



Universidad EAFIT

Efecto de modificaciones de las cadenas carbonadas sobre el comportamiento elástico y de fase de bicapas lipídicas mediante dinámica molecular

Autor:

Maria Clara QUINTERO GÓMEZ

Trabajo de grado para optar al título de
Magíster en Física Aplicada

Asesor:

Dr. Luis Alejandro GÓMEZ RAMÍREZ

Coasesor:

Dr. Jorge León DAVID CARO

Universidad EAFIT

Escuela de Ciencias Aplicadas e Ingeniería
Maestría en Física Aplicada

Efecto de modificaciones de las cadenas carbonadas sobre el comportamiento elástico y de fase de bicapas lipídicas mediante dinámica molecular, © Julio 2022

Autor:

Maria Clara QUINTERO GÓMEZ

Directores:

Dr. Luis Alejandro GÓMEZ RAMÍREZ

Dr. Jorge León DAVID CARO

Institución:

Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

DEDICATORIA

*A mi papá y a mi mamá
Han sido el ejemplo de la inteligencia y el conocimiento,
siempre me han cuidado y enseñado con mucho amor.*

AGRADECIMIENTOS

“Si he visto más, es poniéndome sobre los hombros de Gigantes”

Isaac Newton

Agradezco a los profesores Luis Alejandro y Jorge, por abrirme las puertas de la universidad, y de este campo de investigación, tan interdisciplinario y bonito que me hizo amar aun mas, el estudio de la naturaleza a través de la ciencia.

Agradezco a mi familia por apoyarme e inspirarme, el camino del conocimiento lo he disfrutado cada día junto a ellos.

Muy especialmente, agradezco a las personas sin las cuales no habría podido sacar adelante este proyecto tan desafiante para mi: Daniel, Luis, Juliana, Diana y Andrés.

Finalmente, a todas esas personas que me ofrecieron una sonrisa, un abrazo o un café en los momentos mas difíciles.

RESUMEN

Debido a la diversidad de funciones que pueden desempeñar y la cantidad de procesos fisicoquímicos celulares que regulan, las membranas biológicas constituyen un campo de investigación de gran interés científico. Hasta la fecha se ha recolectado bastante información sobre muchas de sus propiedades, características y efectos en las células, sin embargo, el modelo del “mosaico fluido”, propuesto por Singer and Nicolson hace más de cuatro décadas para explicar la organización estructural de las membranas biológicas, ha permitido ampliar el espectro conocido a un amplio en relación con la naturaleza fluida y composición compleja y dinámica de dichas estructuras moleculares.

Es actualmente conocido que las alteraciones de la fluidez de la membrana desempeñan un papel clave en la patofisiología celular de condiciones tales como el envejecimiento y enfermedad cardiovascular, entre otras. En este contexto, la simulación de membranas biológicas representa una aproximación interesante y versátil para entender los mecanismos moleculares que ocurren en la organización estructural de las membranas biológicas.

Desafíos relevantes a este tópico académico, incluye avanzar en los modelos de bicapas que puedan ser usados para entender propiedades estructurales y predecir consecuencias biológicas. Actualmente los modelos de bicapa se reducen a pocos lípidos, que siguen siendo alejados de las membranas biológicas reales. Por tanto, avanzar en la complejidad de bicapas lipídicas, aumentando la complejidad de las mismas o introduciendo características como la asimetría, constituyen avances en este campo, puesto que además de obtener observaciones a escala molecular, se pueden establecer ventajas y limitación de los modelos matemáticos, físicos y químicos que se emplean, aportando datos y resultados que pueden contribuir al mejoramiento de los mismos.

En este trabajo se modelan bicapas lipídicas mediante dinámica molecular, con el propósito de entender el efecto de las variaciones en la cadena carbonada de fosfatidilcolinas en el comportamiento elástico y de fase, particularmente cuando se tienen en cuenta variaciones en la longitud de la cadena y el grado de insaturación de la misma, a través de la dinámica molecular.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	7
Índice de figuras	13
Índice de Tablas	15
Abreviaturas	17
1 INTRODUCCIÓN	19
2 MARCO TEÓRICO	21
2.1 Membranas biológicas	21
2.1.1 Características y estructura de las membranas biológicas	22
2.1.2 Comportamiento termotrópico	22
2.1.3 Estudios experimentales de membranas biológicas	22
2.2 Simulaciones computacionales de bicapas lipídicas	24
2.2.1 Dinámica Molecular	24
2.2.2 Campo de fuerza	26
2.2.3 Validación y comparación de campos de fuerza	26
2.2.4 Avances en la Universidad EAFIT	27
3 METODOLOGÍA COMPUTACIONAL	29
3.1 Metodología General	29
3.2 Detalles Computacionales	31
3.3 Análisis de Datos	31
3.3.1 Área por lípido	31
3.3.2 Parámetro de Orden	32
3.3.3 Densidad Electrónica	32
3.3.4 Espesor	32
3.3.5 Módulo de Compresibilidad	32
3.3.6 Módulo de Rigidez	33
3.4 Validación del campo de fuerza	33
4 INFLUENCIA DE LA LONGITUD DE LA CADENA EN EL COMPORTAMIENTO ELÁSTICO DE BICAPAS DE CADENA SATURADA Y MONOINSATURADA	35
4.1 Sistemas lipídicos	35
4.2 Resultados y Discusión	36
4.2.1 Área por lípido	36
4.2.2 Parámetro de orden	42

4.2.3	Densidad electrónica	42
4.2.4	Espesor	45
4.2.5	Módulo de compresibilidad	48
5	INFLUENCIA DEL GRADO DE INSATURACIÓN EN EL COMPORTAMIENTO DE FASE DE BICAPAS LIPÍDICAS MONOCOMPONENTES	53
5.1	Sistemas Simulados	53
5.2	Resultados	54
5.2.1	Bicapas Lipídicas	54
5.2.2	Área por lípido	59
5.2.3	Densidad	66
5.2.4	Espesor	69
5.2.5	Parámetro de Orden	72
5.2.6	Propiedades Elásticas	72
6	INFLUENCIA DEL GRADO DE INSATURACIÓN EN EL COMPORTAMIENTO DE FASE DE SISTEMAS MULTICOMPONENTES	79
6.1	Sistemas Simulados	79
6.2	Resultados	81
6.3	Bicapas lipídicas	81
6.4	Área por lípido	83
6.5	Módulo de compresibilidad	87
7	CONCLUSIONES GENERALES	89
8	PERSPECTIVAS	91
	ANEXOS	91
	A POSTERS	93
	BIBLIOGRAFÍA	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Esquema de diferentes fases lamelares encontradas en sistemas de fosfatidilcolinas y agua.	23
Figura 2.2	Escalas de tiempo y espacio en simulaciones computacionales. . . .	25
Figura 3.1	Diagrama de flujo metodología computacional	30
Figura 3.2	Forma de obtener los espesores de las Bicapas lipídicas	33
Figura 4.1	APL bicapas de lípidos saturados.	37
Figura 4.2	APL de bicapas de diferentes longitudes de cadena carbonada saturada	38
Figura 4.3	APL de bicapas de diferentes longitudes de cadena carbonada monoinsaturada	39
Figura 4.4	APL de bicapas de lípidos de cadena carbonada insaturada	40
Figura 4.5	APL de bicapas saturadas e insaturadas	41
Figura 4.6	APL de bicapas saturadas e insaturadas	41
Figura 4.7	Parámetro de orden de bicapas de lípidos saturados	42
Figura 4.8	Densidad electrónica de bicapas de lípidos saturados.	43
Figura 4.9	Densidad de masa de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas.	44
Figura 4.10	Espesor de bicapas de lípidos saturados	46
Figura 4.11	Espesor bicapas de lípidos insaturados.	46
Figura 4.12	Comparativo espesor de bicapas saturadas y monoinsaturadas	47
Figura 4.13	K_A sistemas saturados	49
Figura 4.14	K_A Sistemas monoinsaturados.	49
Figura 4.15	Comparativo K_A sistemas saturados y monoinsaturados.	50
Figura 4.16	K^b Sistemas saturados	50
Figura 4.17	K^b Sistemas monoinsaturados	51
Figura 4.18	Comparativo K^b de sistemas saturados y monoinsaturados	51
Figura 5.1	Estructura química de los lípidos DSPC, DOPC y DUPC	54
Figura 5.2	Visualización Transición de Fase bicapa saturada: DSPC	55
Figura 5.3	Visualización de la transición de fase del DOPC	57
Figura 5.4	Visualización de la transición de fase del DUPC	58
Figura 5.5	APL durante la transición de fase del DSPC.	60
Figura 5.6	APL promedio durante la transición de fase del DSPC.	61
Figura 5.7	APL durante la transición de fase del DOPC.	62
Figura 5.8	APL del DOPC durante la transición de fase.	63
Figura 5.9	APL durante la transición de fase del sistema DUPC.	64
Figura 5.10	APL durante la transición de fase del sistema DUPC.	65
Figura 5.11	Densidad electrónica durante la transición de fase del DSPC.	66

Figura 5.12	Densidad de Masa durante la transición de fase del Sistema DOPS.	67
Figura 5.13	Densidad de Masa durante la transición de fase del Sistema DUPS.	68
Figura 5.14	Espesor de la bicapa lipídica para el sistema DSPC.	69
Figura 5.15	Espesor de la bicapa durante la transición de fase del sistema DOPC.	70
Figura 5.16	Espesor de la bicapa durante la transición de fase del sistema DUPC.	71
Figura 5.17	Parámetro de Orden durante la transición de fase del DSPC.	72
Figura 5.18	K_A durante la transición de fase del sistema DSPC.	73
Figura 5.19	Módulo de compresibilidad de la bicapa lipídica durante la transición de fase del sistema DOPC.	74
Figura 5.20	Módulo de compresibilidad de la bicapa lipídica durante la transición de fase del sistema DUPC.	75
Figura 5.21	Módulo de Rigidez para el sistema DSPC	76
Figura 5.22	Módulo de Rigidez para el sistema DOPC	77
Figura 5.23	Módulo de Rigidez para el sistema DUPC	78
Figura 6.1	Comparativo de bicapas lipídicas multicomponentes.	81
Figura 6.2	APL del sistema 1: 100 % DSPC.	83
Figura 6.3	APL del sistema 2: 66 % DSPC, 33.33 % DOPC	84
Figura 6.4	APL del sistema sistema 3: 33.33 % DSPC, 33.33 % DOPC, 33.33 % DUPC	85
Figura 6.5	APL del sistema 4: 100 % DUPC.	86
Figura 6.6	APL de los lípidos en cada sistema.	87
Figura 6.7	K_A de sistemas multicomponentes.	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1	Archivos de entrada para la simulación	30
Tabla 3.2	Archivos de salida de la simulación	30
Tabla 3.3	Validación del Campo de fuerza	33
Tabla 4.1	Fosfatidilcolinas con cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.	35
Tabla 4.2	Fosfatidilcolinas con variación en la longitud de las cadenas carbonadas monoinsaturadas.	36
Tabla 4.3	Temperaturas de transición de fase de bicapas lipídicas.	38
Tabla 4.4	Área por lípido promedio de bicapas de lípido de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.	40
Tabla 4.5	Área por lípido promedio de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas insaturadas.	40
Tabla 4.6	Espesor de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.	45
Tabla 4.7	Espesor de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas insaturadas de diferentes longitudes.	45
Tabla 4.8	Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.	48
Tabla 4.9	Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.	48
Tabla 4.10	Módulo de Rigidez de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.	50
Tabla 4.11	Módulo de Rigidez K^b de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas de diferentes longitudes.	51
Tabla 5.1	Temperaturas para observar el comportamiento de fase de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas (a) saturadas (b) monoinsaturadas (c) diinsaturadas.	54
Tabla 5.2	APL promedio del sistema DSPC: cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas.	61
Tabla 5.3	Área por Lípido del sistema DOPC: cadenas carbonadas monoinsaturadas a diferentes temperaturas.	63
Tabla 5.4	APL durante la transición de fase del DUPC.	65
Tabla 5.5	Espesor de las bicapas calculadas como la distancia entre picos en los respectivos gráficos de densidad electrónica.	69
Tabla 5.6	Espesor de la bicapa lipídica del sistema DOPC de cadenas carbonadas monoinsaturadas a diferentes temperaturas.	70

Tabla 5.7	Espesor de la bicapa lipídica del sistema DUPC de cadenas carbonadas diinsaturadas a diferentes temperaturas.	71
Tabla 5.8	Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas.	73
Tabla 5.9	Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos DOPC de cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas.	74
Tabla 5.10	Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos DUPC de cadenas carbonadas diinsaturadas a diferentes temperaturas.	75
Tabla 5.11	Módulo de Rigidez K^b para el sistema DSPC.	76
Tabla 5.12	Módulo de Rigidez K^b para el sistema DOPC.	77
Tabla 5.13	Módulo de Rigidez K^b para el sistema DUPC.	78
Tabla 6.1	Composición porcentual de los sistemas multicomponentes simulados.	80
Tabla 6.2	T_m de bicapas lipídicas monocomponentes.	80
Tabla 6.3	Temperaturas de simulación para bicapas multicomponentes descritas en la table 6.1.	80
Tabla 6.4	APL del sistema 1: 100 % DSPC.	84
Tabla 6.5	APL promedio sistema multicomponente 2.	84
Tabla 6.6	APL del sistema 3 a diferentes temperaturas	85
Tabla 6.7	APL sistema multicomponente 4.	86

ABREVIATURAS

DM	Dinámica Molecular.
DSC	Calorimetría diferencial de barrido.
T_m	Temperatura de transición de fase de bicapas lipídicas.
APL	Área por lípido.
PC	Fosfatidilcolina.
DDPC	1,2-Didecaoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
DCPC	1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
DLPC	1,2-Dilinoleoil-sn-glicero-3-fosfocholina.
DPPC	1,2-Dipalmitoil-sn-glicerol-3-fosfocolina.
POPC	1,2-Dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
DMPC	1,2-Dimiristoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
DSPC	1,2-Distearoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
DOPC	1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
DUPC	1,2-Dilinoleil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina.
MM	Mecánica molecular.
NVT	Ensamble canónico NVT.
NPT	Ensamble canónico NPT.

INTRODUCCIÓN

Las membranas forman una parte fundamental de las células al permitir la separación entre los dos medios acuosos. Estas regulan, mediante su permeabilidad selectiva, cuáles sustancias entran y salen de la célula; también generan gradientes de iones permitiendo a los seres vivos generar energía y adicionalmente, controlan el flujo de mensajes entre las células, procesando información en forma de señales eléctricas [1].

Las membranas están constituidas fundamentalmente por una mezcla compleja de variedades de lípidos, ensamblados asimétricamente [2] y en forma de bicapa [3], que además incorporan otras moléculas no lipídicas como proteínas y azúcares. Tales componentes se encuentran en constante movimiento a diferentes escalas de tiempo y distancia, siendo más líquidas que sólidas [2]. Las bicapas lipídicas, por su parte, en fase líquido cristalino, L_α o fase líquido desordenado L_d , son generalmente consideradas relevantes para modelos de membranas biológicas [4].

Diversos métodos experimentales, tales como técnicas de microscopía, difracción y calorimetría son usadas en la caracterización de propiedades fisicoquímicas de las bicapas y la acumulación de evidencias sobre el estado físico de las membranas consolidaron el modelo de bicapa para las membranas biológicas [2]. No obstante, debido al carácter fluido que presentan [5], las técnicas computacionales han sido aplicadas en los últimos años a su estudio, mediante simulaciones de bicapas lipídicas.

La Dinámica Molecular (MD) es una técnica computacional usada para la simulación de bicapas, pues ofrece resolución a escala atómica y molecular, lo cual permite entender fenómenos a nivel molecular y escalas espaciales y temporales difíciles de acceder experimentalmente. Por tanto, los resultados obtenidos a partir de (MD) pueden dar soporte y complemento a información obtenida de forma experimental. Adicionalmente, pueden ser utilizados para abordar preguntas específicas sobre las propiedades de un sistema modelo a menudo más fácilmente que los experimentos en el sistema real [6].

Existen múltiples limitaciones al considerar las bicapas lipídicas como modelos de membranas biológicas, en primer lugar, la complejidad de los sistemas reales, los cuales además de tener muchos componentes lipídicos y no lipídicos, son sistemas macro moleculares con cantidades de moléculas del orden de magnitud del número de Avogadro. Tales características, generan cierta imposibilidad computacional a la

hora de abordar sistemas reales. En segunda instancia, las simulaciones mediante Dinámica Molecular se ven limitadas debido al uso de un campo de fuerza que de cuenta de las interacciones intermoleculares, pues a menudo, seleccionarlo puede ser complicado.

Partiendo de parámetros de simulación obtenidos en investigación conjunta entre los grupos de investigación (CIBIOP) y (GEMA) en la Universidad EAFIT; este trabajo pretende profundizar en la modelación de bicapas lipídicas, evaluando la influencia de características de las cadenas carbonadas en las propiedades estructurales y el comportamiento de fase.

En este trabajo se construyen diferentes sistemas teniendo en cuenta algunas variaciones en las cadenas carbonadas de fosfatidilcolina: longitud e insaturación, con el fin de explorar la influencia de estos factores en las propiedades elásticas y el comportamiento de fase de las bicapas lipídicas aplicando la DM con el campo de fuerza CHARMM-36. Se aborda el cálculo de propiedades estructurales de bicapas de acuerdo a la longitud e insaturación de la cadena, transición de fase de bicapas monocomponentes saturadas, monoinsaturadas y diinsaturadas. Además, sistemas multicomponentes simétricos y asimétricos con composición creciente de grado de insaturación en las cadenas carbonadas de los lípidos.

MARCO TEÓRICO

En este capítulo se describe el marco teórico, conceptual y el estado del arte del estudio de las bicapas lipídicas como modelos de membranas biológicas mediante la DM como técnica computacional. En primer lugar se introduce la importancia de las membranas biológicas y los aspectos relevantes que pueden ser abordados a través de métodos computacionales como complemento a los estudios experimentales que establecen el campo de estudio. Seguidamente se desarrollan en mayor detalle los modelos físicos, químicos y matemáticos que constituyen la DM. Finalmente, se describen los modelos que permiten el cálculo de las propiedades que se estudiarán de las bicapas lipídicas.

2.1 MEMBRANAS BIOLÓGICAS

Las membranas biológicas permiten la vida tal y como la conocemos [1], ellas encapsulan las células y su interior [7] permitiendo organelas discretas que desempeñan funciones biológicas particulares y diversas [8], a la vez que regulan gran cantidad de procesos biológicos tales como generación de energía, control del flujo de mensajes entre células, entre otros. También participan en procesos de fisión y fusión, rasgos fundamentales para la división celular [9].

El concepto de membrana biológica fue desarrollado a partir del siglo XIX. En 1825, Overton sugirió que la célula tenía una barrera de carácter hidrofóbico que delimitaba el medio exterior. En 1925, Gorter y Grendel propusieron que los lípidos forman bicapas en contacto con el agua. En 1950, Robertson propuso una estructura de tres capas, donde dos de estas capas eran proteínas que se unían a una capa de lípidos ubicada en el medio de éstas [10]. Años más tarde, Lenard y Singer sugirieron un modelo de membrana, en el que las proteínas no solo se encontraban ancladas a las superficies de estas estructuras lipídicas, sino que también se encontraban embebidas en ellas. En 1972 Singer y Nicolson, describieron las membranas biológicas mediante el modelo del "Mosaico fluido"[11]. En este modelo, las membranas biológicas se componen de una mezcla compleja de lípidos, proteínas y carbohidratos.

A partir del modelo del mosaico fluido, la función de las membranas biológicas no se limita a una de barrera de separación, sino que tiene un rol dinámico que le permite desempeñar

funciones diversas y vitales para el mantenimiento de las células, es decir, se comporta como una barrera selectiva a diferentes tipos de sustancias.

2.1.1 *Características y estructura de las membranas biológicas*

Las membranas biológicas están constituidas, en mayor proporción por lípidos ordenados en forma de bicapa, debido a su carácter anfipático. Existen 3 clases de lípidos de membrana: glicerofosfolípidos, esfingolípidos y esteroides [1]. Los glicerofosfolípidos se componen de cadenas de ácidos grasos esterificados con una molécula de glicerol y luego a un grupo fosfato, el cual le proporciona la componente polar a la molécula. Los esfingolípidos, por otra parte, contienen un azúcar enlazado al grupo glicerol, a diferencia de los fosfolípidos. Finalmente, los esteroides están conformados por un grupo Hidroxilo, como componente polar de la molécula, el cual se encuentra enlazado al sistema aromático de 4 anillos que lo forma.

2.1.2 *Comportamiento termotrópico*

La unidad estructural de las membranas, se forma mediante el ensamble en forma de bicapa de los lípidos. Estos autoensambles se pueden dar de diversas formas dando lugar a diferentes fases. La formación de dichas fases dependen de la estructura química de las bicapas y de variables externas como la concentración de los lípidos en la fase acuosa y la temperatura [12]. Las fases están relacionadas entre sí y se transforman unas en otras mediante transiciones impulsadas por variaciones en el ambiente físico y químico. Principalmente, el comportamiento termotrópico se analiza mediante la calorimetría diferencial de barrido (DSC), pues permite la determinación de las transiciones de fase para membranas compuestas de lípidos puros y de mezclas de lípidos, además es posible calcular las temperaturas de transición de fase (T_m) y las entalpías de transición para fases lamelares. En la figura 2.1 se observan diferentes fases en las que se puede conformar un sistema de lípidos y agua, cada una se caracteriza por la forma en la que se ordenan los lípidos individuales y su empaquetamiento.

Las transiciones de fase, se dan de acuerdo a las fuerzas de interacción entre las moléculas, y las distintas conformaciones que difieren en propiedades físicas, tienen además diferente relevancia fisiológica. En términos generales, la fase lamelar subgel o líquido-ordenado (L_c) se transforma en una fase lamelar gel (L_β), ésta sucesivamente toma una estructura lamelar líquido-cristalina (L_α).

2.1.3 *Estudios experimentales de membranas biológicas*

Tradicionalmente, técnicas como Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno, Difracción de Rayos X, Difracción de Neutrones, entre otras [14], han sido esenciales para elucidar la composición lipídica de las membranas y su conformación estructural de bicapa. Por

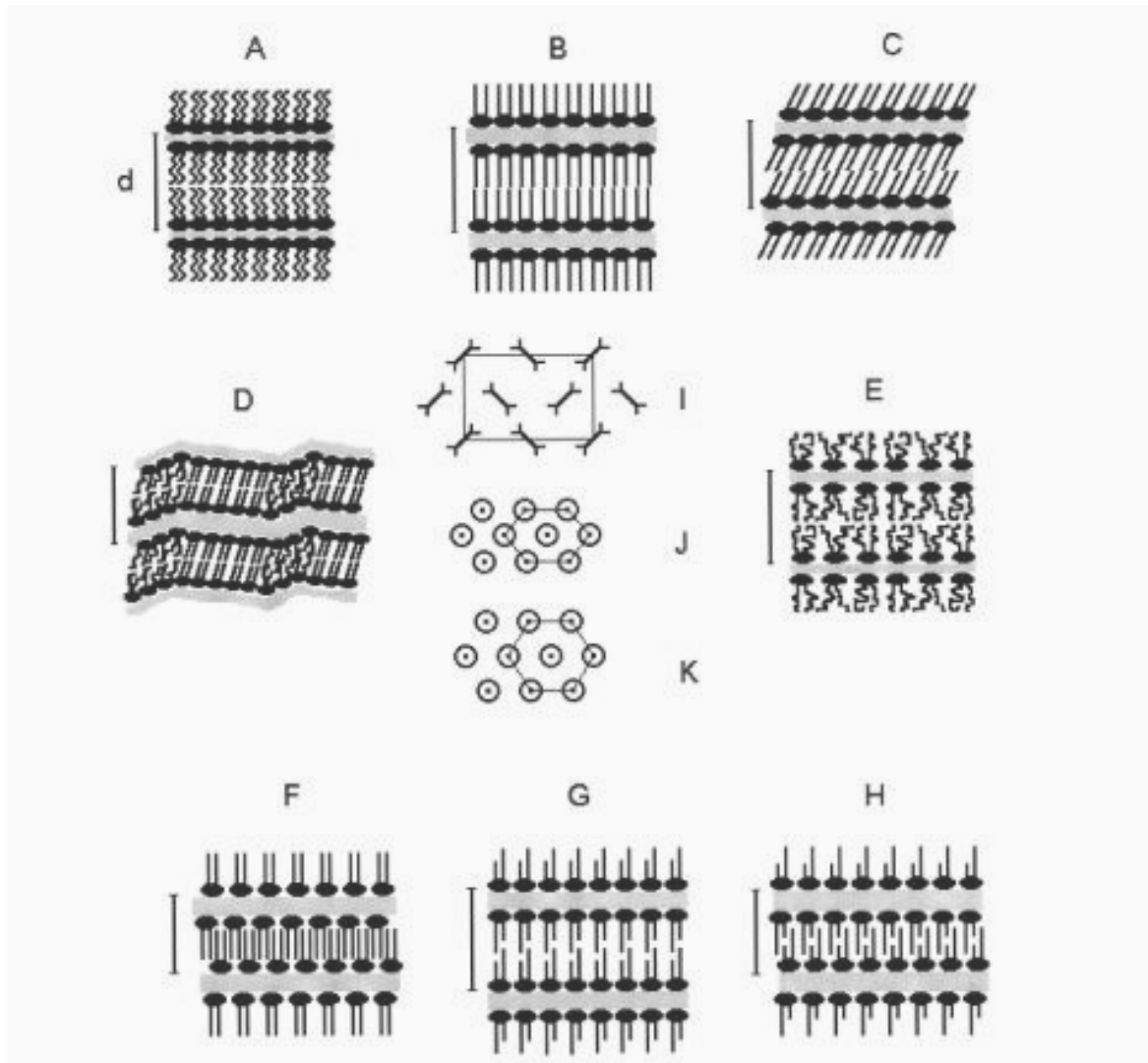


Figura 2.1: Esquema de diferentes fases lamelares encontradas en sistemas de fosfatidilcolinas y agua. Subgel L_c (A); gel L_β , (B); gel en cadenas inclinadas $L_{\beta'}$, (C); gel ondulado $P_{\beta'}$ (D); cristal líquido L_α (E); gel interdigitado L_β^{int} (F); gel completamente interdigitado (G); gel parcialmente interdigitado (H). Vista de una sección transversal de arreglos en diversos modos de empaquetamiento de cadenas hidrocarbonadas, vista desde abajo a lo largo de la cadena: ortorrómbica (I); cuasi-hexagonal (J); hexagonal (K). Tomado de [13]

otra parte, los métodos calorimétricos como Calorimetría Diferencial de Barrido [15] y Análisis Termogravimétrico, han permitido estudiar las propiedades referentes al comportamiento térmico de las membranas. Técnicas instrumentales de caracterización, como la Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier FTIR se han aplicado a la determinación de cambios de fase en bicapas lipídicas [16].

Otras técnicas complementarias, como la Espectroscopia de Resonancia Paramagnética, RSE han permitido obtener información sobre la influencia que tienen moléculas externas a la bicapa, como el colesterol en su comportamiento [17]. Sin embargo, dada la complejidad estructural, composicional y dinámica de estas unidades biológicas, no ha sido posible entender o modelar teóricamente su comportamiento biológico.

A pesar de los numerosos avances instrumentales, y la aplicación de éstos al estudio de las bicapas lipídicas, existen varios fenómenos que se presentan a nivel de la membrana y cuyos rangos en longitud y escala de tiempo [18] son imposibles de reproducir mediante experimentos reales, las fluctuaciones en composición de una región a otra en una bicapa, por ejemplo, es del orden de los ns, donde nuestro nivel de comprensión de las membranas se limita y se hace necesaria la búsqueda de formas alternativas para estudiarlas.

2.2 SIMULACIONES COMPUTACIONALES DE BICAPAS LIPÍDICAS

Los modelos computacionales han emergido como una poderosa alternativa y complemento para entender los fenómenos moleculares que gobiernan ciertos sistemas biológicos, dadas algunas limitaciones de los métodos experimentales para acceder a las nanoescalas en las que ocurren diferentes eventos en las células. En la figura 2.2 se observan fenómenos celulares que son abordados mediante técnicas computacionalmente que ofrecen la resolución adecuada. (a) la resolución de la mecánica cuántica permite explorar las conformaciones moleculares internas y estudiar los procesos que involucran rupturas de enlaces, (b) los modelos de todos los átomos se usan para describir las redes de enlaces de Hidrógeno y las interacciones detalladas del empaquetamiento lípido-lípido, lípido-proteína y proteína-proteína (c) la resolución de grano grueso (coarsed-grained) explora la distribución dinámica a gran escala de lípidos y proteínas, y la separación de fases lipídicas (d) Escalas más grandes, como la organización de proteínas mediada por lípidos y el modelado de células completas, requiere una resolución supragruesa o (e) un modelo continuo.

En los modelos de todos los átomos (All-Atom, AA), cada átomo del sistema se encuentra explícito, por otra parte, los modelos de grano grueso (Coarse-grained, CG) combinan grupos de átomos para así, minimizar la cantidad de interacciones, logrando una simulación menos costosa computacionalmente.

2.2.1 *Dinámica Molecular*

Las simulaciones mediante DM se han convertido en una importante herramienta en el estudio de biomoléculas, pues ofrecen resolución a escala atómica para diferentes sistemas, permitiendo dar soporte teórico a mecanismos biomoleculares a escalas espaciales y temporales que son difíciles de observar experimentalmente[6], como se ha mencionado anteriormente.

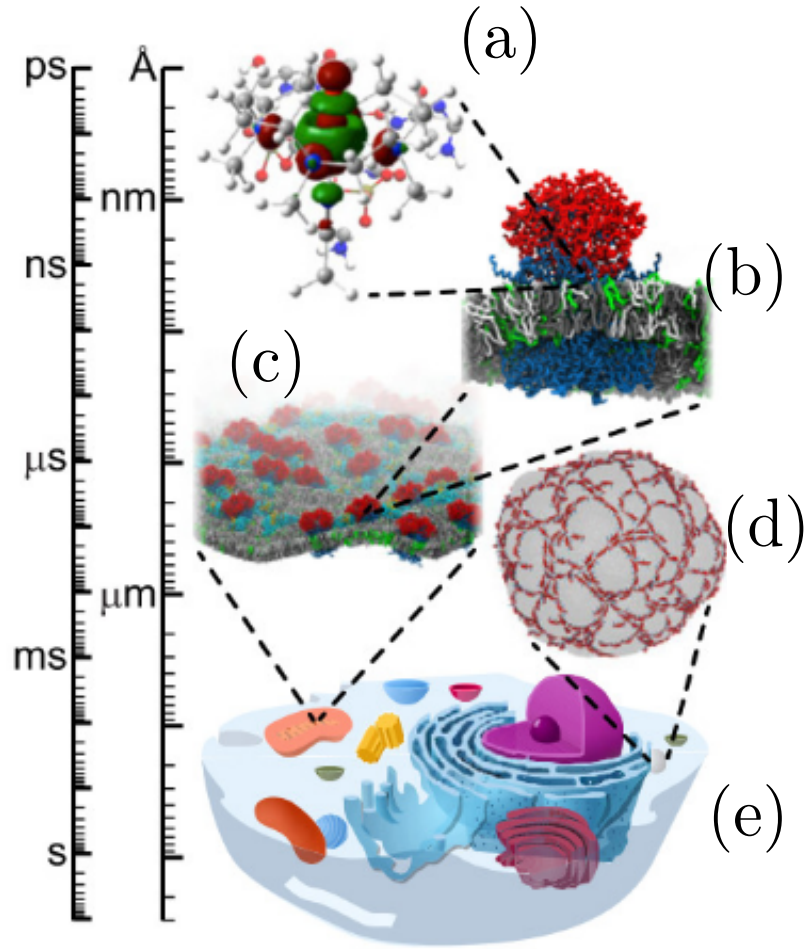


Figura 2.2: Escalas de simulación: (a) Cuántica; (b) Todos los átomos; (c) Grano grueso; (d) Supra grano grueso; (e) Continua.

La DM se basa en principio, en la resolución numérica de la segunda ley de Newton para el movimiento, de un grupo de moléculas o átomos, como se muestra en la ecuación 2.1, donde \mathbf{r}_i es la posición de la partícula en un tiempo t y \mathbf{F}_i es la fuerza momentánea sobre cada átomo obtenida a partir de un potencial de interacción, ecuación 2.2.

$$\mathbf{F}_i = m \frac{\partial^2 \mathbf{r}_i}{\partial t^2}, \quad (2.1)$$

A partir de posiciones y velocidades iniciales para cada átomo, y con un conjunto de reglas que describan cómo ocurren las interacciones en el ensamble mediante el potencial de interacción (campo de fuerza), es posible calcular para cada instante, la aceleración de cada átomo, y así, calcular las nuevas posiciones y velocidades. Tal proceso es iterado, obteniendo la evolución temporal del sistema molecular.

$$\mathbf{F}_i = -\nabla_{\mathbf{r}_i} U(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2 \dots \mathbf{r}_N) \quad (2.2)$$

Además, la DM permite recrear el comportamiento de un sistema de acuerdo a estímulos como por ejemplo de temperatura y presión [19].

2.2.2 Campo de fuerza

Como ya se mencionó, La DM requiere de un potencial que describa todas las interacciones entre el sistema, también llamado campo de fuerza.

El campo de fuerza describe matemáticamente la dependencia de la energía potencial de un sistema con respecto a las coordenadas de las partículas y consiste en la forma analítica de los potenciales de interacciones interatómicos [19].

La mayoría de los campos de fuerzas, descomponen las interacciones entre aquellas que son covalentes y las que no son covalentes. Las primeras corresponden a los átomos que se encuentran químicamente enlazados, y son modelados como una serie de enlaces armónicos, ángulos y potenciales dihedrales entre los átomos. Las interacciones no covalentes, por otra parte, son modeladas como pares de potenciales debido a interacciones electrostáticas, de acuerdo a la ley de Coulomb, e interacciones de Van der Waals, aproximadas con potenciales de Lennard Jones, ecuación 2.3 [18].

$$\begin{aligned}
 \mathbf{U} = & \sum_{\text{enlace}} \frac{k_r}{2} (r - r_q)^2 + \sum_{\text{angulo}} \frac{k_\theta}{2} (\theta - \theta_{eq})^2 \\
 & + \sum_{\text{torsion}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \\
 & + \sum_{\text{vdW}} \frac{a_{AB}}{r_{AB}^{12}} - \frac{b_{AB}}{r_{AB}^6} + \sum_{\text{elect}} \frac{q_A q_B}{4\pi\epsilon_0 r_{AB}}
 \end{aligned} \tag{2.3}$$

Los primeros campos de fuerza, fueron creados en los años 60, con el desarrollo de la Mecánica molecular MM, para predecir estructuras moleculares, espectros vibracionales y entalpías de formación de moléculas aisladas [20], luego se fueron orientando hacia el estudio de pequeñas moléculas orgánicas. Progresivamente, se fueron extendiendo hacia el estudio de moléculas orgánicas funcionalizadas, como alcoholes, éteres, sulfuros, etc. Finalmente, los campos de fuerza han evolucionado hasta dar cuenta de sistemas mucho más complejos, incluyendo ensambles moleculares, ácidos nucleicos y proteínas. Algunos de los campos de fuerza más usados son: CHARMM [21], AMBER [22], GROMOS [23], OPLS [24].

2.2.3 Validación y comparación de campos de fuerza

Después de seleccionar un campo de fuerza para realizar una simulación, surge una pregunta importante ¿Que tan acertada es la descripción de un sistema real realizada con un campo de fuerza? [25]; pues la mala elección de un campo de fuerza puede conducir a resultados y análisis erróneos. Por tanto, para responder la pregunta, surge el concepto de validación.

La validación consiste en la comparación de resultados de la simulación con resultados experimentales para un modelo establecido. Los parámetros de validación más usados tradicionalmente son: el área por lípido, espesor de la bicapa, densidad electrónica y el parámetro de orden. Sin embargo, sigue en aumento la búsqueda de nuevas metodologías y protocolos para garantizar la habilidad computacional para reproducir resultados experimentales [26], incluso algunos, mediante el uso de Difracción de Rayos X. Si bien las simulaciones computacionales se presentan como una gran fuente de conocimiento a la hora de estudiar el comportamiento dinámico de una bicapa lipídica y aplicarlo como un modelo de membrana, debe tenerse claro que también presentan grandes limitaciones. Las membranas biológicas son muy complejas en cuanto a su composición y dinámica intrínseca, por tanto, pueden presentarse imprecisiones con respecto al ensamble molecular que se selecciona. Por otra parte, el campo de fuerzas y el algoritmo de integración podrían no representar bien las interacciones y dinámicas reales. Es decir, que realizar simulaciones y usarlas para explicar fenómenos fisicoquímicos y biológicos, no es una tarea sencilla y debe hacerse rigurosamente.

2.2.4 *Avances en la Universidad EAFIT*

En la tesis de Maestría en Física Aplicada presentada por Valderrama-Maya Margarita, denominada: Modelación de bicapas lipídicas y análisis de sus propiedades físicas mediante Dinámica Molecular, se desarrollaron simulaciones computacionales vía Dinámica Molecular de sistemas complejos de bicapas lipídicas. Se construyeron 72 modelos de bicapas monocomponentes de los fosfolípidos DPPC, variando la proporción entre la cantidad de moléculas de éste lípido y agua. Posteriormente se compararon los campos de fuerza de CHARMM-36 y SLIPID con el fin de seleccionar el campo de fuerza que mejor se ajustara al ensamble molecular, de lo cual se concluyó que el campo de fuerzas CHARMM-36 es más adecuado. Seguidamente, se simuló el comportamiento termotrópico para el sistema monocomponente de DPPC entre 293.15 y 328.15 K, lo cuál arrojó el comportamiento de fase y las propiedades estructurales y dinámicas correspondientes a cada fase. Adicionalmente, se han determinado las propiedades dinámicas, físicas y estructurales para sistemas multicomponentes, donde se varió las proporciones de esfingomiélna, colesterol, fosfatidilcolina, fosfatidietanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol. Las simulaciones fueron realizadas empleando el software GROMACS-5.1 y los resultados fueron validados con resultados experimentales a partir de la literatura.

METODOLOGÍA COMPUTACIONAL

En este capítulo se expone la metodología general que se empleó para llevar a cabo las simulaciones mediante dinámica molecular y el análisis de resultados.

En principio se describe el proceso para obtener la dinámica molecular de un ensamble de lípidos en Gromacs, a partir de los archivos de entrada obtenidos de Charm-gui. Seguidamente, los detalles computacionales que permitieron la obtención de los resultados y finalmente, la metodología empleada en análisis de propiedades estructurales y elásticas: Área por lípido, parámetro de orden, espesor, módulo de compresibilidad y módulo de rigidez.

3.1 METODOLOGÍA GENERAL

La metodología general para llevar a cabo simulaciones computacionales mediante dinámica molecular, se observa en el diagrama de flujo de la figura 3.1. Para ejecutar cada simulación, en el paso 1 se emplearon archivos de entrada mostrados a partir de la plataforma web *Charmm-gui* [27]. Los sistemas se construyeron con composiciones de lípidos, según el caso, como se describirán en los capítulos posteriores, con un total de 300 lípidos por bicapa, 150 por cada monocapa; y 40 moléculas de agua por cada lípido. Esta cantidad y proporción de lípidos se empleó según la optimización del tamaño del sistema obtenido anteriormente en el grupo **CIPIOP**[28]. Luego de dar los datos de entrada en la plataforma: Numero de molécula de lípido, Número de moléculas de agua, identidad de los lípidos, cantidad e identidad de lípidos por cada monocapa, temperatura de simulación, tipo de ensamble, campo de fuerza, adición de iones, y tipo de software donde se ejecutaría la dinámica, se obtuvieron los archivos de entrada mostrados en la tabla 3.1. Seguidamente, en el paso 2 los archivos de entrada se se ejecutan en el centro de computación científica Apolo de la Universidad Eafit, donde se ejecutaron las dinámicas con el *software* **Gromacs 5.1** y **Gromacs 2021** [29]. La dinámica generó los archivos observados en la tablas 3.2 los cuales fueron descargados y posteriormente procesados para calcular los resultados.

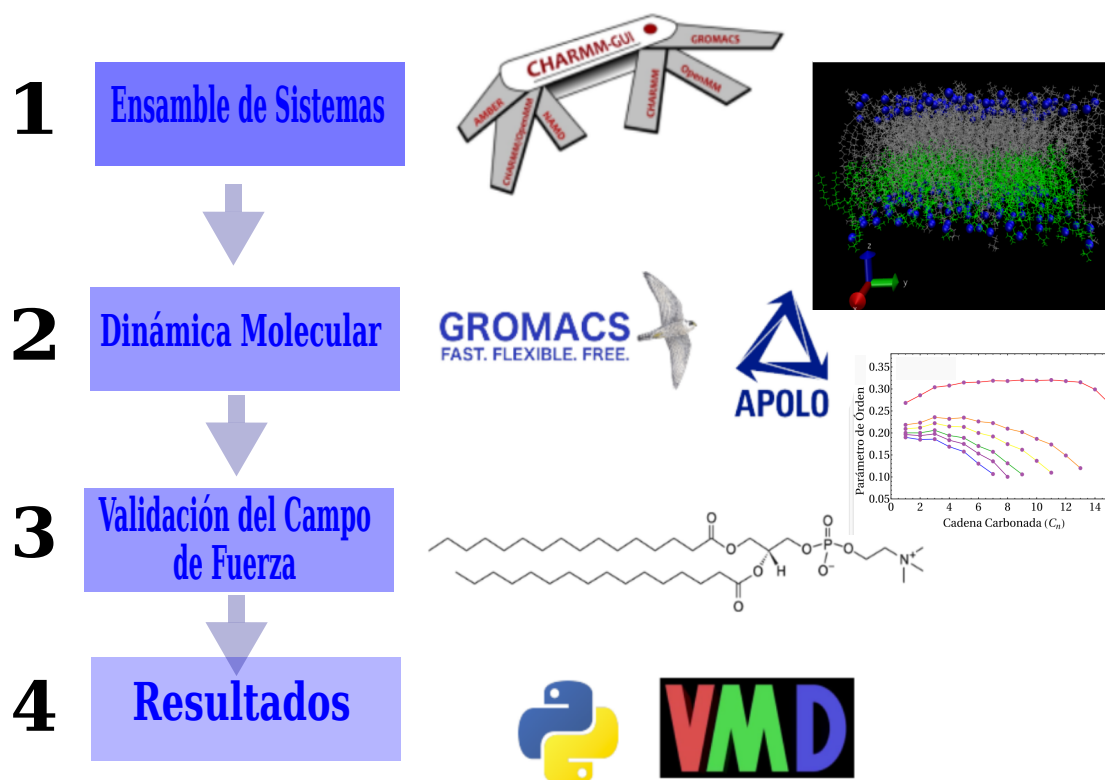


Figura 3.1: Diagrama de flujo de la metodología computacional.

Mínimización	Equilibración	Dinámica
step5_input.pdb step5_input.psf step6.0_minimization.mdp	step6.1_equilibration.mdp step6.2_equilibration.mdp step6.3_equilibration.mdp step6.4_equilibration.mdp step6.5_equilibration.mdp step6.6_equilibration.mdp	step7_production.mdp topol.top

Tabla 3.1: Archivos de entrada para la simulación

Archivo	Tipo
step7.edr	Energía
step7.trr	Trayectoria
step7.tpr	Topología

Tabla 3.2: Archivos de salida de la simulación

Una vez terminadas las simulaciones, se procede a validar el campo de fuerza en el paso 3 del la Figura 3.1. Algunos de los cálculos obtenidos computacionalmente, particularmente

los sistemas que han sido estudiados también experimentalmente, se comparan con datos obtenidos en la literatura y se calcula el porcentaje de error, Ecuación . De esta forma se verifica que el modelo está representando el sistema real y es posible sacar algunas conclusiones a partir de las simulaciones.

Si se obtiene porcentajes de error aceptables, se procede a realizar los demás cálculos deseados.

$$\% \text{ error} = \frac{|X_{\text{experimental}} - X_{\text{simulado}}|}{X_{\text{experimental}}} \cdot 100 \quad (3.1)$$

3.2 DETALLES COMPUTACIONALES

La minimización se llevó a cabo con el algoritmo de integración "*Steepest Descent*" durante 5000 pasos, para la equilibración se estableció un ensamble **NVT** para los dos primeros pasos, y un ensamble **NPT** para los 4 restantes a una temperatura de 323.15 K con el termostato *Berendsen*. La dinámica se estableció con un sistema **NPT** a diferentes temperaturas de acuerdo con el sistema particular, el termostato *Nose-Hover* y presión de 1 bar con el barostato *Parinello-Rahman*. Se usaron condiciones de frontera periódicas y la malla de partículas de *Ewald* para el cálculo de interacciones electrostáticas. Se empleó el algoritmo de de cambio de fuerza para las interacciones *Lennard-Jones* con radio de corte entre 1.0 y 1.2 nm. Tanto la equilibración, como la dinámica, fueron ejecutados con el algoritmo de integración "*leap frog*", y las restricciones mediante el algoritmo *Lincs* con un tiempo de paso de 2 fs, 5 veces el tiempo de una vibración de un enlace de hidrógeno [18]. Finalmente, el tiempo de la dinámica se estableció para cada tipo de simulación de acuerdo al tipo de sistema que se deseaba estudiar.

3.3 ANÁLISIS DE DATOS

Para caracterizar las bicapas simuladas a partir de las dinámicas obtenidas se emplearon medidas estructurales y elásticas. Además, se visualizó la evolución temporal de las mismas. A continuación se describe el cálculo de las propiedades mencionadas.

3.3.1 Área por lípido

- El área por lípido para sistemas monocomponentes se calculó con la ecuación 3.2, donde A_{xy} representa el área de la caja en el plano xy , y N_L representa el número de lípidos en cada monocapa.

$$A_L = \frac{A_{xy}}{2N_L} \quad (3.2)$$

- En el caso de sistemas multicomponentes, se usó la herramienta **APL@voro** [30]. Un programa desarrollado para analizar trayectorias de simulaciones de membranas ejecutadas en **Gromacs**. El programa lee archivos .pdb y .trr o .xtc, a partir de los cuales genera un polígono de polígonos de voronoi para cada lípido, con la ayuda de un grupo de átomos seleccionados, de acuerdo al sistema. Finalmente, se calcula el área por lípido proyectado, y el espesor. Los cálculos y diagramas pueden visualizarse en gráficos 2D y 3D en representaciones interactivas [31].

3.3.2 Parámetro de Orden

El parámetro de orden de deuterio, $(-S_{sd})$ mide el grado de orden en las cadenas carbonadas que forman el interior hidrofóbico de la bicapa. Con el promedio de todos los lípidos en el tiempo se calcula θ , el ángulo entre el vector C-H de un átomo de carbono en la cadena carbonada y el vector normal de la bicapa. Este parámetro de orden se obtiene usando la ecuación 3.3

$$-S_{sd} = \frac{1}{2} \langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle, \quad (3.3)$$

con el módulo de análisis gmx order y el archivo de topología step7.tpr que se indica en la tabla 3.2.

3.3.3 Densidad Electrónica

Esta propiedad fue calculada usando la herramienta *Gmx density* del software GROMACS, la cual calcula la distribución promedio de electrones a través del eje normal a la bicapa. Para lograr este objetivo, en cada paso de la trayectoria, el eje z se divide en 500 partes y se calcula el número de electrones para cada división.

3.3.4 Espesor

El espesor se calculó de acuerdo a la distancia entre dos máximos de densidad electrónica para la parte lipídica del sistema. Estos máximos se dan en la región longitudinal del lípido donde se encuentra el grupo fosfato. En la figura 3.2 se observa la región correspondiente, a partir del cual se calcula el espesor.

3.3.5 Módulo de Compresibilidad

El módulo de compresibilidad se obtuvo mediante las fluctuaciones en el área por lípido calculado como la desviación estándar, usando la ecuación 3.4, donde T es la temperatura en kelvin, K_B es la constante de Boltzman, $\sigma^2(A_L)$ es el desplazamiento cuadrático medio del área por lípido.

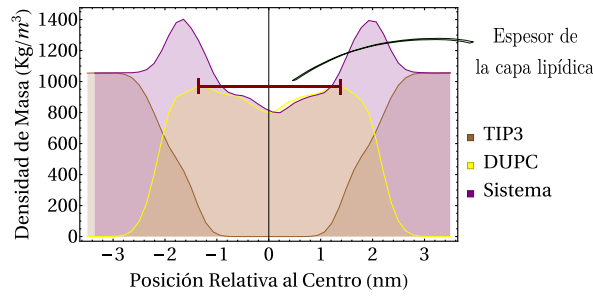


Figura 3.2: Para obtener los espesores de las bicapas se toma la distancia entre dos máximos de densidad electrónica para la parte lipídica del sistema.

$$K_A = \frac{2K_B T \langle A_L \rangle}{\sigma^2(A_L)} \quad (3.4)$$

3.3.6 Módulo de Rigidez

El módulo de rigidez se calculó a partir de los valores obtenidos para el K_A y el espesor de la bicapa DB usando la ecuación 3.5

$$K^B = \frac{K_A DB}{24} k_B T \quad (3.5)$$

3.4 VALIDACIÓN DEL CAMPO DE FUERZA

Para corroborar el campo de fuerza, es decir, verificar que se empleó un modelo físico de interacciones intermoleculares que puede representar satisfactoriamente los sistemas a simular, se usó una bicapa construida con un lípido ampliamente estudiado experimentalmente: el DPPC. Para la validación se compararon las propiedades calculadas mediante los resultados de la simulación con valores obtenidos a partir de experimentos reportados en la literatura. Se calcularon el área por lípido, el parámetro de orden y el espesor de la bicapa. Los resultados se observan en la Tabla 3.3

Propiedad	Valor simulado	Valor Experimental	% Error
Área por lípido (nm^2)	0.61	0.63	3.17
Espesor (nm)	3.78	3.8	0.53
Módulo de Compresibilidad	231	189.5	21.90
Módulo de Rigidez	16.7	13.68	22.07

Tabla 3.3: Validación del Campo de fuerza

4

INFLUENCIA DE LA LONGITUD DE LA CADENA EN EL COMPORTAMIENTO ELÁSTICO DE BICAPAS DE CADENA SATURADA Y MONOINSATURADA

Muchas de las cadenas carbonadas de los fosfolípidos en las membranas celulares son saturadas, sólo presencia de enlaces simples C-C, y monoinsaturadas, un enlace doble entre dos carbonos. Sin embargo, muchas de las membranas ricas en lípidos poliinsaturados se encuentran en ciertos tejidos animales, como en el tejido cerebral, por ejemplo, y las longitudes de las cadenas varían significativamente [32]. En este capítulo se estudia la influencia de la longitud de la cadena carbonada en las propiedades estructurales y elásticas de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas y monoinsaturadas.

4.1 SISTEMAS LIPÍDICOS

Se ensamblaron bicapas a través de la plataforma Charmm-gui [27] siguiendo la metodología explicada en el Capítulo 3. Las bicapas se simularon a una temperatura de 323.15 K, con un tiempo de dinámica de 500 ns. Se construyeron en total 11 bicapas con lípidos de diferentes longitudes de cadena carbonada lateral, entre saturados y monoinsaturados como se muestra a continuación:

1. Bicapas de lípidos con cadenas carbonadas saturadas:

Se estudiaron sistemas compuestos con fosfatidilcolinas con cadenas carbonadas entre 10 y 18 átomos de carbono. Los lípidos se observan en la Tabla 4.1.

Lípido	Cadena Carbonada (C_n)
DDPC	10:0/10:0
DCPC	11:0/11:0
DLPC	12:0/12:0
DMPC	14:0/14:0
DPPC	16:0/16:0
DSPC	18:0/18:0

Tabla 4.1: Fosfatidilcolinas con cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

2. Bicapas con lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas:

Los sistemas monoinsaturados comprenden bicapas entre 14 y 22 carbonos con una insaturación en el carbono N°9. Los lípidos se observan en la Tabla 4.2.

Lípido	Cadena Carbonada (C_n)
DRPC	14:1 / 14:1
DYPC	16:1 / 16:1
DOPC	18:1 / 18:1
DGPC	20:1 / 20:1
DEPC	22:1 / 22:1

Tabla 4.2: Fosfatidilcolinas con variación en la longitud de las cadenas carbonadas monoinsaturadas.

4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2.1 Área por lípido

En la Figura 4.1 se observan los gráficos de área por lípido para cada uno de los 6 sistemas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas simulados. Dado que el área por lípido, es además propiedad que refleja el equilibrio del sistema como ya se ha mencionado, en los gráficos se observa que todos los sistemas alcanzan el equilibrio durante la dinámica. Particularmente, luego de 100 ns los sistemas se encuentran equilibrados. Por su parte, el área por lípido de las 5 bicapas de lípidos de cadenas carbonadas insaturadas se observan en la Figura 4.4, donde los sistemas se evidencian completamente equilibrados durante toda la trayectoria.

En la parte (f) de la Figura 4.1 es notoria la ausencia de equilibrio al inicio de la trayectoria, la drástica disminución de la medida, así como la fluctuación de la misma con respecto a las demás bicapas. Este comportamiento se debe a la temperatura de simulación, pues a 323.15 K la bicapa debe encontrarse en fase gel ordenada, según su temperatura de transición de fase T_M como se observa en la Tabla 4.3 [33].

Según la equilibración de los sistemas observada, para realizar los cálculos se emplearon segmentos de las trayectorias a partir de 150 ns para las bicapas formadas con lípidos saturados, y toda la trayectoria para las bicapas de lípidos monoinsaturados.

En la Tabla 4.4 y la Figura 4.2 se observa el comparativo de área por lípido obtenido para los primeros 6 sistemas de bicapas construidas a partir de lípidos de cadenas carbonadas

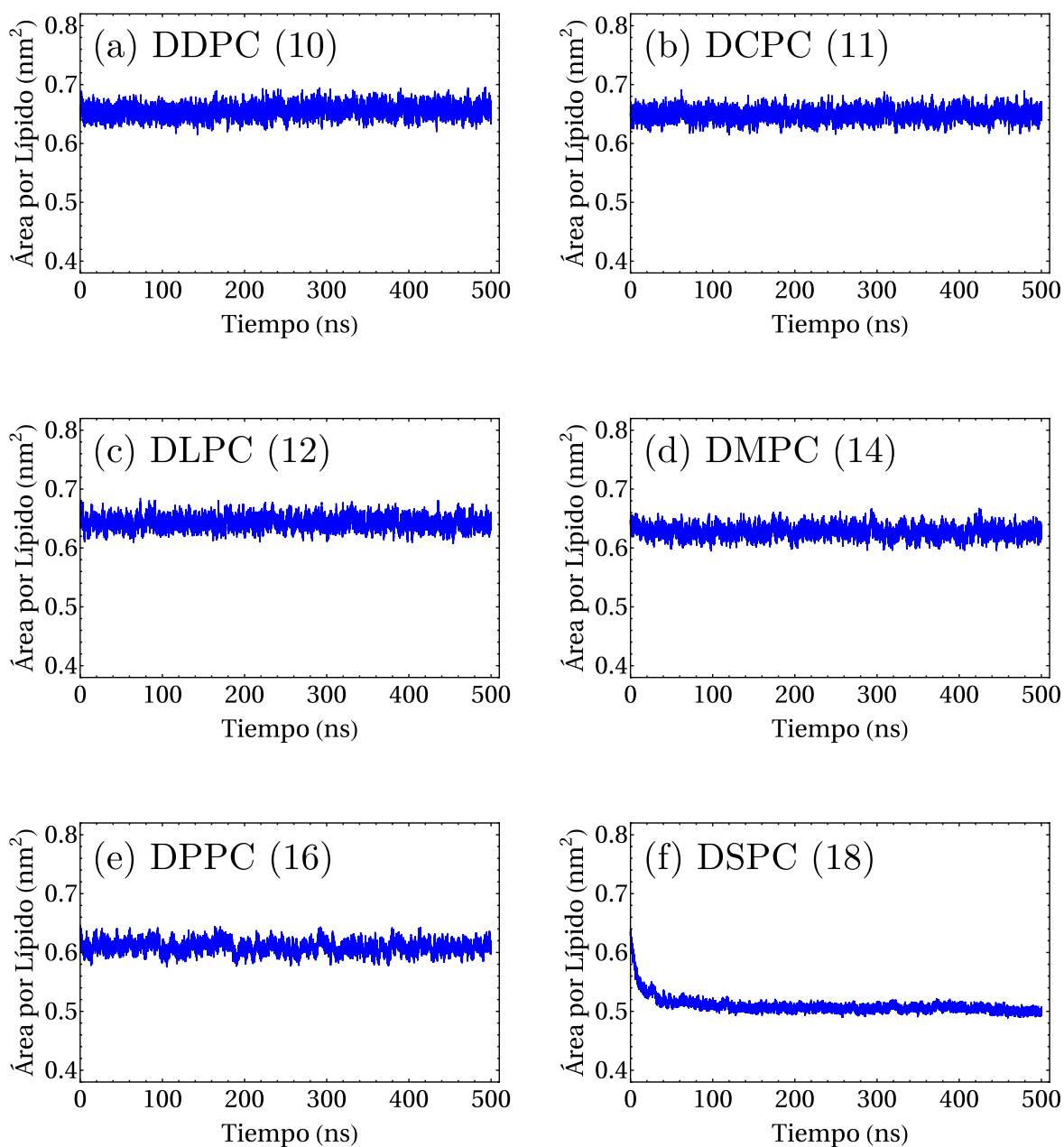


Figura 4.1: Área por lípido durante toda la trayectoria para bicapas lipídicas a partir de los lípidos (a) DDPC, (b) DCPC, (c) DLPC, (d) DMPC, (e) DPPC, (f) DSPC.

saturadas. En esta última, se puede observar (a) el área por lípido promedio de las dinámicas, en función de la longitud de la cadena carbonada expresada como la cantidad de carbonos, y (b) el área por lípido a lo largo de toda la trayectoria para los sistemas mencionados. En la parte (a) de la Figura 4.2 se observa como la medida de área por lípido disminuye a medida que aumenta la longitud de la cadena carbonada. La disminución de ésta propiedad demuestra que las cadenas carbonadas de los lípidos ocupan menos área superficial de la bicapa a medida que aumenta la longitud de la cadena, resultando en sistemas más rígidos, empaquetados y ordenados. Éstas últimas características también

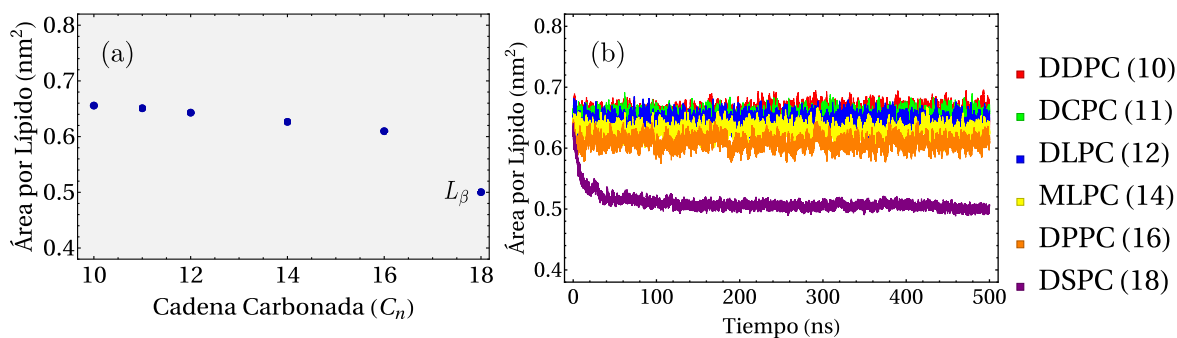


Figura 4.2: Área por lípido durante toda la trayectoria de las bicapas de diferente longitud de cadena carbonada saturada.

Lípido	T _M (K)
DLPC	271.15
DMPC	297.15
DPPC	314.15
DSPC	328.15
DYPC	342.15
DOPC	274.15

Tabla 4.3: Temperaturas de transición de fase de bicapas lipídicas.

se evidencian en el RMSD, valor que decrece a medida que aumenta la longitud de la cadena carbonada. Los resultados de área por lípido para sistemas saturados concuerdan con resultados experimentales obtenidos para el DLPC, DMPC y DPPC [34], además, en el mismo trabajo se observa la misma tendencia, de disminución del área por lípido al aumentar la longitud de la cadena, para las bicapas estudiadas. Este resultado, demuestra la correlación entre las temperaturas de transición de fase de bicapas de lípidos de cadena carbonada saturada y la longitud de la misma. A medida que aumenta la longitud de las cadenas carbonadas, aumenta la temperatura de transición de fase [35].

En la Tabla 4.5 y la Figura 4.4 se observan los resultados de área por lípido para los 5 sistemas ensamblados con lípidos monoinsaturados, donde se encuentra que el área por lípido disminuye a medida que aumenta la longitud de la cadena. Este resultado también se observó para las bicapas de lípidos saturados, sin embargo dicha disminución para el caso de las bicapas de lípidos insaturados es menor.

En el gráfico de la figura 4.5 se puede observar el comparativo entre el área por lípido promedio de ambas series de bicapas, de lípidos saturados y monoinsaturados y en la Figura 4.6 se puede observar el área por lípido a lo largo de toda la trayectoria para ambos grupos de bicapas: a partir de lípidos (a) saturados, (b) monoinsaturados. De los cuáles se

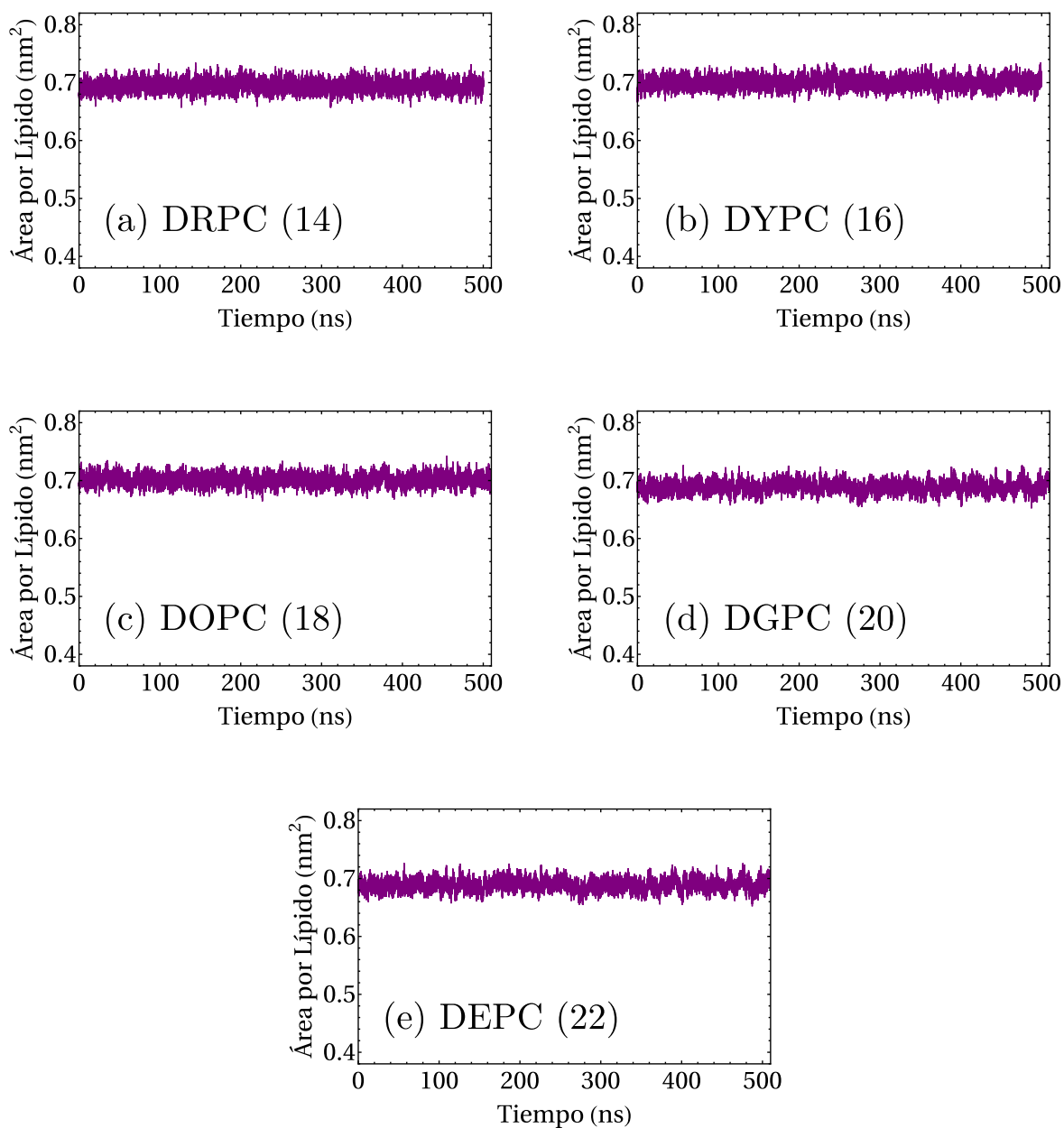


Figura 4.3: Área por lípido durante toda la trayectoria de las bicapas de diferente longitud de cadena carbonada saturada de los lípidos (a) DRPC (14), (b) DYPC, (c) DOPC, (d) DGPC, (e) DEPC

puede inferir, además de los aspectos mas relevantes ya mencionados, que la fluctuación de la medida es menor para los sistemas insaturados, aunque mayor que el sistema específico saturado, que se encuentra en fase de gel (DSPC).

Lípido Saturado	Area por Lípido (nm ²)	RMSD
DDPC	0.655784	9.22×10^{-5}
DCPC	0.650989	9.57×10^{-5}
DLPC	0.643077	18.5×10^{-5}
DMPC	0.626577	7.18×10^{-5}
DPPC	0.609717	6.14×10^{-5}
DSPC	0.500397	1.31×10^{-5}

Tabla 4.4: Área por lípido promedio de bicapas de lípido de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

Lípido Monoinsaturado	Area por Lípido (nm ²)	RMSD
DRPC	69.3378	0.8741×10^{-5}
DYPC	70.1482	0.8362×10^{-5}
DOPC	69.4424	0.8525×10^{-5}
DGPC	68.8334	1.1490×10^{-5}
DEPC	67.2969	0.8112×10^{-5}

Tabla 4.5: Área por lípido promedio de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas insaturadas.

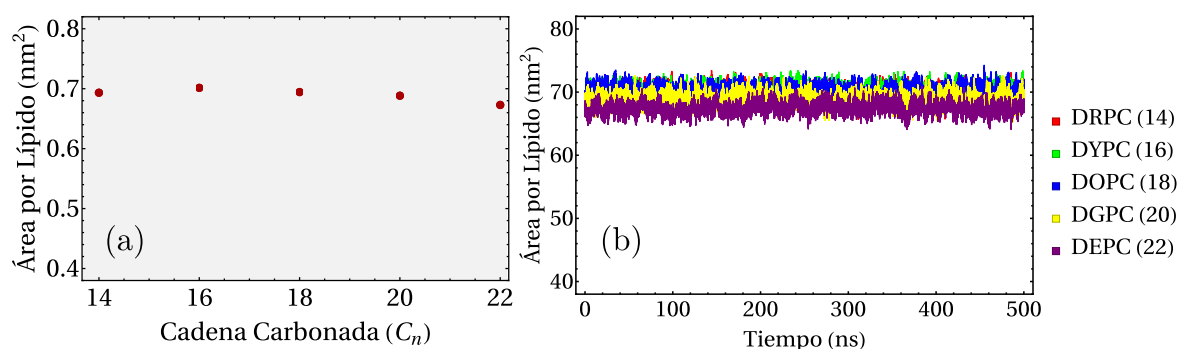


Figura 4.4: Área por lípido de bicapas de lípidos de diferentes longitudes de cadenas carbonadas insaturadas (a) Área por lípido promedio (b) Área por lípido durante toda la trayectoria.

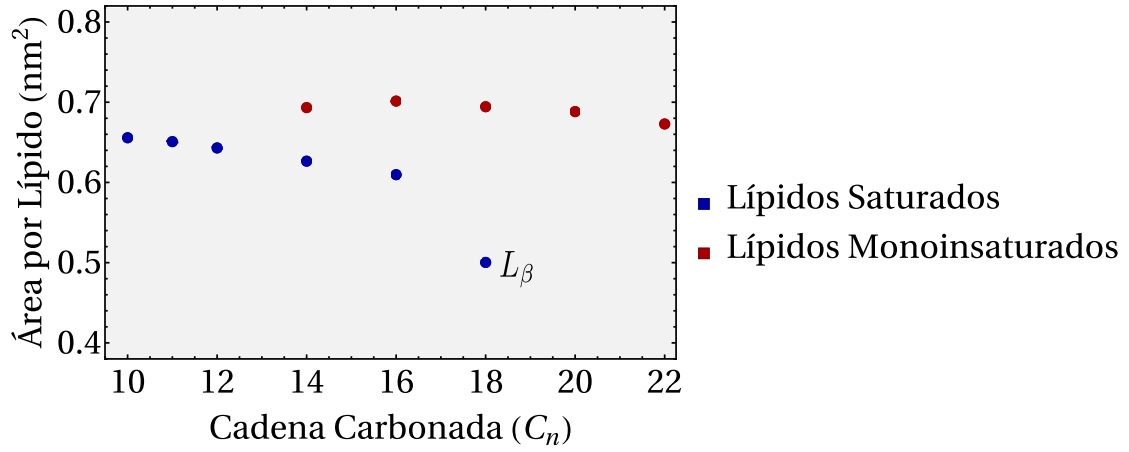


Figura 4.5: Comparativo de área por lípido promedio entre las bicapas de lípidos saturados y monoinsaturados.

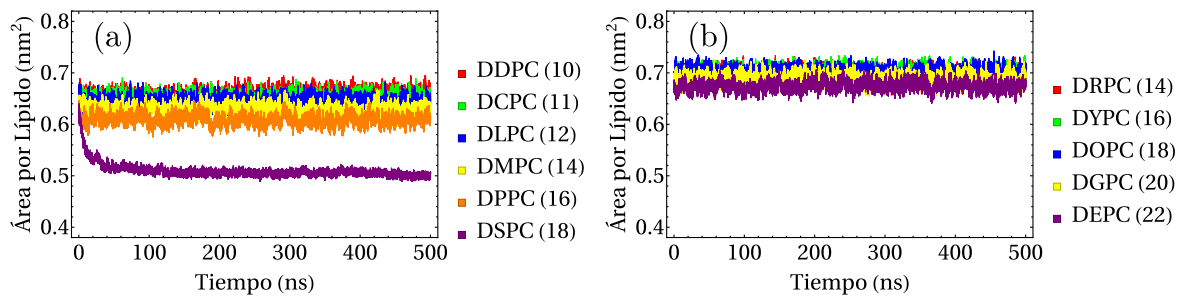


Figura 4.6: Área por lípido a lo largo de toda la trayectoria de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas de diferentes longitudes (a) Saturadas (b) Monoinsaturadas

4.2.2 Parámetro de orden

El parámetro de orden es una propiedad estructural que representa las torsiones de los carbonos de las cadenas carbonadas, mediante un promedio temporal de cada carbono de los lípidos presentes en el sistema. Según su definición matemática, un mayor parámetro de orden da cuenta de mayor libertad en las cadenas carbonadas.

En la Figura 4.7 se observa el parámetro de orden para las cadenas carbonadas (a) sn1 y (b) sn2 de los lípidos de cadenas carbonadas saturadas. Se puede apreciar como a medida que aumenta la longitud de la cadena carbonada, el parámetro de orden aumenta en la zona de plateau, reflejando una mayor movilidad de ambas cadenas carbonadas. Éste resultado es consistente con los resultados obtenidos para el área por lípido, ya que ambos reflejan la pérdida de orden y aumento en la movilidad de la región apolar de la bicapa, a medida que aumenta la longitud de las cadenas carbonadas.

Éste análisis no obtuvo una buena aproximación para las bicapas de los lípidos insaturados mediante la metodología empleada con el módulo *Gmx density*, por tanto los resultados no se incluyeron en este texto.

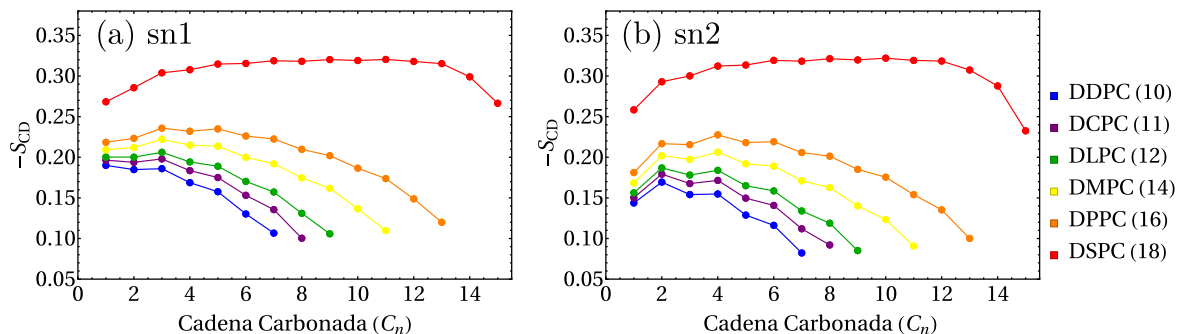


Figura 4.7: Parámetro de orden de bicapas de lípidos saturados. La parte (a) muestra el parámetro de orden para las cadenas carbonadas sn1 y la parte (b) para las sn2.

4.2.3 Densidad electrónica

El perfil de densidad electrónica puede ser obtenido para cada componente de las bicapas, así como para el sistema completo. Este gráfico puede describir la densidad, ya sea de electrones o de masa, de la bicapa a lo largo del eje transversal. Estos gráficos pueden ofrecer información valiosa de la región apolar o interfacial de la misma. En las Figuras 4.8 y 4.9 se observan los perfiles de densidad: electrónica para las bicapas ensambladas con lípidos saturados y de masa, para bicapas ensambladas con lípidos insaturados, respectivamente. Los perfiles de densidad nos permiten identificar como cambia la densidad a lo largo de la bicapa y pueden dar cuenta del empaquetamiento en cada región de la bicapa. Por ejemplo, en la parte (f) de la Figura 4.8 se observa que

la densidad electrónica es más o menos constante a lo largo de la región apolar de la bicapa, es decir, en la región ocupada por las cadenas carbonadas de los lípidos. Ese comportamiento no ocurre para demás bicapas **(a)-(f)** donde la densidad va disminuyendo hasta que cae a un mínimo en el centro de la bicapa. Tal perfil de densidad, se correlaciona con el parámetro de orden, donde se vio para la bicapa de DSPC que el parámetro de orden se observa constante a lo largo de la longitud de la cadena. Es decir que el perfil de densidad también arroja información sobre la disposición de las cadenas carbonadas.

Adicionalmente, el perfil de densidad electrónica permite obtener un valor para el espesor de la bicapa definida como la distancia entre los máximos de densidad para el grupo lipídico. Este resultado se discute en la sección siguiente.

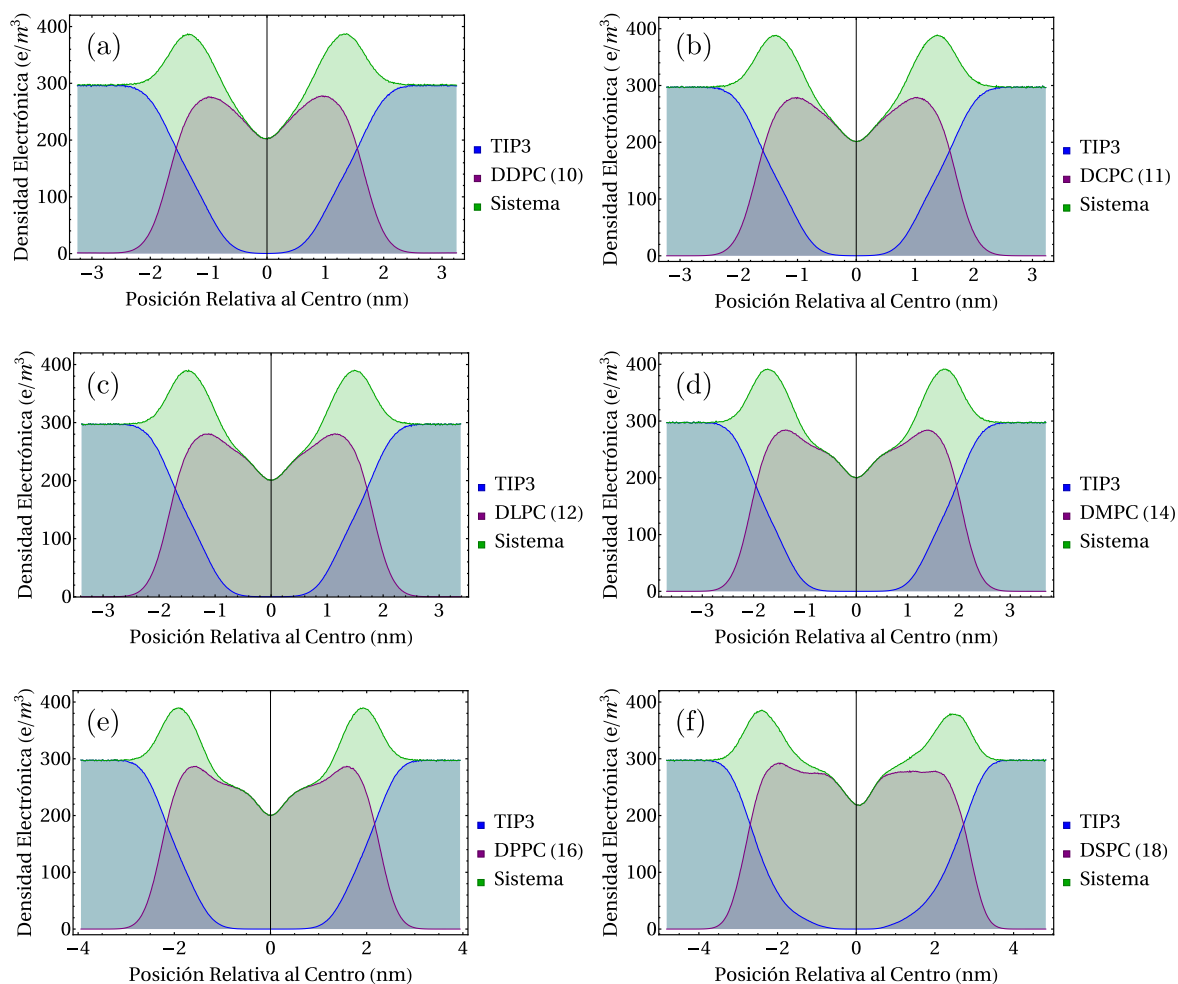


Figura 4.8: Densidad electrónica de bicapas de lípidos de diferentes longitudes de las cadenas carbonadas saturadas.

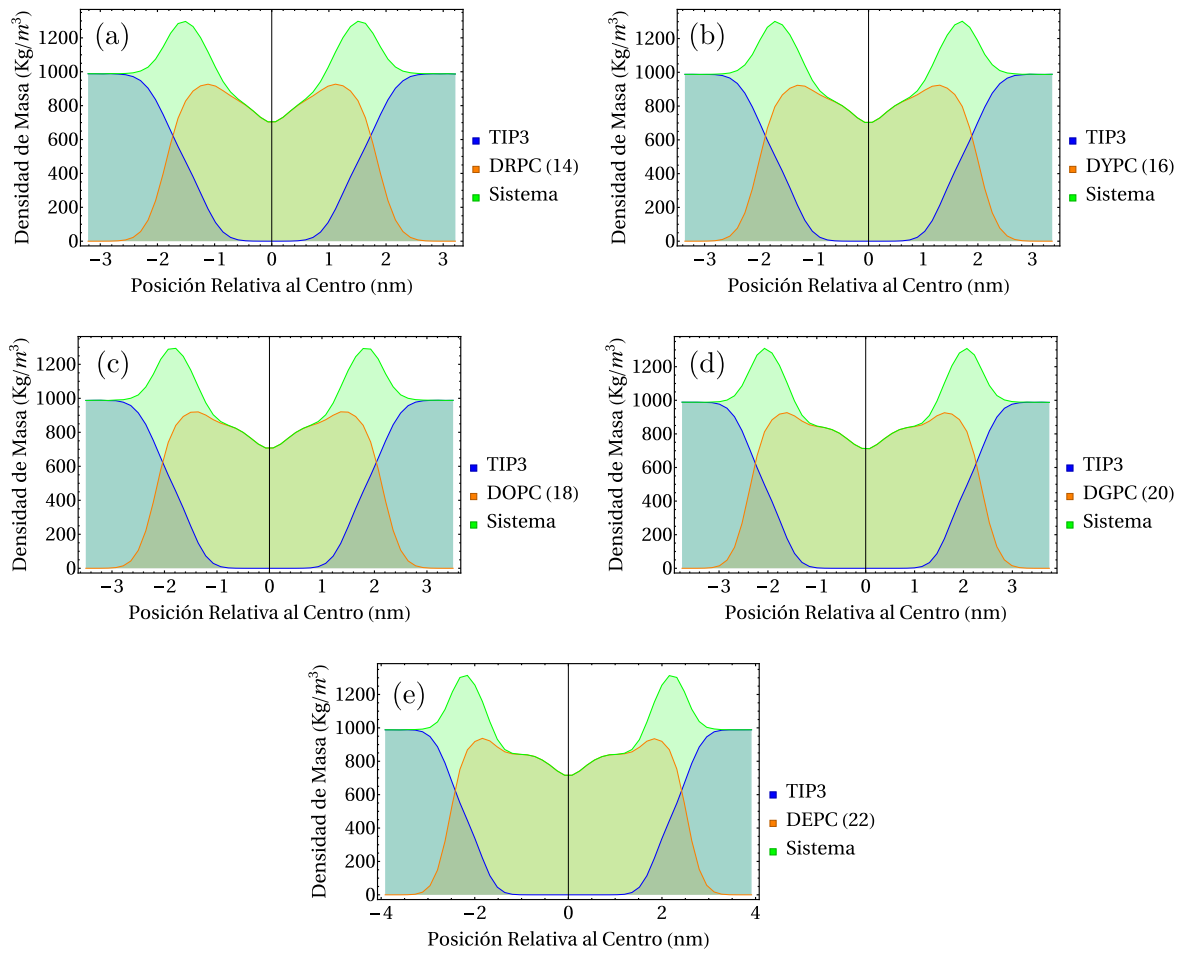


Figura 4.9: Densidad de masa de bicapas de lípidos de diferentes longitudes de cadenas carbonas monoinsaturadas.

4.2.4 Espesor

Como fue mencionado en la sección anterior, el espesor de las bicapas fue obtenido a partir de los perfiles de densidad electrónica, para los sistemas saturados y densidad de masa para los sistemas monoinsaturados. El espesor se midió como la distancia entre los máximos para los grupos lipídicos y los resultados se observan en la Tabla 4.6 y Figura 4.10 para las bicapas de lípidos saturados. En el gráfico, se separa el último punto, que corresponde a la bicapa de lípidos de cadena carbonada de 18 Carbonos (DSPC) que se encuentra en fase de gel. La tendencia general que se observa, de aumento del espesor de las bicapas cuando aumenta la longitud de la cadena, indica que la longitud de la cadena determina fuertemente el espesor, lo cual es un resultado esperado. Este comportamiento también se encuentra para las bicapas formadas de lípidos monoinsaturados, los cuales se observan en la Tabla y la Figura 4.11, aun conservando la tendencia de aumentar el espesor a mayor longitud de cadena carbonada.

Lípido	Espesor (nm)
DDPC	1.8879
DCPC	2.0825
DLPC	2.2379
DMPC	2.7980
DPPC	3.1434
DSPC	3.9786

Tabla 4.6: Espesor de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

Lípido	Espesor (nm)
DRPC	2.229
DYPC	3.605
DOPC	2.313
DGPC	3.220
DEPC	3.675

Tabla 4.7: Espesor de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas insaturadas de diferentes longitudes.

En la Figura 4.12 se muestra el comparativo entre los espesores de las bicapas de lípidos de cadena carbonada saturada y monoinsaturada. Allí se evidencia que las bicapas de lípidos saturados tienen mayor espesor que las bicapas de lípidos monoinsaturados, este comportamiento es de esperarse y se debe a la pérdida de longitud a lo largo del eje de la bicapa, originado por la insaturación, lo cual pliega la cadena.

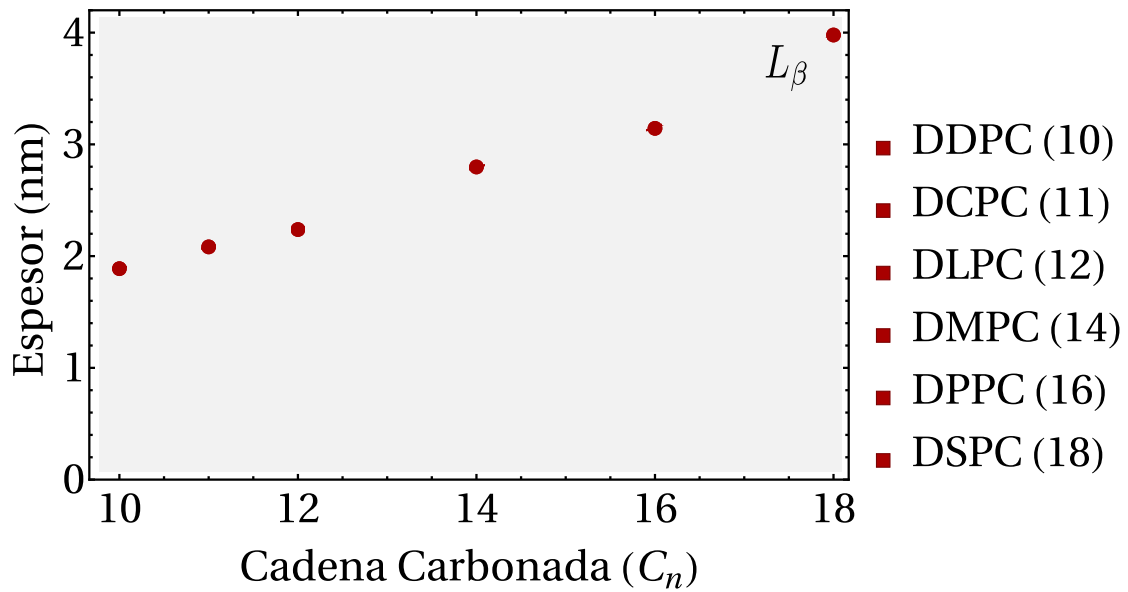


Figura 4.10: Espesor de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes de cadena.

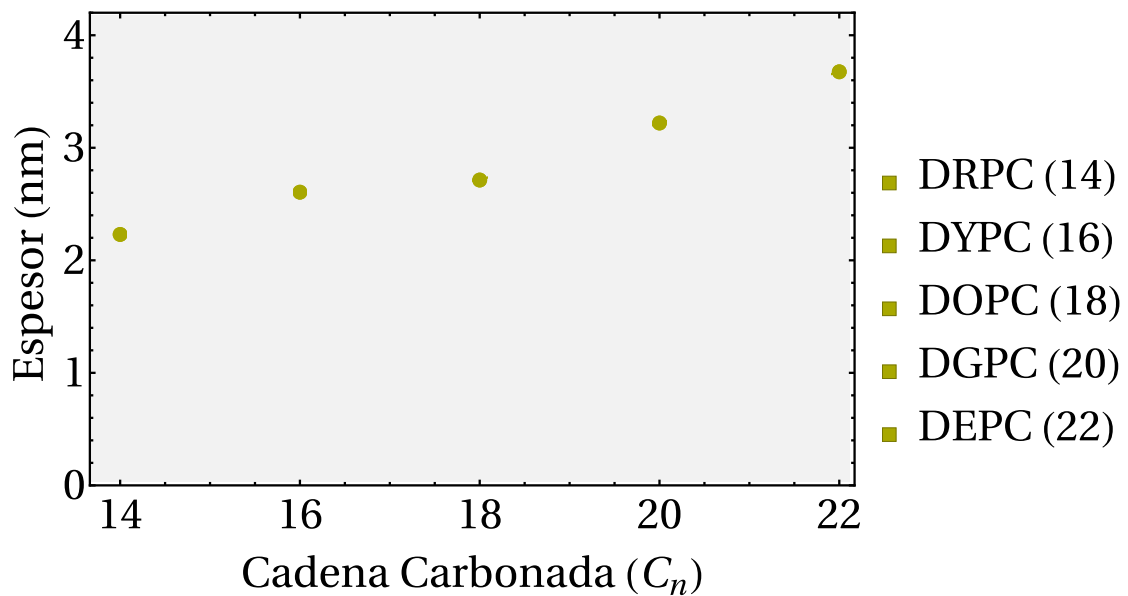


Figura 4.11: Espesor de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas.

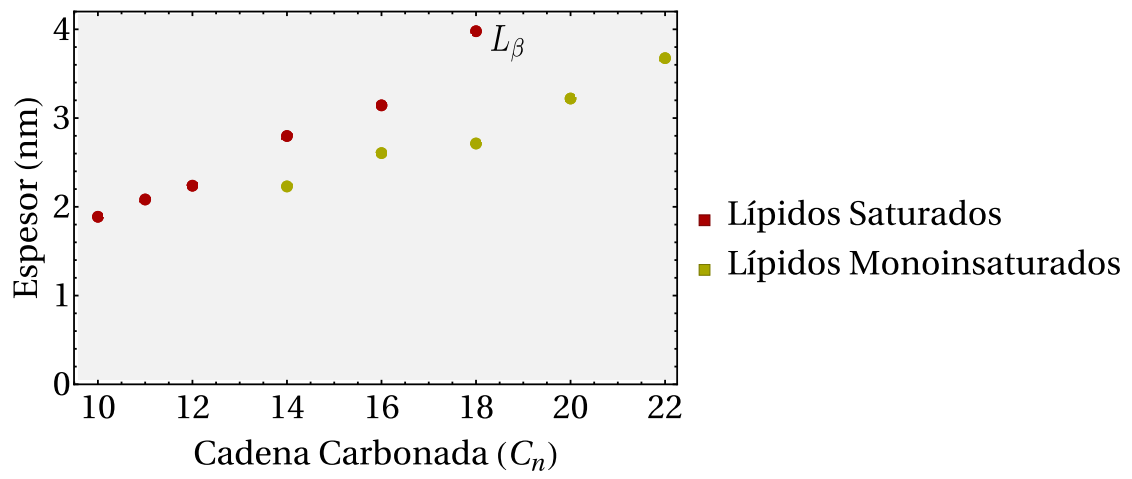


Figura 4.12: Comparativo de espesor de bicapas de lípidos saturados y monoinsaturados.

4.2.5 *Módulo de compresibilidad*

El módulo de compresibilidad K_A para las bicapas ensambladas a partir de lípidos saturados se observa en la Tabla 4.8 y la Figura 4.13. Para estas bicapas se observa que su módulo de compresibilidad se encuentra al rededor de 200 mN/m para los sistemas que se encuentran en la fase líquido ordenado, y mayor a 1000 mN/m para el sistema que se encuentra en fase de gel. Por otra parte, también se conserva la tendencia general que se ha observado hasta el momento con las demás propiedades.

Para los sistemas insaturados sin embargo, los resultados que se observan en la Tabla 4.9 y la Figura 4.18, sugieren en términos generales que esta propiedad no cambia sustancialmente con el aumento en la longitud de la cadena, además se observan resultados fuera de la tendencia, como en el caso del DPPC (16 carbonos) aunque este resultado se encuentra relativamente más ajustado a resultados experimentalmente con un 18% de error, como se se mostró en la validación del campo de fuerza. Los resultados calculados a partir de las simulaciones para esta propiedad indican que el modelo computacional no ofrece una buena aproximación.

Lípido	K_A (mN/m)
DDPC	211.605
DCPC	202.222
DLPC	181.973
DMPC	259.294
DPPC	295.001
DSPC	1128.772

Tabla 4.8: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

Lípido	K_A (mN/m)
DRPC	2.3581
DYPC	98.9204
DOPC	2.4214
DGPC	1.7809
DEPC	2.4662

Tabla 4.9: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

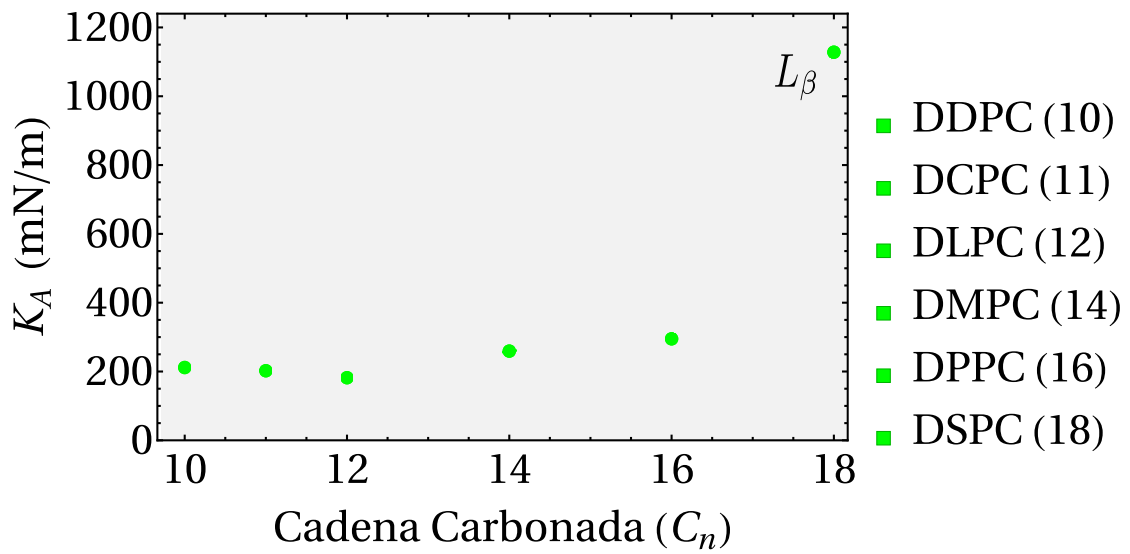


Figura 4.13: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas.

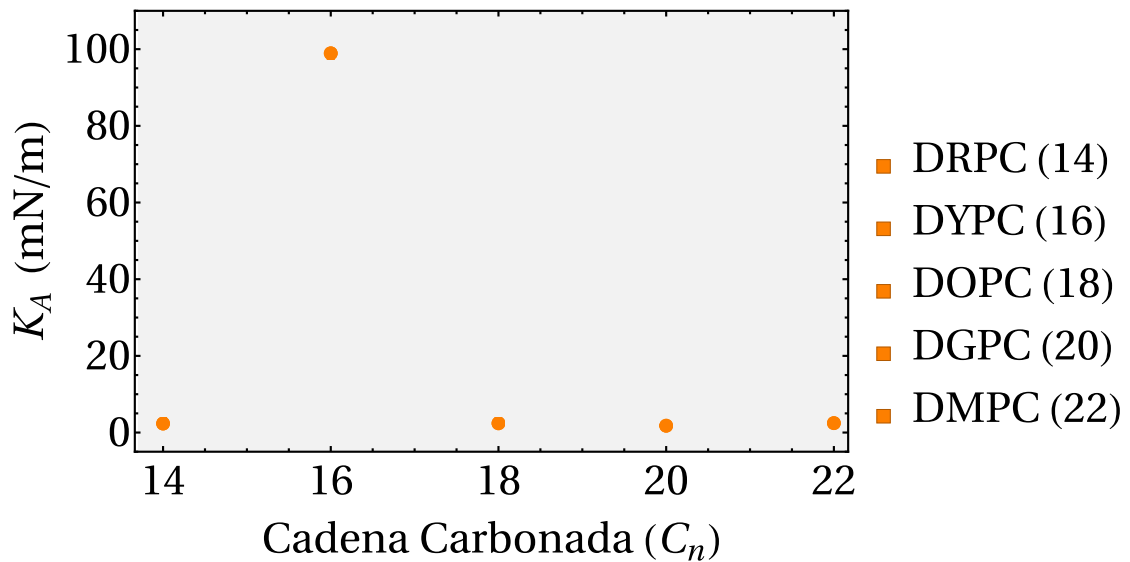


Figura 4.14: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas.

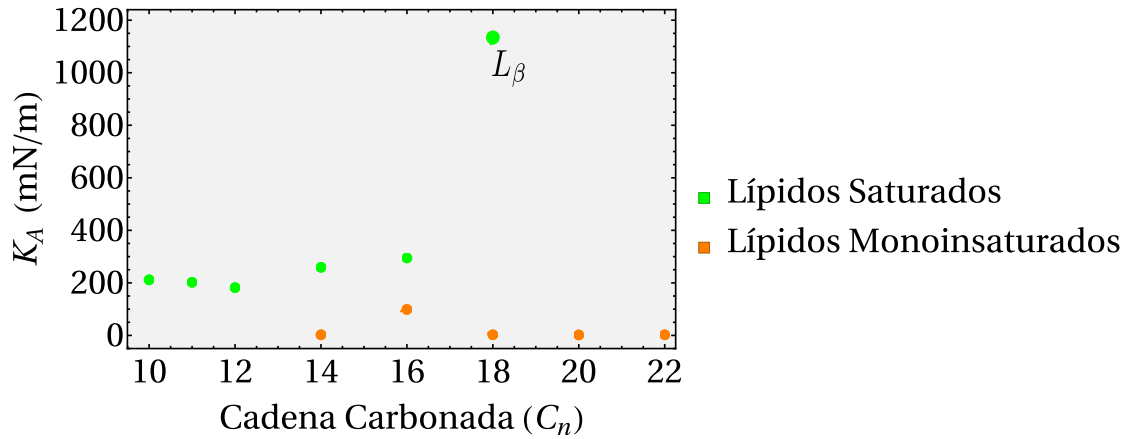


Figura 4.15: Comparación del Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas y monoinsaturadas.

Lípido	K^b ($K_B T$)
DDPC	6.9507
DCPC	9.3723
DLPC	11.6186
DMPC	34.9250
DPPC	56.47
DSPC	417.27

Tabla 4.10: Módulo de Rigidez de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

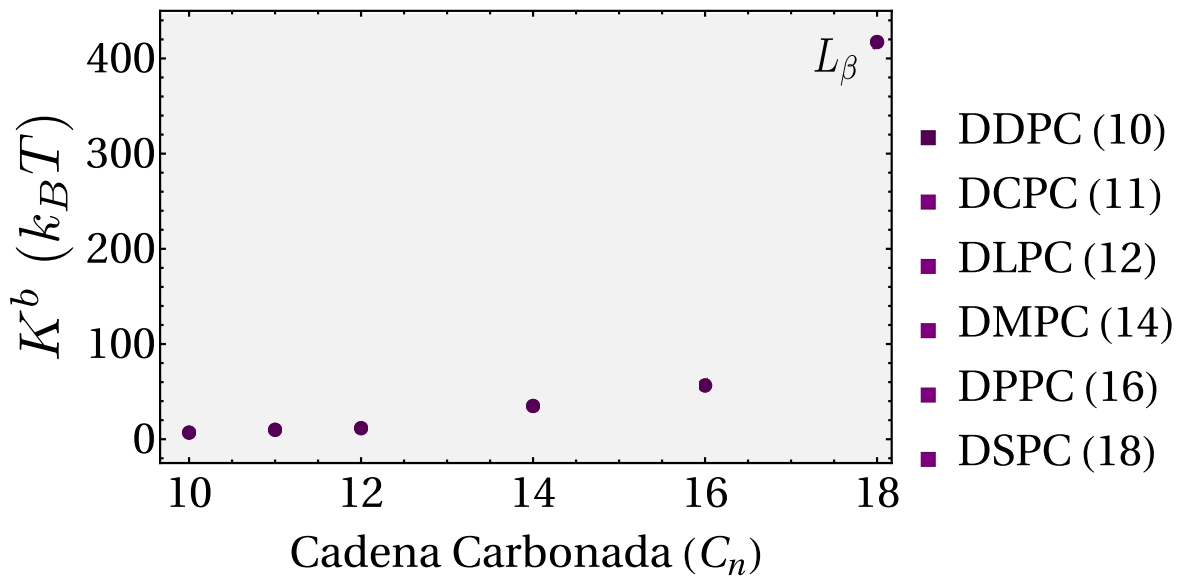


Figura 4.16: Módulo de Rigidez K^b de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas de diferentes longitudes.

Lípido	K^b ($K_B T$)
DRPC	6.9507
DYPC	9.3723
DOPC	11.6186
DGPC	34.9250
DEPC	56.47

Tabla 4.11: Módulo de Rigidez K^b de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas de diferentes longitudes.

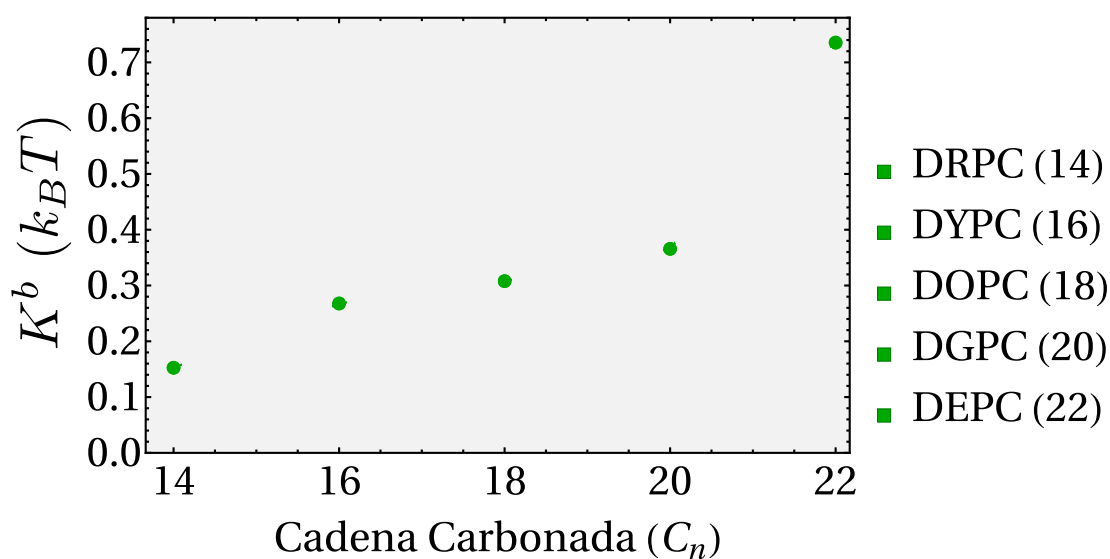


Figura 4.17: K^b Sistemas monoinsaturados.

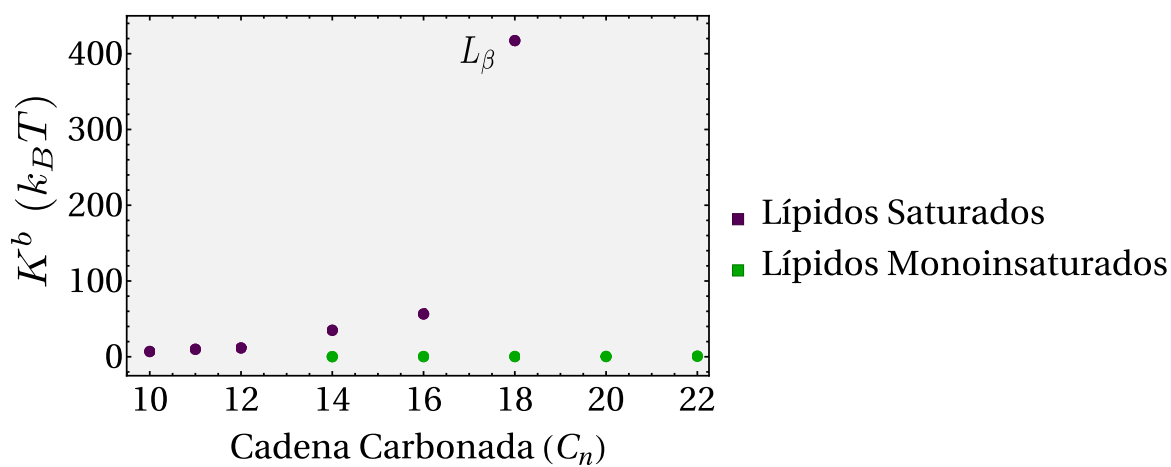


Figura 4.18: Comparativo K^b de sistemas saturados y monoinsaturados.

5

INFLUENCIA DEL GRADO DE INSATURACIÓN EN EL COMPORTAMIENTO DE FASE DE BICAPAS LIPÍDICAS MONOCOMPONENTES

La unidad estructural de las membranas biológicas es la bicapa lipídica [9]. Dependiendo de la composición, temperatura, presión entre otros factores externos, la estructura de la bicapa puede adoptar distintas fases lamelares: cristalina (L_c), gel (L_β), ondulado (P_β') o líquido-desordenado (L_α), caracterizadas por el ordenamiento de las cadenas de hidrocarburos en el interior de la bicapa. La transición de fase tipo gel al líquido-desordenado ocurre a una temperatura crítica de fusión T_m durante el proceso de calentamiento. Durante esta transición puede existir una pretransición, la formación de la fase (P_β'). Esta pretransición no ocurre para todos los lípidos, particularmente en aquellos con insaturaciones [36].

Este fenómeno de transición ha cobrado bastante interés en los últimos años, dado que puede afectar drásticamente diversos procesos celulares.

En este capítulo se modeló el comportamiento de fase de bicapas de acuerdo a la insaturación de la cadena carbonada de los lípidos que forman la bicapa, con el objetivo de observar los cambios que puedan ocurrir en las diferentes fases.

Se seleccionaron 3 lípidos de igual longitud de cadena carbonada, pero aumentado su grado de insaturación; los lípidos: saturado, monoinsaturado y diinsaturado; DSPC, DOPC y DUPC, respectivamente. Las estructuras químicas de los lípidos se observan en la Figura 5.1

5.1 SISTEMAS SIMULADOS

Para cada lípido, se construyeron ensamblajes de acuerdo a los parámetros establecidos en el Capítulo 3 y se realizaron 7 simulaciones con temperaturas en un rango total de 40 °C alrededor de su temperatura de transición de fase, en intervalos de 5 °C y tiempos de dinámica de 300 ns.

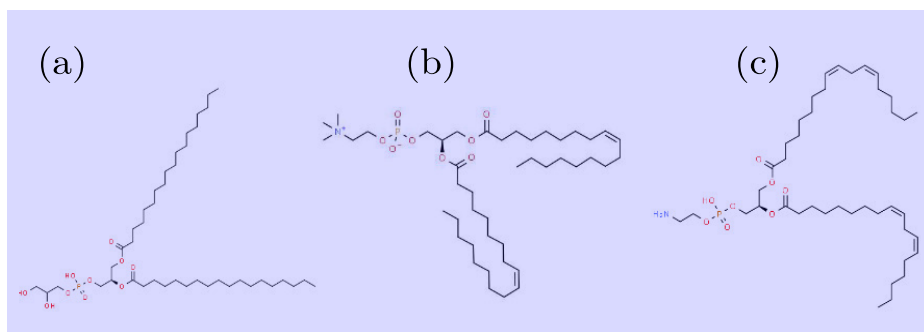


Figura 5.1: Estructura de fosfatidilcolinas de cadenas carbonadas simétricas de 18 carbonos (a) Saturada (DSPC 18:0/18:0) (b) Monoinsaturada (DOPC DSPC 18:1/18:1) (c) Diinsaturada (DUPC DSPC 18:2/18:2)

El DSPC cuya transición de fase ocurre a 328.15 K [31], fue simulado entre 313.15 K y 343.15 K, ver Tabla 5.1. El DOPC, sufre transición de fase a 256.15 K y fue simulado entre 247.15 K y 277.15 K. Finalmente, el DUPC con temperatura de transición de fase de 216.15 K fue simulado entre 201.15 K y 231.15 K. Ver Tabla 5.1.

DSPC	DOPC	DUPC
T (K)	T (K)	T (K)
313.15	247.15	201.15
318.15	252.15	206.15
323.15	257.15	211.15
328.15	262.15	216.15
333.15	267.15	221.15
338.15	272.15	226.15
343.15	277.15	231.15

Tabla 5.1: Temperaturas para observar el comportamiento de fase de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas (a) saturadas (b) monoinsaturadas (c) diinsaturadas.

5.2 RESULTADOS

5.2.1 Bicapas Lipídicas

Las bicapas lipídicas obtenidas al final de las trayectorias simuladas se observan en las Figuras 5.2 para el sistema DSPC, 5.3 para el DOPC y 5.4 para el DUPC.

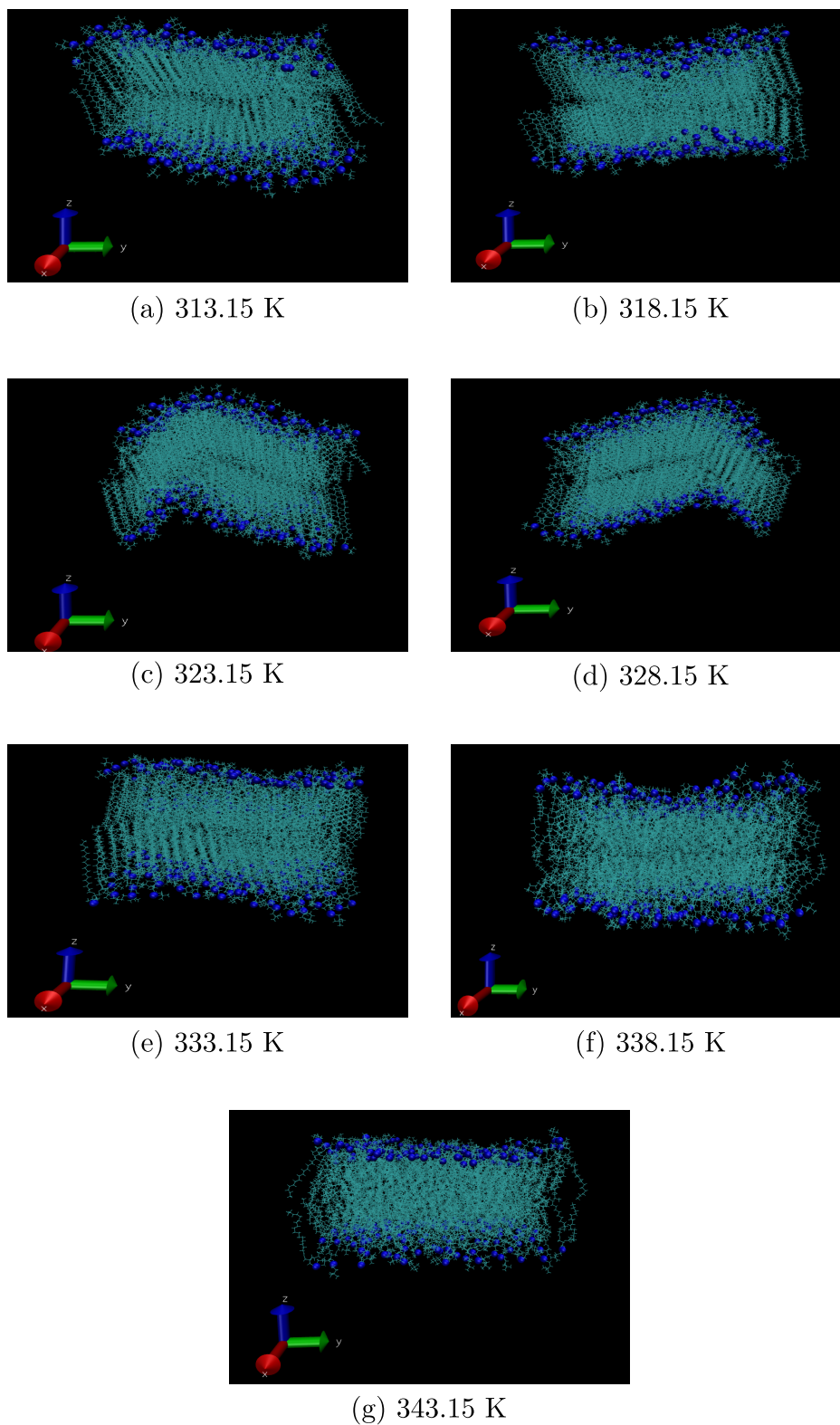


Figura 5.2: Visualización de la transición de fase de la bicapa saturada DSPC.

Para el sistema saturado (DSPC), claramente se observa la transición de fase. En las Figuras 5.2 (a) y (b) se aprecia un sistema inicial con ordenamiento de las cadenas carbonadas paralelas entre si, lo cual corresponde con una fase líquido ordenado o gel. Con el aumento en la temperatura en las Figuras 5.2 (c), (d) y (e) la bicapa pasa por la fase tipo ripple donde adquiere una forma de onda. Este resultado se ha reportado experimentalmente para las bicapas formadas por lípidos saturados. Finalmente en la Figura 5.2 (f) y (g) la bicapa ya se encuentra desordenada, lo que correspondería a una fase líquido cristalino o líquido desordenado. En este caso, el cambio de fase se puede observar a partir de la visualización de la bicapa, resaltando la aparición de la fase intermedia ripple. Estos hechos indican que el modelo empleado permite reproducir características que se obtuvieron anteriormente de forma experimental.

En el caso de la bicapa monoinsaturada (DOPC), la visualización de las bicapas se observa en la Figura 5.3. La transición de fase no es tan evidente a partir de la visualización como ocurre con el sistema saturado. En las Figuras de la (a) a la (g), se aprecia como el sistema pasa de ser mas ordenado, o tipo gel, al apreciar las cadenas carbonadas paralelas entre ellas, a cadenas menos ordenadas o fase líquido cristalino, imagen (f) y (g). La transición de fase deberá evaluarse entonces de acuerdo a las propiedades estructurales y elásticas.

Finalmente, en la Figura 5.4 se observa la transición de fase del lípido diinsaturado (DUPC), donde nuevamente la transición de fase no es evidente de acuerdo a la visualización, como ocurrió en el caso del lípido saturado. Sin embargo, en la Figura 5.4 (b) se alcanza a evidenciar mayor orden en los lípidos, indicando que se encuentran en fase de gel, con respecto a la Figura (g) donde ya los lípidos se encuentran en fase de líquido cristalino o desordenado, luego de la transición de fase.

En resumen, las visualizaciones en VMD, permitieron evidenciar la transición de fase para las bicapas de lípidos saturados, monoinsaturado y diinsaturado. Resaltando que en el sistema saturado se observa más fácilmente esta transición y además, la pretransición en fase de ripple.

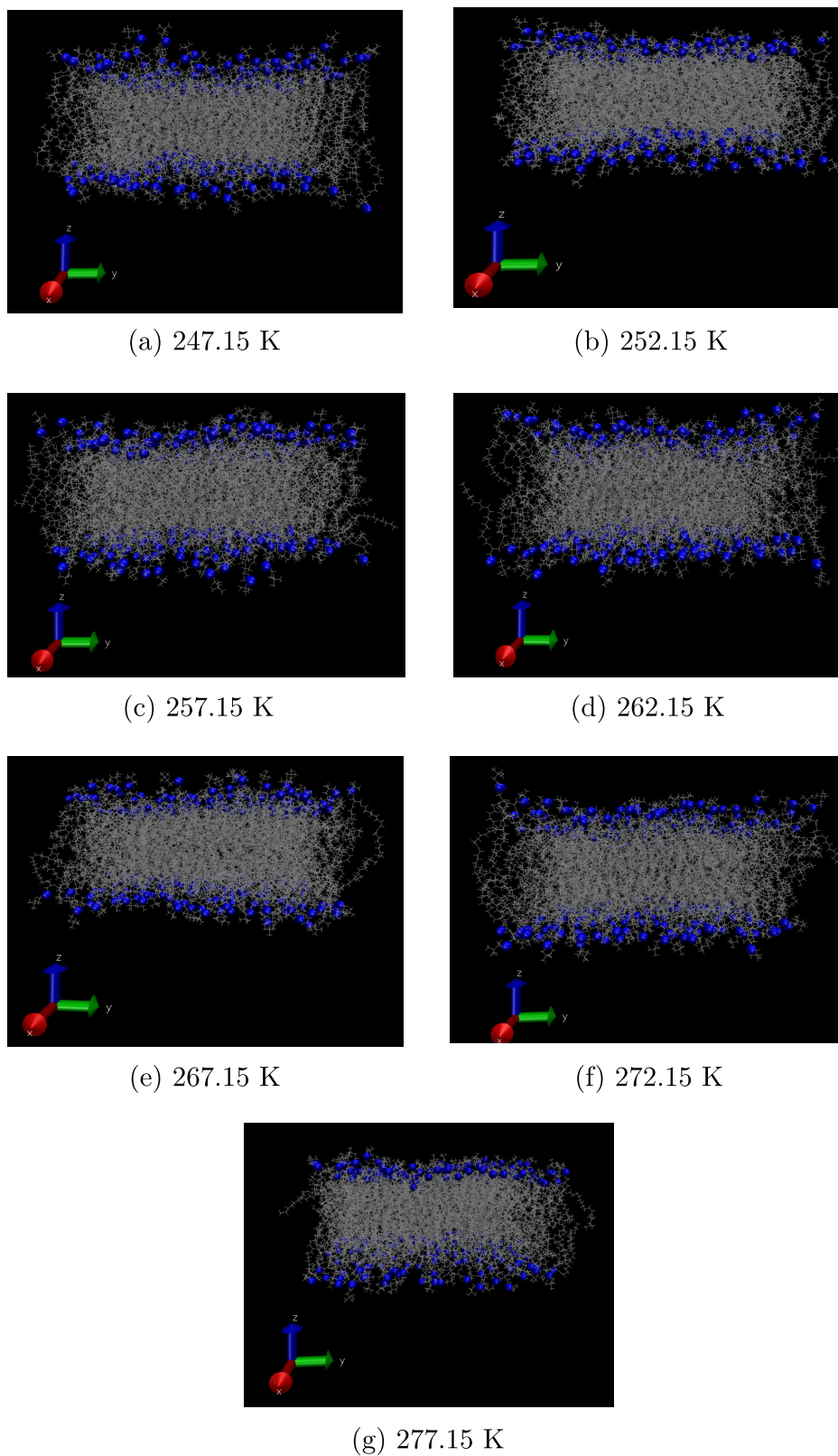
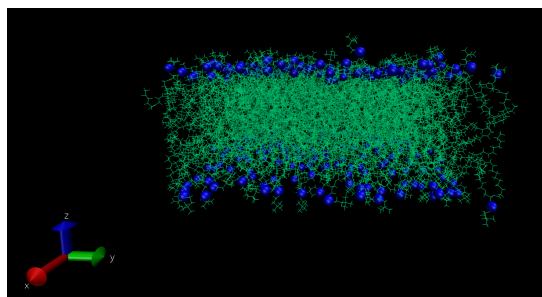
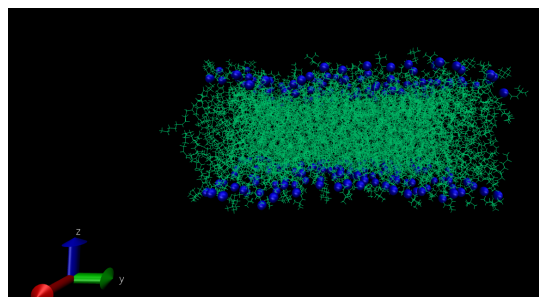


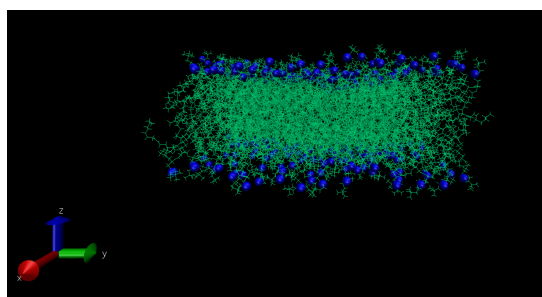
Figura 5.3: Visualización de la transición de fase de una bicapa monoinsaturada DOPC.



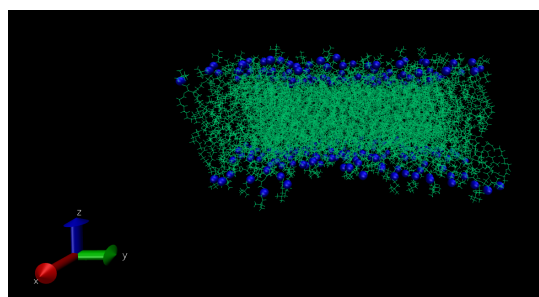
(a) 201.15 K



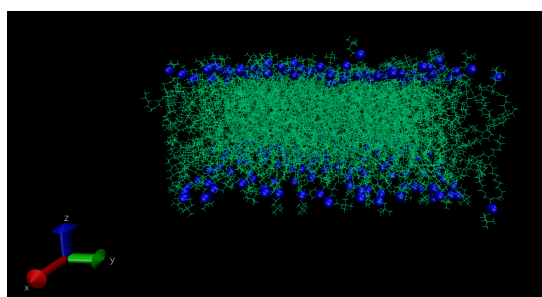
(b) 206.15 K



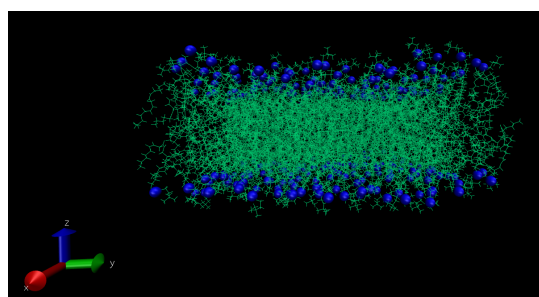
(c) 211.15 K



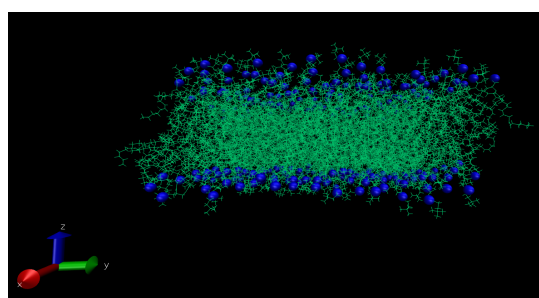
(d) 216.15 K



(e) 221.15 K



(f) 226.15 K



(g) 231.15 K

Figura 5.4: Visualización de la transición de fase de una bicapa diinsaturada DUPC.

5.2.2 Área por lípido

En la Figura 5.5, se observa el APL a lo largo de toda la trayectoria para la bicapa de lípido saturado DSPC, el sistema a 333.15 K, no alcanza el equilibrio en el tiempo simulado, como se observa en la parte (e). Para las otras temperaturas de simulación, se observan estables a partir de 100 ns. La falta de equilibración en este sistema indica que la simulación debe ejecutarse durante más tiempo y obtener cálculos mas exactos. Por otra parte, a esta temperatura se observan cambios drásticos en la dinámica de la bicapa como se observó en las visualizaciones de la sección anterior Figura 5.2.

En general se observa que el área por lípido aumenta a medida que aumenta la temperatura de simulación. En la tabla 5.2 y la Figura 5.6 se encuentran las APL promedios en la última fase de la trayectoria, cuando ya los sistemas se encuentran equilibrados. El APL aumenta de 0.48 a 0.63 nm^2 , indicando la transición de fase, además el RMSD aumenta de 1.4003×10^{-5} a 9.2240×10^{-5} . El aumento de esta propiedad refleja el aumento en la libertad conformacional propio de una transición de fase de un sistema ordenado en gel, a uno en fase de líquido desordenado.

Los gráficos de área por lípido para las bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturados se observan en la Figura 5.5, para las bicapas de lípidos monoinsaturados en la Figura 5.7 y para las bicapas de lípidos diinsaturados en la Figura 5.9.

Para las bicapas formadas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas observados en la Figura 5.5, los primeros 3 sistemas, (a), (b) y (c), las dinámicas se equilibran rápidamente, antes de 100 ns ya se encuentran equilibrados. Sin embargo a medida que el sistema se acerca a la transición de fase, los sistemas (d) y (e) tardan más en equilibrarse, más aún, el sistema (e) no se observa completamente equilibrado. Finalmente, los sistemas (f) y (g) se observan equilibrados. En el caso de las bicapas formadas por lípidos de cadena carbonada monoinsaturada se observan en la imagen 5.7 razonablemente equilibrados a todas las temperaturas.

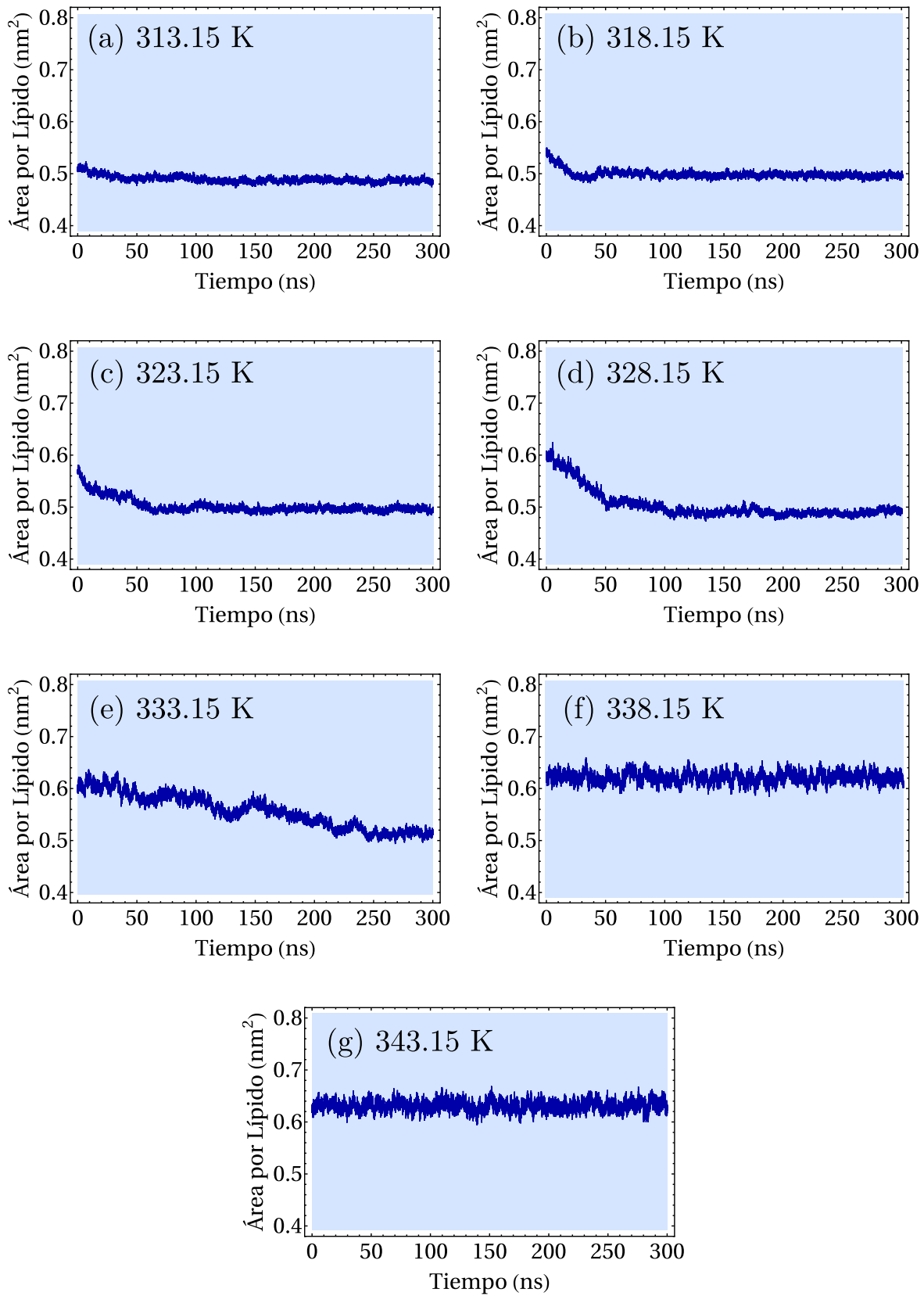


Figura 5.5: Área por lípido del sistema DSPC durante la transición de fase.

Sistema DSPC		
Temperatura (K)	APL (nm ²)	RMSD
313.15	0.4862	1.4003 X10 ⁻⁵
318.15	0.4963	1.2894 X10 ⁻⁵
323.15	0.5958	1.7891 X10 ⁻⁵
328.15	0.4904	2.4249 X10 ⁻⁵
333.15	0.5134	3.1946 X10 ⁻⁵
338.15	0.6215	6.9368 X10 ⁻⁵
343.15	0.6315	9.2240 X10 ⁻⁵

Tabla 5.2: APL promedio del sistema DSPC: cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas.

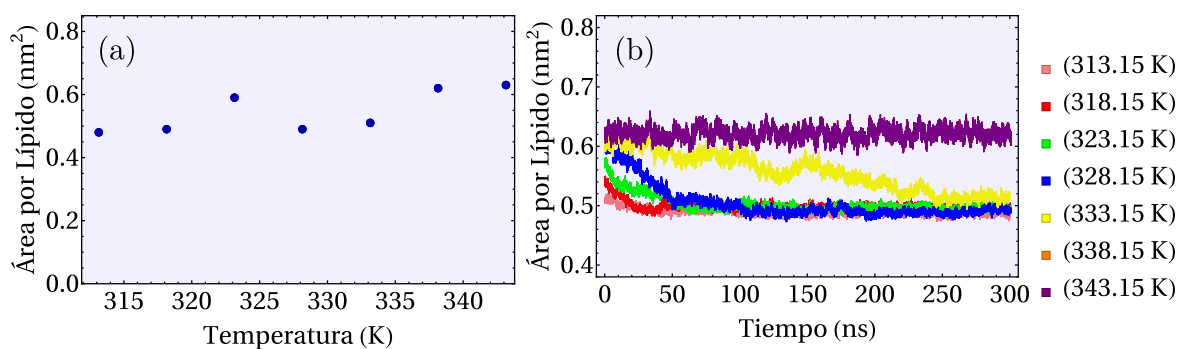


Figura 5.6: APL promedio durante la transición de fase de una bicapa de lípidos de cadena carbonada saturada: DSPC.

En la Figura 5.7 se observa el APL a lo largo de toda la trayectoria para todas las temperaturas simuladas del DOPC. A diferencia del lípido saturado, en este caso todos los sistemas se equilibraron rápidamente. En la Figura 5.8 se encuentra el APL promedio calculado a partir de los últimos 50 ns de la simulación, allí se observa como el APL aumenta de 0.64 a 0.65 nm² y el RMSD aumenta de 2.99 X10⁻⁵ a 4.55 X10⁻⁵. Así como en el caso saturado, el aumento de esta propiedad indica la transición de fase.

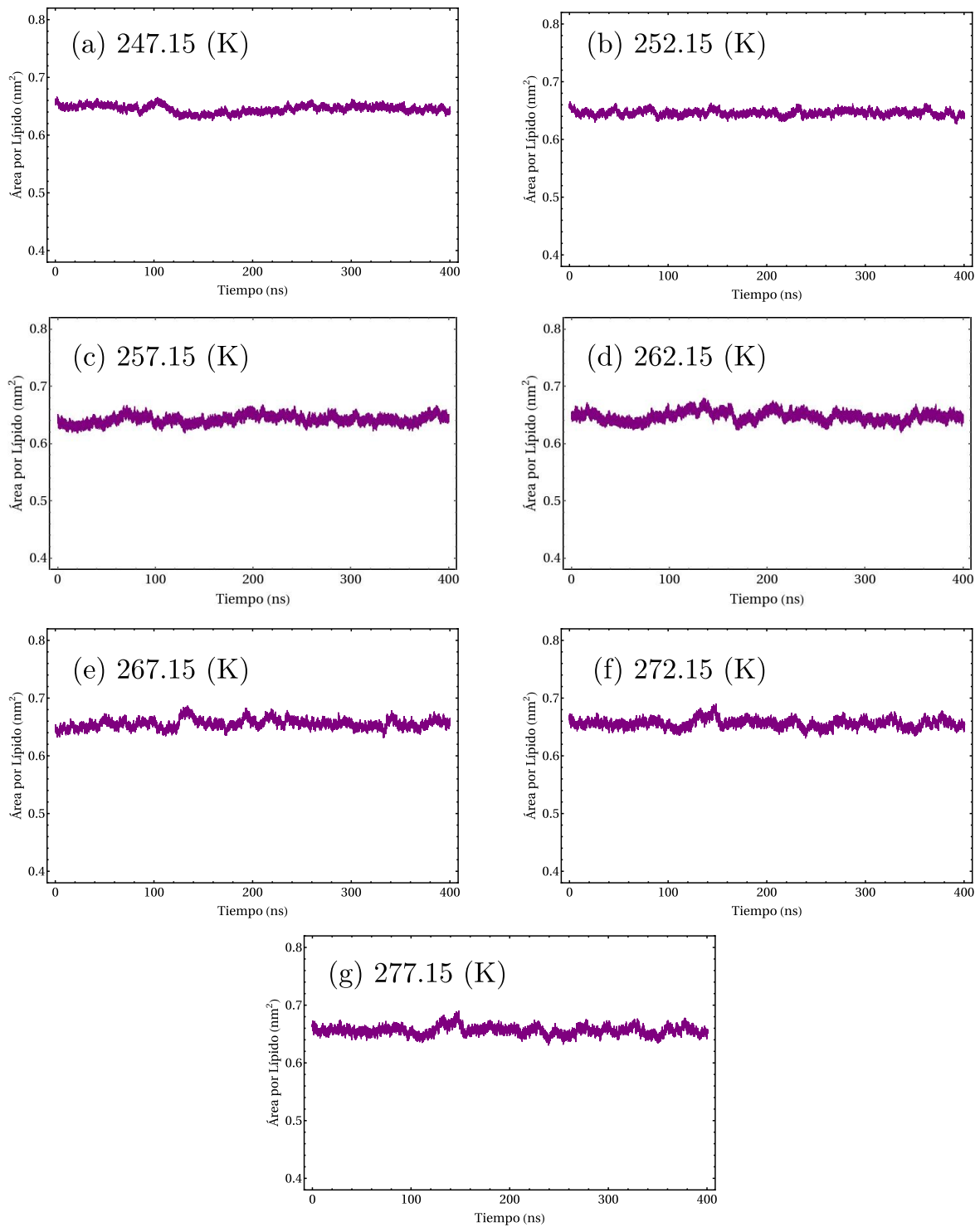


Figura 5.7: Área por lípido del sistema DOPC durante la transición de fase.

Sistema DOPC		
Temperatura (K)	APL (nm ²)	RMSD
247.15	0.6444	2.9923 X10 ⁻⁵
252.15	0.6454	2.1406 X10 ⁻⁵
257.15	0.6441	3.9465 X10 ⁻⁵
262.15	0.6473	5.5823 X10 ⁻⁵
267.15	0.6562	4.6352 X10 ⁻⁵
272.15	0.6556	4.5542 X10 ⁻⁵
277.15	0.6556	4.5542 X10 ⁻⁵

Tabla 5.3: Área por Lípido del sistema DOPC: cadenas carbonadas monoinsaturadas a diferentes temperaturas.

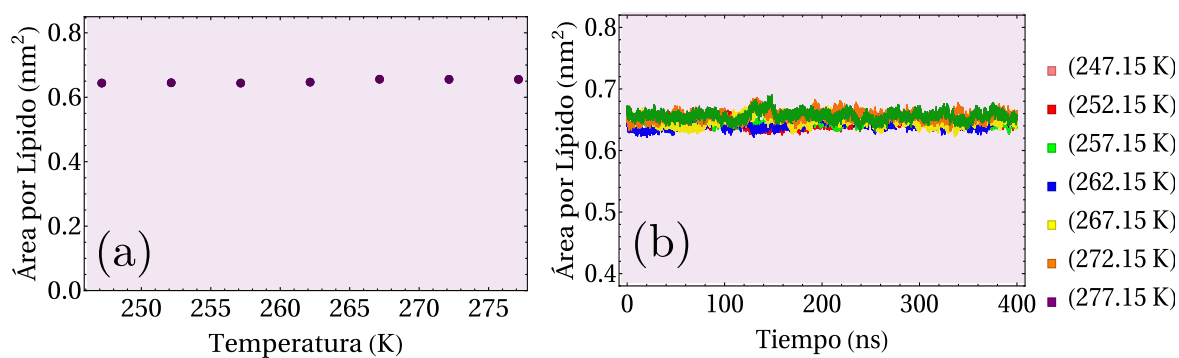


Figura 5.8: Área por lípido del sistema DOPC a diferentes temperaturas

Finalmente, para el lípido diinsaturado DOPC se encuentra el APL, en la Figura 5.8, calculado durante toda la trayectoria, donde la bicapa a todas las temperaturas se equilibra rápidamente, es decir que sólo el caso del lípido saturado, a una temperatura cercana a T_m tarda más en equilibrarse. En la Tabla 5.4 y Figura 5.10 se encuentra el APL promedio calculado a partir de los últimos 100 ns de la trayectoria, allí se observa que en general hay una tendencia a aumentar, sin embargo los valores presentan una mayor fluctuación y el aumento en la propiedad es menor, sobretodo respecto del lípido saturado.

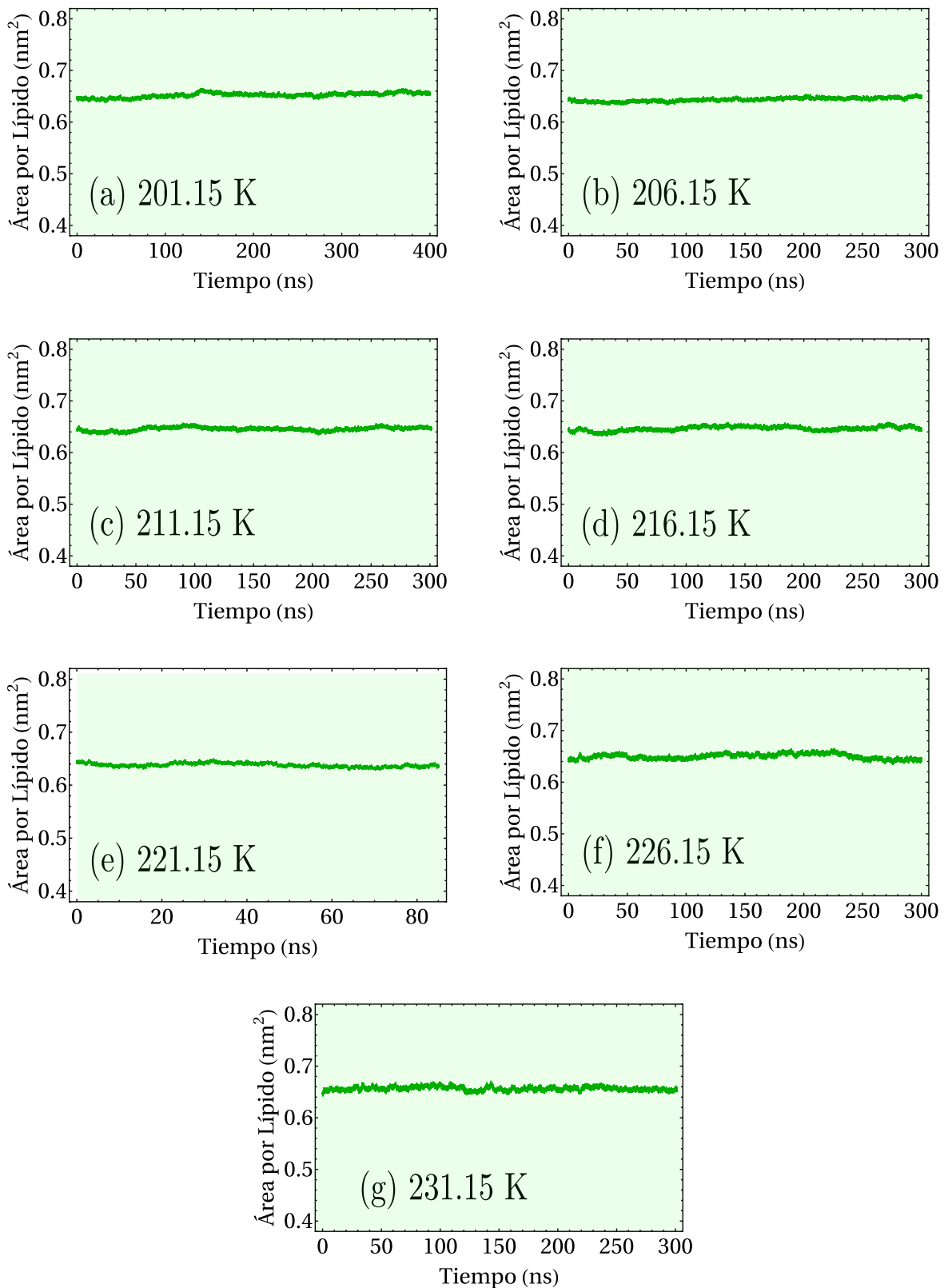


Figura 5.9: Área por lípido del sistema DUPC durante la transición de fase.

Para las bicapas formadas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas observados en la Figura 5.5, los primeros 3 sistemas, (a), (b) y (c), las dinámicas se equilibran rápidamente, antes de 100 ns ya se encuentran equilibrados. Sin embargo a medida que el sistema

se acercan a la transición de fase, los sistemas (d) y (e) tardan en equilibrarse, más aún, el sistema (e) no se observa completamente equilibrado. Finalmente, los sistemas (f) y (g) se observan equilibrados. En el caso de las bicapas formadas por lípidos de cadena carbonada monoinsaturada se observan en la Figura 5.7 razonablemente equilibrados a todas las temperaturas.

Sistema DUPC		
Temperatura (K)	APL (nm ²)	RMSD
201.15	0.6521	5.1025 X10 ⁻⁶
206.15	0.6469	4.5060 X10 ⁻⁶
211.15	0.6460	1.1667 X10 ⁻⁵
216.15	0.6469	1.2300 X10 ⁻⁵
221.15	0.6380	1.3300 X10 ⁻⁵
226.15	0.6437	6.3000 X10 ⁻⁶
231.15	0.6545	5.2900 X10 ⁻⁶

Tabla 5.4: Área por Lípido del sistema DUPC de cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas

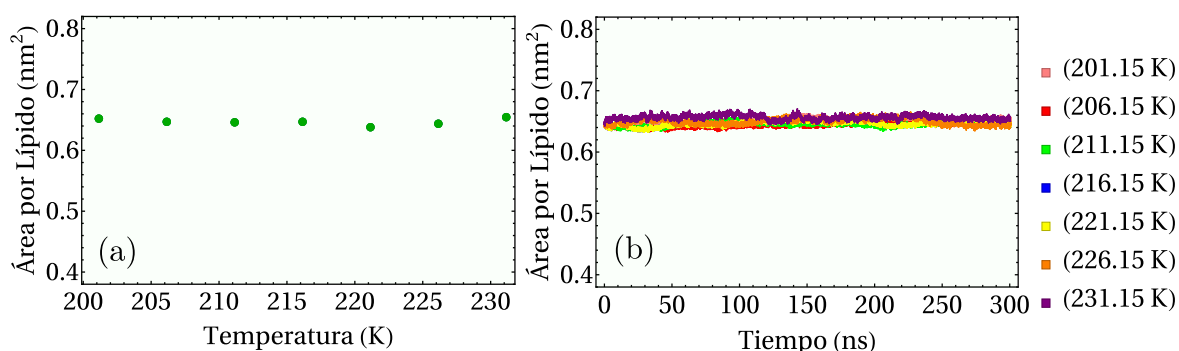


Figura 5.10: Área por lípido del sistema DUPC durante la transición de fase a diferentes temperaturas.

Lo anterior indica que las bicapas formadas por lípidos de cadenas carbonadas saturadas se equilibran más fácilmente que aquellas formadas por lípidos insaturados a la temperatura simulada y este hecho es independiente de las longitudes de la cadena. Sin embargo, tal resultado podría deberse a la fase en la cual se encuentre la bicapa. De acuerdo a las temperaturas de transición de fase de las diferentes bicapas.

5.2.3 Densidad

En las Figuras 5.11, 5.12 y 5.13 se aprecian los perfiles de densidad de masa para las bicapas de los tres lípidos. Como se indicó en el capítulo anterior, a partir de estos gráficos, se calculó el espesor para las bicapas a las diferentes temperaturas.

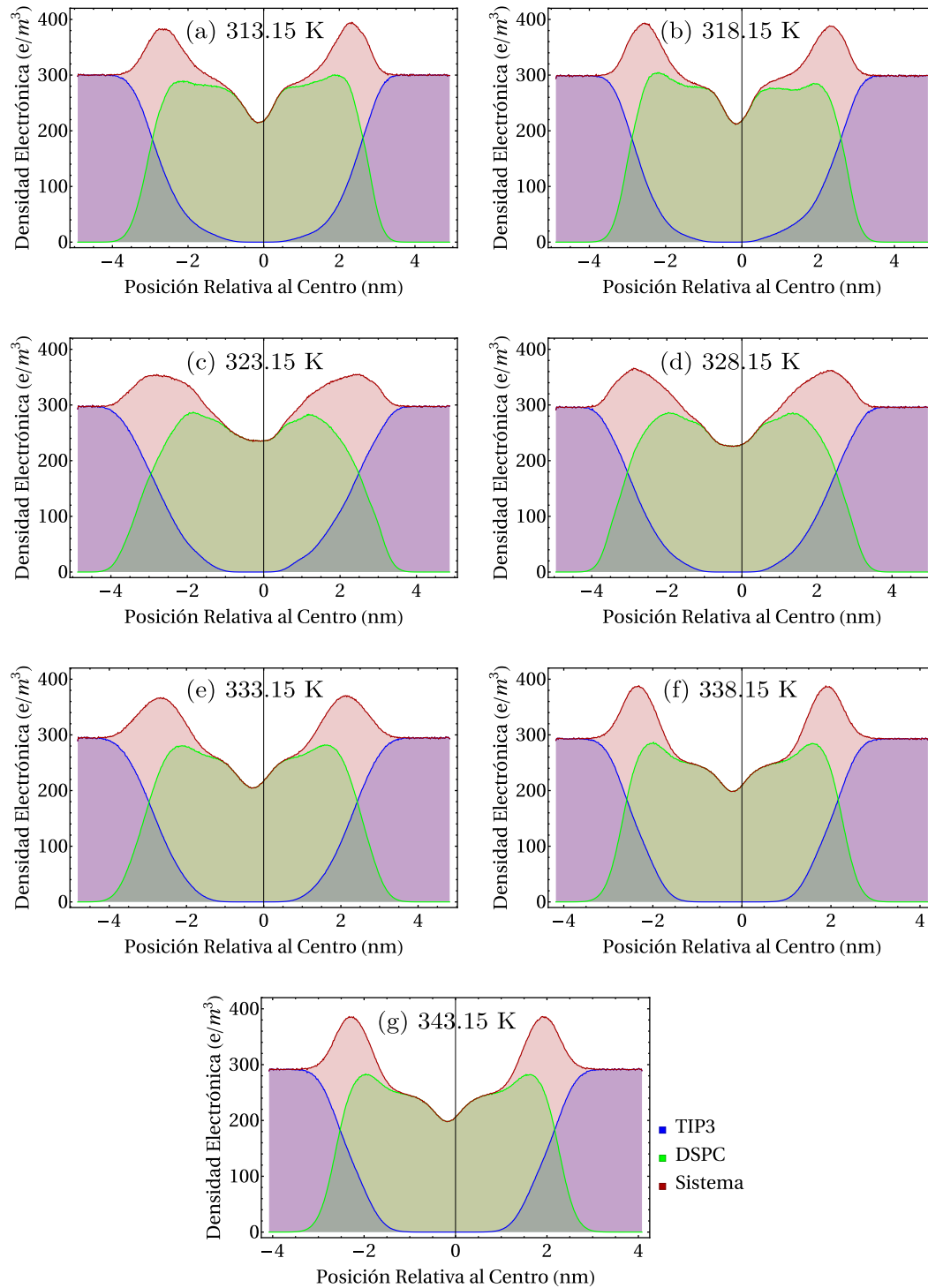


Figura 5.11: Densidad electrónica durante la transición de fase del sistema DSPC.

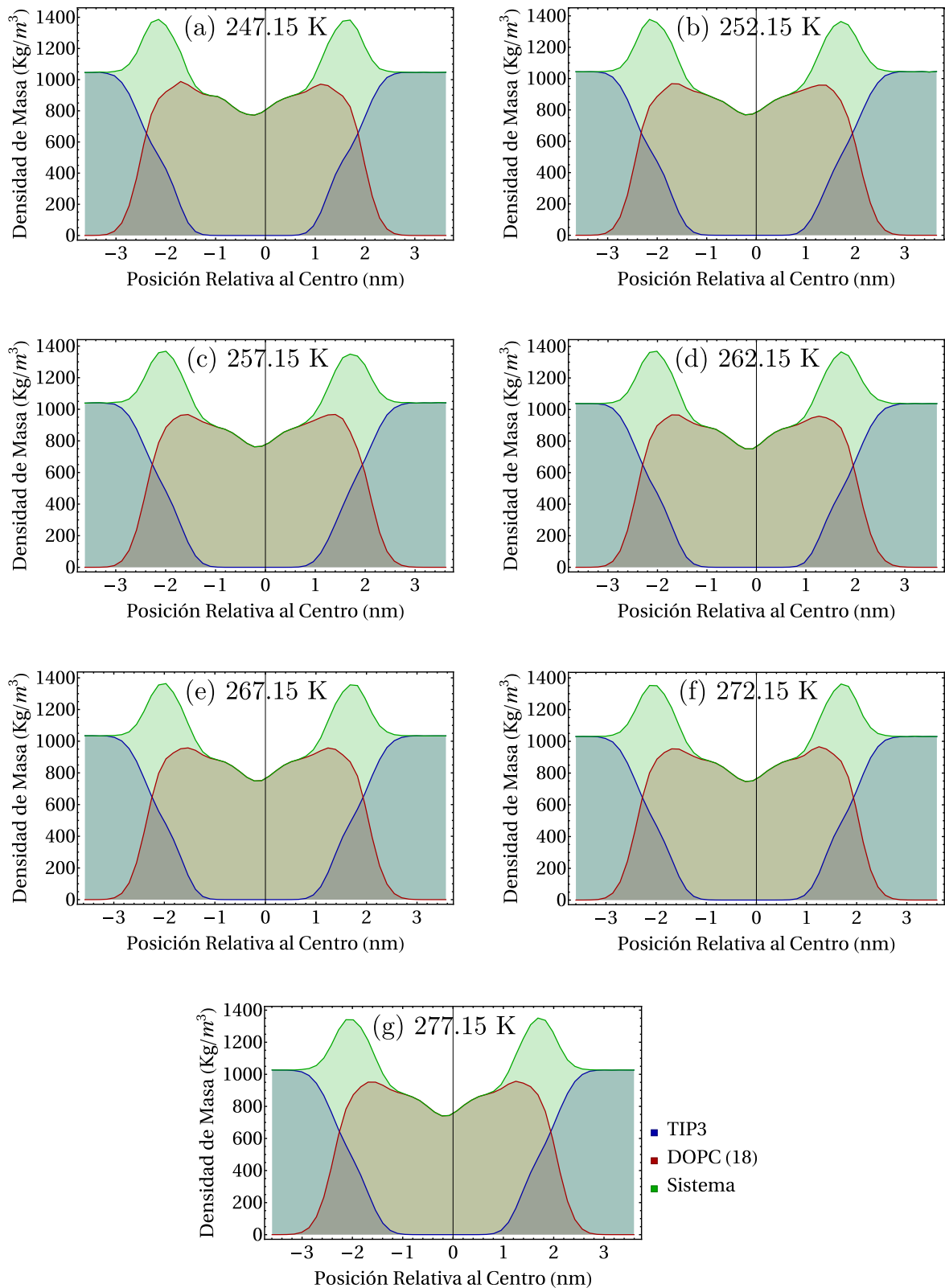


Figura 5.12: Densidad de Masa durante la transición de fase del sistema DOPC.

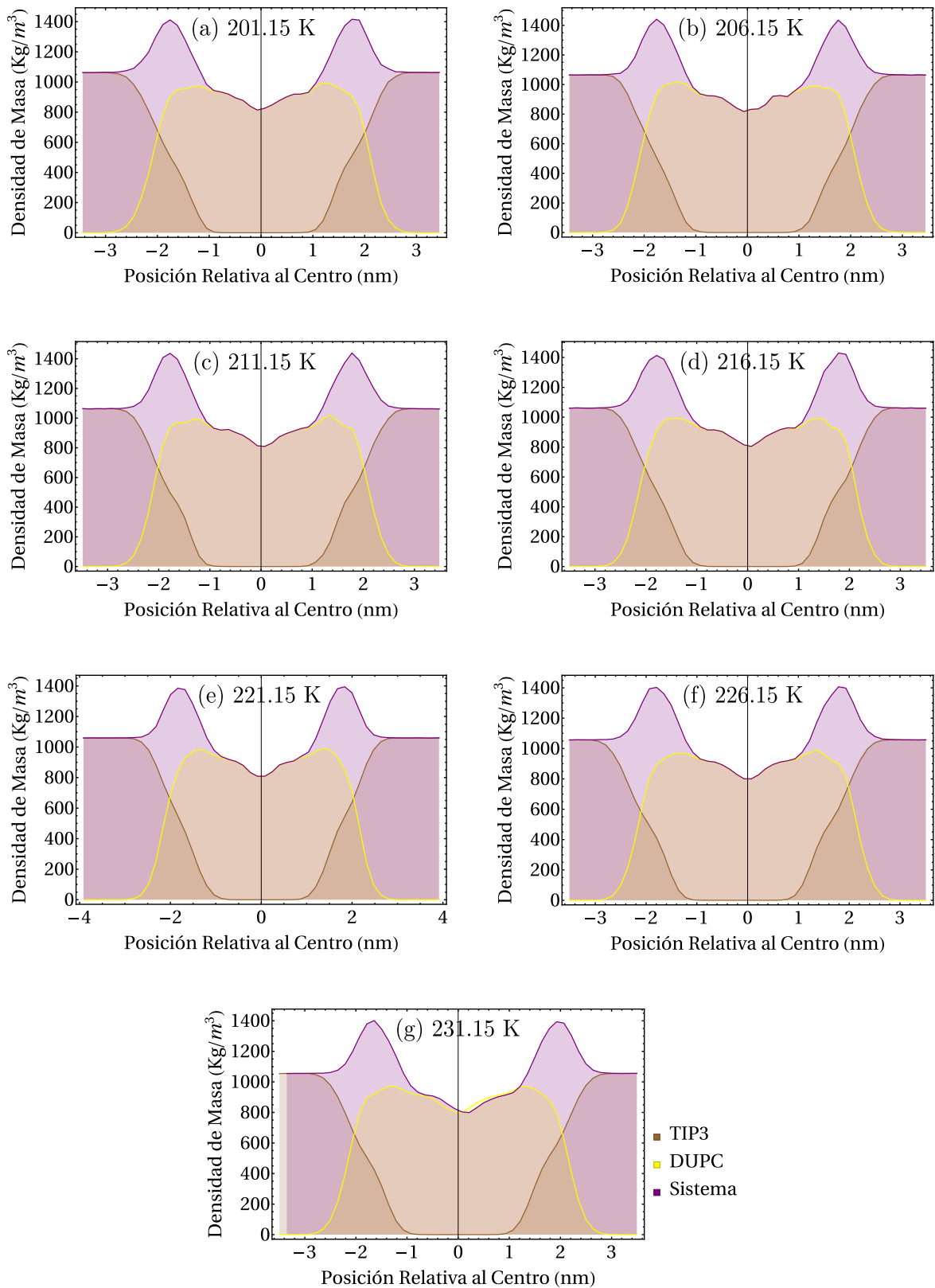


Figura 5.13: Densidad de Masa durante la transición de fase del sistema DUPC.

5.2.4 *Espesor*

El espesor calculado de la Figura 5.11 para el sistema DSPC, se muestra en la Tabla 5.5 y la Figura 5.14.

Sistema DSPC	
Temperatura (K)	Espesor (nm)
313.15	3.9023
318.15	4.2808
323.15	3.1223
328.15	3.3958
333.15	3.6690
338.15	3.5657
343.15	3.4489

Tabla 5.5: Espesor de las bicapas calculadas como la distancia entre picos en los respectivos gráficos de densidad electrónica.

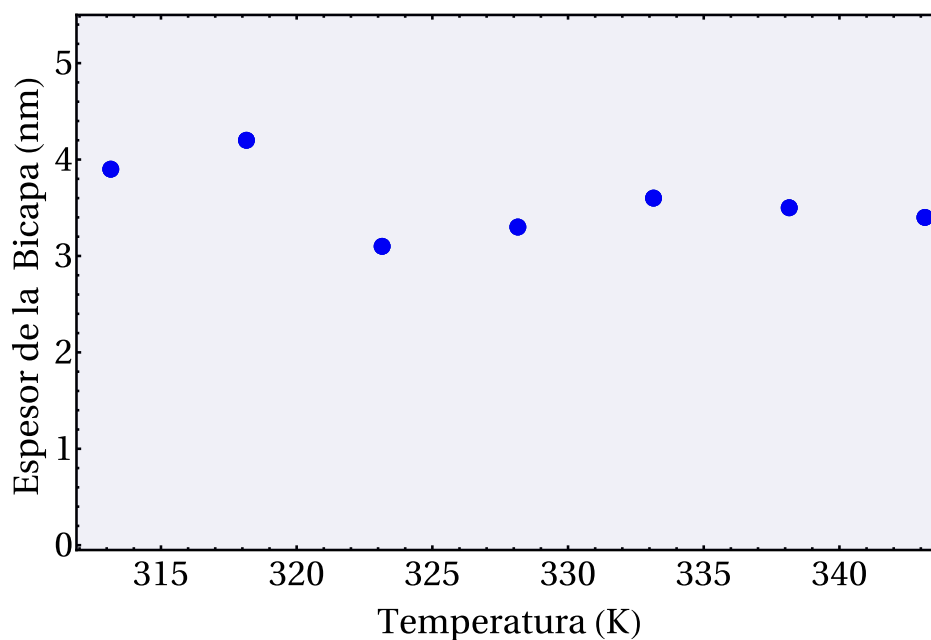


Figura 5.14: Espesor de la bicapa lipídica para el sistema DSPC.

El espesor calculado de la Figura 5.12 para el sistema DOPC, se muestra en la Tabla 5.6 y la Figura 5.15.

Sistema DOPC	
Temperatura (K)	Espesor (nm)
247.15	2.8098
252.15	2.9726
257.15	2.9529
262.15	2.9784
267.15	2.7698
272.15	2.9381
277.15	2.9351

Tabla 5.6: Espesor de la bicapa lipídica del sistema DOPC de cadenas carbonadas monoinsaturadas a diferentes temperaturas.

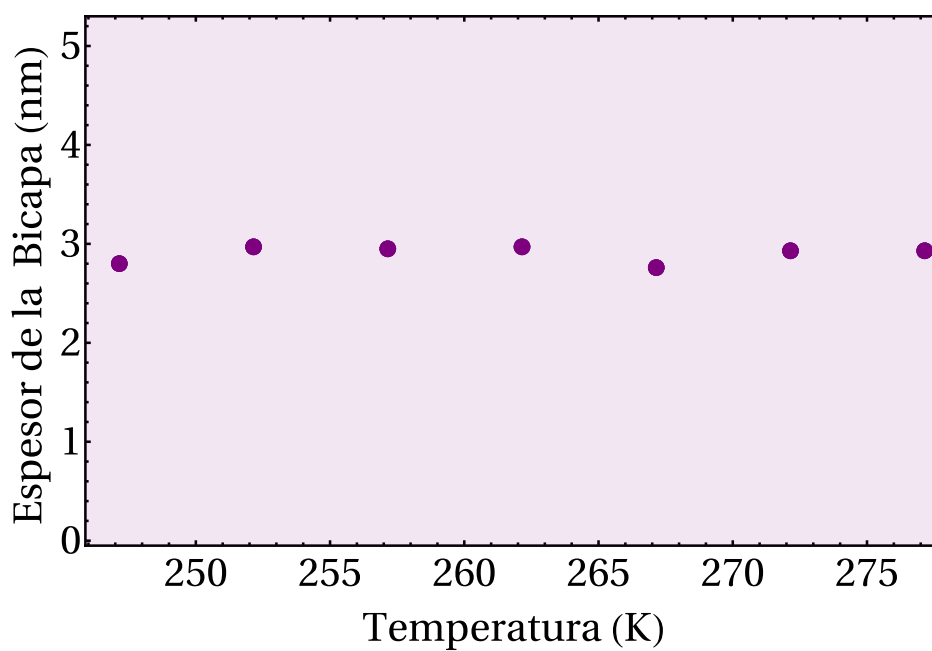


Figura 5.15: Espesor de la bicapa durante la transición de fase del sistema DOPC.

El espesor calculado de la Figura 5.13 para el sistema DUPC, se muestra en la Tabla 5.7 y la Figura 5.16.

Sistema DUPC	
Temperatura (K)	Espesor (nm)
201.15	2.360
206.15	2.674
211.15	2.703
216.15	2.716
221.15	2.719
226.15	2.722
231.15	2.721

Tabla 5.7: Espesor de la bicapa lipídica del sistema DUPC de cadenas carbonadas diinsaturadas a diferentes temperaturas.

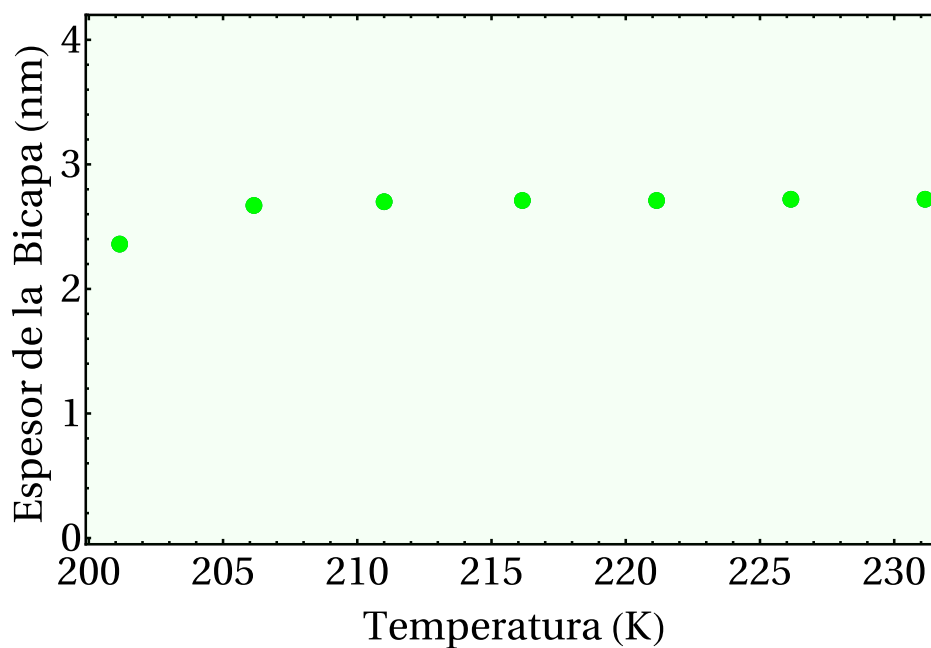


Figura 5.16: Espesor de la bicapa durante la transición de fase del sistema DUPC.

5.2.5 Parámetro de Orden

El parámetro de orden fue calculado únicamente para el lípido saturado, como se mencionó en el capítulo anterior. En la Figura 5.17 se observa el parámetro de orden para las bicapas de DSPC a las diferentes temperaturas. Allí se aprecia como la propiedad disminuye a medida que aumenta la temperatura, indicando una mayor libertad en la rotación de las cadenas carbonadas a través de los enlaces sigma. Este resultados concuerda con los resultados mostrados en las secciones anteriores: área por lípido, y en las visualizaciones de la bicapa, pues también está indicando la transición de fase.

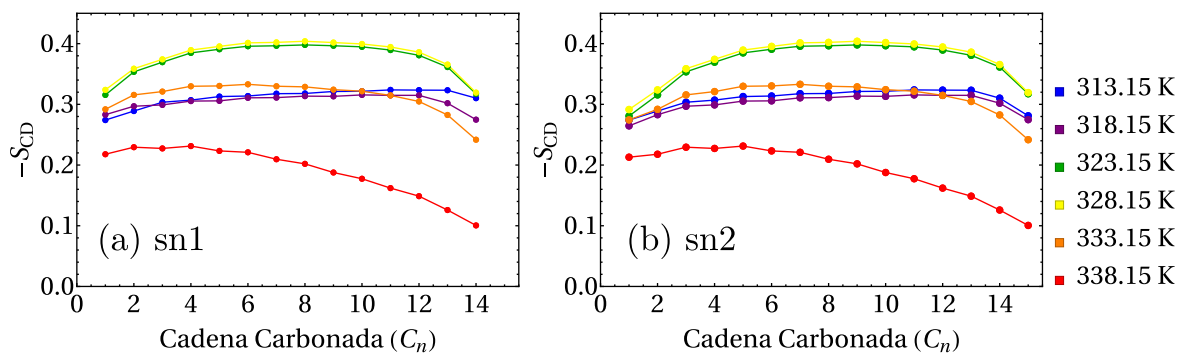


Figura 5.17: Parámetro de Orden durante la transición de fase del sistema DSPC. Cadenas carbonadas (a) sn1 y (b) sn2

5.2.6 Propiedades Elásticas

Las propiedades elásticas se calcularon a partir de las simulaciones a través del módulo de compresibilidad K_A y módulo de rigidez K^b para cada cadena carbonada saturada DSPC, monoinsaturada DOPC y diinsaturada DUPC, respectivamente.

En la transición de fase de una sistema ordenado o tipo gel, a una fase desordenada, tanto el módulo de compresibilidad K_A , como el módulo de rigidez K^b deberían disminuir, dando cuenta de la transición a un sistema con menor rigidez de las cadenas carbonadas y menor energía de interacción entre las mismas.

El módulo de compresibilidad K_A de las bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas, DSPC a diferentes temperaturas se muestra en la Tabla 5.8 y en la Figura 5.18. Allí se observa la tendencia de disminución de la medida con el aumento de la temperatura de simulación, indicando que el sistema cambió de fase al disminuir su rigidez de 1000 a 216 (mN/m) el valor del módulo.

Sistema DSPC	
Temperatura (K)	K_A (mN/m)
313.15	1000.3169
318.15	1126.5300
323.15	823.9528
328.15	610.5807
333.15	492.5353
338.15	278.7156
343.15	216.1489

Tabla 5.8: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas.

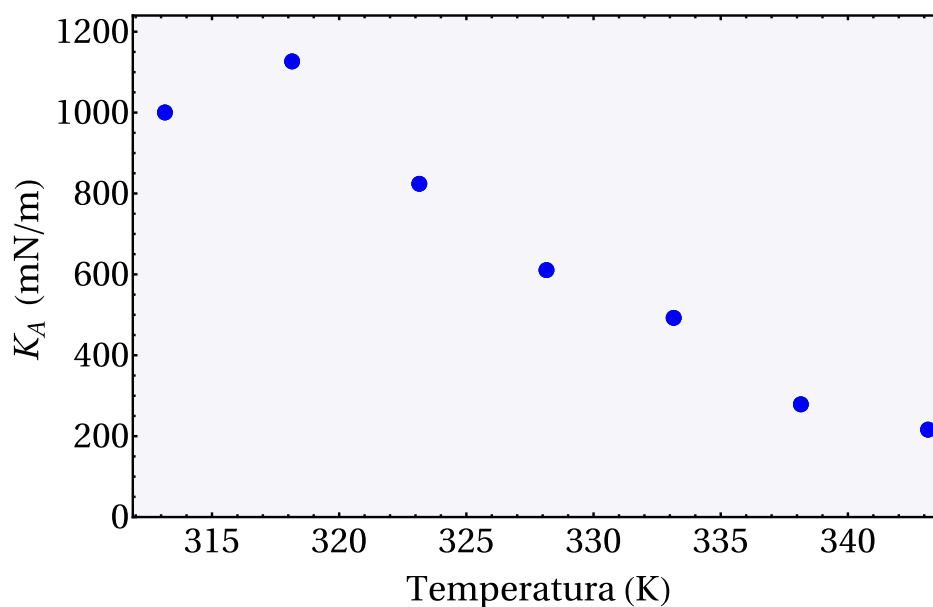


Figura 5.18: Módulo de Compresibilidad para el sistema DSPC

El módulo de compresibilidad K_A de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas a diferentes temperaturas se muestra en la Tabla 5.9 y en la Figura 5.19, allí se observa la tendencia de disminución de la propiedad calculada a medida que aumenta la temperatura de simulación, también indicando que ocurrió la transición de fase. El sistema pasó de 489 a 360 (mN/m). Además se observa como el valor de este módulo es mucho mayor para los lípidos saturados, incluso luego de la transición de fase.

Sistema DOPC	
Temperatura (K)	K_A (mN/m)
247.15	489.6919
252.15	699.4824
257.15	386.1274
262.15	279.6623
267.15	347.9619
272.15	360.4329
277.15	360.4329

Tabla 5.9: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos DOPC de cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas.

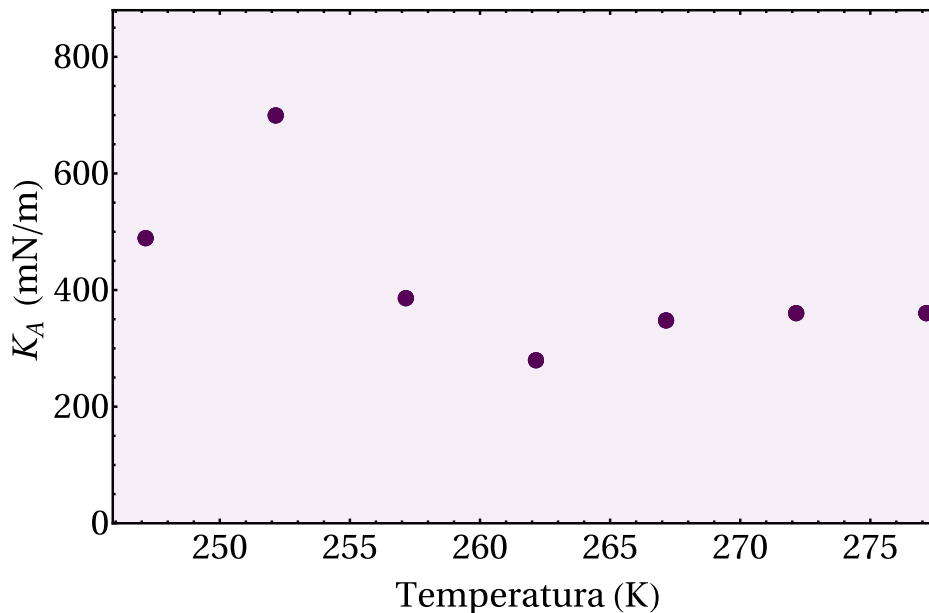


Figura 5.19: Módulo de compresibilidad de la bicapa lipídica durante la transición de fase del sistema DOPC.

El módulo de compresibilidad K_A de las bicapas de lípidos de cadenas carbonadas diinsaturadas a diferentes temperaturas se muestra en la Tabla 5.10 y en la Figura 5.20, donde se observa la tendencia de disminución, a medida que aumenta la temperatura de simulación.

Sistema DUPC	
Temperatura (K)	K_A (mN/m)
201.15	2365
206.15	2722
211.15	1075
216.15	1044
221.15	974
226.15	2125
231.15	2628

Tabla 5.10: Módulo de compresibilidad de bicapas de lípidos DUPC de cadenas carbonadas diinsaturadas a diferentes temperaturas.

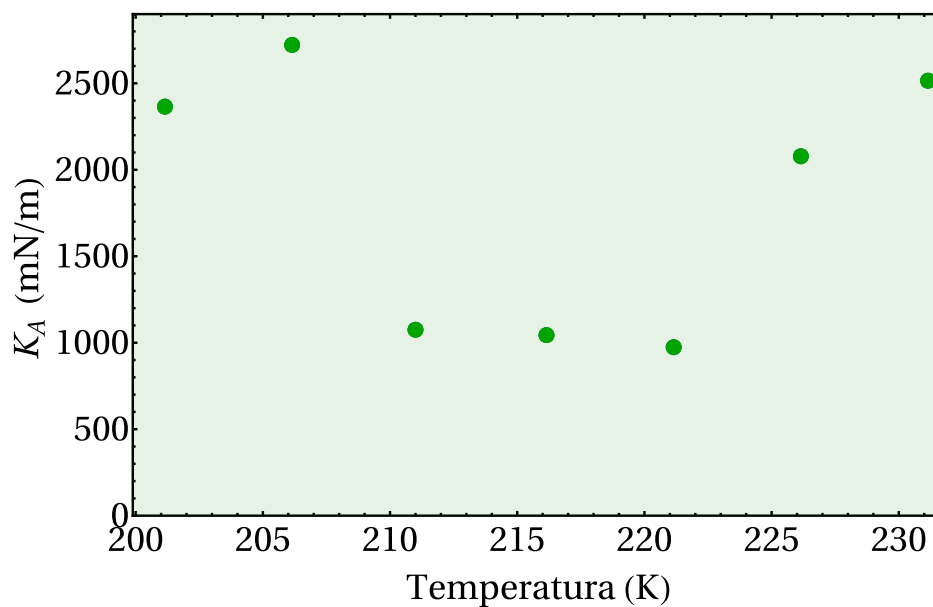


Figura 5.20: Módulo de compresibilidad de la bicapa lipídica durante la transición de fase del sistema DUPC.

El módulo de Rigidez K^b de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas saturadas a diferentes temperaturas se muestra en la Tabla 5.11 y en la Figura 5.21. Nuevamente se observa la tendencia a disminuir a medida que aumenta la temperatura de simulación.

Sistema DSPC	
Temperatura (K)	$K^b (k_B T)$
313.15	351.1057
318.15	505.2357
323.15	154.6326
328.15	145.9635
333.15	146.1951
338.15	76.4478
343.15	54.0116

Tabla 5.11: Módulo de Rigidez K^b para el sistema DSPC.

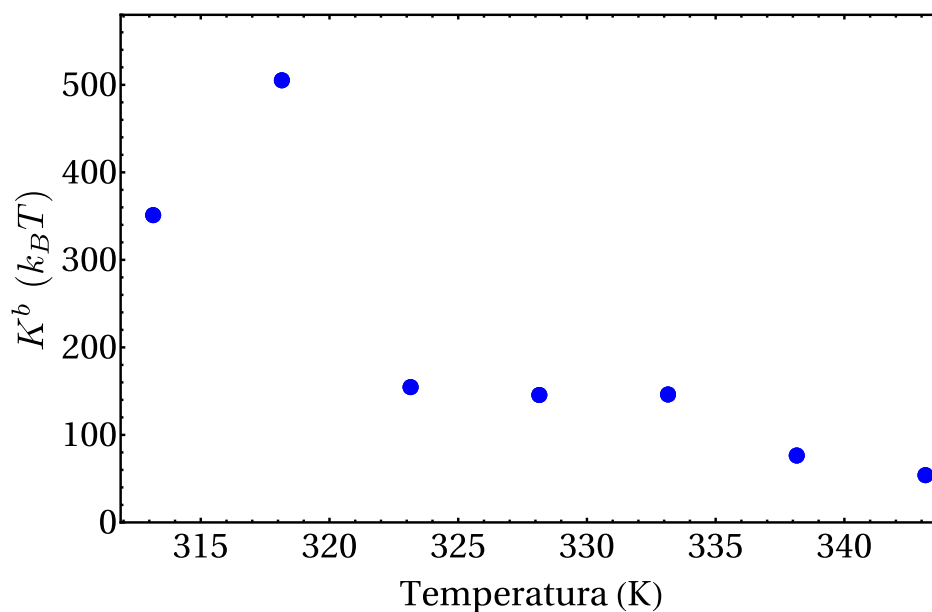


Figura 5.21: Módulo de Rigidez para el sistema DSPC

El módulo de Rigidez K^b de las bicapas de lípidos de cadenas carbonadas monoinsaturadas a diferentes temperaturas se muestra en la Tabla 5.12 y en la Figura 5.22. Allí se observa que el módulo disminuye de 66.83 a 57.27 ($k_B T$)

Sistema DOPC	
Temperatura (K)	K^b ($k_B T$)
247.15	66.83
252.15	113.40
257.15	61.36
262.15	45.66
267.15	45.41
272.15	56.41
277.15	57.27

Tabla 5.12: Módulo de Rigidez K^b para el sistema DOPC.

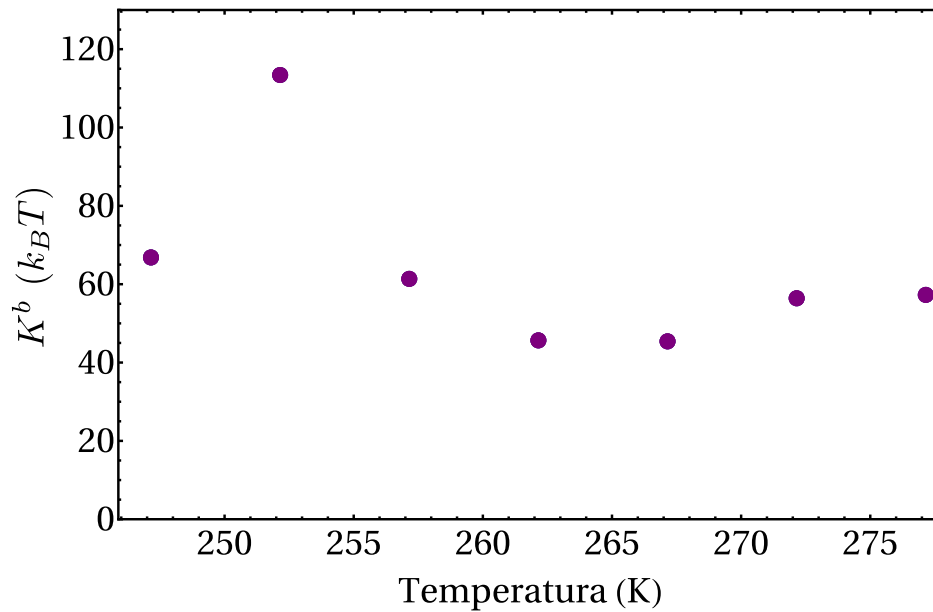


Figura 5.22: Módulo de Rigidez para el sistema DOPC

El módulo de rigidez de bicapas de lípidos de cadenas carbonadas diinsaturadas a diferentes temperaturas K^b se muestra en la Tabla 5.13 y en la Figura 5.23. En este caso, con respecto al módulo de rigidez, se observa que pese a que hay una tendencia a la disminución en la propiedad, los valores correspondientes a las últimas temperaturas no se encuentran de acuerdo a la tendencia. Esto empieza a mostrar una limitación en el en el modelo, y sea la evolución temporal del lípido de acuerdo al campo de fuerza, o el modelo matemático para el cálculo del módulo de rigidez.

Sistema DUPC	
Temperatura (K)	$K^b (k_B T)$
201.15	182.26
206.15	317.91
211.15	129.99
216.15	128.17
221.15	119.95
226.15	262.30
231.15	324.41

Tabla 5.13: Módulo de Rigidez K^b para el sistema DUPC.

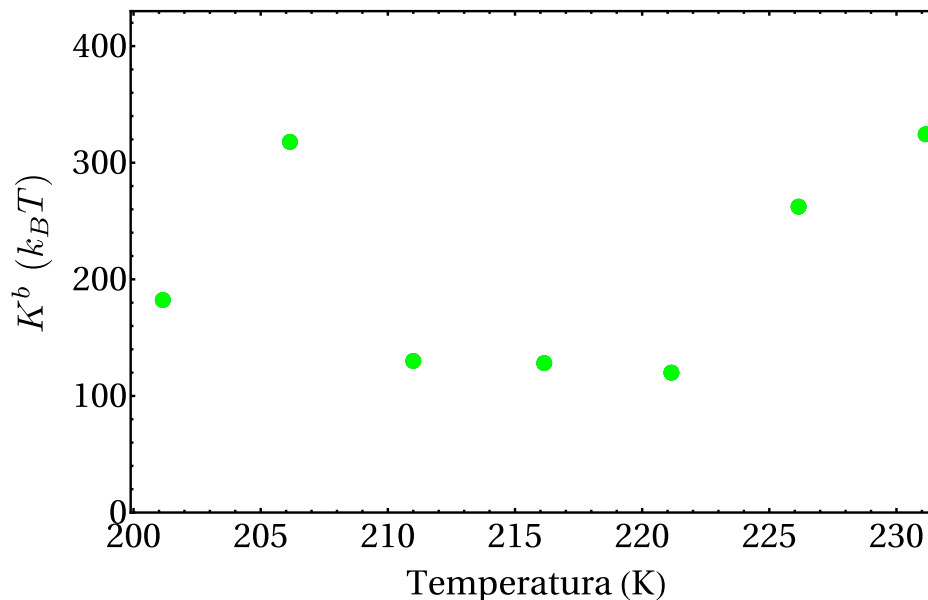


Figura 5.23: Módulo de Rigidez para el sistema DUPC

INFLUENCIA DEL GRADO DE INSATURACIÓN EN EL COMPORTAMIENTO DE FASE DE SISTEMAS MULTICOMPONENTES

Si bien los sistemas multicomponentes modelados computacionalmente pueden representar sistemas reales, con composición específica como por ejemplo la composición de las células de eritrocitos, hay otro tipo de sistemas multicomponentes que también son interesantes y pueden arrojar información importante. En este caso, sistemas multicomponentes únicamente formados por fosfatidilcolinas.

Las interacciones lípido-lípido pueden producir rafts"[37] mediante diferentes mecanismos. Los cuales son pequeñas regiones de la bicapa que tiene composición y fase específica y diferente al resto de la bicapa. Tales microdominios, como ya se ha mencionado, además de ser importantes en numerosas características de las membranas, son difíciles de observar a nivel experimental. Aunque los procesos de transición de fase requieren escalas de tiempo del orden de microsegundos, la formación de rafts", los cuales tienen escalas del orden de los microsegundos podrían estudiarse mediante modelos de todos los átomos. En este capítulo se estudiaron sistemas multicomponentes, donde la composición da cuenta del grado de insaturación de los lípidos con el fin de observar cómo la cantidad de lípidos, gradualmente insaturados, pueden influir en las propiedades de las bicapas.

6.1 SISTEMAS SIMULADOS

Para estudiar la influencia de la insaturación de la cadena carbonada sobre el comportamiento de fases de sistemas multicomponentes, se seleccionó como sistema inicial, la fosfatidilcolina saturada de 18 carbonos. Se ensamblaron sistemas con composición variable, en la cual se fue aumentando gradualmente la composición de lípidos insaturados. En la Tabla 6.1 se observan los diferentes sistemas con la composición porcentual de cada lípido. Seguidamente, cada sistema se simuló a 4 temperaturas diferentes, las cuales son intermedias entre las temperaturas de transición de fase de los lípidos individuales. Las temperaturas de transición de fase de los lípidos se encuentran en la Tabla 6.2 [31], y las temperaturas de simulación en la Tabla 6.3.

Los sistemas se ensamblaron y ejecutaron siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 3 durante 150 ns.

Sistema	% DSPC	% DOPC	% DUPC	TOTAL
1	100	0	0	100
2	66.66	33.33	0	100
3	33.33	33.33	33.33	100
4	0	0	100	100

Tabla 6.1: Composición porcentual de sistemas multicomponentes.

Lípido	Temperatura TM (K)
DSPC	328.15
DOPC	256.15
DUPC	216.15

Tabla 6.2: Temperatura TM de transición de fase de bicapas lipídicas monocomponentes.

Lípido	Temperatura (K)
T1	200.15
T2	245.15
T3	305.15
T4	328.15

Tabla 6.3: Temperaturas de simulación para bicapas multicomponentes descritas en la table 6.1.

6.2 RESULTADOS

6.3 BICAPAS LIPÍDICAS

En la Figura 6.1 se observa la visualización en VMD de las bicapas de los diferentes sistemas a las temperaturas simuladas. El sistema 1 corresponde a bicapas con una composición de 100 % DSPC, cuya T_m es de 328.15 K. por tanto, a la temperatura 4 ($T_4= 340.15$ K) la bicapa se encuentra en fase de líquido desordenado L_α .

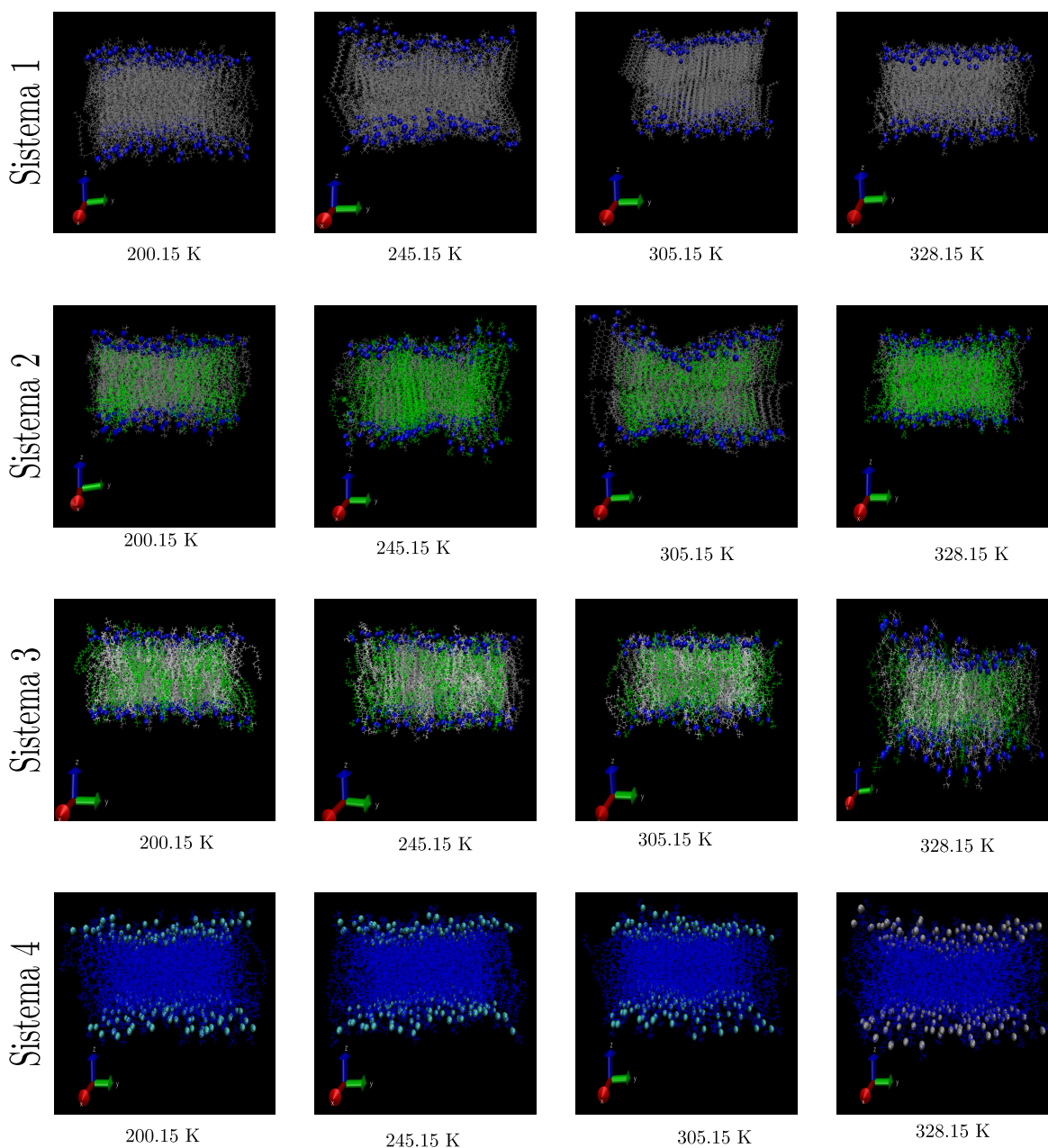


Figura 6.1: Comparativo de bicapas de los sistemas 1, 2, 3 y 4 a diferentes temperaturas.

Además, a la temperatura 3: 301.15 K, el sistema se observa en la fase de gel L_β en cadenas inclinadas $L_{\beta'}$, a la temperatura 2: de 245.15 K se encuentra en fase en gel L_β y a la temperatura 1: 200.15 K el sistema se observó en fase de gel L_β , Es decir que la bicapa de observó en varias fases diferentes de a cuerdo a la temperatura.

Por otra parte, el sistema 2 a la temperatura 4: 328.15 K se observa e fase de líquido desordenado L_α , es decir que la bicapa ya atravesó la transición de fase. Sin embargo, en los sistemas 2 y 3, con temperaturas de 245.15 y 301.15 K, la bicapa se encuentra ondulada, o en fase de ripple $P_{\beta'}$, para ambas temperaturas, lo cual indica que al adicionar 33% de insaturación se observa la pretransición de fase. Además T_m empieza a desplazarse hacia una menor temperatura.

Seguidamente, en el sistema 3, además de observar los sistemas 1 (200.15 K) en fase de gel L_β , y la temperatura 4 (328.15K), que se observa e fase de líquido desordenado L_α , es notorio que la fase ripple a las temperaturas 2 y 3 se pierde. Es decir que el aumento en el porcentaje de insaturación, eliminó la pretransición de fase, y el sistema se comporta ahora de forma mas parecida a una bicapa insaturada.

Finalmente, el sistema 4 que es 100% diinsaturado, visualmente no presenta mayores diferencias. Este comportamiento ya se había observado en el capítulo anterior para los sistemas monocomponentes monoinsaturado y diinsaturado.

6.4 ÁREA POR LÍPIDO

Como se mencionó en la metodología, el área por lípido para los sistemas monocomponentes fue calculado con las dimensiones de la caja, sistemas 1 y 4; y con el software APL@VORO para los sistemas 2 y 4, indicados en la Tabla 6.1.

En la Figura 6.2 se observa el área por lípido a lo largo de toda la trayectoria, para el sistema 1 a las temperaturas simuladas. Las cuatro bicapas se observan equilibradas a partir de 40 ns. El área por lípido promedio, calculado a partir de los 120 ns se muestra en la Tabla 6.4. Allí se observa que para las primeras tres temperaturas, donde no ha ocurrido la transición de fase, el APL es muy similar, y luego, a la temperatura 4, el APL aumenta de 0,57 a 0.63 nm^2 , indicando que la transición de fase se llevó a cabo. Este resultados además cocuerda con lo vizulizado mediante VMD.

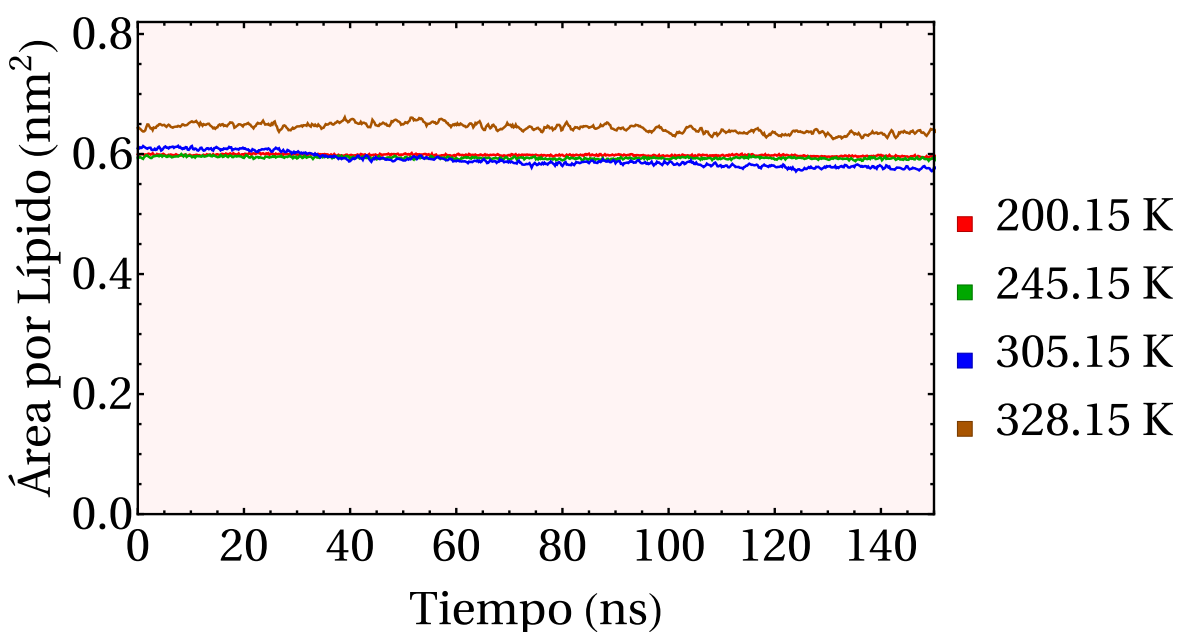


Figura 6.2: APL del sistema 1: 100 % lípido DSPC.

Para el sistema 2, donde al sistema se le adiciona un 33.3 % de un lípido monoinsaturado, se encuentra el APL para cada lípido en la Tabla 6.5 y la Figura 6.3. Acá se observa cómo el APL es mayor siempre para el lípido monoinsaturado y además, desde la temperatura 1 hasta la temperatura 4 aumenta de 0.61 a 0.66 nm^2 , indicando la transición de fase.

DSPC	T (K)	APL (nm)
200.15		0.596545
245.15		0.5922
305.15		0.57668
328.15		0.638427

Tabla 6.4: APL del sistema 1: 100 % lípido DSPC.

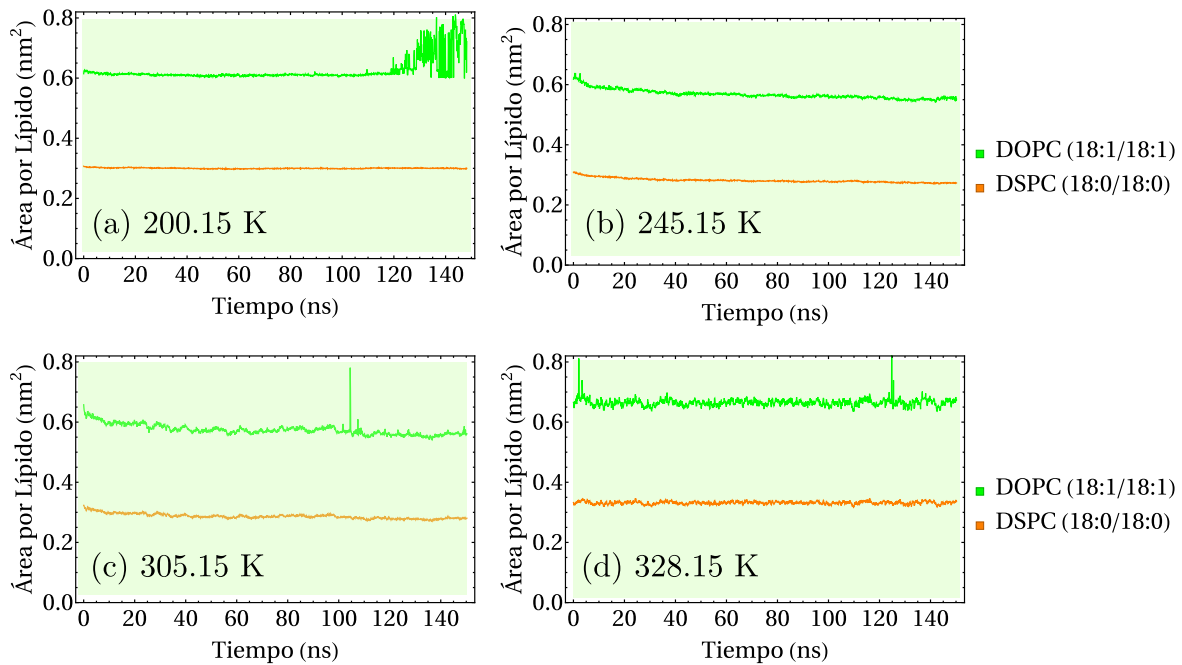


Figura 6.3: Sistema 2: 66.66 % DSPC, 33.33 % DOPC.

Sistema 2 (k)	DSPC (nm)	DOPC (nm)
200.15	0.300246	0.610963
245.15	0.280158	0.5655143
305.15	0.286525	0.573499
328.15	0.331937	0.664187

Tabla 6.5: Área por lípido sistema 2 a diferentes temperaturas.

En la Figura 6.4 y Tabla 6.6 se encuentra el APL del sistema 3, que contiene 33,3% en composición, para cada uno de los lípidos saturados, monoinsaturado y diinsaturados. En la figura se observa que el APL para cada lípido es similar a la misma temperatura, es decir que ningún lípido se ve afectado por los demás, como ocurría para el sistema 2, donde la presencia del lípido saturado limitaba la libertad conformacional del lípido saturado. Por otra parte el cambio en APL indica el cambio de fase, luego de la temperatura 2.

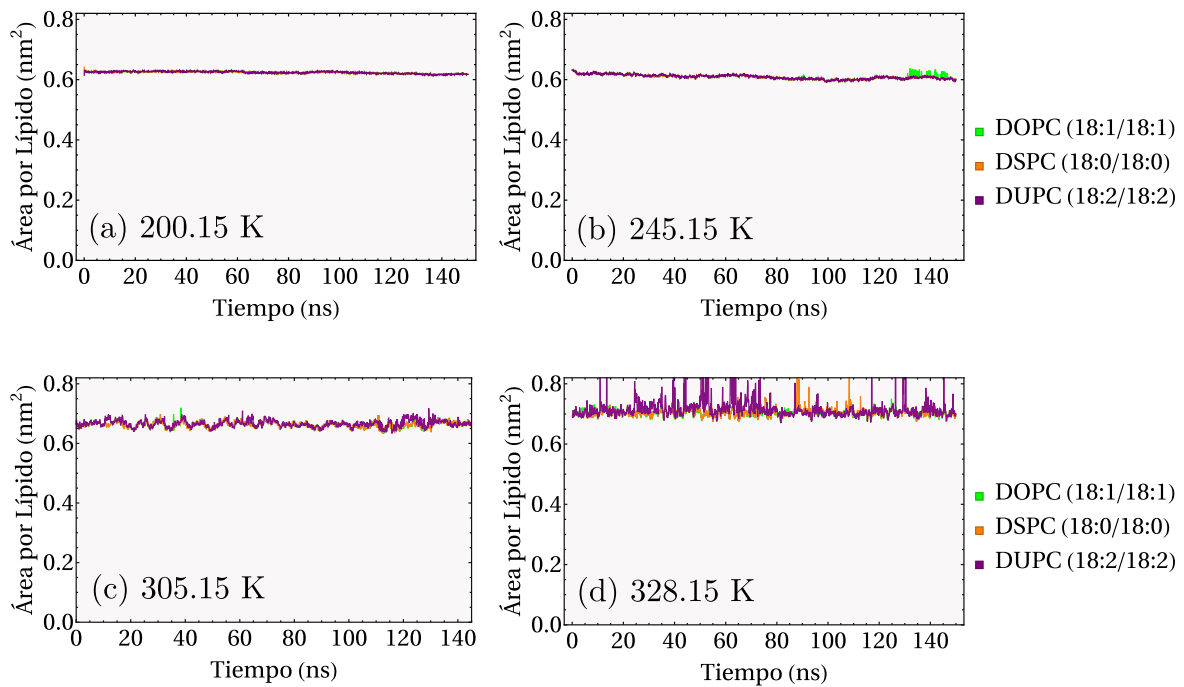


Figura 6.4: Área por lípido del sistema 3: 33.33 % DSPC, 33.33 % DOPC, 33.33 % DUPC.

Sistema 3 (K)	DSPC (nm)	DOPC (nm)	DUPC (nm)
200.15	0.624414	0.624877	0.625183
245.15	0.607942	0.608311	0.608275
305.15	0.663816	0.663848	0.664924
328.15	0.705621	0.702487	0.723224

Tabla 6.6: Área por lípido sistema 3 a diferentes temperaturas.

Finalmente, el APL para el sistema 4 se observa en la Figura 6.5 y la Tabla 6.7, donde la transición de fase ocurrió luego de la temperatura 1, con un cambio en el APL de 0.21 a 0.22 nm^2 , de todos modos, el APL sigue aumentando a medida que aumenta la temperatura.

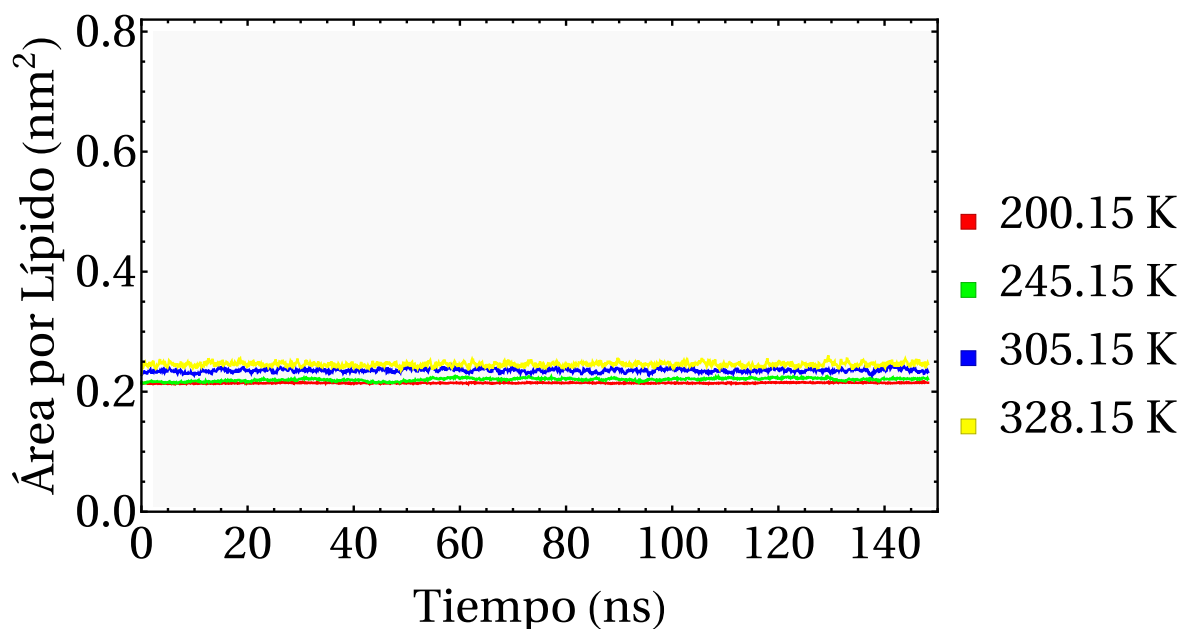


Figura 6.5: Área por lípido del sistema 4: 100% DUPC.

Sistema 4 (K)	DUPC (nm)
200.15	0.214474
245.15	0.220288
305.15	0.235832
328.15	0.245305

Tabla 6.7: Área por lípido del sistema 4 a diferentes temperaturas.

En la figura 6.6 se observa como es la variación de APL para cada lípido de acuerdo al sistema. De la figura se puede inferir como es el efecto de cada lípido sobre los demás de acuerdo a la temperatura y la composición del sistema. El DSPC (saturado), por ejemplo, se ve fuertemente afectado por el DOPC (monoinsaturado), reduciendo drásticamente su APL o libertad conformacional. Por su parte, el DOPC no se altera significativamente ya sea en presencia de un lípido saturado (DSPC) o diinsaturado (DUPC). En el caso del DUPC, éste también se ve afectado por la presencia del DOPC, pues en su presencia eleva drásticamente su APL como ocurre en el sistema 3.

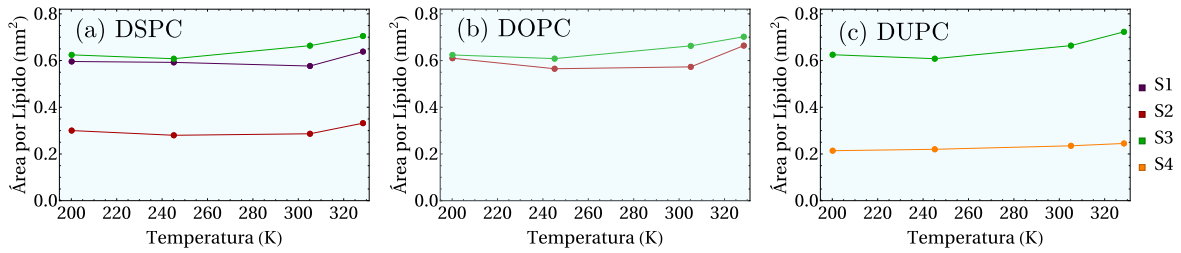


Figura 6.6: APL de los lípidos en cada sistema.

6.5 MÓDULO DE COMPRESIBILIDAD

Por último, en la Figura 6.7 se calculó el módulo de compresibilidad para cada sistema de acuerdo a las fluctuaciones del área por lípido. Para todos los sistemas, el módulo de compresibilidad disminuye a medida que aumenta la temperatura y el sistema hace transición de fase. En este gráfico se observa como el módulo de compresibilidad es menor para el sistema 2, el cual es 66.6 % saturado y 33.3 % insaturado, mostrando como la adición de insaturación en el sistema causa que el sistema sea mas compacto, sin embargo, para el sistema 3 donde 33.3 % del sistema saturado es reemplazado por un lípido diinsaturado, lo cual hace que este efecto disminuya y el sistema sea menos compacto.

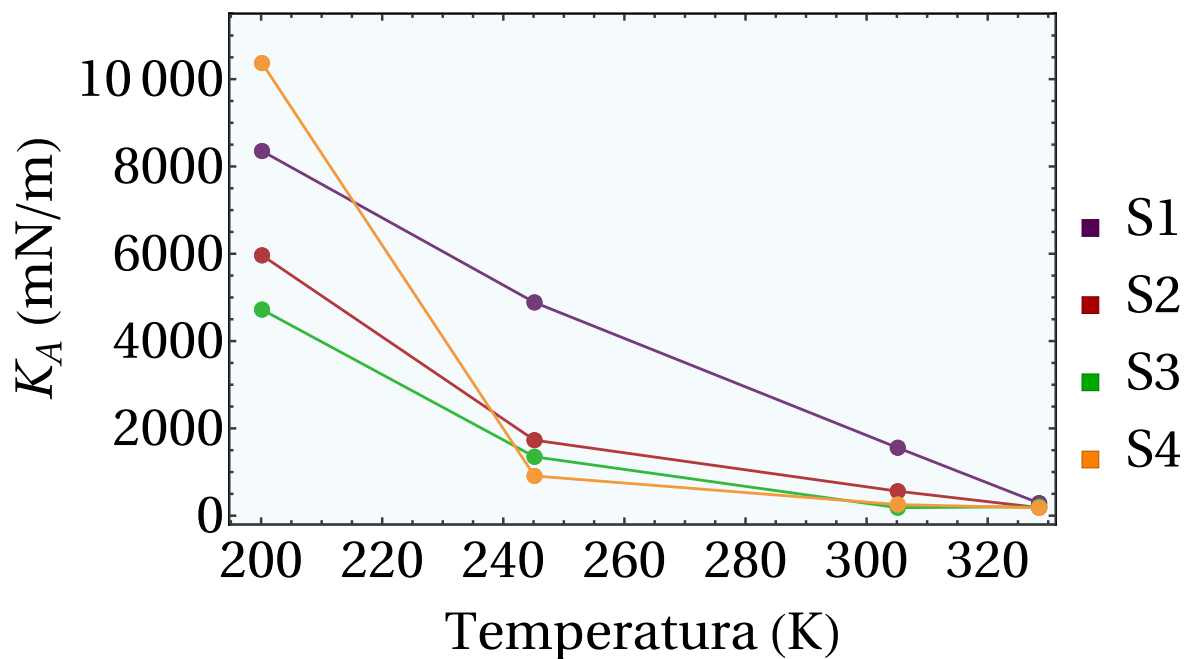


Figura 6.7: Módulo de compresibilidad de sistemas multicomponentes.

Todas las observaciones derivadas de este capítulo son bastante interesantes, debido a que sería muy difícil acceder a estos detalles a través de medidas experimentales.

CONCLUSIONES GENERALES

Este trabajo permitió aproximarse entender la influencia de características tales como la longitud y la insaturación de las cadenas carbonadas, en las propiedades elásticas y de fase de bicapas lipídicas. En primer lugar se concluyó la influencia de la longitud de la cadena en las propiedades estructurales y elásticas de bicapas saturadas y monoinsaturadas a una temperatura específica. Además, fue posible establecer diferencias entre el comportamiento de las bicapas monocomponentes de acuerdo al grado de insaturación, y a partir de las observaciones, entender cómo se comportan los sistemas multicomponentes de los mismos lípidos.

- De acuerdo a la validación del campo de fuerza frente a las propiedades del sistema DPPC, Charmm-36 es un potencial que permite modelar bien las interacciones en las bicapas de fosfatidilcolinas, especialmente para calcular propiedades como el área por lípido y el espesor de las bicapas con errores del 3,17 % y 0,53 %. Sin embargo para las propiedades elásticas, no da una representación tan buena, con errores del 21,9 % para el módulo de compresibilidad, y del 22,07 % para el módulo de rigidez.
- El área por lípido es una medida que da cuenta de la organización de las cadenas carbonadas de los lípidos que forman la bicapa, esta medida disminuye para las bicapas a medida que aumenta la cadena carbonada de lípidos saturados, indicando que las cadenas carbonadas más largas, existe un mayor empaquetamiento de los lípidos. Para cadenas que difieren en longitud de 6 carbonos, del DDPC (10 carbonos) al DPPC (16 Carbonos) el aumento en el **APL** es de 0.046 nm^2
- En el caso de las bicapas formadas por lípidos monoinsaturados, la tendencia para el área por lípido se mantiene, pues este disminuye a medida que aumenta la longitud de la cadena. Sin embargo, el cambio es mayor dado el cambio en la longitud de la cadena carbonada, indicando que en los sistemas monoinsaturados el aumento de la longitud de la cadena tiene mayor influencia en las bicapas de lípidos monoinsaturados.
- El modelo empleado permitió reproducir el proceso de transición de fase de la bicapa de lípidos saturados DSPC. De acuerdo a los resultados de las simulaciones, la transición de fase ocurrió en un rango de temperatura cercana a la temperatura reportada experimentalmente y, además se observó la fase de transición ripple.
- En el caso de los sistemas multicomponentes, la DM durante un rango grande de temperaturas (200.15 a 328.15 K) permitió observar varias fases de un sistema lipídico

en fase lamelar: gel L_{β} , gel en cadenas inclinadas $L_{\beta'}$, gel ondulado $P_{\beta'}$ y cristal líquido L_{α} .


- También fue posible evidenciar como la pretransición de fase o presencia de la fase ripple, se pierde a medida que al sistema se le agrega cierta cantidad de lípidos insaturados. Es decir que va perdiendo rasgos de bicapa saturada y adquiriendo otros de bicapa insaturada.
- De acuerdo al comportamiento del APL de cada lípido en los diferentes sistemas multicomponentes, es posible concluir el efecto de cada lípido sobre los demás. El lípido monoinsaturado DOPC siempre afecta el comportamiento de los demás. En presencia de un lípido saturado, disminuye el APL del último, mientras que en presencia de un lípido diinsaturado, le aumenta el APL. Esto muestra como podría modularse la rigidez o libertad conformacional de una bicapa de acuerdo al contenido de insaturaciones.

PERSPECTIVAS

Después de los resultados que se lograron obtener, especialmente la verificación y aplicabilidad de un modelo y una metodología computacionales para estudiar bicapas lipídicas, debido a que varios de los fenómenos, tendencias y resultados que se han observado experimentalmente fueron obtenidos también mediante la dinámica, este trabajo permitió tener un modelo base, a partir del cual es posible continuar, profundizar y extender, en este campo de investigación.


Particularmente, este trabajo genera las siguientes posibilidades:

- Estudiar procesos de transición de fase de bicapas multicomponentes: Dados los resultados obtenidos hasta ahora, es posible hacer nuevas simulaciones dentro de los rangos que están propuestos, para así obtener información mas relevante y específica, respecto a la temperatura real de la transición de fase.
- Obtener medidas de la capacidad calorífica y obtener entalpías de transición de fase.
- Con las dinámicas que ya se tienen, es posible realizar cálculos de otras propiedades, especialmente propiedades dinámicas, como coeficientes de difusión, y así evaluar y aplicar el modelo para estudiar otros fenómenos.
- Por otra parte, es posible combinar resultados de estas modelaciones con campos de fuerza de todos los átomos, con modelaciones *coarsed grained* y así extender la aplicabilidad del modelo a fenómenos a otras escalas espaciales y temporales.




UNIVERSIDAD EAFIT

Length Carbon Chain Variation in Saturated and Monosaturated Glycerophospholipids on Elastic and Thermotropic Behaviour of Lipid Bilayers by Molecular Dynamics Simulations



CLAQ 2020



IV Congreso Colombiano de Bioquímica y Biología Molecular

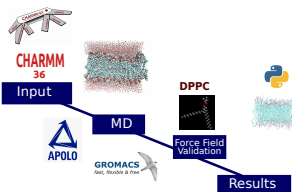
María Clara Quintero^{1,2}, Jorge David¹, Luis A. Gómez²

¹ Grupo CIBIOP, ² Maestría en Física Aplicada, Escuela de Ciencias, Universidad EAFIT - Medellín

Objetivos

- Analyze the behaviour of lipid bilayers taking into account the structure of the acyl chains, length and saturation by molecular dynamics.
- Simulate the behaviour of bilayers constructed of unsaturated and monosaturated lipids.

Metodology



1. Elastic properties

1.1 Saturated lipids

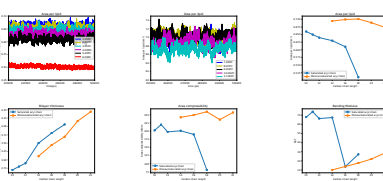
Lipid	Acyl Chain	T = 323 K
DPPC	18:0/18:0	323.15
DPPC	18:0/22:0	323.15
DPPC	22:0/22:0	323.15
DPPC	24:0/24:0	323.15
DPPC	26:0/26:0	323.15
DPPC	28:0/28:0	323.15

1.2 Monosaturated lipids

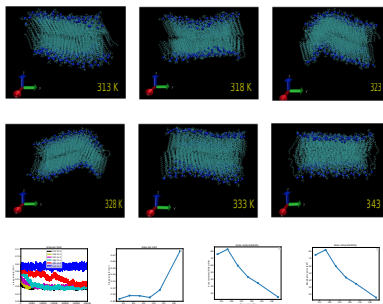
Lipid	Acyl Chain	T = 323 K
DPPC	18:0/18:1	323.15
DPPC	18:0/22:1	323.15
DPPC	22:0/22:1	323.15
DPPC	24:0/24:1	323.15
DPPC	26:0/26:1	323.15
DPPC	28:0/28:1	323.15

Results

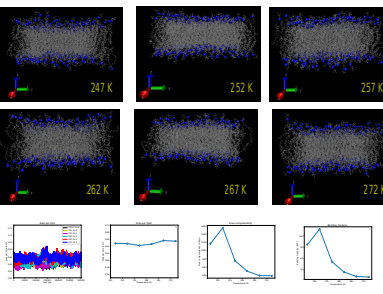
Saturated and monosaturated acyl chain lipidic bilayers elastic properties.



DSPC Thermotropic Behaviour



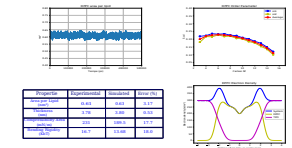
DOPC Thermotropic Behaviour



2. Thermotropic behaviour

System	T (K)	DSPC 18:0/18:0	DSPC 18:1/18:1
1	313.15	T _m = 328 K	T _m = 256 K
2	318.15		
3	323.15		
4	328.15		
5	333.15		
6	343.15		

3. Force field validation



4. Computational details

Ensemble :	NP
Pressure :	1.0 bar
Integration algorithm :	Leap Frog
Barostat :	Parrinello-Rahman
Thermostat :	Noise-Hoover

References

[1] N. Kavvas, M. P. Maly, J. Kopsinis. First phase lipid area and bilayer thickness of coarsely and phosphatidylcholine as a function of temperature. *Biochimica et Biophysica Acta* (BBA)-Bioenergetics 188 (1) (1971) 270-277.

[2] N. Kizinet, G. N. Shteyn. Study of lipid heterogeneity on bilayer membranes using molecular dynamics simulations. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 198 (2021) 108008.

Contacting Author: clara.quintero@udea.edu.co

BIBLIOGRAFÍA

- [1] H. Watson, «Biological membranes,» *Essays in biochemistry*, vol. 59, págs. 43-69, 2015.
- [2] M. Edidin, «Lipids on the frontier: a century of cell-membrane bilayers,» *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 4, n.º 5, pág. 414, 2003.
- [3] D. Wüstner, M. Modzel, F. W. Lund y M. A. Lomholt, «Imaging approaches for analysis of cholesterol distribution and dynamics in the plasma membrane,» *Chemistry and physics of lipids*, vol. 199, págs. 106-135, 2016.
- [4] L. S. Vermeer, B. L. De Groot, V. Réat, A. Milon y J. Czaplicki, «Acyl chain order parameter profiles in phospholipid bilayers: computation from molecular dynamics simulations and comparison with 2H NMR experiments,» *European Biophysics Journal*, vol. 36, n.º 8, págs. 919-931, 2007.
- [5] D. Chapman, «Phase transitions and fluidity characteristics of lipids and cell membranes,» *Quarterly reviews of biophysics*, vol. 8, n.º 2, págs. 185-235, 1975.
- [6] M. Karplus y J. A. McCammon, «Molecular dynamics simulations of biomolecules,» *Nature Structural & Molecular Biology*, vol. 9, n.º 9, pág. 646, 2002.
- [7] P. Khakbaz y J. B. Klauda, «Probing the importance of lipid diversity in cell membranes via molecular simulation,» *Chemistry and physics of lipids*, vol. 192, págs. 12-22, 2015.
- [8] G. Van Meer, D. R. Voelker y G. W. Feigenson, «Membrane lipids: where they are and how they behave,» *Nature reviews Molecular cell biology*, vol. 9, n.º 2, pág. 112, 2008.
- [9] G. van Meer, «Cellular lipidomics,» *The EMBO journal*, vol. 24, n.º 18, págs. 3159-3165, 2005.
- [10] R. JD, «The ultrastructure of cell membranes and their derivatives.» en *Biochemical society symposium*, vol. 16, 1959, págs. 3-43.
- [11] S. J. Singer y G. L. Nicolson, «The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes: Cell membranes are viewed as two-dimensional solutions of oriented globular proteins and lipids,» *Science*, vol. 175, n.º 4023, págs. 720-731, 1972.
- [12] B. Tenchov, «On the reversibility of the phase transitions in lipid-water systems,» *Chemistry and physics of lipids*, vol. 57, n.º 2-3, págs. 165-177, 1991.
- [13] R. Koynova y M. Caffrey, «Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines,» *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, vol. 1376, n.º 1, págs. 91-145, 1998.
- [14] J. Torbet y M. Wilkins, «X-ray diffraction studies of lecithin bilayers,» *Journal of theoretical biology*, vol. 62, n.º 2, págs. 447-458, 1976.
- [15] C. Demetzos, «Differential scanning calorimetry (DSC): a tool to study the thermal behavior of lipid bilayers and liposomal stability,» *Journal of liposome research*, vol. 18, n.º 3, págs. 159-173, 2008.
- [16] C. Naumann, T. Brumm y T. M. Bayerl, «Phase transition behavior of single phosphatidylcholine bilayers on a solid spherical support studied by DSC, NMR and FT-IR,» *Biophysical journal*, vol. 63, n.º 5, págs. 1314-1319, 1992.
- [17] K. Gardikis, S. Hatziantoniou, K. Viras, M. Wagner y C. Demetzos, «A DSC and Raman spectroscopy study on the effect of PAMAM dendrimer on DPPC model lipid membranes,» *International journal of pharmaceutics*, vol. 318, n.º 1-2, págs. 118-123, 2006.
- [18] H. I. Ingólfsson, C. Arnarez, X. Periole y S. J. Marrink, «Computational 'microscopy' of cellular membranes,» *J Cell Sci*, vol. 129, n.º 2, págs. 257-268, 2016.
- [19] M. González, «Force fields and molecular dynamics simulations,» *École thématique de la Société Française de la Neutronique*, vol. 12, págs. 169-200, 2011.
- [20] A. Gavezzotti y col., *Molecular aggregation: structure analysis and molecular simulation of crystals and liquids*. OUP Oxford, 2007, vol. 19.
- [21] A. Fiser y A. Sali, «ModLoop: automated modeling of loops in protein structures,» *Bioinformatics*, vol. 19, n.º 18, págs. 2500-2501, 2003.
- [22] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell y P. A. Kollman, «A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 117, n.º 19, págs. 5179-5197, 1995.

- [23] C. Oostenbrink, A. Villa, A. E. Mark y W. F. Van Gunsteren, «A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6,» *Journal of computational chemistry*, vol. 25, n.º 13, págs. 1656-1676, 2004.
- [24] W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell y J. Tirado-Rives, «Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 118, n.º 45, págs. 11 225-11 236, 1996.
- [25] A. P. Lyubartsev y A. L. Rabinovich, «Force field development for lipid membrane simulations,» *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, vol. 1858, n.º 10, págs. 2483-2497, 2016.
- [26] R. W. Benz, F. Castro-Román, D. J. Tobias y S. H. White, «Experimental validation of molecular dynamics simulations of lipid bilayers: a new approach,» *Biophysical journal*, vol. 88, n.º 2, págs. 805-817, 2005.
- [27] S. Jo, T. Kim, V. G. Iyer y W. Im, «CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM,» *Journal of computational chemistry*, vol. 29, n.º 11, págs. 1859-1865, 2008.
- [28] M. V. M., «Comportamiento de fase y elástico de bicapas lipídicas mediante Dinámica Molecular,» Tesis doct., Universidad Eafit, 2020.
- [29] D. Van Der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A. E. Mark y H. J. Berendsen, «GROMACS: fast, flexible, and free,» *Journal of computational chemistry*, vol. 26, n.º 16, págs. 1701-1718, 2005.
- [30] G. Lukat, J. Kruger y B. Sommer, «APL@ Voro: a Voronoi-based membrane analysis tool for GROMACS trajectories,» *Journal of chemical information and modeling*, vol. 53, n.º 11, págs. 2908-2925, 2013.
- [31] J. R. Silvius y col., «Thermotropic phase transitions of pure lipids in model membranes and their modifications by membrane proteins,» *Lipid-protein interactions*, vol. 2, págs. 239-281, 1982.
- [32] W. Rawicz, K. C. Olbrich, T. McIntosh, D. Needham y E. Evans, «Effect of chain length and unsaturation on elasticity of lipid bilayers,» *Biophysical journal*, vol. 79, n.º 1, págs. 328-339, 2000.
- [33] J. R. Silvius y col., «Thermotropic phase transitions of pure lipids in model membranes and their modifications by membrane proteins,» *Lipid-protein interactions*, vol. 2, págs. 239-281, 1982.
- [34] N. Kučerka, M.-P. Nieh y J. Katsaras, «Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature,» *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, vol. 1808, n.º 11, págs. 2761-2771, 2011.
- [35] S. Mabrey y J. M. Sturtevant, «Investigation of phase transitions of lipids and lipid mixtures by sensitivity differential scanning calorimetry,» *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 73, n.º 11, págs. 3862-3866, 1976.
- [36] P. Khakbaz y J. B. Klauda, «Investigation of phase transitions of saturated phosphocholine lipid bilayers via molecular dynamics simulations,» *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, vol. 1860, n.º 8, págs. 1489-1501, 2018.
- [37] S. Baoukina, D. Rozmanov y D. P. Tieleman, «Composition fluctuations in lipid bilayers,» *Biophysical journal*, vol. 113, n.º 12, págs. 2750-2761, 2017.

+

COLOFÓN

Este documento se editó basado en la plantilla de La Trobe PhD Thesis Template¹

¹ <https://github.com/bashimao/ltu-thesis>