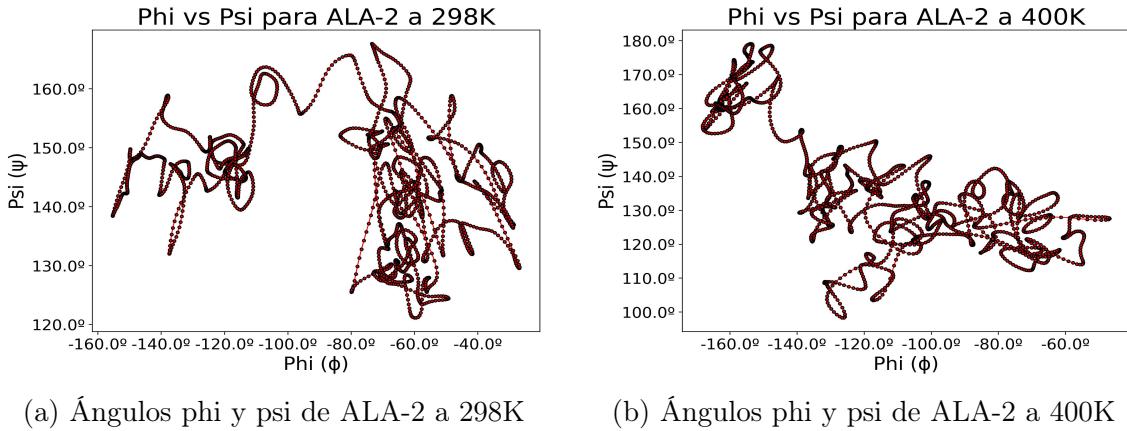


Figura 17: Ángulos phi y psi de ALA-2 a 298K y 400K

de una temperatura a otra. Esto significa que al cambiar la temperatura el residuo adopta conformaciones diferentes.

5.4.2. Alanina 4

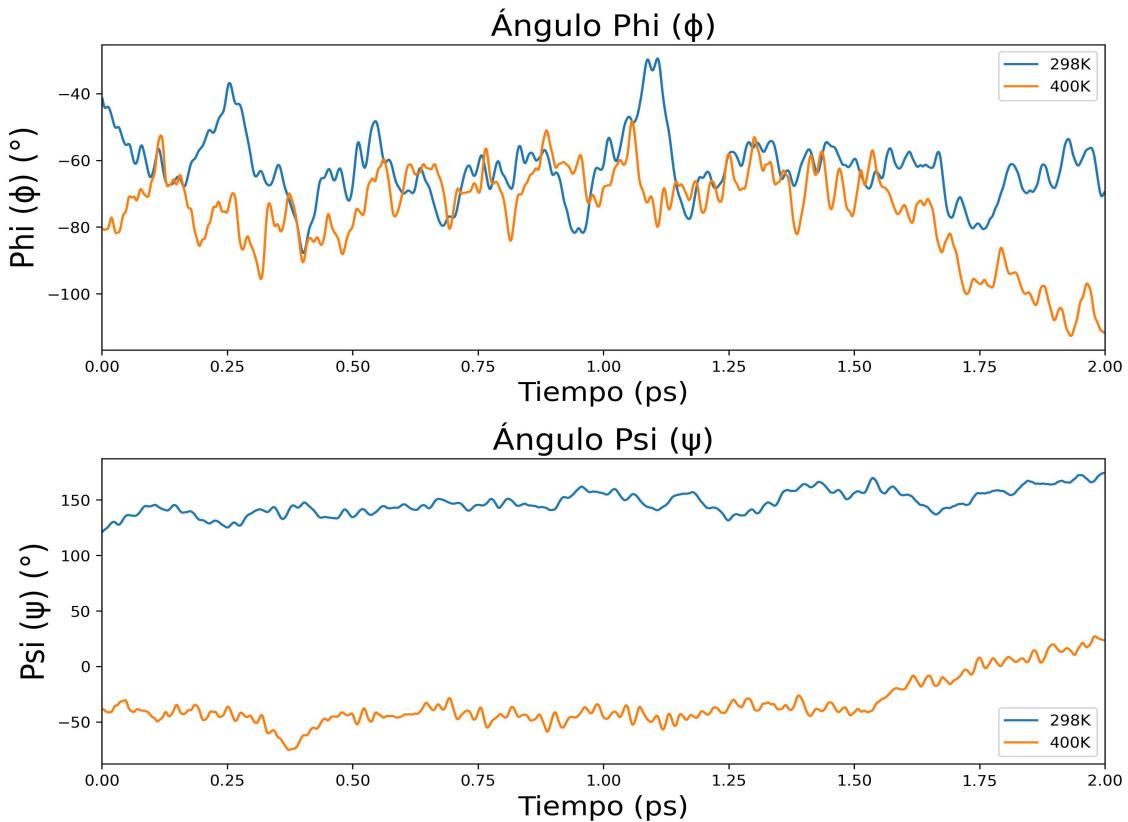
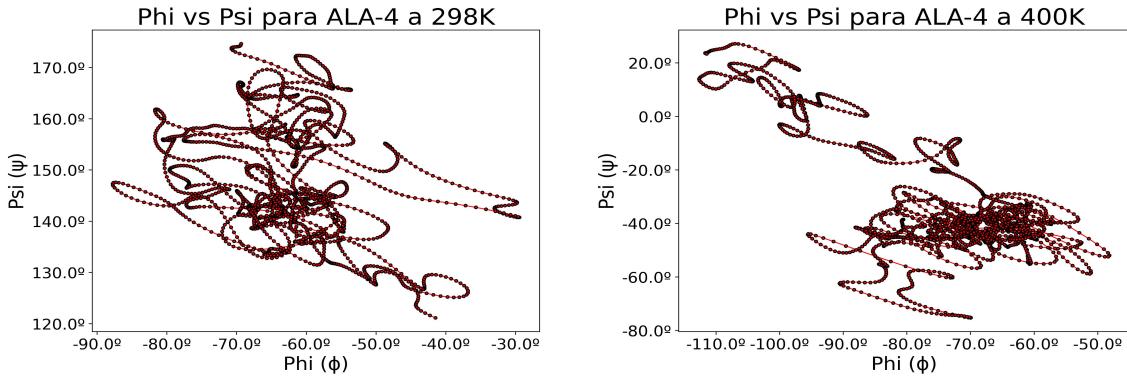


Figura 18: Comparación del Ángulos Phi y Psi de ALA-4 a 298K y 400K

En el caso del residuo de Alanina-4, el valor del ángulo *phi* oscila bastante entre $[-100^\circ, -40^\circ]$ tanto a 298K como a 400K, lo que hace creer que dicho ángulo si será capaz de rotar bastante (Figura 19a). Sin embargo, si se observa el ángulo *psi* se ve claramente como en ambas situaciones el valor de dicho ángulo permanece prácticamente constante (Figura 19b). Esto puede indicar que dicho ángulo apenas va a presentar movimientos de torsión y que, por lo tanto, gran parte de cualquier



(a) Ángulos phi de Ala-4 a 298K

(b) Ángulo psi de Ala-4 a 400K

Figura 19: Ángulos phi y psi de Ala-4 a 298K y 400K

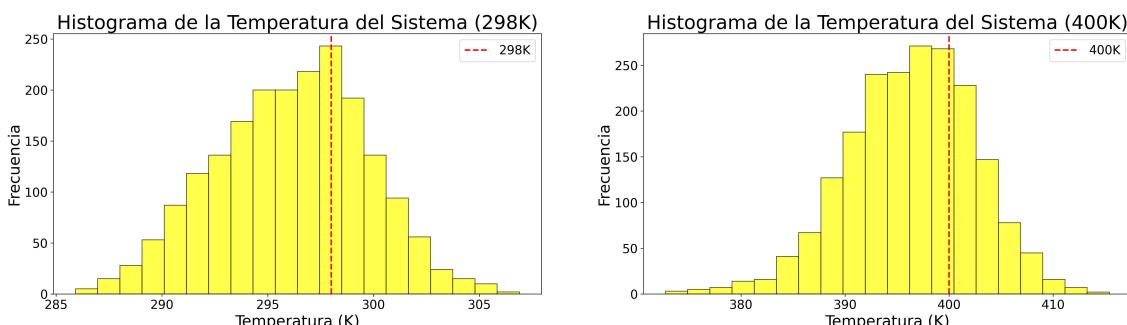
movimiento de torsión en este residuo estará debido al ángulo *phi* y no al ángulo *psi*. Si por otro lado se estudia la combinación de ambos ángulos para este residuo, nos encontramos como las posibles conformaciones para Ala-4 presentan valores similares en el ángulo *phi*, pero valores muy diferentes en el ángulo *psi*, tal y como se había visto previamente en las gráficas de los ángulos por separado (Figura 19). Esto podría indicar que el residuo de Ala-4 adopta una conformación muy diferente a 298K y a 400K.

5.5. Temperatura

Otro aspecto interesante a estudiar relacionado con el sistema es la temperatura de este, principalmente comprobar si el sistema ha sido capaz de alcanzar la temperatura de referencia la cual se le ha indicado y si esta se ha mantenido a lo largo del tiempo. Para llevar a cabo dicha comprobación, primero generamos los datos de temperatura mediante la función *traj* de Gromacs.

```
gmx traj -f apa.trr -s apa.tpr -xvg none -ot
```

Dicha función genera un fichero *temp.xvg* donde se almacenan los datos de la temperatura del sistema para cada intervalo de tiempo, de manera que permite estudiar la evolución de la temperatura con respecto al tiempo y su distribución.



(a) Temperatura del Sistema a 298K

(b) Temperatura del Sistema a 400K

Figura 20: Temperatura del Sistema a 298K y 400K

Comparación de la Temperatura a 298K y 400K

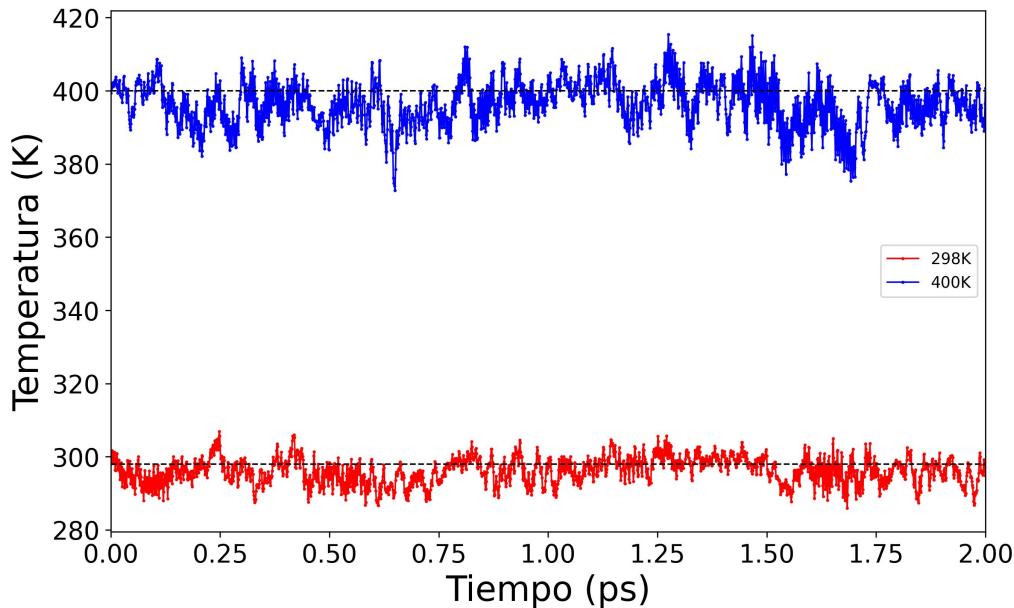


Figura 21: Comparativa de la Evolución de la Temperatura a 298K y 400K

Representando las diferentes medidas de temperatura a lo largo de las simulaciones tanto a 298K como a 400K mediante un histograma, se puede comprobar si la temperatura del sistema se ha mantenido entorno al valor de referencia el cual se le indicó antes de llevar a cabo la simulación. En este caso, ambos simulaciones parecen haber mantenido un valor de temperatura muy próximo al indicado como referencia, oscilando ligeramente por encima y por debajo de este valor (Figura 20). Otra manera de comprobar dicha oscilación es representando los valores de temperatura con respecto al tiempo. En este caso se aprecia claramente como los valores de temperatura en ambas simulaciones oscilan por encima y por debajo del valor de referencia, manteniéndose siempre en un rango de temperaturas muy reducido entorno a dicho valor, lo cual es buen indicativo (Figura 21).

5.6. Velocidades

A continuación, vamos a analizar la **velocidad** de algunos de los átomos presentes en nuestra biomolécula. En concreto, se ha optado por medir la velocidad de los siguientes átomos:

- Átomo 15 (C) de ALA-2
- Átomo 16 (O) de ALA-2
- Átomo 29 (C) de PRO-3
- Átomo 39 (C) de ALA-4
- Átomo 40 (O) de ALA-4

Para llevar a cabo dicho análisis, primero necesitamos generar un fichero donde aparezcan las velocidades de cada uno de los átomos a lo largo de la simulación. Para ello utilizamos la función *traj* de Gromacs.

```
gmx traj -f apa.trr -s apa.tpr -xvg none -ov -len
```

Este comando genera un fichero llamado *veloc.xvg* en el cual se almacena no solo cada intervalo de tiempo en el que se ha medido la velocidad, si no también cada una de las componentes de la velocidad para cada uno de los átomos del sistema, es decir, la velocidad en el eje X, Y y Z, y su módulo. **Para este análisis en concreto, se va a utilizar el módulo de la velocidad de cada átomo.**

5.6.1. Átomo 15 (C) de ALA-2

Lo primero que salta a la vista al representar el módulo de la velocidad de este átomo frente al tiempo es que a 400K la frecuencia de las oscilaciones es mucho mayor que a 298K (Figura 22), lo cual podría indicar que el átomo se mueve en promedio a mayor velocidad cuando la temperatura es mayor. Otra forma de comprobar mediante la velocidad de los átomos si la simulación ha sido exitosa, es mediante la representación de dicha velocidad en un histograma. Si el histograma presenta una distribución de *Maxwell-Boltzmann* significa que a priori la simulación ha ido bien. Teniendo en cuenta que dicha distribución presenta una forma similar a la de una distribución gausiana, podemos ver como el átomo C-15 cumple con dicha condición tanto a 298K como a 400K. Además, estos histogramas también permiten corroborar el hecho de que la velocidad promedio del átomo es mayor a 400K que a 298K (Figura 23).

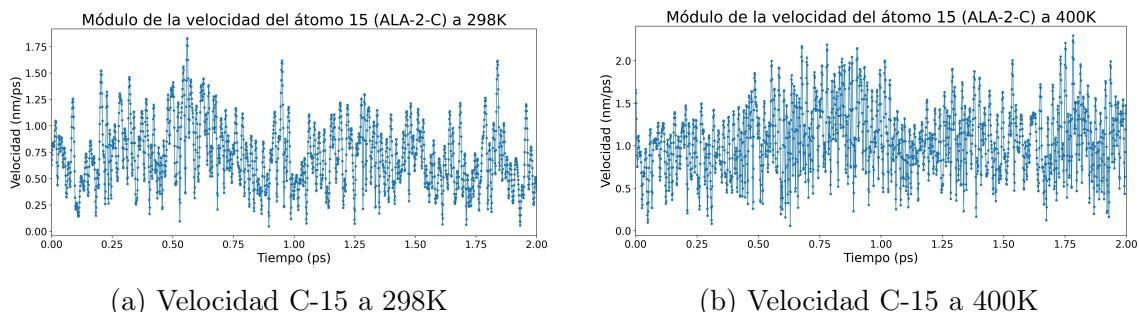


Figura 22: Velocidad de C-15 a 298K y 400K

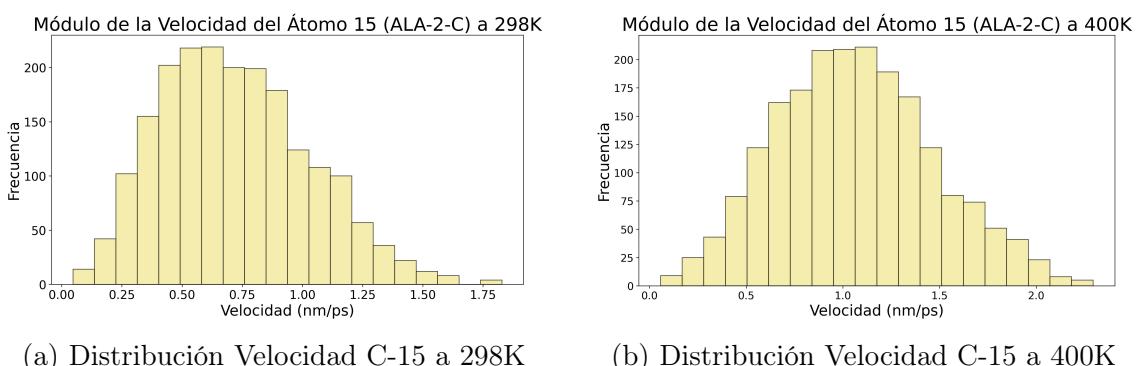


Figura 23: Distribución de la Velocidad de C-15 a 298K y 400K

5.6.2. Átomo 16 (O) de ALA-2

En el caso del átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la Alanina 2 (O-16), vemos que ocurre algo similar a lo observado en el átomo C-15, y es que tanto la frecuencia como la amplitud de las oscilaciones es mayor a 400K que a 298K, indicando por lo tanto que el átomo a mayor temperatura se mueve a mayor velocidad (Figura 24). Esto se ve mejor aún en los histogramas, donde se ve claramente como el modulo de la velocidad promedio es mayor ha sido mayor en la simulación a 400K que en la simulación a 298K (Figura 25).

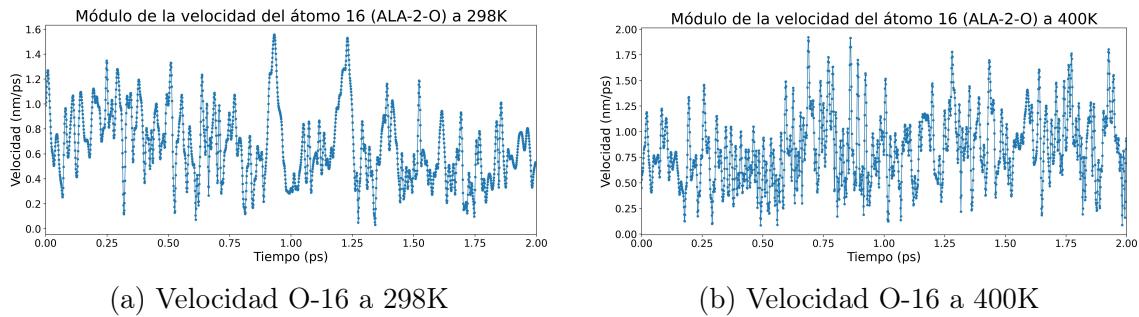


Figura 24: Velocidad de O-16 a 298K y 400K

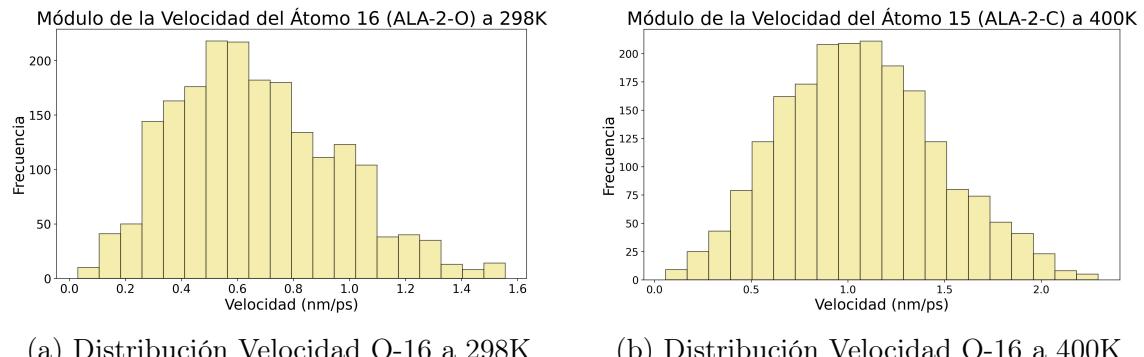


Figura 25: Distribución de la Velocidad de O-16 a 298K y 400K

5.6.3. Átomo 29 (C) de PRO-3

En el caso del átomo de carbono del grupo carbonilo de la Prolina-3 (C-29), la frecuencia parece similar a ambas temperaturas, sin embargo la amplitud de las oscilaciones es bastante mayor a 400K, lo que indica que el átomo alcanzará en promedio velocidades mayores que a 298K (Figura 26). Si analizamos los histogramas, vemos como en efecto el módulo de la velocidad llega a alcanzar valores más altos a 400K que a 298K, sin embargo su valor promedio no termina de ser muy diferente, por lo que quizás el efecto de la temperatura en este átomo no sea tan significativo (Figura 27).

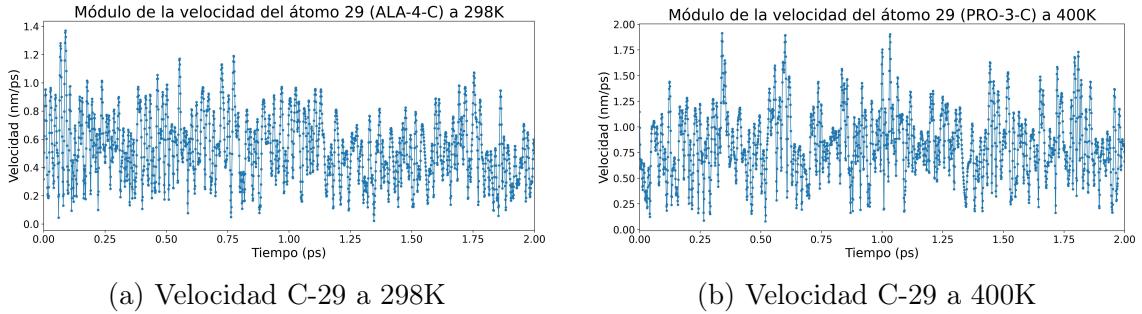


Figura 26: Velocidad de C-29 a 298K y 400K

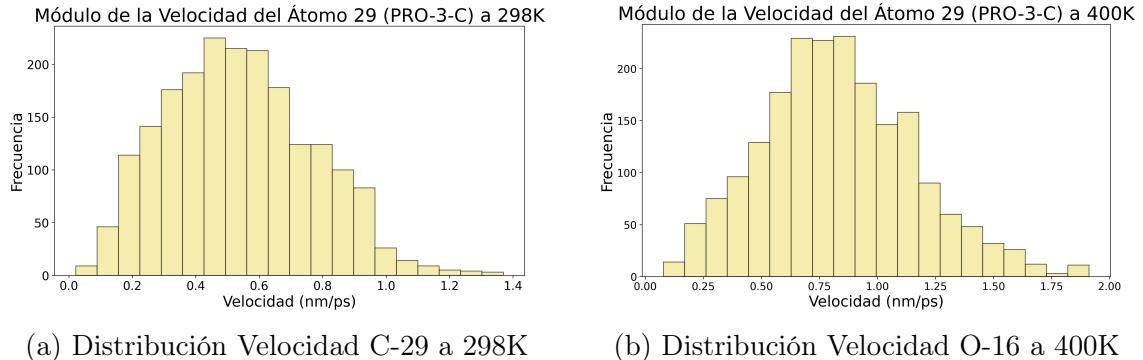


Figura 27: Distribución de la Velocidad de C-29 a 298K y 400K

5.6.4. Átomo 39 (C) de ALA-4

En el caso del átomo C-39 correspondiente al carbono del grupo carbonilo de la Alanina-4, a priori para ambas temperaturas parece comportarse de manera muy similar, pudiendo destacar únicamente quizás que la amplitud de las oscilaciones a 400K parece ser ligeramente mayor (Figura 28). Mediante la representación con histogramas si se puede ver como a 400K el módulo de la velocidad a 400K es en promedio superior que a 298K (Figura 29), manteniéndose la tendencia vista en los anteriores átomos.

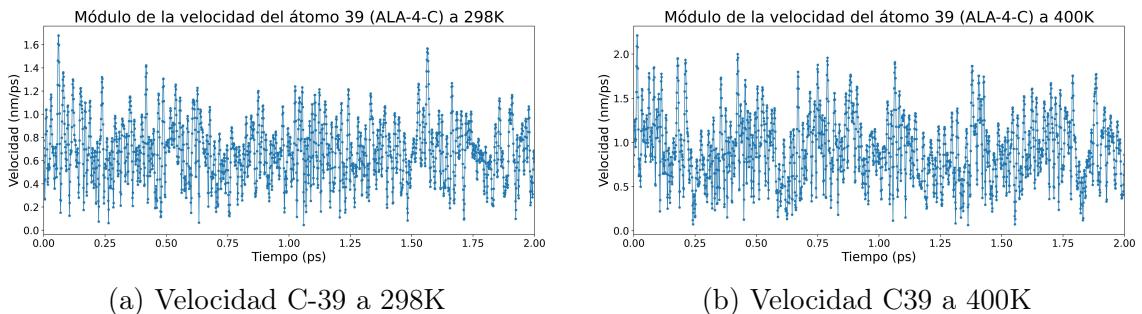
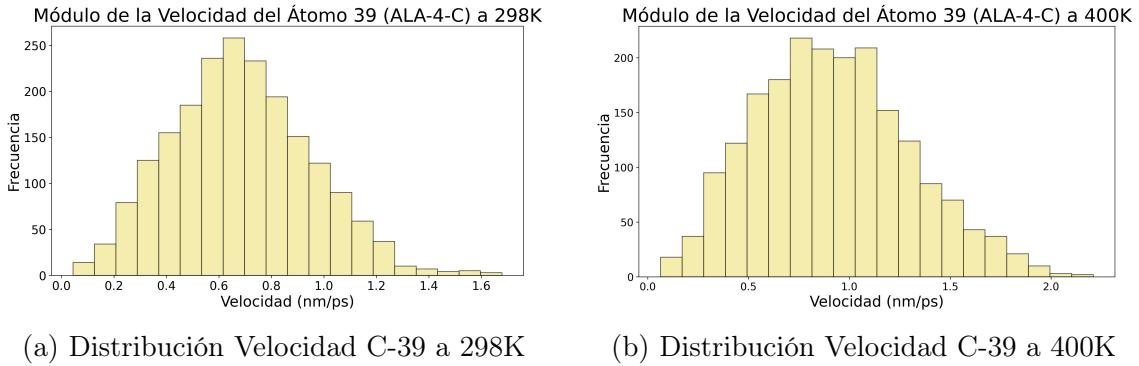
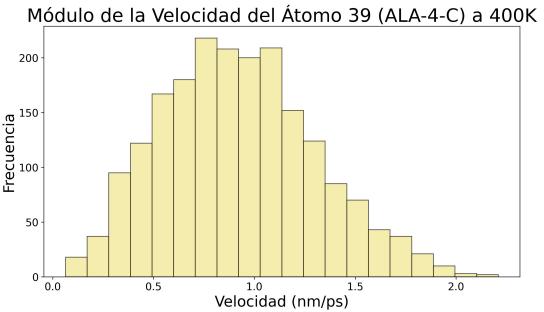


Figura 28: Velocidad de C-39 a 298K y 400K



(a) Distribución Velocidad C-39 a 298K

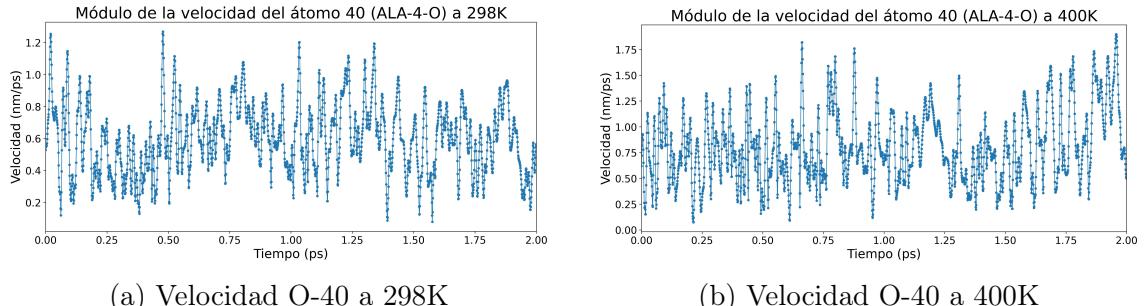


(b) Distribución Velocidad C-39 a 400K

Figura 29: Distribución de la Velocidad de C-39 a 298K y 400K

5.6.5. Átomo 40 (O) de ALA-4

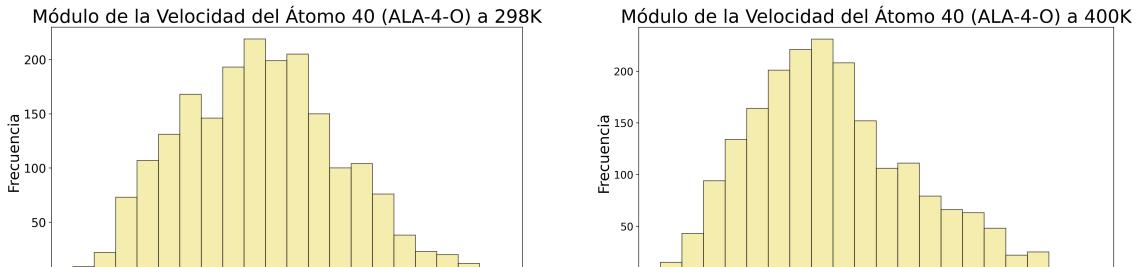
Finalmente, con respecto al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la Alanina-4 (O-40), vemos como al igual que ocurría con el átomo O-16 (C=O ALA-2), la frecuencia de las oscilaciones es bastante menor en comparación con el resto de átomos de carbono analizados. Si es verdad que se mantiene el hecho de que a 400K tanto la frecuencia como la amplitud de dichas oscilaciones aumentan con respecto a lo observado a 298K (Figura 30), sin embargo, analizando los histogramas, vemos como la velocidad promedio realmente no se ha visto del todo afectada por este cambio de temperatura, ya que aunque se llegan a alcanzar valores más elevados de velocidad, el valor promedio del módulo es muy similar en ambos casos (Figura 31).



(a) Velocidad O-40 a 298K

(b) Velocidad O-40 a 400K

Figura 30: Velocidad de O-40 a 298K y 400K



(a) Distribución Velocidad O-40 a 298K

(b) Distribución Velocidad O-40 a 400K

Figura 31: Distribución de la Velocidad de O-40 a 298K y 400K

En definitiva, se ha podido comprobar como los átomos de Carbono parecen mostrar velocidades mayores que los átomos de Oxígeno dentro de nuestra biomolécula.

Además, se ha visto como por normal general un aumento de la temperatura del sistema conlleva un aumento en el módulo de la velocidad de los átomos. Finalmente destacar el hecho de que, mediante la representación con histogramas, se ha podido comprobar como el módulo de todos los átomos estudiados sigue una distribución de *Maxwell-Boltzmann*, siendo esto indicativo de que ambas simulaciones se han llevado a cabo correctamente.

5.7. Energía Total y Cinética

A continuación, vamos a comparar los valores de energía **total** y **cinética** del sistema con respecto al tiempo, junto con la distribución de los valores en cada caso. Antes de llevar a cabo la comparación, apuntar que una simulación como la llevada a cabo en este análisis donde el tiempo de simulación es de 2 ps no es suficiente para valorar de forma objetiva el comportamiento de la energía total del sistema, es decir, si la tendencia de la energía total es ascendente, descendente, o se mantiene constante entorno a un valor, siendo esto último lo ideal. Es por esto que más adelante se estudiará una simulación con un tiempo de simulación mayor para poder analizar dicha tendencia.

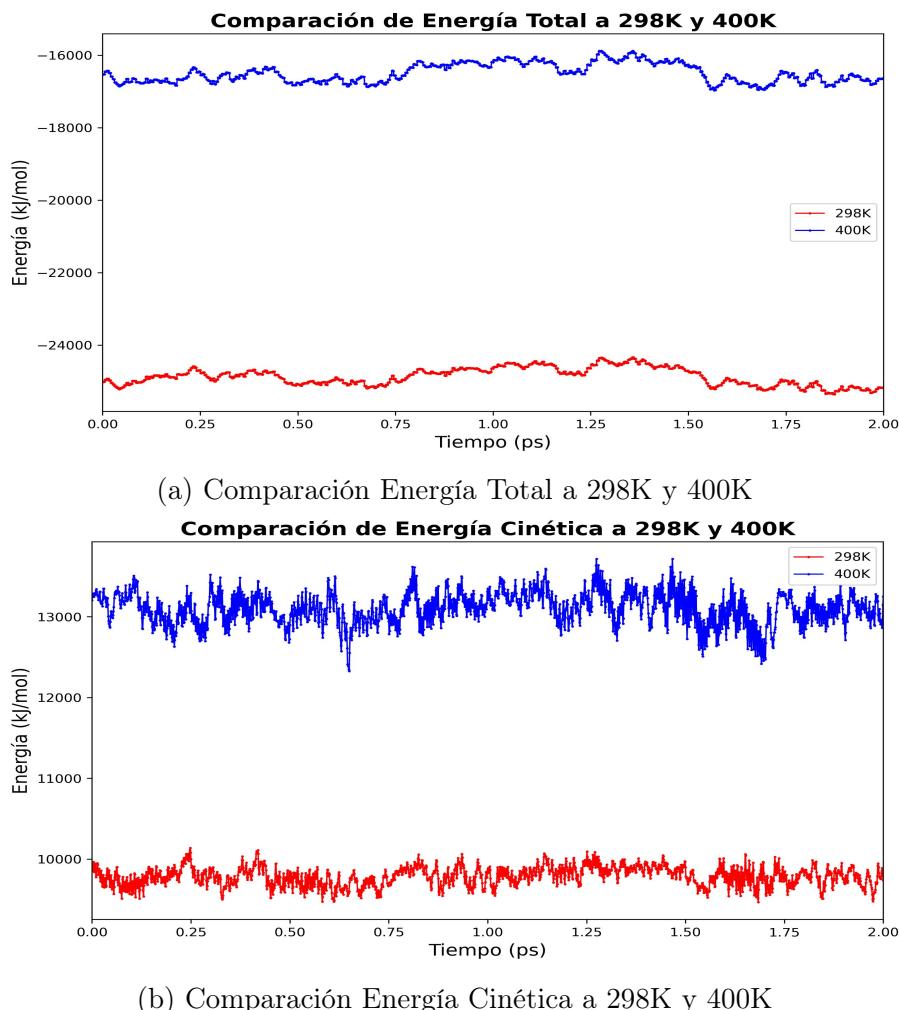


Figura 32: Distribución de la Velocidad de O-40 a 298K y 400K

Con respecto a la energía **total** del sistema, vemos como a 400K es mucho mayor que a 298K (Figura 32a). Esto en parte puede verse explicado haciendo uso de la gráfica donde se compara la energía **cinética** para ambos sistemas, ya que dicha energía es otra vez mucho mayor a 400K que a 298K (Figura 32b), lo que hace indicar que los movimientos de vibración o rotación que tienen lugar en la biomolécula suceden a mayor velocidad cuanto mayor es la temperatura. Esto puede derivarse en una mayor velocidad y quizás una mayor flexibilidad conformacional de la biomolécula en general, pudiendo afectar todo esto a su estabilidad estructural y por ende a su capacidad de interactuar con otras moléculas.

Una manera de comprobar si la simulación esta siendo correcta, es comparar la energía cinética obtenida experimentalmente con respecto a la energía cinética teórica obtenida a partir de la siguiente ecuación:

$$Ec = n.\text{atomos} \times \frac{3}{2}K_bT$$

Dicha ecuación tienen en cuenta tanto el número de átomos que forman el sistema (*n.atomos*), la constante de Boltzmann (*Kb*) y la temperatura del sistema (*T*). En nuestro caso, los resultados tanto teóricos como experimentales son los siguientes:

Temperatura (K)	Ec Teórica (kJ/mol)	Ec Experimental (kJ/mol)
298	9850.0	9787.2
400	13221.5	13100.2

Cuadro 7: Comparativa Energía Cinética Experimental y Teórica

Vemos como en ambos casos, la energía cinética experimental y teórica son muy parecidas aunque no idénticas (Tabla 7). Esto se debe a que la simulación ha sido muy corta, pero si alargásemos el tiempo de simulación, ambos valores serían totalmente idénticos.

6. Parte Opcional

En esta parte final se va a llevar a cabo una simulación con una duración total de 500 ps con el fin de estudiar:

- Distribución de la temperatura del sistema
- Componentes de la velocidad de un átomo seleccionado
- Diagramas de Ramachandran para los 3 residuos de la biomolécula

6.1. Temperatura

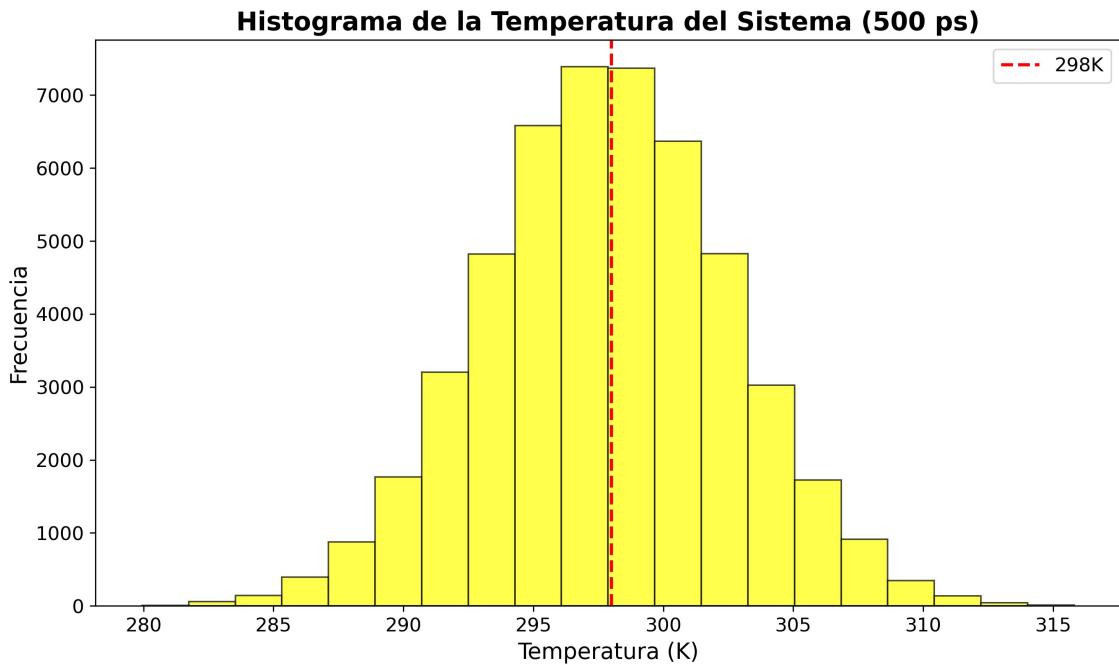


Figura 33: Distribución de la temperatura a 298K con 500 ps

Viendo el histograma con la distribución de la temperatura para esta simulación más larga, destaca principalmente la simetría del histograma teniendo como eje la temperatura de referencia (298K). Esto hace indicar que el la temperatura del sistema oscila de manera idéntica alrededor del valor de referencia a lo largo de la simulación, siendo esto un muy buen indicador.

6.2. Componentes de la Velocidad

Para el estudio de las componentes de la velocidad de un átomo en concreto, se ha elegido analizar las componentes del átomo 17, correspondiente al único nitrógeno presente en el residuo de Prolina-3.

Viendo las componentes se podría decir de forma general que este átomo no tiende a moverse mucho en ninguno de los 3 ejes, ya que vemos como el centro de la distribución de sus valores de velocidad está situado en el 0 (Figura 34). Sin embargo, analizando el módulo de la velocidad, vemos como aunque sea pequeño, parece indicar que el átomo siempre está en movimiento aunque lo haga a una velocidad reducida. Eso sí, dada la distribución de valores de la velocidad en los ejes X, Y y Z; no se puede determinar una dirección o un eje sobre el cuál tiende a moverse el átomo con preferencia.

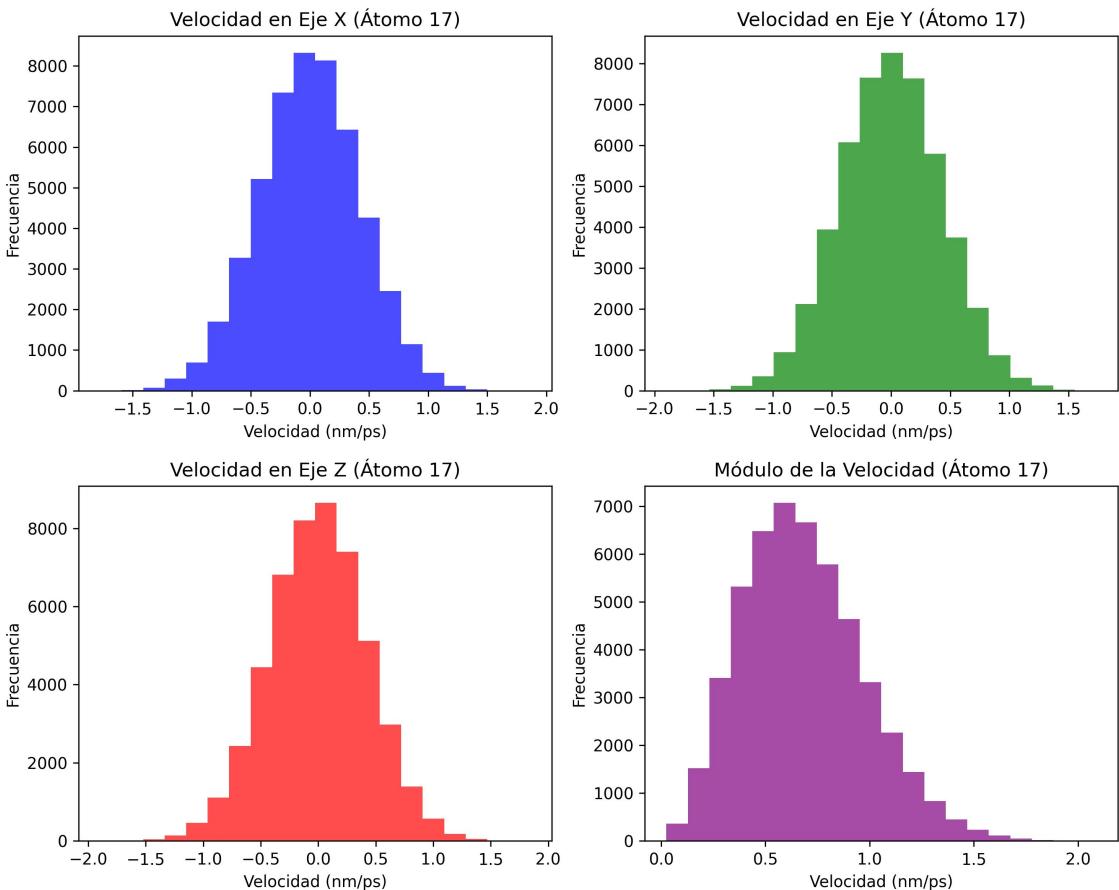


Figura 34: Componentes de la velocidad del átomo N-17

6.3. Diagramas de Ramachandran

Finalmente, vamos a estudiar los diagramas de Ramachandran de los 3 residuos que forman nuestra biomolécula. Para ello, vamos a representar tanto el ángulo *phi* como el ángulo *psi* de dichos residuos de forma similar a cuando se analizaron previamente los ángulos dihedros para los 2 residuos de Alanina. La diferencia en este caso es que no solo el tiempo de simulación ha sido mucho mayor, si no que se van a representar dichos ángulos en una escala fija con el fin de poder comprobar de forma significativa la conformación adoptada por los diferentes residuos de la biomolécula.

Recordar que el diagrama de Ramachandran sirve para analizar las posibles conformaciones que pueden adoptar los enlaces covalentes de una proteína, *phi* y *psi* en este caso, y que describen la rotación de los residuos alrededor de los enlaces peptídicos. Dentro de dicho gráfico se representan diferentes regiones *permitidas* o *prohibidas* para la combinación de valores de *phi* y *psi*, basadas en consideraciones estéricas y energéticas (Figura 35).

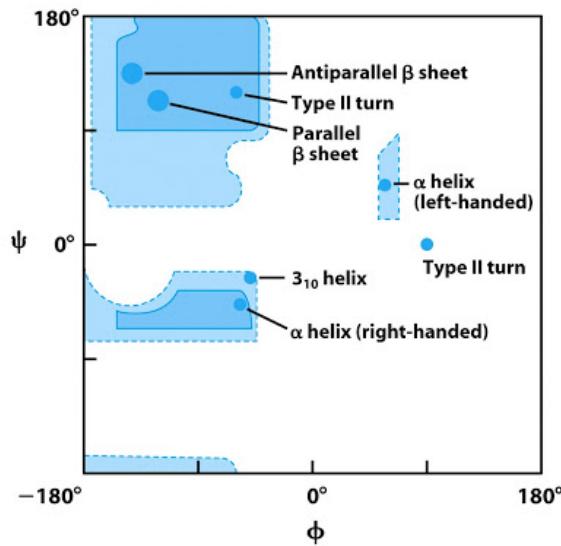


Figure 4-9a. Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Figura 35: Regiones permitidas y prohibidas dentro del diagrama de Ramachandran

6.3.1. Alanina-2

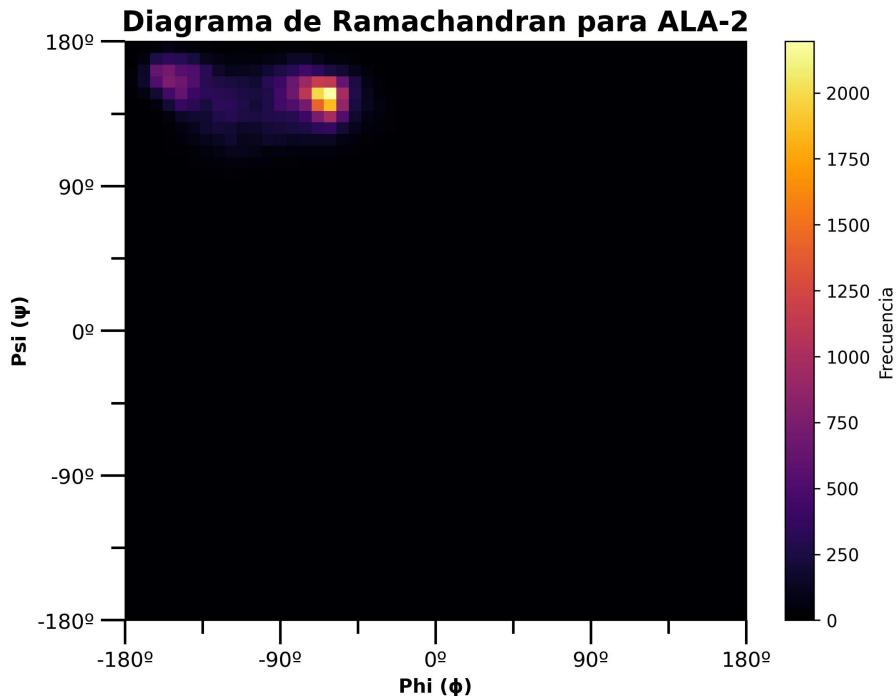


Figura 36: Diagrama de Ramachandran para la Alanina-2

En el caso de la Alanina-2, vemos como las posibles conformaciones que adopta se encuentran muy definidas dentro de una región concreta, donde los valores de Phi oscilan entre -180° y -45° , mientras que los valores de Psi oscilan entre los 180° y 90° . Si nos fijamos en la imagen de referencia para interpretar el diagrama de Ramachandran, vemos como esta región se asocia con conformaciones del tipo lámina- β (Figura 36).

Concretamente, vemos como la mayoría de las combinaciones de ángulos están concentrados en una región concreta del diagrama donde los valores aproximados de

phi y psi son -45° y 135° respectivamente. Esta región se asocia a una estructura en concreto denominada "**giro beta**", una de las formas más comunes de estructura secundaria en las proteínas, la cual tiene como característica que da lugar a un brusco giro de 180 grados a la cadena principal del polipéptido.

También hay que mencionar el hecho de que la combinación de ángulos en ocasiones se encuentra en regiones asociadas con estructuras del tipo *lámina - β paralela* y *lámina - β antiparalela* cuando los valores del ángulo phi disminuyen.

6.3.2. Prolina-3

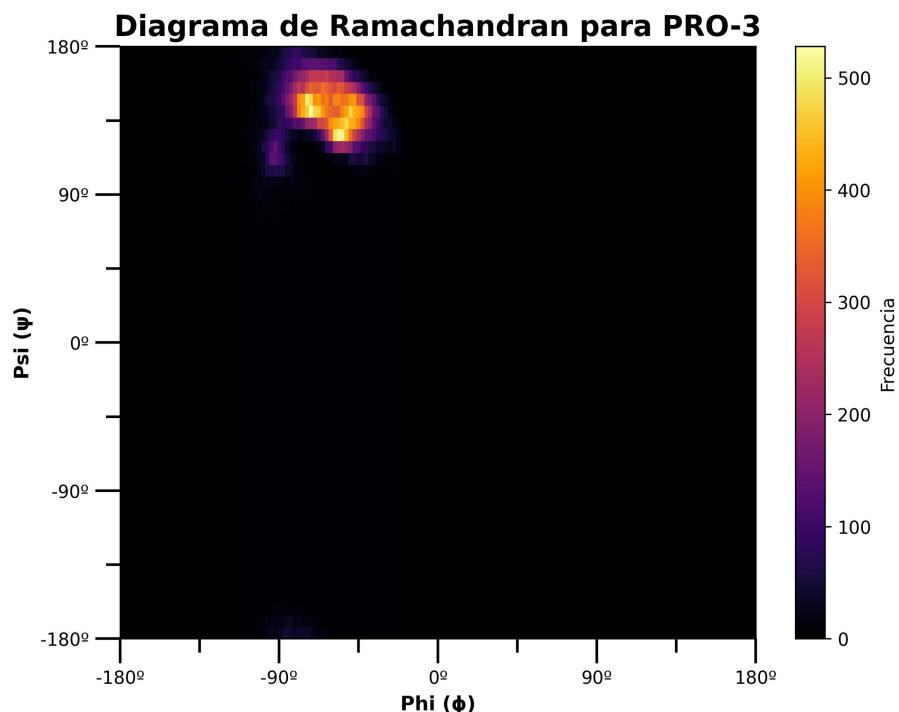


Figura 37: Diagrama de Ramachandran para la Prolina-3

Con respecto al residuo de Prolina-3, vemos como la distribución de los ángulos es muy similar a la de la Alanina-2, ya que la mayoría de combinaciones se encuentran situadas en la región característica de los *giros beta*, sin embargo, en esta ocasión, no parece que este residuo sea capaz de adoptar ningún otro tipo de estructura secundaria tal y como lo hacía la Alanina-2 (Figura 37).

6.3.3. Alanina-4

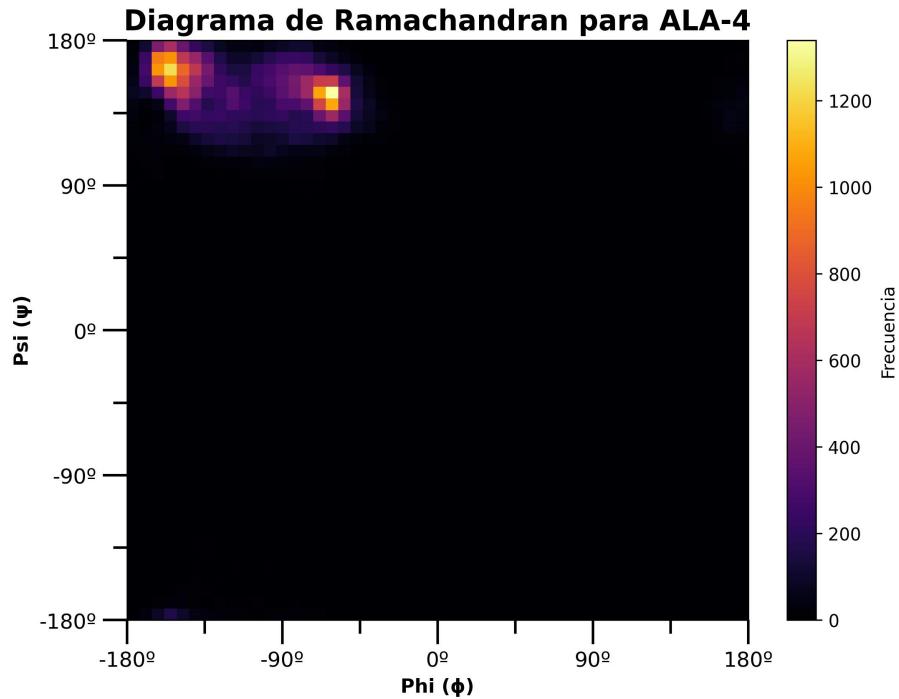


Figura 38: Diagrama de Ramachandran para la Alanina-4

Finalmente, vemos como el residuo de Alanina-4 tiene en común con el resto de residuos la capacidad de adoptar una estructura secundaria de tipo *beta*, concretamente un *giro beta*. Sin embargo, vemos como también muchas de las combinaciones de ángulos se ubican en la región asociada a una estructura de *lámina - β antiparalela*, algo que no sucede en el resto de residuos. También aparecen combinaciones que darían lugar a estructuras tipo *lámina - β paralela*, pero eso sí, con menor frecuencia que los otros dos tipos de estructuras (Figura 38).