



COMPATIBILIDADE DE PARÂMETROS DO CAMPO DE FORÇA GROMOS PARA LIPOPOLISSACARÍDEO COM MODELOS DE ÁGUA SPC/E, RAIOS DE CORTE SIMPLES PARA TERMOS NÃO-LIGADOS E CARGAS ATÔMICAS: PROPRIEDADES ESTRUTURAIS

Manuela Nader^{1*}, Manoela P. M. Lima¹, Denys E. S. Santos¹, Thereza A. Soares¹

¹Grupo de Modelagem de BioMateriais, Departamento de Química Fundamental, UFPE

*manuela.nader@ufpe.br

INTRODUÇÃO

Simulações computacionais, seja ao nível da representação atômica ou coarse-grain têm contribuído singularmente para a caracterização da estrutura e dinâmica de membranas lipídicas. (KHALILI-ARAGHI *et al.*, 2009). O método computacional de dinâmica molecular (MD) oferece uma aproximação particularmente conveniente para o estudo da dinâmica estrutural de membranas por abranger simultaneamente escalas temporal e espacial, com uma precisão dificilmente acessível a técnicas experimentais de resolução atômica. Presentemente, o sucesso (assim com as falhas) desta aproximação está associada ao contínuo desenvolvimento e refinamento de campos de força clássicos originalmente desenvolvidos para proteínas. Parâmetros atômicos para diversos fosfolípidos constituintes das membranas citoplasmáticas estão disponíveis em campos de força populares como GROMOS, AMBER e CHARMM. A parede celular de bactérias Gram-negativas é composta por duas membranas lipídicas duplas: uma membrana interna ou citoplasmática, formada exclusivamente por fosfolípidos e semelhante àquela em bactérias Gram-positivas, e uma membrana externa formada por uma camada fosfolipídica e uma camada lipopolissacarídica externa. As moléculas de lipopolissacarídeo (LPS) são altamente carregadas devido a presença de inúmeros grupos fosfatos e algumas carboxilas, conferindo um caráter assimétrico à superfície da membrana cujo potencial eletrostático transmembrana varia em torno de 100-200 mV. Portanto, a natureza lipopolissacarídica da membrana externa de bactérias Gram-negativas resulta em agregados moleculares e supra- moleculares significativamente mais complexos que aqueles características das membranas fosfolipídicas comumente estudadas por simulações computacionais.

O objetivo do presente trabalho é investigar a compatibilidade de parâmetros do campo de força GROMOS para lipopolissacarídeos com o modelo de água SPC/E usando um raio de corte simples para termos não-ligados e cargas atômicas (LIMA *et al.*, 2019). Neste pôster serão discutidas propriedades estruturais para os sistemas simulados, enquanto que propriedades dinâmicas para os mesmos sistemas serão discutidas no pôster apresentado por Manoela Paschoal e co-autores.

MATERIAIS E MÉTODOS

O modelo de membrana bacteriana utilizado nas simulações consiste de 72 moléculas do LPS Rough em uma monocamada, 180 moléculas de DPPE (1,2-dipalmitoyl-3-phosphatidylethanolamine) na outra monocamada e 288 contra-íons de Ca^{2+} , de forma a neutralizar as cargas de -8 por unidade de LPS. Foram utilizados

dois modelos de água, o *Simple Point Charge* (SPC) e o *Extended Simple Point Charge* (SPC/E). (BERENDSEN *et al.*, 1981; BERENDSEN *et al.*, 1987). Para manter a mesma dimensão da caixa para ambos os sistemas, foi adicionado um número diferente de moléculas de solvente, sendo 30699 no contendo SPC e 30507 no com SPC/E. Simulações de dinâmica molecular foram realizadas usando o NPT ensemble e *timestep* de 2 fs. Os algoritmos LINCS e SETTLE foram escolhidos para restringir o comprimento de ligações e a geometria das moléculas de água, respectivamente. As velocidades iniciais foram obtidas através da distribuição de Maxwell-Boltzmann a 310 K e 1 bar de pressão. Um termostato de re-escalonamento de velocidades com tempo de relaxamento de 0.4 ps foi usado para controlar separadamente a temperatura do soluto e do solvente com os íons. A pressão foi mantida a 1 bar utilizando o barostat de Berendsen (BERENDSEN *et al.*, 1984). As simulações foram realizadas utilizando dois tipos de tratamentos eletrostáticos de longa distância, o Reaction Field (RF), com 1.4 nm de cutoff e constante de permissividade dielétrica de 66, e o particle mesh Ewald (PME), com 1.2 de cutoff (TIRONI *et al.*, 1995; DARDEN, YORK e PEDERSEN, 1993). A lista de nonbonded pairs foi atualizada a cada 5 passos usando um single cutoff e a trajetória escrita a cada 2 ps. Os sistemas foram equilibrados por 100 ns e a simulados por 100 ns adicionais. Para rodar as simulações, foi utilizado o GROMACS 4.6.7 tanto em CPU como em GPU. As análises de propriedades estruturais foram feitas com o GROMACS 4.6.7 e com o software SuAVE (HESS *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Simulações de dinâmica molecular foram realizadas utilizando os modelos de água SPC/E e SPC (Tabela 1), a partir dos tratamentos eletrostáticos RF e PME com o esquema Verlet (BERENDSEN *et al.*, 1981; BERENDSEN *et al.*, 1987; TIRONI *et al.*, 1995; DARDEN, YORK e PEDERSEN, 1993). Estes modelos são bem estabelecidos e amplamente utilizados em simulações de sistemas biomoleculares. No entanto, os parâmetros atômicos derivados do GROMOS desenvolvidos para lipopolissacarídeos foram previamente testados apenas com o modelo SPC (PONTES *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2017). Os dois modelos diferem nos valores de cargas atribuídas ao hidrogênio e oxigênio, o que gera diferentes dipolos e energias potenciais (Tabela 1). As simulações foram analisadas com relação à área por lipídeo, perfil de densidade, espessura e curvatura da superfície da bicamada.

Pode-se notar maior área por cabeça (AL) nas simulações com SPC (Figura1), o que pode ser explicado pelo fato de que esse modelo apresenta uma maior hidratação em comparação com o SPC/E. No interior da parte hidrofóbica da membrana, foi verificado um

maior número de moléculas de água do modelo SPC. Esse fato combinado a maiores valores para a constante de difusividade do modelo SPC, a ser discutido no trabalho de Manoela Paschoal, contribuíram para o aumento na área por cabeça observado. Em média, os valores de AL das simulações condizem com encontrados experimentalmente.

Tabela 1. Parâmetros do campo de força e propriedades dos modelos simple point charge (SPC) e extended simple point charge (SPC/E).

Propriedades	SPC	SPC/E
qO (e)	-0,82	-0,8476
qH (e)	0,41	-0,4238
∠HOH (deg)	109,47	109,47
rO-H (nm)	0,0100	0,0100
ε (kJ/mol)	0,65017	0,65017
σ (nm)	0,31656	0,31656
Epot (kJ/mol)	-41,3 (0,16)	-46,4 (0,18)
Dipolo (Debye)	2,27	2,39
D (10 ⁻⁵ cm ² /s)	4,5 (0,08)	2,8 (0,02)

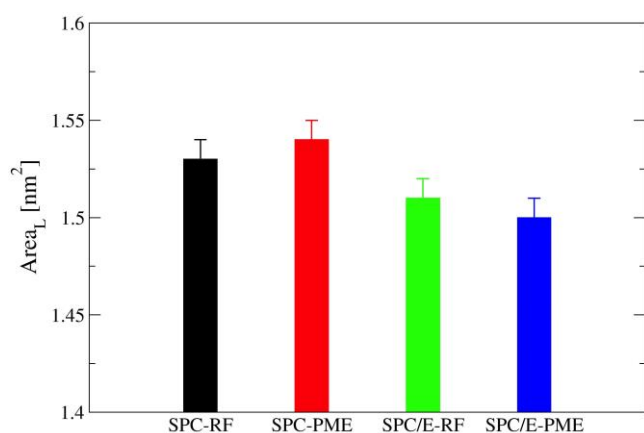


Figura 1. Média da área por lipídio em função do tempo para os sistemas SPC-RF (em preto), SPC-PME (em vermelho), SPC/E-RF (em verde) e SPC/E-PME (em azul).

Possuindo uma energia potencial mais favorável e um dipolo mais acentuado, o modelo SPC/E apresentou maior densidade de água. Além disso, a espessura da bicamada foi bem conservada nas simulações (Figura 2). Apenas o sistema SPC/E-PME apresentou um pequeno aumento de 0,05 nm, que pode ser considerado irrelevante uma vez que as ligações entre carbonos têm comprimento em torno de 0,154 nm.

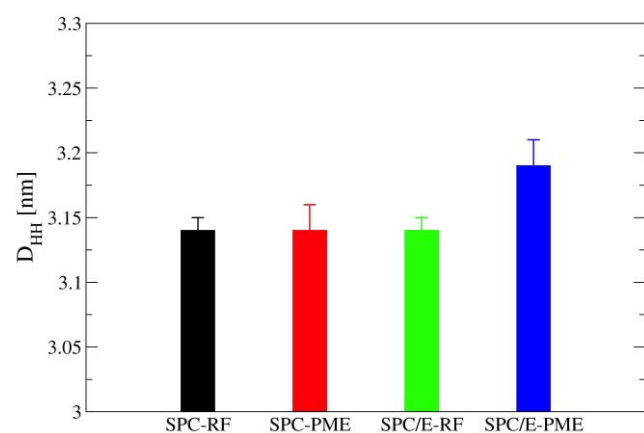


Figura 2. Média da espessura da bicamada em função do tempo para os sistemas SPC-RF (em preto), SPC-PME (em vermelho), SPC/E-RF (em verde) e SPC/E-PME (em azul).

As médias do ângulo de curvatura da superfície estão dentro do intervalo de 0-35°, indicando que as bicamadas continuaram

planares. Pequenas variações perceptíveis na simulação SPC/E-RF são pequenas demais para gerarem mudanças significativas na estrutura da membrana. Em média, o sistema SPC/E-RF apresentou o menor parâmetro de ordem de curvatura Sc, cuja diferença para o maior Sc do sistema SPC-PME foi de apenas 1% (Figura 3).

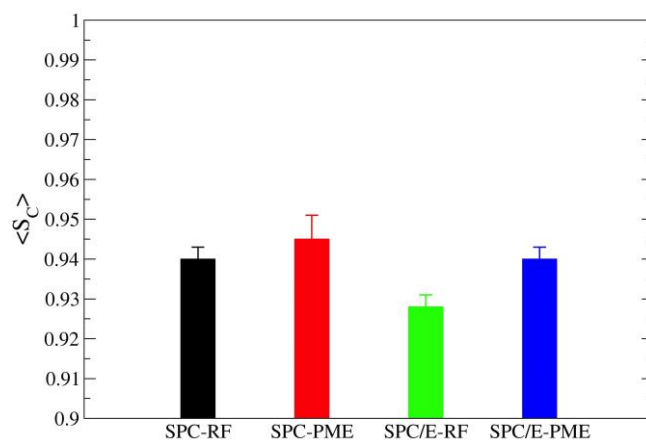


Figura 3. Média do parâmetro de ordem de curvatura em função do tempo para os sistemas SPC-RF (em preto), SPC-PME (em vermelho), SPC/E-RF (em verde) e SPC/E-PME (em azul).

Dessa forma, não foram observadas diferenças estruturais significativas, e, portanto, é possível concluir que os parâmetros atômicos derivados do campo de força GROMOS para moléculas de lipopolissacarídeos são compatíveis com ambos os modelos de água.

CONCLUSÕES

Modelos de água utilizados nas simulações biomoleculares devem ser computacionalmente eficientes, reproduzir as propriedades da água satisfatoriamente e ser compatíveis com o campo de força escolhido. As propriedades estruturais observadas nos sistemas com ambos os modelos de água SPC e SPC/E se conservaram ao longo do tempo e estão de acordo com os dados experimentais. Portanto, essas simulações comprovam que parâmetros atômicos derivados do GROMOS são compatíveis com a versão do GROMACS 2016, usando PME para tratamento das interações eletrostáticas de longa distância, com processamento GPU ou CPU, utilizando esquema de cara atom-based e single cutoff.

REFERÊNCIAS

- BERENDSEN, H. J. C.; GRIGERA, J. R.; STRAATSMA, T. P. The missing term in effective pair potentials. *J. Phys. Chem.*, v. 91, p. 6269-6271, 1987.
- BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M.; DINOLA, A.; HAAK, J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.*, v. 81, p. 3684-3690, 1984.
- BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M.; VAN GUNSTEREN, W. F.; HERMANS, J. Interaction models for water in relation to protein hydration. *Intermolecular Forces*, Pullman, B., Ed. Reidel: Dordrecht, p. 331-342, 1981.
- DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An N-log(N) method for Ewald sums in large systems. *J. Phys. Chem.*, v. 98, p. 10089-10092, 1993.
- HESS, B.; KUTZNER, C.; VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E. GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. *J. Chem. Theory Comput.*, v. 4, p. 435-447, 2008.
- KHALILI-ARAGHI, F.; GUMBART, J.; Wen, P. C.; SOTOMAYOR, M.; TAJKHORSHID, E.; SCHULTEN, K. Molecular Dynamics Simulations of

Membrane Channels and Transporters. **Curr. Opin. Struct. Biol.**, v. 19, p. 128-137, 2009.

LIMA, M. P. M.; NADER, M.; SANTOS, D. E. S.; SOARES, T. A. Compatibility of GROMOS-derived atomic parameters for lipopolysaccharide membranes with the SPC/E water model and alternative long-range electrostatic treatments using single nonbonded cutoff and atom-based charge schemes. **Braz. Chem. Soc.** 2019. Invited Contribution. Accepted for publication.

PONTES, F. J. S.; RUSU, V. H.; SOARES, T. A.; LINS, R. D. The Effect of Temperature, Cations, and Number of Acyl Chains on the Lamellar to Non-Lamellar Transition in Lipid-A Membranes: A Microscopic View. **J. Chem. Theory Comput.**, v. 8, p. 3830-3838, 2012.

SANTOS, D. E. S.; POL-FACHIN, L.; LINS, R. D.; SOARES, T. A. Polymyxin Binding to the Bacterial Outer Membrane Reveals Cation Displacement and Increasing Membrane Curvature in Susceptible but Not in Resistant Lipopolysaccharide Chemotypes. **J. Chem. Inf. Model.**, v. 57, p. 2181-2193, 2017.

SANTOS, D. E. S.; PONTES, F. J. S.; LINS, R. D.; COUTINHO, K.; SOARES, T. A. **J. Chem. Inf. Model.** *In preparation.* 2019.

TIRONI, I. G.; SPERB, R.; SMITH, P. E.; VAN GUNSTEREN, W. F. A generalized reaction field method for molecular dynamics simulations. **J. Chem. Phys.**, v. 102, p. 5451-5459, 1995.