



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Martina Manenica

Studentica 1. godine Poslijediplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

Unaprjeđenje polja sila Amber

Kemijski seminar 1

Mentor rada: prof. dr. sc. Branimir Bertoša

Zagreb, 2022.

Sadržaj

§ Sažetak.....	v
1. UVOD	1
1.1. Molekulska dinamika.....	1
1.2. Važnost torzijskih kutova u opisu sekundarne strukture biomakromolekula	2
2. PRIKAZ ODABRANE TEME	4
2. 1. Polja sila	4
2.1.1. AMBER polja sila	5
2.1.2. Forma funkcionala i parametri nužni za AMBER polja sila	6
2.1.3. Energijski doprinos istezanja veze	7
2.1.4. Energijski doprinos promjene valentnih kuteva	7
2.1.5. Energijski doprinos promjene torzijskog kuta.....	8
2.2. Unaprijeđenje polja sila ff19SB	10
2.2.1. Uočena pretjerana sklonost stvaranju zavojnice za većinu aminokiselina	10
2.2.2. Strategija poboljšanja	11
2.2.3. Korekcijske matrice priređene za unaprijeđenje polja ff19SB u odnosu na ranija polja sila	12
2.2.3. Rezultati unaprijeđenja polja ff19SB u odnosu na ranija polja sila.....	12
LITERATURNI IZVORI	xvi

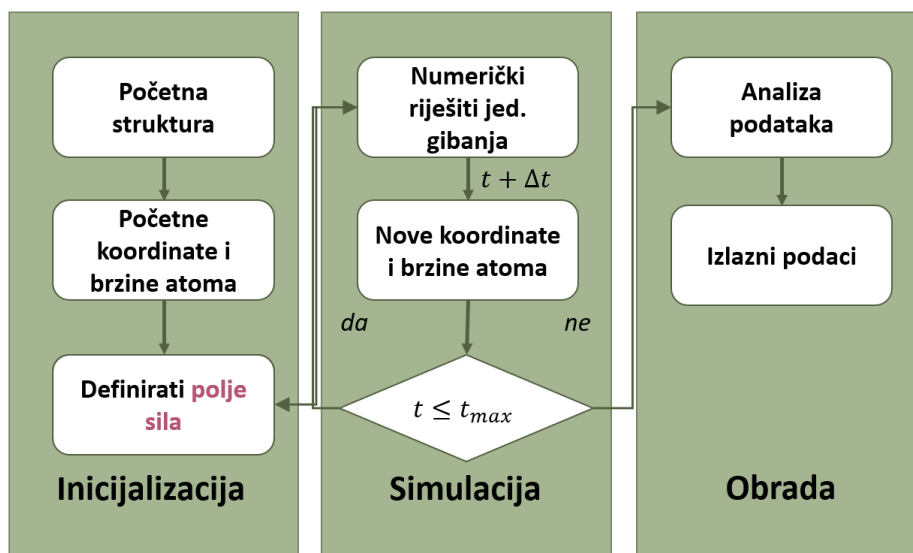
§ Sažetak

Molekulska dinamika je računalna metoda kojom se opisuje gibanje molekula i atoma unutar zadanog sustava. Gibanje atoma i molekula u vrlo malim vremenskim intervalima (do 10^{-12} s) moguće je proučavati računalnim metodama poput molekulske dinamike. Pritom je potrebno „nametnuti gibanje“, što se postiže primjenom polja sila; funkcionala i seta parametara koji koriste za izračun energije sustava. Dostupnošću i napretkom tehnologije razvijena su brojna polja sila, a odabir polja ovisi o sustavu od interesa. Za biomakromolekule razvijen je niz specifičnih polja. Samo unutar polja sila AMBER, što je ujedno i naziv računalnog seta programa za provedbu simulacija, dostupno je mnoštvo različitih polja sila. Ukoliko se proučava proteinski sustav, preporuča se korištenje najnovijeg polja sila: ff19SB. U ovom preglednom radu ukratko je izneseno obrazloženje zašto su konstantna usavršavanja polja sila nužna, te koja su unaprjeđenja uvedena u polje sila ff19SB u odnosu na ranija polja. Primarni fokus bio je na parametrizaciji torzijskih kutova peptidnih veza koje čine proteinsku okosnicu. Torzijski kutovi predstavljaju jedan od većih izazova kada je parametrizacija biomakromolekula u pitanju, upravo zbog toga što o njihovoj vrijednosti direktno ovisi sekundarna struktura.

1. UVOD

1.1. Molekulska dinamika

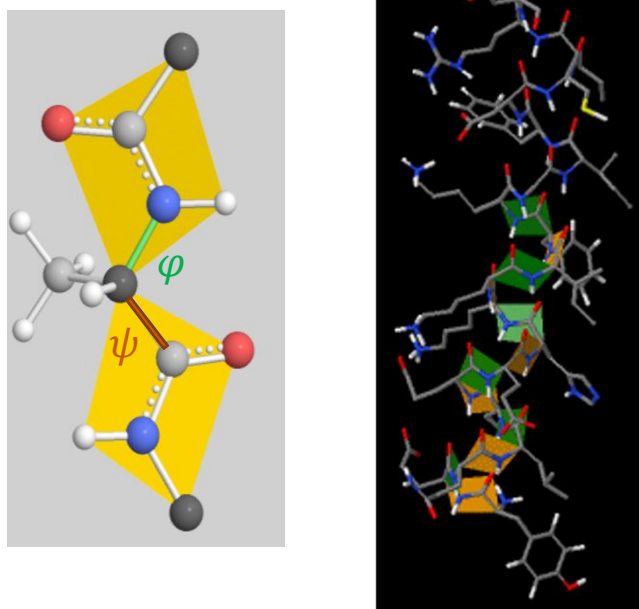
Molekulska dinamika je računalna metoda kojom se opisuje gibanje molekula i atoma unutar zadanog sustava. Riječ je o takozvanoj *in silico* metodi koja omogućava uvid u mikrosustave u vrlo malim vremenskim intervalima (do 10^{-12} s). Sama provedba može se podijeliti u tri faze: inicijalizaciju, simulaciju i obradu podataka (slika 1). Inicijalizacija podrazumijeva zadavanje početne strukture; primjerice kristalne strukture proteina. Početne koordinate atoma sustava mogu biti preuzete iz baza podataka kao što je PDB (eng. *Protein Data Bank*). Početne brzine zadaju se najčešće prema Maxwell-Boltzmanovoj raspodjeli uz pretpostavku da je sustav u termodinamičkoj ravnoteži. Potom je potrebno definirati polje sila, koje se odnosi na funkcional i set parametara koji se koriste za izračun energije sustava. Time se dobivaju jednadžbe gibanja koje se rješavaju numerički. Njihova rješenja daju koordinate i brzine atoma u sljedećem vremenskom intervalu. Na takav način dobiva se trajektorija koju je moguće analizirati i vizualizirati primjenom odgovarajućih računalnih programa.^{1,2}



Slika 1. Faze molekulske dinamike. Preuzeto i obrađeno prema ref. 1

1.2. Važnost torzijskih kutova u opisu sekundarne strukture biomakromolekula

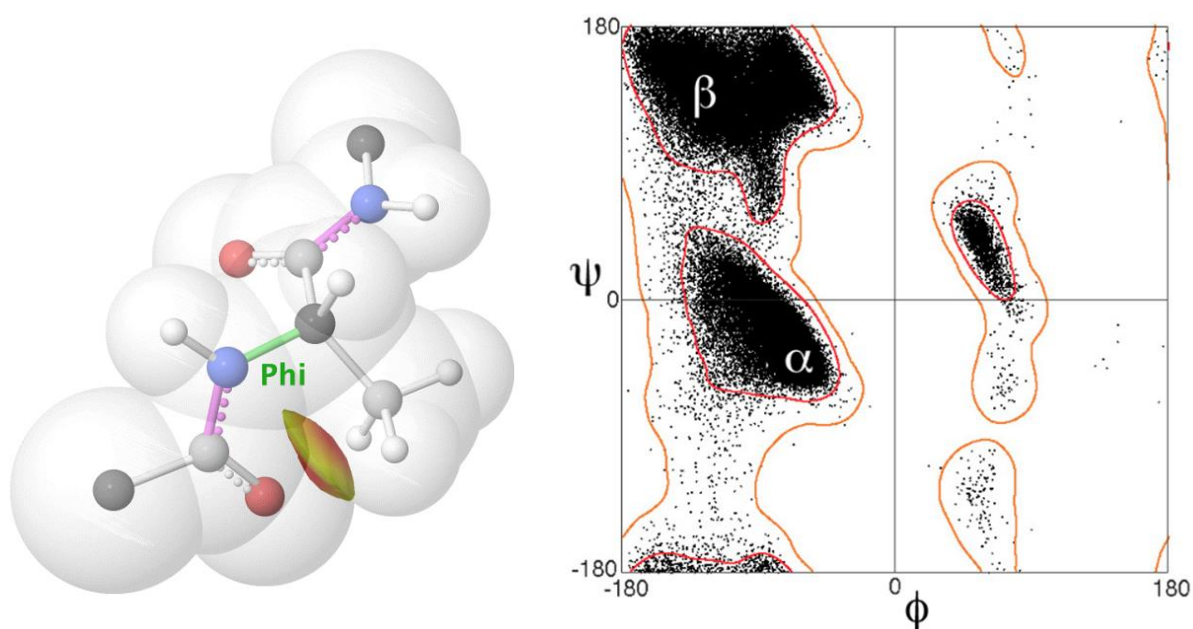
Sekundarna struktura biomakromolekula izrazito je zanimljiva za proučavanje. Primjerice, u proteinu će prostorni raspored slijeda aminokiselina najviše ovisiti o vodikovim vezama koje ostvaruju atomi okosnice, odnosno oni koji sudjeluju u peptidnim vezama. U proučavanju biomakromolekula veliki je fokus na međusobnom odnosu ravnina koje se mogu zadati položajem atoma peptidne veze (slika 2). Riječ je o kutovima φ ($C_{i-1}-N_i-C_{\alpha,i}-C_i$) i ψ ($N_i-C_{\alpha,i}-C_i-N_{i+1}$). Torzijski kut po definiciji je kut između dvije ravnine. Peptidna veza je zbog delokalizacije elektrona uvijek planarna, a međusobni položaji polipeptidnih veza definirat će izgled okosnice proteina, odnosno sekundarnu strukturu, npr. α -zavojnica, β -ploču i sl.³



Slika 2. Prikaz kutova ψ i φ koji opisuju položaj ravnina peptidne veze (lijevo). Polipeptidna α -zavojnica.

Istaknute su ravnine peptidne veze (desno). Preuzeto i obrađeno prema ref. 3

Vrijednosti kuteva φ i ψ nisu potpuno nasumične, već postoje preferentne konformacije s najmanjim steričkim smetnjama u odnosu na susjedne atome. Jednostavan prikaz preferentnih konformacija dali su 1963. indijski znanstvenici G. N. Ramachandran, C. Ramakrishnan, i V. Sasisekharan. Pokazali su da fizički dozvoljena kombinacija kutova φ i ψ odgovara sekundarnim strukturama koje je moguće pronaći u proteinima. Učestalost kombinacija kutova φ i ψ može se prikazati točkastim dijagramom ovisnosti ψ o φ . Takav prikaz nazvan je Ramachandranov dijagram (slika 3). Ramachandran i njegova grupa su osim toga pokazali C_β bočnog lanca ima najveći doprinos kada se proučavaju steričke smetnje rotacije peptidne veze, te da se sve aminokiseline osim prolina i glicina mogu aproksimirati alaninom, jer su C_γ i ostali atomi bočnih ogranaka doprinose steričkim smetnjama tek u malom postotku.³



Slika 3. Prikaz steričke smetnje (crveno-žuto) prilikom rotacije peptidne veze oko kuta ψ (lijevo). φ, ψ dijagram („Ramachandranov dijagram“) torzijskih kutova koji određuju konformaciju proteinske okosnice, s označenim regijama α -zavojnice i β -ploče. Podaci prikazuju učestalost (φ, ψ) u proteinskim kristalnim strukturama visoke razlučivosti (desno). Preuzeto i obrađeno prema ref. 3

Torzijski kutovi, upravo zbog svoje kompleksnosti i direktne poveznice za sekundarnom strukturom, predstavljaju jedan od glavnih parametara koji je potrebno detaljno poznavati kako bi se uspješno provela istraživanja *in silico*.

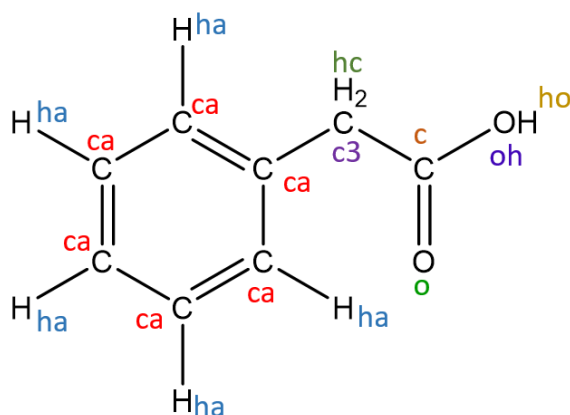
2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2. 1. Polja sila

Polje sila odnosi se na funkcionalni set parametara koji se koriste za izračun potencijalne energije sustava atoma i molekula u molekularnoj mehanici, molekularnoj dinamici i Monte-Carlo simulacijama. Konceptualno, definicija polja sila odgovara definiciji iz klasične fizike, s naglaskom da parametri polja sila u kemiji opisuju energijski profil, odnosno plohu „potencijalne“ energije (eng. *potential energy surface*, PSE).^{1,2}

Sile koje djeluju na pojedinačni atom dane su kao gradijent „potencijalne“ energije po koordinatama odgovarajućeg atoma. Kada se poznaju koordinate atoma sustava, moguće je proučavati konformaciju cijelog sustava, što je glavni cilj većine istraživanja koja će koristiti polja sila u kemiji. Važno je naglasiti da vrijednost „potencijalne“ energije dobivene za jedan sustav korištenjem polja sila, nema pravo fizikalno značenje. Različita polja sila daju različite apsolutne vrijednosti, no kad se uspoređuju konformacije dobivene unutar istog polja sila, moguće je kvantificirati razlike i time donijeti zaključke o najučestalijim konformacijama nekog sustava.^{1,2}

Budući da se ne mogu isti parametri zadati za, primjerice, atom ugljika u alifatskom lancu i karbonilni ugljik, polja sila razlikuju tipove atoma prema interakcijama koje ostvaruju s drugim atomima u sustavu i formalnom naboju (slika 4)⁴. Većina polja sila atomima pridružuje točkasti naboj, a polarizabilnost se može uvesti sa specifičnim naprednijim računima. Danas postoje brojna polja sila koja se međusobno razlikuju s obzirom na vrstu i broj atoma za koje su dani parametri. Općenita polja sila posjeduju parametre za veliki broj tipova atoma, a specijalizirana polja sila za određenu klasu molekula imaju precizno dane parametre i preferentno se koriste za takve račune. Za biološke makromolekule najčešće se koriste AMBER, CHARMM, GROMOS i OPLS.⁵



Slika 4. 2-feniloctena kiselina s pridruženim odgovarajućim tipovima atoma u polju sila *General Amber Force Field*, GAFF. Obradeno prema ref. 4 i 6.

2.1.1. AMBER polja sila

Sam pojam *AMBER* (eng. *Assisted Model Building with Energy Refinement*) ima dvojako značenje: odnosi se na više polja sila koji su dani za opis sustava biomakromolekula u molekularnoj dinamici, kao i na set programa za pokretanje i analizu simulacija molekularne dinamike. Izgradnju programa započela je sedamdesetih godina prošlog stoljeća istraživačka grupa Petera Kollmana, a danas na razvoju i poboljšanju sustava radi više od 40 istraživačkih grupa diljem svijeta. Trenutno je aktualna verzija programa Amber22, putem kojeg se može koristiti više različitih polja sila. Pregled trenutno preporučenih i najčešće korištenih polja sila dan je u tablici 1. Ukoliko sustav od interesa sadrži više različitih klasa molekula i iona; primjerice, metaloprotein vezan na DNA, potrebno je se za svaku klasu molekula odabrati odgovarajuće polje sila.⁶⁻⁸

Tablica 1. Pregled aktualnih polja sila dostupnih u programu Amber22 i sustava za koje se preporuča korištenje. Preuzeto i obrađeno prema ref. 7.

Sustav za koji se preporuča korištenje	Naziv	Detalji. Preporučeni tip otapala
Proteini	ff19SB	Poboljšani parametri koji opisuju bočne ogranke aminokiselina. Preporuča se koristiti OPC tip vode.
	ff14SB	Alanin i glicin korišteni kao osnova parametara koji opisuju bočne ogranke. Preporuča se koristiti TIP3P tip vode.
	ff14SBBonlysc	Torzijski kutovi bočnih ogranaka dobiveni su kvantomehaničkim računima. Polje sila ne sadržava korekciju za TIP3P tip vode, pa se preporuča korištenje implicitnog otapala.
Nukleinske kiseline	OL15	Preporuča se za DNA. Tip vode TIP3P ili OPC; ovisno o veličini sustava.
	OL3	Preporuča se za RNA.
Ligandi – male organske molekule	GAFF2	
Ugljikohidrati	GLYCAM-06j	
Lipidi	LIPID21	
Ioni		Odabrati prema tipu vode koji se koristi.

2.1.2. Forma funkcionala i parametri nužni za AMBER polja sila

Funkcional AMBER polja sila u jednostavnoj formi (bez članova koji opisuju polarizaciju i otapalo) dan je izrazom:

$$\begin{aligned}
 E_{total} = & \sum_{kov. veza} k_b(r - r_o)^2 + \sum_{val. kut} k_\theta(\theta - \theta_o)^2 \\
 & + \sum_{tor. kut} V_n[1 + \cos(n\theta - \gamma)] + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \left[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right] \quad (1)
 \end{aligned}$$

gdje su k_b, r_o, k_θ , itd., parametri polja sila. Jednostavna forma uključuje vezne članove: istezanje kovalentne veze, savijanje kuta i rotaciju torzijskog kuta, te nevezne članove kojima se opisuju interakcije atoma koje dijele najmanje 4 kovalentne veze. Funkcional ne sadrži član

koji bi opisivao energijski doprinos gibanja „izvan ravnine“, tako da su restrikcije za savijanje aromatskih prstenova dane putem člana koji opisuje torzijske kutove.⁶

2.1.3. Energijski doprinos istezanja veze

Prvi član u potencijalu danom jednadžbom (1) je energijski doprinos istezanja veze koji je opisan harmonijskim potencijalom:

$$E_{kov. veza} = \sum_{kov. veza} k_b (r - r_o)^2 \quad (2)$$

gdje je u Amber poljima sila k_b konstanta sile dana u $\text{kcal mol}^{-1} \text{Å}^{-2}$, s ravnotežnom duljinom veze r_o u Å. Iako je istezanje veze preciznije opisano anharmonijskim potencijalom, uobičajeno je koristiti harmonijski potencijal koji dobro aproksimira istezanje veze prilikom manjih oscilacija oko ravnotežnog položaja bez pucanja ili nastajanja novih veza, kakve se očekuju u simulacijama molekulske dinamike za biomakromolekule. Važno je naglasiti da simulacije neće davati pouzdane rezultate ukoliko se postavi visoka temperatura sustava gdje je za očekivati izraženije oscilacije veza.⁶

Primjerice, za veza CH₃-OH u GAFF polju sila bit će definirana unosom: *tip atoma – tip atoma*, konstanta sile k_b u $\text{kcal mol}^{-1} \text{Å}^{-2}$, ravnotežna duljina veze r_o u Å, te dodatnim informacijama koje se najčešće odnose na izvore iz kojih su preuzete konstante. Prema informacijama na slici 5., ukoliko sustav sadrži vezu CH₃-OH, za ravnotežnu udaljenost u polju sila GAFF uzima se vrijednost 1.426 Å, a konstanta sile iznosi 314.1 $\text{kcal mol}^{-1} \text{Å}^{-2}$.⁶

c3-oh 314.1 1.4260 SOURCE1 914 0.0129

Slika 5. Veza CH₃-OH opisana u GAFF polju. Preuzeto iz ref. 6.

2.1.4. Energijski doprinos promjene valentnih kuteva

Drugi član u potencijalu danom jednadžbom (1) je energijski doprinos promjene valentnih kutova koji je opisan harmonijskim potencijalom:

$$E_{val. kut} = \sum_{val. kut} k_\theta (\theta - \theta_o)^2 \quad (3)$$

gdje je u Amber poljima sila k_θ konstanta sile dana u $\text{kcal mol}^{-1} \text{rad}^{-2}$, s ravnotežnim valentnim kutem veze θ_o u rad. Valentne kutove potrebno je zadati s tri uzastopna tipa atoma, npr. u polju GAFF za CH₃-CH₂-OH gdje je vršni član kuta CH₂, vrijedit će niz ca-ca-oh. Iako se u računu koriste vrijednosti u rad, da bi se korisniku omogućilo jednostavnije razumijevanje, u polaznim

datotekama vrijednosti kuta dane su u stupnjevima (slika 6), pa je tako ravnotežni kut za CH₃-CH₂-OH 109.43°, a konstanta sile je 67.720 kcal mol⁻¹ rad⁻².⁶

c3-c3-oh 67.720 109.430 SOURCE3 48 1.5023

Slika 6. Valentni kut CH₃-CH₂-OH opisan u GAFF polju. Preuzeto iz ref. 4 i 6.

2.1.5. Energijski doprinos promjene torzijskog kuta

Treći član jednostavne forme funkcionala dan je Fourierovom serijom:

$$E_{tor. kut} = \sum_{tor. kut} V_n [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \quad (4)$$

gdje je V_n torzijska energetska barijera u kcal/mol, γ faza u stupnjevima, n periodičnost. Budući da opisuje rotaciju oko kovalentne veze, jasno je zašto je dan periodičkom funkcijom, no vrlo je specifičan član za svako polje sila i zahtjeva posebnu pozornost. Primjerice, unutar polja sila GAFF zadaje se i cijeli broj koji se naziva djelitelj (eng. *divider*). Za jednostruku vezu C_{sp3}-C_{sp3}, koja će biti zapisana u GAFF-u kao x-c3-c3-x, uzima se u obzir da na svakom ugljiku mogu biti 3 različita supstituenta (x), pa će zato djelitelj biti 9. Slika 7 prikazuje takav unos u GAFF-u, gdje redom imamo zadanu vezu (x-c3-c3-x), djelitelj (9), energetska barijeru (1.400 kcal mol⁻¹), fazu (0.000), periodičnost (3), te komentar koji nam zapravo govori iz kojeg izvora su preuzeti parametri.⁶

X -c3-c3-X 9 1.400 0.000 3.000 JCC, 7, (1986), 230

Slika 7. Torzijski kut za jednostruku vezu C_{sp3}-C_{sp3} opisan u GAFF polju. Preuzeto iz ref. 4 i 6.

Već za opis peptidne veze u GAFF-u su potrebna 2 unosa (slika 8), s obzirom na to da je *trans* položaj ($\phi = 180^\circ$) preferiran u odnosu na *cis* položaj ($\phi = 0$). „Negativna“ periodičnost samo je prividna; na taj način je programirano da postoji više unosa za istu vezu. Ukoliko se vrijednosti unesu u izraz (4), dobije se da je *trans* konformacija za 4 kcal/mol preferirana u odnosu na *cis*. „Točnija“ vrijednost od 2 kcal/mol koja odgovara eksperimentalnoj, dobije se tek kada se izračuna Coulumov doprinos privlačne interakcije negativnog karbonila i pozitivnog amidnog vodika koja je povoljnija u *cis* konformaciji.⁶

```
hn-n -c -o 1 2.50 180.0 -2. JCC,7,(1986),230  
hn-n -c -o 1 2.00 0.0 1. J.C.cistrans-NMA
```

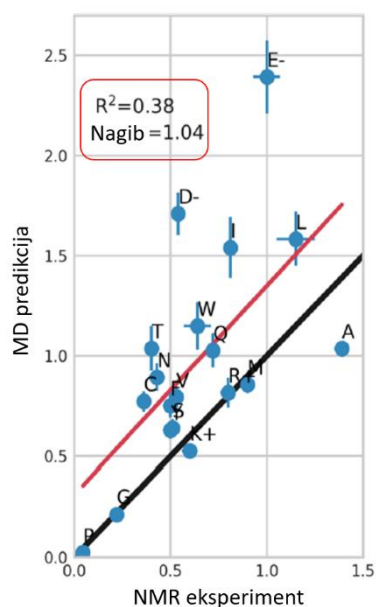
Slika 8. Torzijski kut za peptidnu vezu opisan u GAFF polju. Preuzeto iz ref. 4 i 6.

Detaljnijim opisom torzijskih kutova račun se značajno komplicira, te je jasno da su torzijski kutovi jedan od najvećih izazova parametrizacije.

2.2. Unaprijeđenje polja sila ff19SB

2.2.1. Uočena pretjerana sklonost stvaranju zavojnice za većinu aminokiselina

Unatoč brojnim poboljšanjima koja su uvedena u polja sila kroz dugi niz godina, generalno je mišljenje da aktualna polja sila nisu reprezentativna za torzijske kutove različitih bočnih ograna. Naime, zbog ranije pretpostavke da C_{β} utječe značajno na sferičke smetnje za različite položaje torzijskih kutova φ i ψ između dvije ravnine polipeptidnih veza, većina aminokiselina bila je parametrizirana prema alaninu (Ala). Glicin (Gly) i prolin (Pro) u većini polja sila imaju vlastite parametre zbog visoke specifičnosti. Osim toga, ovakvo pojednostavljenje bilo je računski povoljnije. No, jedna od posljedica toga je da prilikom korištenja polja ff14SB zajedno s eksplicitnim modelom vode TIP3P koji vodu definira kao kruti rotor, dolazi do smanjenja točnosti predikcija sekundarne strukture. Budući da je Ala mala aminokiselina koja se najčešće nalazi u zavojnici, i druge aminokiseline će pokazivati preveliku sklonost za prema stvaranju zavojnice (eng. *helical propensity*), što je grafički prikazano na slici 9. Uspoređena je predikcija molekulske dinamike s podacima dobivenim iz NMR-a. Položaj točaka iznad crne linije jasno govori o tome da je sklonost stvaranja zavojnica za većinu aminokiselina ovdje danih jednoslovnom kraticom značajno veći u odnosu na NMR eksperiment.⁹



Slika 9. Sklonost prema stvaranju zavojnice različitih aminokiselina (jednoslovni kod) u simulacijama MD (ff14SB+TIP3P) u odnosu na NMR eksperiment. Preuzeto i obrađeno prema ref. 9.

2.2.2. Strategija poboljšanja

Tian i suradnici su nakon uočene problematike odlučili razviti preciznije parametre kojima bi se opisali bočni ogranci aminokiselina. Primijenili su kvantno-mehaničke račune kojima su dobili precizniji opis energija za svaki par φ i ψ za različite aminokiseline. Pritom su kvantno-mehanički račun provodili implicitnom otapalu. Time su dobili preciznije „predpolarizirane naboje“. Naime, u računima se eksplicitno ne uvode elektroni, te je naboje potrebno fiksirati „kao točke“ s položajem na atomu. Prema tome, ovakva polja sila poznata su kao polja sila s „točkastim nabojima“.⁹

Za treniranje modela, dobivanje korekcijskih matrica, te za simulacije korištene za validaciju metode, Tian i suradnici koristili su različite modelne sustave; 16 aminokiselina konstruirano je kao homodipeptidi u formi acetyl-X-N-methyl-X, gdje *N* predstavlja jednu od 16 aminokiselina (tablica 2). Za testiranje modela korišteni su polipeptidi s 10-20 monomera, specifične strukture poput ukosnice i zavojnice, te poznate strukture manjih proteina: treća Igg-vezna domena proteina G, ubikvitin i lizozim.⁹

Tablica 2. Aminokiseline koje je moguće parametrizirati u polju sila ff19SB pomoću korekcijskih matrica

Aminokiselina	Model korekcijske matrice koji se koristi u ff19SB za parametriziranje torzijskih kutova
Gly	Gly
Ala	Ala
Val, Ile	Val
Ser	Ser
Cys	Cys
Thr	Thr
Leu, Cys, Cym, Met, Phe, Trp, Tyr, His ⁺ , His ^ε , His ^δ	Leu
Asp ⁻	Asp ⁻
Ash	Ash
Asn	Asn
Glu ⁻	Glu ⁻
Glh	Glh
Gln	Gln
Arg ⁺	Arg ⁺
Lys ⁺ , Lyn	Lys ⁺
Pro	Pro

2.2.3. Korekcijske matrice priređene za unaprjeđenje polja ff19SB u odnosu na ranija polja sila

Korekcijska matrica (eng. *correction matrix* ili *map*, CMAP) definirana je kao 24×24 matrica, za svakih 15° rotacije kuteva φ i ψ . Za svaki (φ, ψ) potencijal je definiran kao:

$$U_{CMAP}(\varphi, \psi) = E_{QM}^{gas} + E_{QM}^{polarizacija} + E_{QM}^{solvatacija} - (E_{MM}^{ff14SB00} + E_{MM}^{solvatacija}) \quad (5)$$

gdje E_{QM}^{gas} predstavlja energiju dobivenu kvatno-mehanički računom u plinovitoj fazi, $E_{QM}^{polarizacija}$ predstavlja doprinos polarizacije 'otapalo-otopljena tvar' dobivene kvatno-mehanički računom, a $E_{QM}^{solvatacija}$ predstavlja ostale efekte dobivene solvatacijom. U praksi, ovi efekti ne mogu se računati odvojeno, s obzirom na to da se elektronska gustoća otopljene tvari procjenjuje u ovisnosti o otapalu. Njihovi doprinosi izračunati su pomoću DFT (eng. *Density-Functional Theory*) metode M05-2X, s baznim setom 6-311G** i SMD (eng. *Solvation Model based on Density*) modelom otapala. Efekti izračunati molekularnom mehanikom se oduzimaju od ukupnog potencijala. U polje sila Amber izračunati parametri uvedeni su pomoću funkcije:

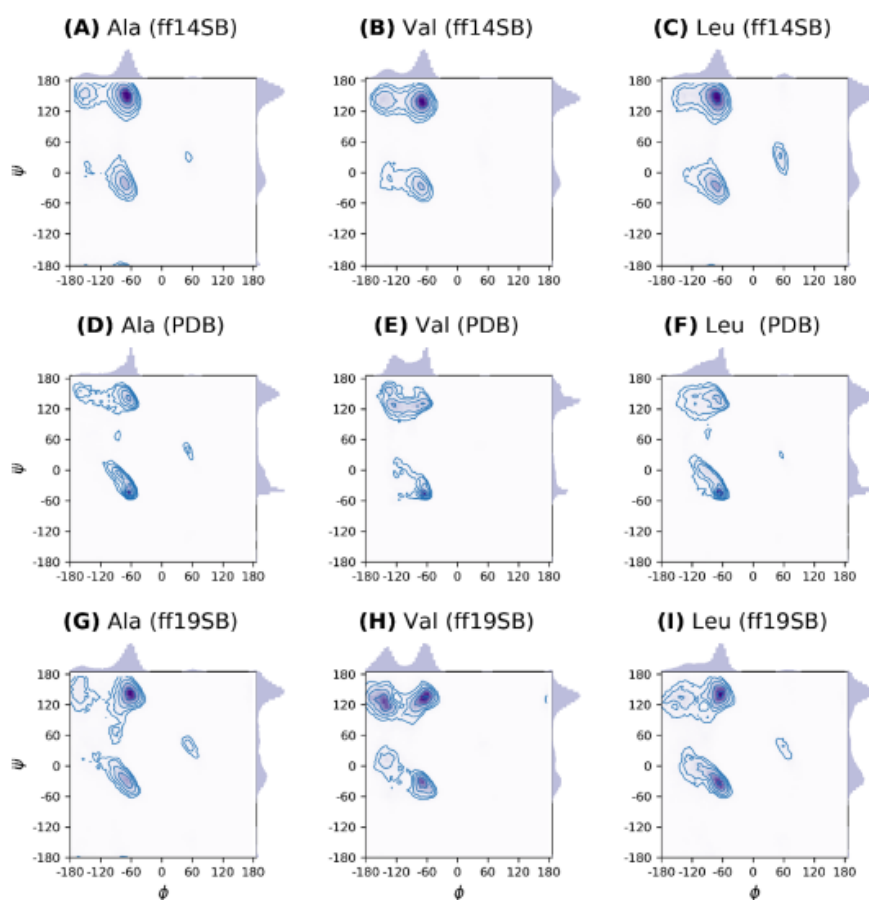
$$U_{CMAP}(\varphi, \psi) = \sum_{i=0}^3 \sum_{j=0}^3 a_{ij} \varphi^i \psi^j$$

gdje su φ, ψ vrijednosti kutova u radianima, a a_{ij} koeficijenti.⁹ Ovaj funkcional u polju ff19SB koristi se umjesto funkcionala koji se bazira na kosinusu i nalazi u ranijim poljima, kao što je prikazano u poglavlju 2.1.5.

2.2.3. Rezultati unaprjeđenja polja ff19SB u odnosu na ranija polja sila

Za jasan prikaz uspješnosti izvedenog unaprjeđenja polja sila ff19SB u odnosu na ranija polja kao primjer su uzete aminokiseline alanin (Ala), valin (Val) i leucin (Leu). Za Ala je poznato da ima veću učestalost pojavnosti u zavojnica u odnosu na ostale aminokiseline. S druge strane, Val je najzastupljeniji u „ravnim“ strukturama, poput β -ploča. Stoga bi ove dvije aminokiseline trebale imati znatno drugačije Ramanchandranove dijagrame. Leu je prikazan također na slici 10 kao primjer jer je njegova korekcijska matrica korištena za više različitih aminokiselina. Kada se koristi ff14SB polje sila, dobivaju se gotovo isti prikazi, što je i očekivano uzimajući u obzir da su sve tri aminokiseline u tom polju sila parametrizirane prema Ala. Međutim, dijagrami dobiveni prema strukturama iz PDB-a prikazuju jasne razlike u zastupljenosti torzijskih kutova između Ala, Val i Leu. Ipak, prilikom korištenja ff19SB polja

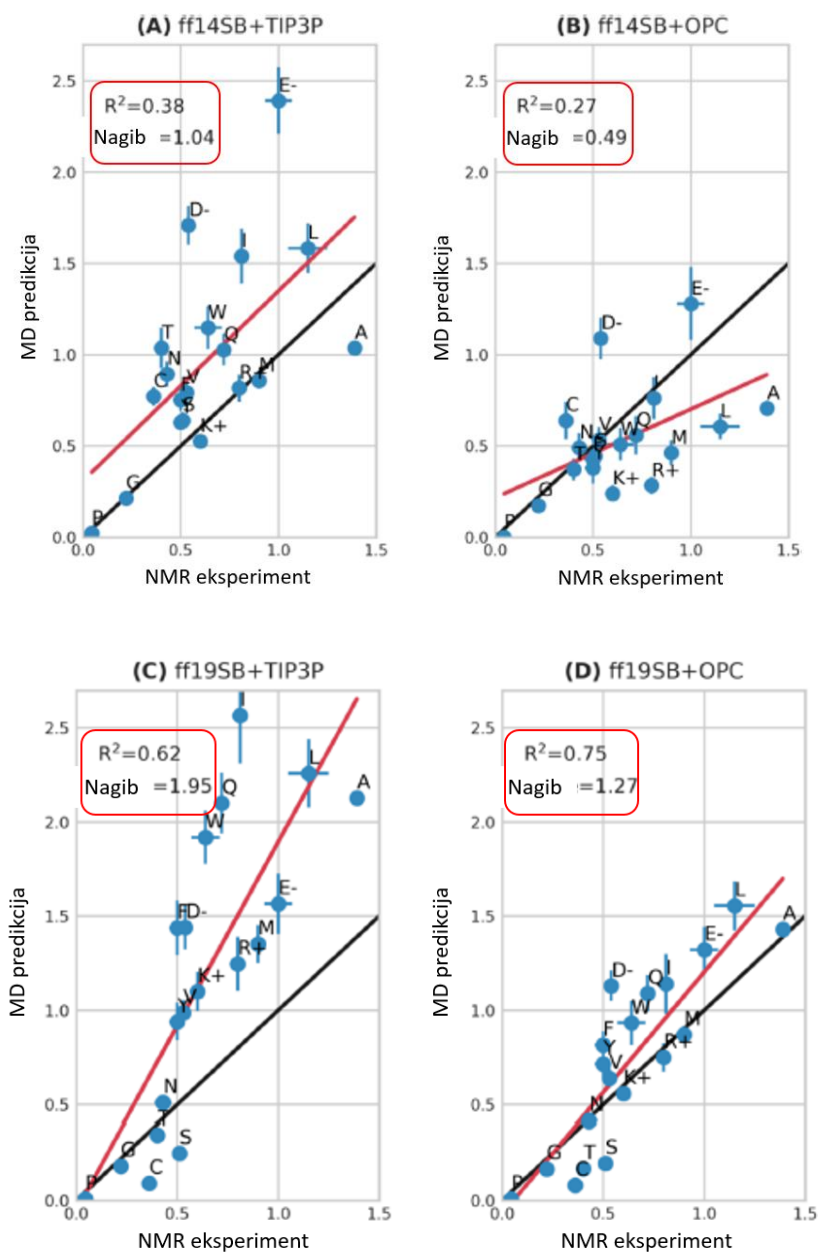
za parametrizaciju torzijskih kutova dobivaju se sličnije vrijednosti, što je i bio cilj unaprjeđenja.⁹



Slika 10. Ramachandranovi (φ, ψ) dijagrami za Ala, Val i Leu dobiveni analizom rezultata MD simulacija u ff14SB (A-C) i ff19SB (G-I) polja sila, te analizom struktura iz PDB-a (D-F). Preuzeto i obrađeno prema ref. 9.

Drugi način da se prikaže koliko ff19SB bolje parametrizira torzijske kutove je usporedbom predikcije molekulske dinamike s podacima dobivenim iz NMR-a. Prvi graf na slici 11 odgovara ranijem prikazu na slici 9. Položaj točaka iznad crne linije govori o tome da je sklonost stvaranja zavojnica za većinu aminokiselina ovdje danih jednoslovnom kraticom značajno veći u odnosu na NMR eksperiment kada se koristi ff14SB polje sila u kombinaciji s TIP3P vodom. Umjesto TIP3P vode, mogu se koristiti i drugi modeli za opis molekula vode, u kojima je optimiziran točkasti naboj. Primjer takvog modela je OPC tip vode (eng. “*optimal*” *point charge water model*).¹⁰ U tom slučaju sklonost aminokiselina da stvaraju zavojnice značajno je smanjena, no slaganje MD simulacije i NMR eksperimenta značajno je narušeno. Korištenjem naprednijeg polja sila ff19SB i TIP3P vode sklonost aminokiselina stvaranju zavojnica još je izraženija. Na prvi pogled iznenađujući efekt, no ne i kad se uzme u obzir da je za TIP3P

poznato da će učestalije nastajati uređene strukture u simulacijama nego u eksperimentima.¹¹ Najbolje slaganje dobiva se prilikom korištenja ff19SB polja i OPC vode, što je jasno pokazano najvećom vrijednošću R^2 u sva četiri promatrana slučaja. Prema tome, ukoliko se simulacijama molekulske dinamike u polju sila Amber želi proučavati intrinzično neuređene proteine ili točkaste mutacije, za koje nedovoljno dobro paramterzirani torzijski kutovi mogu dati nepouzdan rezultate, preporuka je koristiti ff19SB polje sila i OPC tip vode. Treba imati na umu da je takav tip simulacija računalno zahtjevniji te da će potencijalno trajati 30% nego kad se koristi ff14SB i TIP3P vode.¹²



Slika 11. Sklonost prema spiralnosti različitih aminokiselina (jednoslovni kod) u simulacijama MD (kombinacije polja sila; za proteine: ff14SB i ff19SB; za vodu eksplicitno: TIP3P, OPC) u odnosu na NMR eksperiment. Preuzeto i obrađeno prema ref. 9.

LITERATURNI IZVORI

1. O. Büyüköztürk, M. J. Buehler, D. Lau, C. Tuakta, *Int. J. Solids Struct.* **48** (2011) 2131-2140.
2. R. Salomon-Ferrer, D.A. Case, R.C. Walker, *WIREs Comput. Mol. Sci.* **3** (2013) 198-210.
3. https://proteopedia.org/wiki/index.php/Tutorial:Ramachandran_principle_and_phi_psi_angles (datum pristupa 19. travnja 2022.)
4. J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P.A. Kollman, D.A. Case, *J. Comput. Chem.* **15** (2004) 1157-1174.
5. <https://manual.gromacs.org/documentation/current/user-guide/force-fields.html> (datum pristupa 26. travnja 2022.)
6. A. Case, H.M. Aktulga, K. Belfon, I.Y. Ben-Shalom, J.T. Berryman, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, G.A. Cisneros, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, G. Giambasu, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, R. Harris, S. Izadi, S.A. Izmailov, K. Kasavajhala, M.C. Kaymak, E. King, A. Kovalenko, T. Kurtzman, T.S. Lee, S. LeGrand, P. Li, C. Lin, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, M. Machado, V. Man, M. Manathunga, K.M. Merz, Y. Miao, O. Mikhailovskii, G. Monard, H. Nguyen, K.A. O'Hearn, A. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, A. Rahnamoun, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugo, A. Shajan, J. Shen, C.L. Simmerling, N.R. Skrynnikov, J. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, J. Wang, H. Wei, R.M. Wolf, X. Wu, Y. Xiong, Y. Xue, D.M. York, S. Zhao, P.A. Kollman (2022), Amber 2022, University of California, San Francisco
7. <https://ambermd.org/AmberModels.php> (datum pristupa 26. travnja 2022.)
8. R.S. Ferrer, D.A. Case, R.C. Walker, *WIREs* **3(2)** (2012) 198-210.
9. C. Tian, K. Kasavajhala, K. A. A. Belfon, L. Raguette, H. Huang, A. N. Miguez, J. Bickel, Y. Wang, J. Pincay, Q. Wu, *J. Chem. Theor. Comput.* **16** (2020) 528-552.
10. S. Izadi, R. Anandkrishnan, A.V. Onufriev, *J. Phys. Chem. Lett.* **5 (21)** (2014) 3863– 3871
11. F. Palazzesi, M.K. Prakash, M. Bonomi, A. Barducci, *J. Chem. Theory Comput.* **11(1)** (2015) 2–7
12. https://ambermd.org/AmberModels_proteins.php ((datum pristupa 30. travnja 2022.)