

# Computational Methods for Biological Problems: Membrane Proteins Promenades

Diego Masone<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo), 5500, Mendoza, Argentina.*

<sup>2</sup>*Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo), 5500, Mendoza, Argentina.  
contact: diego.masone@ingenieria.uncuyo.edu.ar*

---

**Abstract**— In this work, we discuss the computational techniques of molecular dynamics and docking as essential tools in the study of the interactions between proteins and membranes. We focus on the cellular mechanisms of the membrane pore and the fusion pore, used by the cell to communicate with its exterior. We look at the cases of two proteins of interest: dynamin and alpha-synuclein, and describe their possible role in membrane events such as fusion, fission, and poration. Finally, we describe some of the most widely used docking and molecular dynamics softwares applied to biological protein and membrane systems.

**Keywords**— Proteins, Membranes, Molecular Dynamics, Collective Variables, Dynamin, Alpha-synuclein

---

**Resumen**— En este trabajo, comentamos las técnicas computacionales de dinámica molecular y docking como herramientas esenciales en el estudio de las interacciones entre proteínas y membranas. Nos centramos en los mecanismos celulares del poro de membrana y el poro de fusión, utilizados por la célula para comunicarse con su exterior. Vemos los casos de dos proteínas de interés: la dinamina y alfa-sinucleína, y describimos su posible rol en eventos de membrana como la fusión, la fisión y la poración. Por último, describimos algunos de los softwares más comúnmente utilizados en docking y en dinámica molecular aplicados a sistemas biológicos de proteínas y membranas.

**Palabras clave**— Proteínas, Membranas, Dinámica Molecular, Variables Colectivas, Dinamina, Alfa-sinucleína

---

## I. INTRODUCCIÓN

Una de las cuestiones centrales en biofísica y bioquímica molecular es el estudio de las transiciones entre conformaciones de grandes macromoléculas como las proteínas. Las técnicas *in silico* (por analogía con los métodos experimentales *in vitro* e *in vivo*) son un método muy conveniente para explorar amplios escenarios posibles, permitiendo una rápida evaluación y una eficiente eliminación de errores conceptuales mejorando, por ejemplo, el proceso de diseño de nuevos fármacos. Es así que se ha incorporado la idea de que las predicciones computacionales generan información valiosa que al combinarse con datos experimentales mejoran el avance científico en biomedicina.

El desarrollo de mejores modelos, algoritmos más eficientes y el impresionante aumento del poder de cálculo han permitido alcanzar escalas y tiempos de simulación sin precedentes, dando lugar a los proyectos más ambiciosos, como por ejemplo *The Human Brain Project*, <https://www.humanbrainproject.eu/en> y a resultados sorprendentes como la reciente simulación de una completa mitocondria [1]. Entonces, un desafío actual de la ciencia es extraer conocimiento de la compleja información multidimensional

de las simulaciones numéricas.

La biología computacional es un campo multidisciplinario que cubre un vasto y diverso grupo de tópicos derivados de la biología, las ciencias de la computación, la física, la química y las ingenierías. Partiendo de las estructuras cristalográficas de las proteínas de interés, el modelado computacional de sus interacciones permite obtener información dinámica de los procesos de reconocimiento a nivel atómico. De este modo pueden estudiarse fenómenos de baja probabilidad como la formación de complejos transitorios y determinar la relevancia de aminoácidos específicos. Se ha propuesto repetidamente que los procesos de plegado (*fold*ing) y unión (*bind*ing) entre proteínas (y entre proteínas y biomembranas) son interdependientes [2], [3]. Dado que muchas proteínas en la célula están desplegadas, su plegamiento y funcionamiento están aparejados y por lo tanto condicionados por el ambiente celular que está determinado en buena parte por las bicapas lipídicas. Entonces, el estudio de cómo la dinámica de unión entre proteínas y bicapas lipídicas es influenciada por sus propios cambios conformacionales, es un desafío donde las simulaciones computacionales tienen aplicación directa.

## II. DINÁMICA MOLECULAR (*Molecular Dynamics*)

Sin duda, la técnica por excelencia en el estudio computacional de interacciones entre proteínas, ligandos y biomembranas es la dinámica molecular. Para una buena parte de los sistemas biológicos, una descripción atómica completa de los fenómenos está fuera de las posibilidades de la dinámica molecular clásica. Esta limitación es inherente al algoritmo y debida al paso de integración del orden de los femtosegundos, necesario para describir los grados de libertad más rápidos en los sistemas biomoleculares. Entonces, resulta de máximo interés reducir el número de grados de libertad a unos pocos parámetros (o variables colectivas) que puedan ser sesgados para acelerar la dinámica de una forma controlada. Sin embargo, la mayor limitación de esta estrategia es el reducido número de variables colectivas que pueden implementarse sin incrementar excesivamente el coste computacional, lo que generaría el mismo problema que se busca solucionar. Además, la selección inicial de las variables colectivas de un sistema puede introducir sesgos equivocados respecto de cómo un evento debe ocurrir [4], lo que significa que la correcta determinación de un pequeño grupo de ellas (que permitan exitosamente estudiar un evento de baja probabilidad), es aún un problema no resuelto.

Durante la predicción de la formación de complejos proteína-ligando una herramienta utilizada comúnmente es la inspección visual del conjunto de conformaciones posibles. Sin embargo, en sistemas más complejos como las interacciones proteína-proteína o proteína-membrana las limitaciones son mayores y las predicciones menos fiables. Un problema aún más fundamental de las simulaciones computacionales es alcanzar la adecuada exploración del espacio conformacional, para ser estadísticamente relevante y poder ser evaluada en términos termodinámicos. Dado que la escala temporal de los cambios conformacionales de interés biológico ocurren entre los micro ( $10^{-6}$ ) y los milisegundos ( $10^{-3}$  y aún más allá), y puesto que las simulaciones computacionales de resolución atómica resuelven vibraciones de los enlaces de hidrógeno en la escala de los femtosegundos  $10^{-15}$ , la diferencia astronómica de 12 órdenes de magnitud deja claro el problema de enfoque.

Desde un punto de vista mecánico-estadístico las conformaciones de relativa alta energía en un sistema biológico tienen una probabilidad muy pequeña de ser visitadas durante una simulación de dinámica molecular, lo que lleva a un muestreo ineficiente. Por ello, han surgido alternativas que mejoran la exploración del espacio de interés por métodos muy diferentes: *docking* molecular proteína-proteína y proteína-ligando, métodos estocásticos de muestreo (Monte Carlo, Metropolis-Hastings, Markov Chain), y dinámica molecular restringida (*umbrella sampling*, metadinámica) mediante coordenadas de reacción *ad-hoc* para la observación de eventos raros y/o improbables para la dinámica clásica.

## III. BICAPAS LIPÍDICAS

Las bicapas lipídicas son estructuras autoensambladas que utilizan los organismos vivos para aislar y organizar el contenido interno de sus células [5]. La formación de poros en

membranas es un evento crucial en los procesos de permeabilización celular y de transporte de fármacos y macromoléculas a través de la membrana. La reorganización de las moléculas lipídicas de la membrana durante la fusión, la fisión y poración ha sido extensamente estudiada por métodos computacionales [6]–[14] y experimentales [15]–[17]. En ambos casos, se ha encontrado que proteínas especializadas como las SNARE, Sinaptotagmina, Alfa-sinucleína y Dinamina condicionan los eventos por mecanismos aún no comprendidos enteramente.

Las interacciones lípido-lípido en ambientes acuosos forman naturalmente una sorprendente variedad de estructuras autoensambladas, entre las cuales las bicapas son un ejemplo representativo [18] dada su importante función biológica y su empleo como modelo en estudios de biofísica fundamental [19]. Las moléculas anfífilicas de la bicapa se ubican con los grupos hidrofílicos orientados hacia la interfaz con el agua, manteniendo las cadenas no polares en el interior de la membrana. De esta forma el interior celular queda aislado aunque con una permeabilidad selectiva [20]. Esta propiedad es de crucial interés en biomedicina y biotecnología pues es esta permeabilidad controlada la responsable del transporte de iones, moléculas y nanopartículas a través de la membrana.

Las simulaciones computacionales resultan particularmente adecuadas para estudiar estados transitorios y metaestables (como la hemifusión) como pasos intermedios previos a una configuración final estable. En este sentido el desarrollo de nuevas variables colectivas resulta de máximo interés para calcular la energía libre (en kJ/mol) asociado a un evento biológico, reduciendo el espacio de muestreo y el coste computacional. Numerosos estudios han presentado nuevas coordenadas de reacción para describir eventos de baja probabilidad: mezclado y separación de especies moleculares diferentes [12], curvatura de membranas [21]–[25] y formación de poros hidrofílicos de transmembrana [10], [13], [26], [27]. Es así que el estudio a nivel molecular de las interacciones entre proteínas y bicapas lipídicas sienta las bases del desarrollo farmacéutico y tecnológico, para el diseño de mejores drogas y su transporte más efectivo.

Las bicapas lipídicas son un elemento crucial en la mayoría de los eventos celulares, siendo su curvatura una característica ubicua en biología. Muchas funciones celulares requieren que las membranas se deformen y/o sus lípidos se reorganicen, por ejemplo: la fusión de membranas, la endo y la exocitosis, la división celular, la citocinesis y la autofagia. La forma de la membrana y la distribución de sus lípidos están condicionadas por sus interacciones con proteínas, complicando el fenómeno de deformación/curvatura y añadiéndolo a los mecanismos de reconocimiento que las proteínas interactuantes hayan desarrollado. En el modelo clásico de Helfrich [28], que es muy conocido y ha sido utilizado ampliamente en escalas del orden de las decenas de nanómetros [29]–[36], se entiende a la bicapa como un fluido viscoso con elasticidad, (ec. 1):

$$H_{Total} = H_{Helfrich} + H_{Comp} + H_x \quad (1)$$

En esta ecuación el Hamiltoniano total  $H_{Total}$  es una combinación lineal de tres variables en principio independientes. En primer lugar,  $H_{Helfrich}$  tiene en cuenta la energía libre que

se necesita para curvar una bicapa modelada como una hoja elástica, con un módulo de elasticidad constante  $k_c$ , tensión superficial  $\sigma$  y espesor  $h$ , como fue descripto por Helfrich [28] hace más de 40 años (ec. 2):

$$H_{Helfrich} = \int \left[ \frac{k_c}{2} (\nabla^2 h)^2 + \frac{\sigma}{2} (\nabla h)^2 \right] dx dy \quad (2)$$

En segundo lugar, el coste energético que resulta de las fluctuaciones de la composición lipídica se considera en  $H_{Comp}$  (ec. 3), que ha sido descripto por una expansión de Landau de 4<sup>to</sup> orden con coeficientes A, B y C (véase Vink *et al.* [37], [38]):

$$H_{Comp} = \int \left[ \frac{A}{2} \phi^2 + \frac{B}{2} (\nabla \phi)^2 + C \phi^4 \right] dx dy \quad (3)$$

donde  $\phi$  es una función bidimensional de la composición local de moléculas. Finalmente, el tercer término  $H_x$  acopla  $H_{Helfrich}$  con  $H_{Comp}$  para incorporar al modelo los efectos de las asimetrías de la bicapa y las separaciones de fase (eq. 4) [38], [39]:

$$H_x = \gamma \int \phi (\nabla^2 h) dx dy \quad (4)$$

donde  $\gamma$  define la intensidad del acoplamiento. Cuando  $\gamma = 0$  no hay acoplamiento y la composición de la bicapa es libre de fluctuar. Sin embargo, para  $\gamma > 0$  los fenómenos se vuelven dependientes y la agregación local de lípidos modifica  $\phi$  y  $h$  para dar un  $H_x \neq 0$  obligando a  $H_{Helfrich}$  y a  $H_{Comp}$  a reajustarse, en definitiva modificando las propiedades de la bicapa con efectos tangibles en la energía libre de curvatura. Al respecto, en un trabajo reciente [21] hemos desarrollado una nueva variable colectiva ( $\Psi$ ) que induce curvatura en bicapas lipídicas (ec. 5), de fácil implementación y para ser usada en cualquier tipo de membranas (homogéneas, heterogéneas, simétricas, asimétricas y que incluyan o no proteínas u otras moléculas) definida en la ecuación 5.

$$\Psi = \frac{\sum_{i=1}^N \tanh\left(\frac{1}{2} \sqrt{d_{xi}^2 + d_{yi}^2 + d_{zi}^2}\right) - N_0}{N - N_0} \quad (5)$$

Aquí, la sumatoria se extiende sobre todos los centros de masas de las moléculas lipídicas de la membrana;  $d_x$ ,  $d_y$  y  $d_z$  son las componentes de la distancia tridimensional entre el centro de masa de cada lípido y el centro de masas de la membrana.  $N$  es el número total de moléculas de lípidos y  $N_0$  es una constante de equilibrio igual a la sumatoria en el numerador, calculada sobre una simulación sin restricciones sobre una membrana plana. La figura 1 muestra la curvatura inducida por proteínas en una membrana biológica.  $\Psi$  no sólo permite inducir curvatura de manera controlada en bicapas lipídicas, sino que también permite calcular la energía libre de Gibbs asociada al proceso (dado que  $\Psi$  es una función continua y diferenciable). La aplicación de  $\Psi$  a sistemas de proteína-membrana es directa y ha dado excelentes resultados, *i.e.* para cuantificar efectos en la curvatura de membrana del dominio BAR [21], del dominio C-terminal de la subunidad  $g$  (sintasa ATP mitocondrial) [40] y el mecanismo de reconocimiento de curvatura de membrana que utiliza alfasinucléina [41].

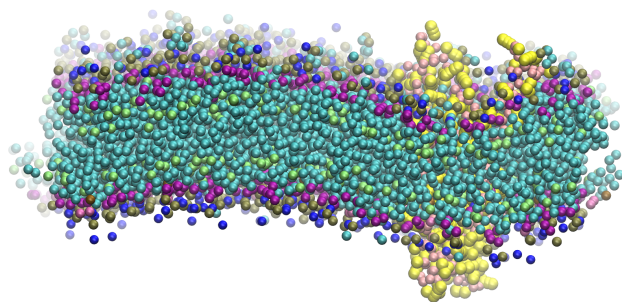


Figure 1. **Curvatura en una bicapa inducida por proteínas de transmembrana.** Representación de resolución reducida (*coarse-grained*).

#### IV. EL PORO DE MEMBRANA

Los procesos biológicos celulares están necesariamente relacionados con las propiedades físicas de la membrana, que aísla el delicado interior celular de su entorno. Las bicapas lipídicas son estructuras autoensambladas utilizadas por los organismos vivos para aislar y organizar el contenido interno de sus células. La formación de un poro en una membrana ocurre debido a una disminución de la densidad local de lípidos, que puede ocurrir de manera espontánea, o ser inducida por la aplicación de estrés mecánico o eléctrico. La poración es un evento importante en procesos de permeabilización celular y de transporte de fármacos y macromoléculas a través de la membrana, lo que provee amplia motivación para estudiar sus bases moleculares.

Las interacciones lípido-lípido en ambientes acuosos forman naturalmente una sorprendente variedad de estructuras autoensambladas, entre las cuales las bicapas son un ejemplo representativo [18] dada su importante función biológica y su empleo como modelo en estudios de biofísica fundamental [19]. Las membranas celulares están compuestas principalmente de lípidos, proteínas y carbohidratos organizados en forma de bicapas por efectos hidrofóbicos. Las moléculas anfifílicas se ubican con los grupos hidrofílicos orientados hacia la interfaz con el agua manteniendo las cadenas no polares en el interior de la membrana. De esta forma el interior celular queda selectivamente aislado [20] con una permeabilidad controlada de forma activa y pasiva por complejos mecanismos celulares. Esta propiedad es de máximo interés en biomedicina y biotecnología pues es esta permeabilidad selectiva la responsable del transporte de iones, moléculas y nanopartículas a través de la membrana. La fusión de membranas y la formación de nanoporos ha sido estudiada con especial interés por métodos experimentales [15], [17] y simulaciones computacionales [11], [13], [42]. Con estas últimas se ha demostrado la geometría toroidal del nanoporo y se ha cuantificado el coste termodinámico para generarlo en términos de la energía libre, en [kJ/mol] [12]–[14].

#### V. EL PORO DE FUSIÓN

Aunque notablemente más complejo que el poro de membrana, un poro de fusión es un mecanismo efectivo para conectar organelas intracelulares y liberar el contenido vesicular durante la exocitosis. Una compleja reorganización de

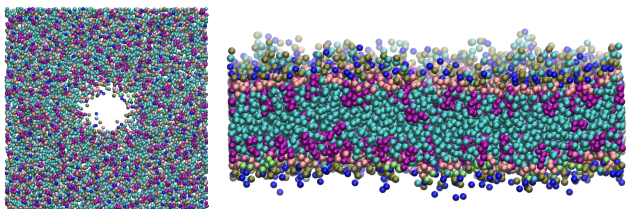


Figure 2. **Vistas de un poro de membrana.** Representación de resolución reducida (*coarse-grained*). Por claridad, no se muestran las moléculas de agua.

moléculas lipídicas tiene lugar durante la aproximación de las membranas, su deformación y su fusión [43], [44]. Termodinámicamente el proceso es desfavorable [12], [13] y se ha hipotetizado que es mediado por proteínas especializadas *i.e.*, SNARE [11], [45] y Sinaptotagmina [46]. Entre los mecanismos más aceptados para la compleja reorganización de lípidos durante la formación del poro de fusión tenemos: el *stalk* [47], la micela invertida [48], la curvatura del *stalk* [49] y la elongación [50]. Un análisis molecular tridimensional de este proceso es de gran escala en términos computacionales y requiere una detallada descripción de la compleja reorganización de las moléculas lipídicas. Entonces, por métodos *in silico* se ha buscado estudiar la formación de un poro de fusión a partir de dos membranas inicialmente planas y paralelas.

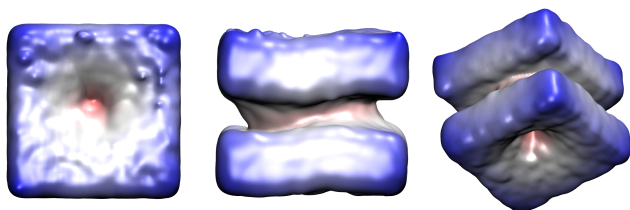


Figure 3. **Vistas de un poro de fusión.** Representación de resolución reducida (*coarse-grained*).

## VI. ESTRUCTURAS 3D DE PROTEÍNAS

Dado que la mayor parte de los procesos biológicos involucran complejos macromoleculares, la correcta identificación y caracterización de las interacciones entre proteínas y las redes que forman, resulta esencial para entender los mecanismos moleculares en la célula. Las interacciones proteína-proteína son fundamentales en la mayoría de los procesos celulares puesto que las funciones de las proteínas están gobernadas por sus interacciones con otras moléculas, en especial con otras proteínas.

El conocimiento de la estructura y las propiedades de los complejos proteína-proteína es entonces crucial a la hora de comprender cómo funcionan las células y para desarrollar nuevos métodos en el campo del diseño de nuevas drogas. Por lo tanto, resolver la estructura de complejos proteína-proteína podría sustentar las bases para un mejor entendimiento de la transmisión biológica de señales y del modo en que ciertas funciones biológicas son llevadas a cabo [51].

Actualmente las enzimas representan la mayor parte de los estudios experimentales y teóricos referidos a proteínas [52]. Sin embargo otras funciones de las proteínas son

también de interés, como por ejemplo el soporte mecánico, el transporte, el almacenamiento, el movimiento, la protección inmunológica, la transducción de señales, el crecimiento y la diferenciación. Esta heterogeneidad de funciones de las cuales las proteínas son responsables, ha sido un incentivo en los investigadores para intentar interpretar y relacionar las funciones biológicas con las estructuras. Tal es así que durante el estudio de las estructuras moleculares y sus interacciones el modelado proteína-proteína ha sido un línea central en la biomedicina computacional [53]–[56].

Dado que es posible obtener información confiable de la función de una proteína estudiando su estructura tridimensional [57], los detalles moleculares de las interacciones entre algunas proteínas y las actividades de algunas enzimas se han descrito con éxito y con gran impacto en el desarrollo farmacéutico y en el diseño de nuevas drogas [58]–[60]. Aunque el conocimiento de los mecanismos de asociación de proteínas en solución (3D) crece rápidamente, hay una clara necesidad investigar cómo estos procesos son mediados a través de las membranas celulares (2D). Sin embargo, y a pesar de que se han logrado importantes avances en el campo experimental de la determinación estructural [61], [62], la dificultad y el coste asociado limitan la cantidad de estructuras de proteínas que pueden determinarse. El conocimiento de las secuencias, por otro lado, se ha multiplicado con la ayuda de las técnicas de secuenciación masiva [63]–[66]. Luego, el vacío restante está ocupado por secuencias de proteínas cuyas estructuras tridimensionales no se conocen. Es aquí donde las técnicas *in silico* tienen aplicación inmediata.

*Docking* es el proceso por el cual dos moléculas interactúan y se enlazan. En un sentido más general, *docking* es la búsqueda y la localización de configuraciones de baja energía de una molécula y su receptor. Encontrar un ligando que se enlace fuertemente a una molécula conocida por ser responsable de una enfermedad podría inhibirla funcionando como una potencial droga. Por lo tanto, un *docking* computacionalmente eficiente depende de la precisión de las funciones de energía usadas para evaluar la intensidad de enlace de los candidatos. Teóricamente, información predictiva de *docking* podría usarse para reemplazar la ausencia de datos experimentales [55].

La predicción estructural de complejos proteína-proteína a partir de los monómeros de los dos compuestos en estado aislado (cristalizados separadamente) es un problema esencial en biofísica, con implicaciones centrales en biomedicina: diseño de inhibidores, interacciones macromoleculares y comunicación celular. En el desarrollo de algoritmos de predicción de interacciones entre proteínas (*docking*) resulta de suma utilidad el uso de bases de datos (*benchmarks*) [67]–[69] que reúnen decenas de complejos proteína-proteína caracterizados experimentalmente por cristalografía de rayos X, muchos de ellos disponibles en el Protein Data Bank (PDB, [70]). Tanto por métodos experimentales como computacionales el primer paso es probar cualquier hipótesis en casos conocidos (los algoritmos de *docking* han seguido históricamente este principio). El estado de las simulaciones de *docking* entre proteínas queda periódicamente determinado por el *Critical Assessment of Predicted Interactions* (CAPRI), un experimento de la comunidad científica internacional de

modelado y acoplamiento entre proteínas [71], [72].

En estas bases de datos, cada complejo proteína-proteína dispone del dímero y de los monómeros cristalizados de forma aislada. Así, la tarea de los algoritmos computacionales es "simplemente" transformarlos en complejos. Dadas las implicaciones en el diseño de nuevas drogas, la mayor dificultad técnica y los costes asociados a los métodos experimentales, la predicción de interacciones proteína-proteína es de un interés particular, siendo una de las metas en biomedicina el uso, desarrollo y mejoramiento de herramientas computacionales para producir cada vez mejores modelos proteína-ligando y proteína-proteína [67], [67]–[69], [73]–[75]. Por esto, en la carrera por el diseño de mejores y más eficientes algoritmos de predicción, los monómeros aislados son utilizados como única información de inicio, siendo el objetivo máximo de un algoritmo de *docking* el de generar el complejo proteína-proteína en su versión dimérica nativa.

Las primeras aproximaciones de *docking* molecular fueron desarrolladas para aplicarse entre proteínas y ligandos. La primer versión de un programa de *docking* fue el algoritmo DOCK [76], originalmente concebido como un algoritmo de complementariedad geométrica usando las superficies de Connolly [77]. Autodock [78], [79] fue diseñado para predecir cómo pequeñas moléculas, como potenciales drogas, se enlazaban a un receptor de estructura tridimensional conocida. Por último, GLIDE [80], [81] es un programa altamente eficiente para predecir y ordenar configuraciones de *docking* de ligandos.

Entre los algoritmos de *docking* más extendidos encontramos ZDOCK [55] basado en la complementariedad de forma, energía de solvatación y electrostática para probar todas las poses de enlace, para una dada resolución y usando un algoritmo optimizado con la transformada rápida de Fourier (FFT) [82]. El algoritmo FTDock (Fourier Transform Dock [83]) genera eficientemente orientaciones de *docking* en el espacio del cuerpo rígido entre dos biomoléculas. Basado en la correlación de Fourier de Katchalski-Katzir [84] es actualmente uno de los más optimizados en términos de costes computacionales. Otros protocolos de *docking* como FRODOCK [85] y HEX [86] se basan también en la transformada rápida de Fourier. PyDock [87] utiliza una función energética relativamente independiente de las geometrías de la orientaciones de *docking*, dándole la versatilidad necesaria para ser usado en grupos de *docking* de cuerpo rígido generados por diversos métodos. HADDOCK [75] fue inicialmente desarrollado para estudios de *docking* entre proteínas e incluye diferentes niveles de flexibilidad combinando información precalculada de simulaciones de dinámica molecular y de resonancia magnética nuclear. En este sentido, RosettaDock es también un método de mecánica molecular con el objetivo de predecir complejos proteína-proteína comenzando desde sus componentes aislados [88]. RosettaDock realiza minimizaciones energéticas para encontrar las poses más estables, combinándolas con un análisis flexible de las cadenas laterales mediante un muestreo conformacional de tipo Monte Carlo [89].

A diferencia de los métodos que utilizan la transformada rápida de Fourier [82], los métodos basados en mecánica

molecular como RosettaDock y HADDOCK utilizan modelos explícitos de las proteínas, en el espacio atómico o bien bajo alguna forma de resolución reducida de tipo grano grueso, como el programa ATTRACT [74], [90], [91]. ATTRACT es un innovador método de *docking* para aplicaciones entre proteínas basado en un modelo de resolución reducida, garantizando así un muestreo más denso con un menor coste computacional. Por un lado, los métodos geométricos resultan útiles para muestrear grandes espacios configuracionales con menores costes computacionales, mientras que los métodos basados en una descripción mecanística utilizan modelos más reales de las proteínas y son más apropiados para un muestreo exhaustivo de pequeñas porciones del espacio, con mayor complejidad computacional.

Alternativamente, algunos estudios [90], [92] han utilizado con éxito modelos basados en redes elásticas para aplicaciones de *docking*, forzando los carbonos- $\alpha$  con un potencial armónico hacia una nueva posición utilizando un modelo anisotrópico de modos normales. Esto ha demostrado que la dinámica de un sistema cerca de un estado de equilibrio puede describirse en muchos casos con un número reducido de grados de libertad. Un resultado de máximo interés para las técnicas de dinámica molecular restringida por variables colectivas.

## VII. PROTEÍNAS MECANOQUÍMICAS: DINAMINA

En 1989, se descubrió una GTPasa llamada dinamina [93] que cumple una función central durante la fisión de las vesículas endocíticas, en células vegetales y animales. Las dinaminas clásicas y las proteínas similares a la dinamina (*dynammin-like proteins*, DLP) son una familia expansiva de GTPasas mecano-químicas que inducen fusión y fisión de membrana. En eucariotas, su repertorio funcional incluye la escisión de vesículas en la endocitosis y en el mantenimiento de la membrana mitocondrial [94]. La dinamina posee la notable propiedad de ensamblarse en polímeros helicoidales contráctiles que se envuelven alrededor del cuello de una vesícula y lo estrangulan hasta la fisión. La descripción molecular de un mecanismo de tal complejidad es de máximo interés en biomedicina [95]. En 2011, la estructura cristalográfica de esta proteína humana (sin el nucleótido) fue obtenida por primera vez [96], potenciando los estudios de simulaciones computacionales relacionados a dinamina.

Las dinaminas, unas GTPasas de  $\approx 100$  kDa, tienen tres propiedades bien establecidas. (i) Se oligomerizan formando hélices alrededor un tubo de membrana. (ii) Los cambios conformacionales impulsados por nucleótidos derivan en una constricción del oligómero de dinaminas y de la membrana que rodean. (iii) La fisión del cuello de la membrana es dependiente de la hidrólisis de guanosín trifosfato (GTP) en guanosín difosfato (GDP).

La estructura y función de dinamina durante su interacción con membranas han sido estudiadas por métodos experimentales [94], [95], [97], [98] y computacionales [96], [99]–[103]. La forma de las membranas biológicas está condicionada por proteínas que estabilizan y/o generan curvatura de membrana [21], [40], [104]. En general, tales procesos de compleja

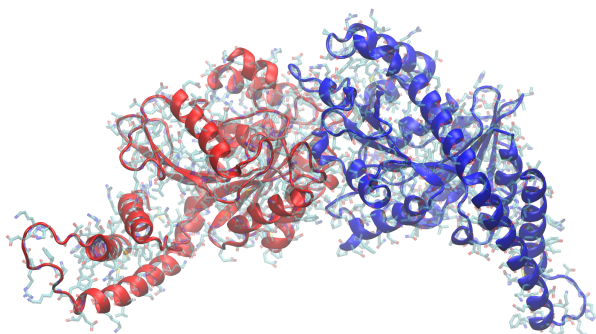


Figure 4. **Dímero de dinamina** (PDB ID: 2X2E). Representación atómica. Los aminoácidos siguen la convención de coloración de Corey-Pauling-Koltun (CPK) para distinguir átomos.

remodelación lipídica se llevan a cabo de forma pasiva, es decir, sin el aporte de energía [102], como es el caso de proteínas que contienen dominios Bin/Amphiphysin/Rvs (BAR) [21], [105], [106]. Por el contrario, la etapa final de la endocitosis catalizada por dinamina al ensamblarse en el cuello endocítico, utiliza energía de la hidrólisis de GTP para la escisión. La dinamina funciona entonces como un andamio estructural polimérico activo, que se enrolla alrededor del tubo de membrana y estabiliza su curvatura.

En principio, la fisión de membranas inducida por dinaminas se ha explicado por dos mecanismos: el modelo de resorte y el modelo de cizalla. Cuando la dinamina se asocia con nanotubos de lípidos [107], el cambio conformacional genera un aumento en la extensión del arrollamiento. El paso helicoidal aumenta de 11 nm a 20 nm cuando el tubo de membrana recubierto de dinamina se trata con GDP, mientras que el paso permanece constante cuando se trata con GTP $\gamma$ S o cuando está libre de nucleótidos. Se ha sugerido que la membrana podría romperse por la rápida extensión de la hélice, se han observado hélices extendidas de dinamina *in vivo* [108] y se ha propuesto un modelo teórico que explicaría este mecanismo [109].

La validez del modelo de resorte se basa en la velocidad de extensión de la hélice: si la hélice de dinamina se extiende más rápido de lo que la membrana puede deformarse, la membrana se rompe. De lo contrario, la membrana fluye siguiendo el volumen cilíndrico de la hélice y se ajusta a la nueva conformación del polímero, sin romperse. Por lo tanto, la fisión ocurriría si y solo si la constricción fuese más rápida que el tiempo viscoelástico de las membranas lipídicas (la escala de tiempo por debajo de la cual las membranas se comportan como un sólido elástico en lugar de un fluido viscoso), que experimentalmente se encuentra en menos de 10 ms [110]. Como se ha descrito, el cambio conformacional de dinamina ocurre en el orden de unos pocos cientos de milisegundos [111], un orden de magnitud más lentamente de lo que se requiere. Por esto, resulta difícil que la sola extensión de la hélice de dinaminas, emulando un resorte, genere suficiente arrastre mecánico en la bicapa lipídica como para inducir la fisión [112].

Otra propuesta es el modelo de fisión por cizallamiento. Este modelo propone que la torsión podría conducir a un

cizallamiento suficientemente intenso como para inducir fisión [113]. Como en el caso del modelo de resorte, la rapidez con la que las dinaminas se contraen es fundamental para este modelo. Debido a que necesitan unos pocos cientos de milisegundos para contraerse, parece poco probable que las dinaminas se contraigan lo suficientemente rápido como para cizallar la membrana. Una descripción teórica de los cambios conformacionales de los tubos lipídicos recubiertos de dinamina predice tres etapas sucesivas [114]. La primera ocurre en una escala de tiempo de 100  $\mu$ s y corresponde a una leve expansión de la hélice. Durante la segunda etapa, que ocurre dentro de los 100 ms, el radio del tubo disminuye. En la última etapa, que ocurre en tiempos del orden del segundo, se reduce el paso de la hélice y se expulsa la membrana desde el interior de la hélice. Este modelo teórico fue corroborado por experimentos *in-vitro* [111], confirmando que la constricción ocurre en escalas de tiempo de 100 ms, que es mayor al tiempo viscoelástico de la membrana (menos de 10 ms). Por lo tanto, tampoco resulta factible que la fisión de la membrana se produzca exclusivamente por cizallamiento [112].

La dinamina tiene un papel regulador durante la expansión del poro de fusión, a través del cual controla la liberación del transmisor, independientemente de su papel endocítico [115]–[117] o de la translocación de vesículas [118]. Además, como señalaron Keating y colaboradores [119] desde un enfoque farmacológico, la dinamina no solo controla la expansión del poro de fusión durante la exocitosis, sino que es un modulador bidireccional del poro de fusión, que aumenta o disminuye la cantidad liberada desde la vesícula durante la exocitosis, cuando es activada o inhibida. Así, la dinamina tiene la capacidad de ajustar con precisión la liberación del transmisor y sus mecanismos moleculares son, por lo tanto, de sumo interés.

#### VIII. PROTEÍNAS CON DESORDEN INTRÍNSECO: ALFA-SINUCLEÍNA

En los últimos 20 años, el paradigma tradicional estructura-función en las proteínas sufrió un replanteo fundamental [120], básicamente porque al menos el 30% del número total de proteínas en una célula eucariota es intrínsecamente desestructurada o desordenada [121], [122]. Según la idea original, el desorden intrínseco es la ausencia de una estructura tridimensional en el tiempo [123]. El desorden intrínseco cubre un amplio espectro de estados, desde completamente desestructurado hasta parcialmente estructurado. Tanto los estudios experimentales como los computacionales observaron desorden intrínseco en diversos tipos de proteínas, como proteínas globulares, fibrosas y de membrana [124].

Muchas proteínas no tienen una estructura tridimensional rígida bajo condiciones fisiológicas *in vitro*, pues funcionan como ensambles dinámicos de estructuras que coexisten. Estas proteínas denominadas intrínsecamente desestructuradas [123] o intrínsecamente desordenadas [121] tienen estructuras dinámicas que se interconvierten en distintas escalas de tiempo. A pesar de su flexibilidad inherente y su falta de estructura secundaria estable, estas proteínas cumplen roles biológicos cruciales como el reconocimiento molecular, la

unión molecular y la modificación de proteínas [3], [125], [126].

Inicialmente, se relacionó a las proteínas intrínsecamente desordenadas (o a las proteínas con regiones desordenadas) con el cáncer [127]. Actualmente, sabemos que el desorden intrínseco está ampliamente distribuido en el proteoma y que es un mecanismo utilizado durante la evolución [128]. Ejemplos prominentes de proteínas desordenadas son: alfa-sinucleína, la proteína tau y los péptidos beta-amiloideos, cuya agregación resulta en degeneración y muerte de las células neuronales y en neuropatologías devastadoras [129]. En particular, la agregación de alfa-sinucleína ha sido relacionada a la enfermedad de Parkinson [130], [131] siendo el principal componente de los cuerpos fibrilares insolubles de Lewy [132], [133], que son indicadores de la degeneración neuronal.

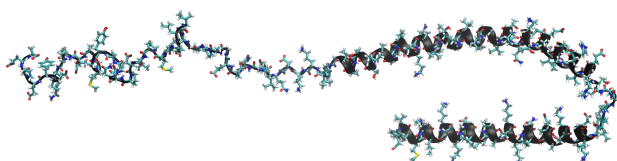


Figure 5. **Alfa-sinucleína** (PDB ID: 1XQ8). Representación atomística. Los aminoácidos siguen la convención de coloración de Corey-Pauling-Koltun (CPK) para distinguir átomos.

Alfa-sinucleína es una pequeña proteína citosólica intrínsecamente desordenada ( $\sim 14$  kDa) relacionada al tráfico vesicular, a la fusión y a la fisión [133], [134]. Aunque es desestructurada en su forma nativa, se ha demostrado que al enlazarse con la superficie de la membrana, alfa-sinucleína se pliega en dos hélices antiparalelas bien definidas [131], [135] dejando un pequeño segmento de 47 residuos que permanece desordenado [136]. En la estructura de resonancia magnética nuclear disponible en el Protein Data Bank (PDB ID: 1XQ8), alfa-sinucleína consiste de 140 aminoácidos: dos hélices alfa (res 1-92) y la región desordenada (res 93-140) que no tiene estructura secundaria ni terciaria (ver figura 5).

Hace unos diez años Middleton y sus colaboradores demostraron que alfa-sinucleína se enlaza con sustancial afinidad a vesículas lipídicas altamente curvadas [134] y más recientemente, se ha sugerido que los primeros 100 residuos de alfa-sinucleína (mayormente el dominio hélice alfa ordenado) inducen curvatura en membranas [137] y que la región desordenada cumple un rol esencial en los regímenes de máxima deformación [41].

Se ha hipotetizado que las sinucleopatologías podrían ser el resultado de interrupciones en las funciones celulares básicas que interactúan con la biología única de neuronas particulares haciéndolas especialmente vulnerables [138]. Se ha reportado que alfa-sinucleína se enlaza favorablemente con membranas aniónicas de alta curvatura [139]–[141] y recientemente se ha propuesto que alfa-sinucleína tiene efectos dosis-dependientes sobre la dilatación del poro de fusión exocítico [142].

## IX. FORCE-FIELDS

Un problema no menor es elegir la resolución más adecuada para realizar las simulaciones de dinámica molecular,

en una relación de compromiso entre las posibilidades del modelo (el *force-field*) para reproducir un evento de interés con suficiente exactitud y el tiempo de simulación del que se dispone (el tiempo de supercomputación es muy preciado y no está disponible para todos). Las resoluciones más altas (atomísticas) llevan desde luego asociados los costes computacionales también más altos. En general, la forma atomística de las simulaciones de dinámica molecular queda descrita por la ecuación:

$$E_{\text{total}} = \sum K_r (r - r_{eq})^2 + \sum K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum [\frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon r}]$$

que es ampliamente utilizada en simulaciones de sistemas biológicos [143]. En este modelo cada molécula se representa mediante un conjunto de átomos puntuales conectados entre sí mediante potenciales de enlace, angulares y torsionales, que determinan la topología, la forma y la flexibilidad de la molécula. Átomos separados por más de tres enlaces, o pertenecientes a moléculas diferentes, interactúan a través de potenciales de Lennard-Jones y de Coulomb. Los parámetros del modelo se ajustan para reproducir datos experimentales, o se obtienen a partir de cálculos de estructura electrónica. En este sentido, en los últimos años los modelos GROMOS [144], CHARMM [145], AMBER [146] y OPLS-AA [143] han sido extensamente probados y reajustados, siendo una base sólida para el modelado de iones, lípidos y aminoácidos.

Una reducción de la resolución, mediante un agrupamiento de algún número de átomos en nuevas partículas con sus propios parámetros, es una estrategia interesante para reducir el coste computacional. Al respecto, se han desarrollado interesantes modelos de grano grueso (*coarse-grained*) para sistemas biológicos, como por ejemplo: MARTINI [147], SIRAH [148] y SURPASS [149].

En el modelo de MARTINI, las partículas se clasifican según sus interacciones mutuas como: polares, no polares, apolares y cargadas. También se clasifican en subtipos que determinan su capacidad para formar enlaces de hidrógeno o su grado de polaridad [150]. En particular, para las moléculas de lípidos de fosfatidilcolina, los grupos de cabeza de fosfatidilcolina incluyen dos grupos hidrófilos (colina con carga positiva y fosfato con carga negativa). Las moléculas de colesterol están modeladas por 8 partículas (6 para el esteroil y 2 para la cola) con una geometría principalmente plana [150].

MARTINI [147], [150]–[152] ha dado excelentes resultados en los últimos años para el modelado molecular de proteínas y lípidos [153]–[157] y para cálculos de energía libre [21], [41], [158], [159]. Su nueva versión MARTINI 3 promete una descripción más precisa de las interacciones proteína-lípido, de modo de compensar y corregir algunas dificultades del modelo anterior [160].

## X. PAQUETES DE DINÁMICA MOLECULAR

La investigación científica dirigida a la interfaz entre la nanociencia y la biología promete desencadenar avances en ciencia fundamental y potenciar el desarrollo de tecnologías revolucionarias [161]. Por ejemplo, el estudio a nivel molecular de las interacciones ADN/proteína y ADN/lípido son

de relevancia farmacéutica [162], [163] y nanotecnológica [164]–[167]. Las simulaciones computacionales multiescala son hoy una herramienta indispensable para estudiar procesos biológicos transitorios y/o metaestables, difíciles de analizar por técnicas experimentales. En este sentido el desarrollo de nuevas o variables colectivas es de máximo interés para calcular la energía libre (en kJ/mol) asociado a un evento biológico, reduciendo el espacio de muestreo y el coste computacional de la dinámica molecular.

Varios paquetes de dinámica molecular han sido desarrollados en los últimos años y están disponibles para la comunidad científica, por ejemplo: LAMMPS [168] y NAMD [169]. En sistemas biológicos, GROMACS (GRONingen MACHine for Chemical Simulations) [170] es uno de los paquetes de dinámica molecular más usados. Es un programa de alto rendimiento, de código abierto, multiplataforma, utilizado para realizar simulaciones de dinámica molecular de sistemas con cientos de miles de partículas. GROMACS está escrito en C, C++ y CUDA. Puede compilarse para CPU, GPU y para arquitecturas XeonPhi [171], [172] usando gcc, CMAKE y FFTW3. Plumed también está escrito en C++ y está desarrollado para CPU y GPU. GROMACS utiliza MPI, thread-MPI y OpenMP y también cuenta con aceleración heterogénea GPU/CPU muy optimizada y que escala muy bien a partir de la versión 5.0.

En el desarrollo de variables colectivas complejas, PLUMED [173] es un conveniente programa para su implementación, con librerías matemáticas como MathEval y Lepton. Es también un código abierto para cálculos de energía libre que se compila junto con un motor de dinámica molecular como GROMACS. Ambos códigos (GROMACS y PLUMED) han tenido excelentes resultados en simulaciones de sistemas biológicos [172], [174].

## XI. CONCLUSIONES

Al desarrollar modelos matemáticos y técnicas *in silico* para sistemas complejos de macromoléculas observamos tres principios básicos:

- (i) proveer una detallada descripción molecular del proceso dinámico de interés,
- (ii) identificar posibles estados metaestables e intensificar el muestreo en su espacio,
- (iii) reducir la complejidad computacional al mínimo.

Con esta estrategia de base, dedicamos nuestra investigación al desarrollo de nuevas coordenadas colectivas que permitan describir fenómenos biológicos de interés [3], [21], [40], [41], [56], [175], como la curvatura de membrana, la formación de un poro de fusión y los efectos en ellos de proteínas relacionadas. Cuando es posible realizamos también simulaciones de dinámica molecular sin restricciones (*unbiased*) de modo de identificar posibles mínimos de energía no capturados por las coordenadas colectivas, como consecuencia de una proyección incompleta de la compleja superficie de energía libre al espacio de fase utilizado para el muestreo. De este modo se han sido identificados estados transitorios y/o metaestables como un poro hidrofílico de transmembrana que no se cierra espontáneamente y permanece en un mínimo local de energía libre descrito sólo recientemente [13].

## AGRADECIMIENTOS

El autor agradece el tiempo de supercomputación proporcionado por el Sistema Nacional de Computación de Alto Desempeño (SNCAD), Iniciativa de Proyectos Acelerados de Cálculo (IPAC), números: 2017-75-APN-SEACT#MCT, 2018-6-APN-SEACT#MECCYT y 2019-72-APN-SEACT#MECCYT, el financiamiento de CONICET (PIP-13CO01), ANPCyT (PICT2017-1002) y el hardware GPU donado por la corporación NVIDIA.

## REFERENCIAS

- [1] W. Pezeshkian, M. König, T. A. Wassenaar, and S. J. Marrink, "Backmapping triangulated surfaces to coarse-grained membrane models," *Nature Communications*, vol. 11, no. 1, p. 2296, May 2020.
- [2] K. Sugase, H. J. Dyson, and P. E. Wright, "Mechanism of coupled folding and binding of an intrinsically disordered protein," *Nature*, vol. 447, no. 7147, pp. 1021–1025, Jul. 2007.
- [3] D. Masone, M. Uhart, and D. M. Bustos, "On the role of residue phosphorylation in 14-3-3 partners: Aanat as a case study," *Scientific Reports*, vol. 7, pp. 1–7, Apr. 2017. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1038/srep46114>
- [4] C. F. Abrams and E. Vanden-Eijnden, "Large-scale conformational sampling of proteins using temperature-accelerated molecular dynamics," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 107, no. 11, pp. 4961–4966, 2010.
- [5] L. V. Chernomordik and M. M. Kozlov, "Mechanics of membrane fusion," *Nature structural & molecular biology*, vol. 15, no. 7, pp. 675–683, Jul. 2008.
- [6] J. Wohlert, W. K. den Otter, O. Edholm, and W. J. Briels, "Free energy of a trans-membrane pore calculated from atomistic molecular dynamics simulations," *J. Chem. Phys.*, vol. 124, no. 15, p. 154905, 2006.
- [7] T. V. Tolpekina, W. K. den Otter, and W. J. Briels, "Nucleation free energy of pore formation in an amphiphilic bilayer studied by molecular dynamics simulations," *J. Chem. Phys.*, vol. 121, no. 23, p. 12060, 2004.
- [8] D. P. Tieleman, H. Leontiadou, A. E. Mark, and S.-J. Marrink, "Simulation of pore formation in lipid bilayers by mechanical stress and electric fields," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, no. 21, pp. 6382–6383, 2003.
- [9] G. Fuertes, D. Giménez, S. Esteban-Martín, O. L. Sánchez-Muñoz, and J. Salgado, "A lipocentric view of peptide-induced pores," *Eur. Biophys. J.*, vol. 40, no. 4, pp. 399–415, Mar. 2011.
- [10] W. F. D. Bennett, N. Sapay, and D. P. Tieleman, "Atomistic simulations of pore formation and closure in lipid bilayers," *Biophys. J.*, vol. 106, no. 1, pp. 210–219, 2014.
- [11] S. Sharma and M. Lindau, "Molecular mechanism of fusion pore formation driven by the neuronal snare complex," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 115, no. 50, pp. 12 751–12 756, 2018. [Online]. Available: <https://www.pnas.org/content/115/50/12751>
- [12] V. Mirjalili and M. Feig, "Density-biased sampling: a robust computational method for studying pore formation in membranes," *Journal of chemical theory and computation*, vol. 11, no. 1, pp. 343–350, Jan. 2015. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25620896>
- [13] J. S. Hub and N. Awasthi, "Probing a continuous polar defect: A reaction coordinate for pore formation in lipid membranes," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 13, no. 5, pp. 2352–2366, May 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00106>
- [14] N. Awasthi and J. S. Hub, "Simulations of pore formation in lipid membranes: Reaction coordinates, convergence, hysteresis, and finite-size effects," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 12, no. 7, pp. 3261–3269, Jul. 2016. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00369>
- [15] A. T. Brunger, U. B. Choi, Y. Lai, J. Leitz, and Q. Zhou, "Molecular mechanisms of fast neurotransmitter release," *Annual Review of Biophysics*, vol. 47, no. 1, pp. 469–497, 2018, pMID: 29792815. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-070816-034117>
- [16] C.-W. Chang, C.-W. Chiang, and M. B. Jackson, "Fusion pores and their control of neurotransmitter and hormone release," *The Journal of General Physiology*, vol. 149, no. 3, pp. 301–322, 2017. [Online]. Available: <http://jgp.rupress.org/content/149/3/301>



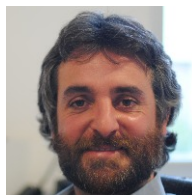
- [17] Z. Wu, N. Dharan, S. Thiyagarajan, B. O'Shaughnessy, and E. Karatekin, "The neuronal calcium sensor synaptotagmin-1 and snare proteins cooperate to dilate fusion pores mechanically," *bioRxiv*, 2019. [Online]. Available: <https://www.biorxiv.org/content/early/2019/04/30/623827>
- [18] J.-L. Barrat and J.-P. Hansen, *Basic Concepts for Simple and Complex Liquids*. Cambridge University Press, 2003.
- [19] J. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press, 2010.
- [20] A. A. Gurtovenko, J. Anwar, and I. Vattulainen, "Defect-mediated trafficking across cell membranes: Insights from in silico modeling," *Chemical Reviews*, vol. 110, no. 10, pp. 6077–6103, 2010.
- [21] D. Masone, M. Uhart, and D. M. Bustos, "Bending lipid bilayers: A closed-form collective variable for effective free-energy landscapes in quantitative biology," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 14, no. 4, pp. 2240–2245, Apr. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00012>
- [22] S. Kawamoto, T. Nakamura, S. O. Nielsen, and W. Shinoda, "A guiding potential method for evaluating the bending rigidity of tensionless lipid membranes from molecular simulation," *The Journal of chemical physics*, vol. 139, no. 3, p. 07B613\_1, 2013.
- [23] R. M. Venable, F. L. Brown, and R. W. Pastor, "Mechanical properties of lipid bilayers from molecular dynamics simulation," *Chemistry and physics of lipids*, vol. 192, pp. 60–74, 2015.
- [24] Z. A. Levine, R. M. Venable, M. C. Watson, M. G. Lerner, J.-E. Shea, R. W. Pastor, and F. L. Brown, "Determination of biomembrane bending moduli in fully atomistic simulations," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 136, no. 39, pp. 13 582–13 585, 2014.
- [25] Y. Smirnova and M. Muller, "Calculation of membrane bending rigidity using field-theoretic umbrella sampling," *The Journal of chemical physics*, vol. 143, no. 24, p. 243155, 2015.
- [26] J. P. M. Jambeck and A. P. Lyubartsev, "Another piece of the membrane puzzle: Extending slipids further," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 9, no. 1, pp. 774–784, Jan. 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/ct300777p>
- [27] S. A. Akimov, P. E. Volynsky, T. R. Galimzyanov, P. I. Kuzmin, K. V. Pavlov, and O. V. Batishchev, "Pore formation in lipid membrane i: Continuous reversible trajectory from intact bilayer through hydrophobic defect to transversal pore," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, p. 12152, Sep. 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12127-7>
- [28] W. Helfrich, "Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments," *Zeitschrift fur Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, vol. 28, no. 11, pp. 693–703, 1973. [Online]. Available: <http://view.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4273690>
- [29] S. Sadeghi, M. Muller, and R. L. Vink, "Raft formation in lipid bilayers coupled to curvature," *Biophysical Journal*, vol. 107, no. 7, pp. 1591–1600, 2014. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349514008480>
- [30] P. B. S. Kumar, G. Gompfer, and R. Lipowsky, "Modulated phases in multicomponent fluid membranes," *Phys. Rev. E*, vol. 60, pp. 4610–4618, Oct 1999. [Online]. Available: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.60.4610>
- [31] Leibler, S. and Andelman, D., "Ordered and curved meso-structures in membranes and amphiphilic films," *J. Phys. France*, vol. 48, no. 11, pp. 2013–2018, 1987. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1051/jphys:0198700480110201300>
- [32] D. Andelman, T. Kawakatsu, and K. Kawasaki, "Equilibrium shape of two-component unilamellar membranes and vesicles," *EPL (Europhysics Letters)*, vol. 19, no. 1, p. 57, 1992. [Online]. Available: <http://stacks.iop.org/0295-5075/19/i=1/a=010>
- [33] W. T. Gozdz and G. Gompfer, "Shape transformations of two-component membranes under weak tension," *EPL (Europhysics Letters)*, vol. 55, no. 4, p. 587, 2001. [Online]. Available: <http://stacks.iop.org/0295-5075/55/i=4/a=587>
- [34] J. L. Harden, F. C. MacKintosh, and P. D. Olmsted, "Budding and domain shape transformations in mixed lipid films and bilayer membranes," *Phys. Rev. E*, vol. 72, p. 011903, Jul 2005. [Online]. Available: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.72.011903>
- [35] R. Shlomovitz and M. Schick, "Model of a raft in both leaves of an asymmetric lipid bilayer," *Biophysical Journal*, vol. 105, no. 6, pp. 1406–1413, Jun. 2013. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3785889/>
- [36] T. Weikl, D. Andelman, S. Komura, and R. Lipowsky, "Adhesion of membranes with competing specific and generic interactions," *The European Physical Journal E*, vol. 8, no. 1, pp. 59–66, May 2002. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1140/epje/i2002-10008-2>
- [37] S. Sadeghi and R. L. C. Vink, "Main transition in the pink membrane model: Finite-size scaling and the influence of surface roughness," *Phys. Rev. E*, vol. 85, p. 061912, Jun 2012. [Online]. Available: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.85.061912>
- [38] S. Meinhardt, R. L. C. Vink, and F. Schmid, "Monolayer curvature stabilizes nanoscale raft domains in mixed lipid bilayers," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 110, no. 12, pp. 4476–4481, 2013. [Online]. Available: <http://www.pnas.org/content/110/12/4476>
- [39] R. Parthasarathy, C.-h. Yu, and J. T. Groves, "Curvature-modulated phase separation in lipid bilayer membranes," *Langmuir*, vol. 22, no. 11, pp. 5095–5099, 2006, pMID: 16700599. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/la060390o>
- [40] D. Masone and D. M. Bustos, "Transmembrane domain dimerization induces cholesterol rafts in curved lipid bilayers," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 21, pp. 268–274, 2019. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1039/C8CP06783J>
- [41] M. Caparotta, D. M. Bustos, and D. Masone, "Order-disorder skewness in alpha-synuclein: a key mechanism to recognize membrane curvature," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 22, no. 9, pp. 5255–5263, 2020. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1039/C9CP04951G>
- [42] Y. G. Smirnova, S. Aeffner, H. J. Risselada, T. Salditt, S. J. Marrink, M. Muller, and V. Knecht, "Interbilayer repulsion forces between tension-free lipid bilayers from simulation," *Soft Matter*, vol. 9, pp. 10705–10718, 2013. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1039/C3SM51711C>
- [43] M. Muller, Y. G. Smirnova, G. Marelli, M. Fuhrmans, and A.-C. Shi, "Transition path from two apposed membranes to a stalk obtained by a combination of particle simulations and string method," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 108, no. 22, p. 228103, May 2012. [Online]. Available: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.108.228103>
- [44] Y. G. Smirnova, H. J. Risselada, and M. Müller, "Thermodynamically reversible paths of the first fusion intermediate reveal an important role for membrane anchors of fusion proteins," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 116, no. 7, pp. 2571–2576, 2019. [Online]. Available: <https://www.pnas.org/content/116/7/2571>
- [45] H. Bao, D. Das, N. A. Courtney, Y. Jiang, J. S. Briguglio, X. Lou, D. Roston, Q. Cui, B. Chanda, and E. R. Chapman, "Dynamics and number of trans-snare complexes determine nascent fusion pore properties," *Nature*, vol. 554, p. 260, Jan. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/nature25481>
- [46] M. Segovia, E. Ales, M. A. Montes, I. Bonifas, I. Jemal, M. Lindau, A. Maximov, T. C. Sudhof, and G. Alvarez de Toledo, "Push-and-pull regulation of the fusion pore by synaptotagmin-7," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 107, no. 44, pp. 19032–19037, Nov. 2010. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20956309>
- [47] S. Hui, T. Stewart, L. Boni, and P. Yeagle, "Membrane fusion through point defects in bilayers," *Science*, vol. 212, no. 4497, pp. 921–923, 1981. [Online]. Available: <https://science.sciencemag.org/content/212/4497/921>
- [48] D. P. Siegel, "Inverted micellar intermediates and the transitions between lamellar, cubic, and inverted hexagonal lipid phases. ii. implications for membrane-membrane interactions and membrane fusion," *Biophysical journal*, vol. 49, no. 6, pp. 1171–1183, Jun. 1986. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3719075>
- [49] H. Noguchi, "Fusion and toroidal formation of vesicles by mechanical forces: A brownian dynamics simulation," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 117, no. 17, pp. 8130–8137, 2002. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1063/1.1510114>
- [50] H. J. Risselada, G. Marelli, M. Fuhrmans, Y. G. Smirnova, H. Grubmuller, S. J. Marrink, and M. Muller, "Line-tension controlled mechanism for influenza fusion," *PLOS ONE*, vol. 7, no. 6, pp. 1–14, 06 2012. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038302>
- [51] G. R. Smith and M. J. Sternberg, "Prediction of protein-protein interactions by docking methods," *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 12, no. 1, pp. 28–35, 2002.
- [52] A. D. MacKerell, N. Banavali, and N. Foloppe, "Development and current status of the charmm force field for nucleic acids," *Biopolymers*, vol. 56, no. 4, pp. 257–265, 2000.
- [53] S. Grosdidier and J. Fernández-Recio, "Identification of hot-spot residues in protein-protein interactions by computational docking," *BMC Bioinformatics*, vol. 9, pp. 447–447, Oct. 2008.
- [54] N. Eswar, B. Webb, M. A. Marti-Renom, M. Madhusudhan, D. Eramian, M.-y. Shen, U. Pieper, and A. Sali, *Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER*. John Wiley & Sons, Inc., 2001.

- [55] R. Chen, L. Li, and Z. Weng, "Zdock: An initial-stage protein-docking algorithm," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 52, no. 1, pp. 80–87, 2003.
- [56] D. Masone and S. Grosdidier, "Collective variable driven molecular dynamics to improve protein-protein docking scoring," *Computational Biology and Chemistry*, vol. 49, pp. 1–6, 2014. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1476927114000024>
- [57] A. P. Joseph and A. G. de Brevern, "From local structure to a global framework: recognition of protein folds," *Journal of The Royal Society Interface*, vol. 11, no. 95, 2014.
- [58] A. C. Anderson, "The process of structure-based drug design," *Chemistry & Biology*, vol. 10, no. 9, pp. 787–797, 2003.
- [59] L. Chen, J. K. Morrow, H. T. Tran, S. S. Phatak, L. Du-Cuny, and S. Zhang, "From laptop to benchtop to bedside: Structure-based drug design on protein targets," *Current pharmaceutical design*, vol. 18, no. 9, pp. 1217–1239, 2012.
- [60] C. L. Verlinde and W. G. Hol, "Structure-based drug design: progress, results and challenges," *Structure*, vol. 2, no. 7, pp. 577–587, 1994.
- [61] H. M. Berman, J. D. Westbrook *et al.*, "The protein structure initiative structural genomics knowledgebase," *Nucleic Acids Research*, vol. 37, no. Database issue, pp. D365–D368, Oct. 2008.
- [62] J.-M. Chandonia and S. E. Brenner, "The impact of structural genomics: Expectations and outcomes," *Science*, vol. 311, no. 5759, pp. 347–351, 2006.
- [63] R. Drmanac *et al.*, "Human genome sequencing using unchained base reads on self-assembling dna nanoarrays," *Science*, vol. 327, no. 5961, pp. 78–81, 2009.
- [64] H. G. S. ConsortiumInternational, "Finishing the euchromatic sequence of the human genome," *Nature*, vol. 431, no. 7011, pp. 931–945, Oct. 2004.
- [65] E. S. Lander, "Initial impact of the sequencing of the human genome," *Nature*, vol. 470, no. 7333, pp. 187–197, Feb. 2011.
- [66] J. Parkhill, "What has high-throughput sequencing ever done for us?" *Nat Rev Micro*, vol. 11, no. 10, pp. 664–665, Oct. 2013.
- [67] J. Mintseris, K. Wiehe, B. Pierce, R. Anderson, R. Chen, J. Janin, and Z. Weng, "Protein-protein docking benchmark 2.0: An update," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 60, no. 2, pp. 214–216, 2005.
- [68] H. Hwang, B. Pierce, J. Mintseris, J. Janin, and Z. Weng, "Protein-protein docking benchmark version 3.0," *Proteins*, vol. 73, no. 3, pp. 705–709, Nov. 2008.
- [69] H. Hwang, T. Vreven, J. Janin, and Z. Weng, "Protein-protein docking benchmark version 4.0," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 78, no. 15, pp. 3111–3114, 2010.
- [70] F. C. Bernstein, T. F. Koetzle, G. J. Williams, E. F. J. Meyer, M. D. Brice, J. R. Rodgers, O. Kennard, T. Shimanouchi, and M. Tasumi, "The protein data bank: a computer-based archival file for macromolecular structures," *Journal of molecular biology*, vol. 112, pp. 535–42, May 1977.
- [71] R. Méndez, R. Leplae, L. De Maria, and S. J. Wodak, "Assessment of blind predictions of protein-protein interactions: Current status of docking methods," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 52, no. 1, pp. 51–67, 2003.
- [72] R. Méndez, R. Leplae, M. F. Lensink, and S. J. Wodak, "Assessment of capri predictions in rounds 3-5 shows progress in docking procedures," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 60, no. 2, pp. 150–169, 2005.
- [73] J. Mintseris, B. Pierce, K. Wiehe, R. Anderson, R. Chen, and Z. Weng, "Integrating statistical pair potentials into protein complex prediction," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 69, no. 3, pp. 511–520, 2007.
- [74] M. Zacharias, "Protein-protein docking with a reduced protein model accounting for side-chain flexibility," *Protein Science*, vol. 12, no. 6, pp. 1271–1282, 2003.
- [75] Cyril Dominguez, Rolf Boelens, and A. Bonvin, "Haddock: A protein-protein docking approach based on biochemical or biophysical information," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, no. 7, pp. 1731–1737, 2003, pMID: 12580598.
- [76] I. D. Kuntz, J. M. Blaney, S. J. Oatley, R. Langridge, and T. E. Ferrin, "A geometric approach to macromolecule-ligand interactions," *Journal of Molecular Biology*, vol. 161, no. 2, pp. 269–288, Oct. 1982. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002228368290153X>
- [77] M. Connolly, "Solvent-accessible surfaces of proteins and nucleic acids," *Science*, vol. 221, no. 4612, pp. 709–713, 1983. [Online]. Available: <https://science.sciencemag.org/content/221/4612/709>
- [78] D. S. Goodsell, G. M. Morris, and A. J. Olson, "Automated docking of flexible ligands: Applications of autodock," *J. Mol. Recognit.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–5, Jan. 1996. [Online]. Available: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1352\(199601\)9:1;1::AID-JMR241;3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1352(199601)9:1;1::AID-JMR241;3.0.CO;2-6)
- [79] D. S. Goodsell, M. F. Sanner, A. J. Olson, and S. Forli, "The autodock suite at 30," *Protein Science*, vol. n/a, no. n/a, Aug. 2020. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1002/pro.3934>
- [80] R. A. Friesner, J. L. Banks, R. B. Murphy, T. A. Halgren, J. J. Klicic, D. T. Mainz, M. P. Repasky, E. H. Knoll, M. Shelley, J. K. Perry, D. E. Shaw, P. Francis, and P. S. Shenkin, "Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. method and assessment of docking accuracy," *Journal of medicinal chemistry*, vol. 47, pp. 1739–49, Mar 2004.
- [81] T. A. Halgren, R. B. Murphy, R. A. Friesner, H. S. Beard, L. L. Frye, W. T. Pollard, and J. L. Banks, "Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. enrichment factors in database screening," *Journal of medicinal chemistry*, vol. 47, pp. 1750–9, Mar 2004.
- [82] J. Cooley and J. Tukey, "An algorithm for the machine calculation of complex fourier series," *Mathematics of Computation*, vol. 19, no. 90, pp. 297–301, 1965.
- [83] H. A. Gabb, R. M. Jackson, and M. J. Sternberg, "Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information1," *Journal of Molecular Biology*, vol. 272, no. 1, pp. 106–120, 1997.
- [84] E. Katchalski-Katzir, I. Shariv, M. Eisenstein, A. A. Friesem, C. Aflalo, and I. A. Vakser, "Molecular surface recognition: determination of geometric fit between proteins and their ligands by correlation techniques," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 89, no. 6, pp. 2195–2199, 1992. [Online]. Available: <https://www.pnas.org/content/89/6/2195>
- [85] J. I. Garzon, J. R. López-Blanco, C. Pons, J. Kovacs, R. Abagyan, J. Fernandez-Recio, and P. Chacon, "Frodock: a new approach for fast rotational protein-protein docking," *Bioinformatics*, vol. 25, no. 19, pp. 2544–2551, Jul. 2009.
- [86] D. W. Ritchie and G. J. Kemp, "Protein docking using spherical polar fourier correlations," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 39, no. 2, pp. 178–194, 2000.
- [87] T. M.-K. Cheng, T. L. Blundell, and J. Fernandez-Recio, "pydock: Electrostatics and desolvation for effective scoring of rigid-body protein-protein docking," *Proteins*, vol. 68, no. 2, pp. 503–515, Aug. 2007. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1002/prot.21419>
- [88] S. Lyskov and J. J. Gray, "The rosettaDock server for local protein-protein docking," *Nucleic acids research*, vol. 36, pp. W233–8, Jul 2008.
- [89] D. Chivian, D. E. Kim, L. Malmström, J. Schonbrun, C. A. Rohl, and D. Baker, "Prediction of casp6 structures using automated rosetta protocols," *Proteins*, vol. 61 Suppl 7, pp. 157–66, 2005.
- [90] A. May and M. Zacharias, "Protein-ligand docking accounting for receptor side chain and global flexibility in normal modes: Evaluation on kinase inhibitor cross docking," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 51, no. 12, pp. 3499–3506, 2008, pMID: 18517186.
- [91] S. Fiorucci and M. Zacharias, "Binding site prediction and improved scoring during flexible protein-protein docking with attract," *Proteins*, vol. 78, pp. 3131–9, Nov 2010.
- [92] I. Bahar, A. R. Atilgan, R. L. Jernigan, and B. Erman, "Understanding the recognition of protein structural classes by amino acid composition," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 29, no. 2, pp. 172–185, 1997.
- [93] H. S. Shpetner and R. B. Vallee, "Identification of dynamin, a novel mechanochemical enzyme that mediates interactions between microtubules," *Cell*, vol. 59, no. 3, pp. 421–432, Nov. 1989. [Online]. Available: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90027-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90027-5)
- [94] J. Liu, J. K. Noel, and H. H. Low, "Structural basis for membrane tethering by a bacterial dynamin-like pair," *Nature communications*, vol. 9, p. 3345, Aug 2018.
- [95] M. Bramkamp, "Bacterial dynamin-like proteins reveal mechanism for membrane fusion," *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, p. 3993, Sep. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06559-6>
- [96] K. Faelber, Y. Posor, S. Gao, M. Held, Y. Roske, D. Schulze, V. Hauke, F. Noé, and O. Daumke, "Crystal structure of nucleotide-free dynamin," *Nature*, vol. 477, pp. 556–60, Sep 2011.
- [97] T. Takeda, T. Kozai, H. Yang, D. Ishikuro, K. Seyama, Y. Kumagai, T. Abe, H. Yamada, T. Uchihashi, T. Ando, and K. Takei, "Dynamic clustering of dynamin-amphiphysin helices regulates membrane constriction and fission coupled with gtp

- hydrolysis," *eLife*, vol. 7, p. e30246, jan 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.7554/eLife.30246>
- [98] H. H. Low, C. Sachse, L. A. Amos, and J. Löwe, "Structure of a bacterial dynamin-like protein lipid tube provides a mechanism for assembly and membrane curving," *Cell*, vol. 139, no. 7, pp. 1342–1352, Dec. 2009. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.003>
- [99] T. F. Reubold, K. Faelber, N. Plattner, Y. Posor, K. Ketel, U. Curth, J. Schlegel, R. Anand, D. J. Manstein, F. Noé, V. Haucke, O. Daumke, and S. Eschenburg, "Crystal structure of the dynamin tetramer." *Nature*, vol. 525, pp. 404–8, Sep 2015.
- [100] M. Fuhrmans and M. Müller, "Coarse-grained simulation of dynamin-mediated fission," *Soft Matter*, vol. 11, pp. 1464–1480, 2015. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1039/C4SM02533D>
- [101] M. Pannuzzo, Z. A. McDargh, and M. Deserno, "The role of scaffold reshaping and disassembly in dynamin driven membrane fission," *eLife*, vol. 7, p. e39441, dec 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.7554/eLife.39441>
- [102] J. K. Noel, F. Noé, O. Daumke, and A. S. Mikhailov, "Polymer-like model to study the dynamics of dynamin filaments on deformable membrane tubes," *Biophysical Journal*, vol. 117, no. 10, pp. 1870–1891, Nov. 2019. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349519308331>
- [103] O. Ganichkin, R. Vanraenenbroeck, G. Rosenblum, H. Hofmann, A. Mikhailov, O. Daumke, and J. Noel, "Mechanistic basis for motor-driven membrane constriction by dynamin," 2020. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1101/2020.09.10.289546>
- [104] H. T. McMahon, M. M. Kozlov, and S. Martens, "Membrane curvature in synaptic vesicle fusion and beyond," *Cell*, vol. 140, no. 5, pp. 601–605, Mar. 2010. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.017>
- [105] M. Simunovic and G. A. Voth, "Membrane tension controls the assembly of curvature-generating proteins," *Nature communications*, vol. 6, 2015.
- [106] C. Mim, H. Cui, J. A. Gawronski-Salerno, A. Frost, E. Lyman, G. A. Voth, and V. M. Unger, "Structural basis of membrane bending by the n-bar protein endophilin," *Cell*, vol. 149, no. 1, pp. 137–145, 2012.
- [107] M. H. B. Stowell, B. Marks, P. Wigge, and H. T. McMahon, "Nucleotide-dependent conformational changes in dynamin: evidence for a mechanochemical molecular spring," *Nature Cell Biology*, vol. 1, no. 1, pp. 27–32, May 1999. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/8997>
- [108] K. Takei, V. Haucke, V. Slepnev, K. Farsad, M. Salazar, H. Chen, and P. De Camilli, "Generation of coated intermediates of clathrin-mediated endocytosis on protein-free liposomes," *Cell*, vol. 94, no. 1, pp. 131–141, Jul. 1998. [Online]. Available: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81228-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81228-3)
- [109] M. M. Kozlov, "Dynamin: Possible mechanism of "pinchase" action," *Biophysical Journal*, vol. 77, no. 1, pp. 604–616, Jul. 1999. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349599769171>
- [110] B. A. Camley and F. L. H. Brown, "Beyond the creeping viscous flow limit for lipid bilayer membranes: Theory of single-particle microrheology, domain flicker spectroscopy, and long-time tails," *Phys. Rev. E*, vol. 84, no. 2, p. 021904, Aug. 2011. [Online]. Available: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.84.021904>
- [111] S. Morlot, M. Lenz, J. Prost, J.-F. Joanny, and A. Roux, "Deformation of dynamin helices damped by membrane friction," *Biophysical journal*, vol. 99, no. 11, pp. 3580–3588, Dec. 2010. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21112282>
- [112] S. Morlot and A. Roux, "Mechanics of dynamin-mediated membrane fission," *Annual review of biophysics*, vol. 42, pp. 629–649, 2013. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23541160>
- [113] M. Lenz, S. Morlot, and A. Roux, "Mechanical requirements for membrane fission: common facts from various examples." *FEBS letters*, vol. 583, pp. 3839–46, Dec 2009.
- [114] M. Lenz, J. Prost, and J.-F. Joanny, "Mechanochemical action of the dynamin protein." *Phys. Rev. E*, vol. 78, no. 1, p. 011911, Jul. 2008. [Online]. Available: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.78.011911>
- [115] A. M. González-Jamett, F. Momboisse, M. J. Guerra, S. Ory, X. Bález-Matus, N. Barraza, V. Calco, S. Houy, E. Couve, A. Neely, A. D. Martínez, S. Gasman, and A. M. Cárdenas, "Dynamin-2 regulates fusion pore expansion and quantal release through a mechanism that involves actin dynamics in neuroendocrine chromaffin cells," *PLoS one*, vol. 8, no. 8, pp. e70638–e70638, Aug. 2013. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23940613>
- [116] M. E. Graham, D. W. O'Callaghan, H. T. McMahon, and R. D. Burgoyne, "Dynamin-dependent and dynamin-independent processes contribute to the regulation of single vesicle release kinetics and quantal size." *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 99, no. 10, p. 7124, May 2002. [Online]. Available: <http://www.pnas.org/content/99/10/7124.abstract>
- [117] P. Holroyd, T. Lang, D. Wenzel, P. De Camilli, and R. Jahn, "Imaging direct, dynamin-dependent recapture of fusing secretory granules on plasma membrane lawns from pc12 cells," *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 99, no. 26, p. 16806, Dec. 2002. [Online]. Available: <http://www.pnas.org/content/99/26/16806.abstract>
- [118] A. Papadopoulos, G. A. Gomez, S. Martin, J. Jackson, R. S. Gormal, D. J. Keating, A. S. Yap, and F. A. Meunier, "Activity-driven relaxation of the cortical actomyosin ii network synchronizes munc18-1-dependent neurosecretory vesicle docking," *Nature Communications*, vol. 6, no. 1, p. 6297, Feb. 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/ncomms7297>
- [119] J. Jackson, A. Papadopoulos, F. A. Meunier, A. McCluskey, P. J. Robinson, and D. J. Keating, "Small molecules demonstrate the role of dynamin as a bi-directional regulator of the exocytosis fusion pore and vesicle release," *Molecular Psychiatry*, vol. 20, no. 7, pp. 810–819, Jul. 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/mp.2015.56>
- [120] C. M. Baker and R. B. Best, "Insights into the binding of intrinsically disordered proteins from molecular dynamics simulation," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, vol. 4, no. 3, pp. 182–198, 2014.
- [121] A. Dunker, J. Lawson *et al.*, "Intrinsically disordered protein." *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 19, no. 1, pp. 26–59, 2001.
- [122] A. L. Fink, "Natively unfolded proteins," *Current opinion in structural biology*, vol. 15, no. 1, pp. 35–41, 2005.
- [123] P. E. Wright and H. Dyson, "Intrinsically unstructured proteins: re-assessing the protein structure-function paradigm," *Journal of Molecular Biology*, vol. 293, no. 2, pp. 321–331, 1999.
- [124] A. Andreeva, D. Howorth, C. Chothia, E. Kulesha, and A. G. Murzin, "Scop2 prototype: a new approach to protein structure mining," *Nucleic acids research*, vol. 42, no. D1, pp. D310–D314, 2013.
- [125] A. K. Dunker, C. J. Brown, J. D. Lawson, L. M. Iakoucheva, and Z. Obradovic, "Intrinsic disorder and protein function," *Biochemistry*, vol. 41, no. 21, pp. 6573–6582, May 2002.
- [126] V. N. Uversky, C. J. Oldfield, and A. K. Dunker, "Intrinsically disordered proteins in human diseases: Introducing the d2 concept," *Annual Review of Biophysics*, vol. 37, no. 1, pp. 215–246, 2008, PMID: 18573080.
- [127] L. M. Iakoucheva, C. J. Brown, J. D. Lawson, Z. Obradović, and A. K. Dunker, "Intrinsic disorder in cell-signaling and cancer-associated proteins," *Journal of molecular biology*, vol. 323, no. 3, pp. 573–584, 2002.
- [128] V. N. Uversky, N. N. Sluchanko, P. Kulkarni, I. Neshmelova, S. Mukhopadhyay, O. Coskuner, C. N. Trumbore, D. Tolkatchev, A. S. Kostyukova, L. Kurgan, B. Wolozin, and R. Giri, *Dancing Protein Clouds: Intrinsically Disordered Proteins in the Norm and Pathology*, V. Uversky, Ed. Elsevier, 2019.
- [129] A. M. Hernandez, H. Urbanek *et al.*, "The diphenylpyrazole compound anle138b blocks  $\alpha\beta$  channels and rescues disease phenotypes in a mouse model for amyloid pathology," *EMBO Molecular Medicine*, vol. 10, no. 1, pp. 32–47, 2018.
- [130] T. Baumgart, B. R. Capraro, C. Zhu, and S. L. Das, "Thermodynamics and mechanics of membrane curvature generation and sensing by proteins and lipids," *Annual review of physical chemistry*, vol. 62, pp. 483–506, 2011. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21219150>
- [131] C. C. Jao, B. G. Hegde, J. Chen, I. S. Haworth, and R. Langen, "Structure of membrane-bound alpha-synuclein from site-directed spin labeling and computational refinement," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 105, no. 50, pp. 19666–19671, Dec. 2008. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066219>
- [132] W. S. Kim, K. Kagedal, and G. M. Halliday, "Alpha-synuclein biology in lewy body diseases," *Alzheimer's research & therapy*, vol. 6, no. 5, pp. 73–73, Oct. 2014. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25580161>
- [133] P. K. Auluck, G. Caraveo, and S. Lindquist, "alpha-synuclein: Membrane interactions and toxicity in parkinson's disease," *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, vol. 26, no. 1, pp. 211–233, 2010, PMID: 20500090. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.042308.113313>
- [134] E. R. Middleton and E. Rhoades, "Effects of curvature and composition on alpha-synuclein binding to lipid vesicles," *Biophysical*

- journal, vol. 99, no. 7, pp. 2279–2288, Oct. 2010. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20923663>
- [135] M. Drescher, G. Veldhuis, B. D. van Rooijen, S. Milikisyants, V. Subramaniam, and M. Huber, “Antiparallel arrangement of the helices of vesicle-bound alpha-synuclein,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 25, pp. 7796–7797, 2008, pMID: 18512917. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/ja801594s>
- [136] T. S. Ulmer, A. Bax, N. B. Cole, and R. L. Nussbaum, “Structure and dynamics of micelle-bound human alpha-synuclein,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 280, no. 10, pp. 9595–9603, 2005. [Online]. Available: <http://www.jbc.org/content/280/10/9595.abstract>
- [137] A. R. Braun, E. Sevcik, P. Chin, E. Rhoades, S. Tristram-Nagle, and J. N. Sachs, “alpha-synuclein induces both positive mean curvature and negative gaussian curvature in membranes,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 134, no. 5, pp. 2613–2620, 2012, pMID: 22211521. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/ja208316h>
- [138] A. A. Cooper, A. D. Gitler, A. Cashikar, C. M. Haynes, K. J. Hill, B. Bhullar, K. Liu, K. Xu, K. E. Strathearn, F. Liu, S. Cao, K. A. Caldwell, G. A. Caldwell, G. Marsischky, R. D. Kolodner, J. Labaer, J.-C. Rochet, N. M. Bonini, and S. Lindquist, “Alpha-synuclein blocks er-golgi traffic and rab1 rescues neuron loss in parkinson’s models,” *Science (New York, N.Y.)*, vol. 313, no. 5785, pp. 324–328, Jul. 2006. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16794039>
- [139] W. S. Davidson, A. Jonas, D. F. Clayton, and J. M. George, “Stabilization of alpha-synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 273, no. 16, pp. 9443–9449, 1998. [Online]. Available: <http://www.jbc.org/content/273/16/9443.abstract>
- [140] I. M. Pranke, V. Morello, J. Bigay, K. Gibson, J.-M. Verbavatz, B. Antony, and C. L. Jackson, “alpha-synuclein and alps motifs are membrane curvature sensors whose contrasting chemistry mediates selective vesicle binding,” *The Journal of cell biology*, vol. 194, no. 1, pp. 89–103, Jul. 2011. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21746853>
- [141] M. B. Jensen, V. K. Bhatia, C. C. Jao, J. E. Rasmussen, S. L. Pedersen, K. J. Jensen, R. Langen, and D. Stamou, “Membrane curvature sensing by amphipathic helices: a single liposome study using alpha-synuclein and annexin b12,” *The Journal of biological chemistry*, vol. 286, no. 49, pp. 42603–42614, Dec. 2011. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21953452>
- [142] T. Logan, J. Bendor, C. Toupin, K. Thorn, and R. H. Edwards, “alpha-synuclein promotes dilation of the exocytotic fusion pore,” *Nature neuroscience*, vol. 20, no. 5, pp. 681–689, May 2017. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28288128>
- [143] W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, and J. Tirado-Rives, “Development and testing of the opls all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 118, pp. 11225–11236, 1996.
- [144] C. Oostenbrink, A. Villa, A. E. Mark, and 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, no. 13, pp. 1656–1676, 2004.
- [145] B. Brooks *et al.*, “Charmm: The biomolecular simulation program,” *Journal of computational chemistry*, vol. 30, no. 10, pp. 1545–1614, Jul. 2009.
- [146] T. E. Cheatham and D. A. Case, “Twenty-five years of nucleic acid simulations,” *Biopolymers*, vol. 99, no. 12, pp. 969–977, 2013.
- [147] S. J. Marrink, A. H. de Vries, and A. E. Mark, “Coarse grained model for semiquantitative lipid simulations,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 108, no. 2, pp. 750–760, 2004.
- [148] L. Darré, M. R. Machado, A. F. Brandner, H. C. González, S. Ferreira, and S. Pantano, “Sirah: A structurally unbiased coarse-grained force field for proteins with aqueous solvation and long-range electrostatics,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 11, no. 2, pp. 723–739, Feb. 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/ct5007746>
- [149] A. E. Dawid, D. Gront, and A. Kolinski, “Surpass low-resolution coarse-grained protein modeling,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 13, no. 11, pp. 5766–5779, Nov. 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00642>
- [150] S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov, D. P. Tieleman, and A. H. de Vries, “The martini force field: Coarse grained model for biomolecular simulations,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 111, no. 27, pp. 7812–7824, 2007.
- [151] S. J. Marrink, V. Corradi, P. C. T. Souza, H. I. Ingolfsson, D. P. Tieleman, and M. S. P. Sansom, “Computational modeling of realistic cell membranes,” *Chemical reviews*, vol. 119, no. 9, pp. 6184–6226, May 2019. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30623647>
- [152] M. Damre, A. Marchetto, and A. Giorgetti, “Mermaid: dedicated web server to prepare and run coarse-grained membrane protein dynamics,” *Nucleic Acids Research*, vol. 47, no. W1, pp. W456–W461, May 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz416>
- [153] F. A. Herzog, L. Braun, I. Schoen, and V. Vogel, “Improved side chain dynamics in martini simulations of protein-lipid interfaces,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 12, no. 5, pp. 2446–2458, May 2016.
- [154] F. J. van Eerden, T. van den Berg, P. W. J. M. Frederix, D. H. de Jong, X. Periole, and S. J. Marrink, “Molecular dynamics of photosystem ii embedded in the thylakoid membrane,” *J. Phys. Chem. B*, pp. 3237–3249, Sep. 2016.
- [155] L. Monticelli and *et al.*, “The martini coarse-grained force field: Extension to proteins,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 4, no. 5, pp. 819–834, 2008.
- [156] P. J. Bond, D. L. Parton, J. F. Clark, and M. S. Sansom, “Coarse-grained simulations of the membrane-active antimicrobial peptide maculatin 1.1,” *Biophysical journal*, vol. 95, no. 8, pp. 3802–3815, 2008.
- [157] D. H. de Jong, G. Singh, W. D. Bennett, C. Arnarez, T. A. Wassenaar, L. V. Schafer, X. Periole, D. P. Tieleman, and S. J. Marrink, “Improved parameters for the martini coarse-grained protein force field,” *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 9, no. 1, pp. 687–697, 2012.
- [158] M. Javanainen, H. Martinez-Seara, and I. Vattulainen, “Excessive aggregation of membrane proteins in the martini model,” *PLoS one*, vol. 12, no. 11, p. e0187936, 2017.
- [159] B. A. Hall, A. P. Chetwynd, and M. S. Sansom, “Exploring peptide-membrane interactions with coarse-grained md simulations,” *Biophysical journal*, vol. 100, no. 8, pp. 1940–1948, 2011.
- [160] R. Alessandri, P. C. T. Souza, S. Thallmair, M. N. Melo, A. H. de Vries, and S. J. Marrink, “Pitfalls of the martini model,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 15, no. 10, pp. 5448–5460, Oct. 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00473>
- [161] B. Tian and *et al.*, “Synthetic nanoelectronic probes for biological cells and tissues,” *Ann. Rev. of Analyt. Chem.*, vol. 6, no. 1, pp. 31–51, 2013.
- [162] L. Jung, M. E. Hogan, Y. Sun, B. M. Liang, and J. A. Hayward, “Rapid authentication of pharmaceuticals via dna tagging and field detection,” *PLOS ONE*, vol. 14, no. 6, p. e0218314, Jun. 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218314>
- [163] A. J. Schaser and *et al.*, “Alpha-synuclein is a dna binding protein that modulates dna repair with implications for lewy body disorders,” *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, p. 10919, Jul. 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47227-z>
- [164] A. V. Pinheiro, D. Han, W. M. Shih, and H. Yan, “Challenges and opportunities for structural dna nanotechnology,” *Nature nanotechnology*, vol. 6, no. 12, pp. 763–772, Nov. 2011. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22056726>
- [165] A. Ohmann and *et al.*, “A synthetic enzyme built from dna flips 107 lipids per second in biological membranes,” *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, p. 2426, Jun. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04821-5>
- [166] O. Birkholz, J. R. Burns, C. P. Richter, O. E. Psathaki, S. Howorka, and J. Pehler, “Multi-functional dna nanostructures that puncture and remodel lipid membranes into hybrid materials,” *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, p. 1521, Apr. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02905-w>
- [167] R. Merindol, S. Loescher, A. Samanta, and A. Walther, “Pathway-controlled formation of mesostructured all-dna colloids and superstructures,” *Nature Nanotechnology*, vol. 13, no. 8, pp. 730–738, Aug. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/s41565-018-0168-1>
- [168] S. Plimpton, “Fast parallel algorithms for short-range molecular dynamics,” *J. Comput. Phys.*, vol. 117, pp. 1–19, 1995.
- [169] J. C. Phillips, D. J. Hardy, J. D. C. Maia, J. E. Stone, J. V. Ribeiro, R. C. Bernardi, R. Buch, G. Fiorin, J. Hémin, W. Jiang, R. McGreevy, M. C. R. Melo, B. K. Radak, R. D. Skeel, A. Singharoy, Y. Wang, B. Roux, A. Aksimentiev, Z. Luthey-Schulten, L. V. Kalé, K. Schulten, C. Chipot, and E. Tajkhorshid, “Scalable molecular dynamics on cpu and gpu architectures with namd,” *J. Chem. Phys.*, vol. 153, no. 4, p. 044130, Jul. 2020. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1063/5.0014475>
- [170] D. Van Der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A. E. Mark, and H. J. C. Berendsen, “Gromacs: Fast, flexible, and free,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 26, no. 16, pp. 1701–1718, 2005.
- [171] S. Pronk, S. Pall, R. Schulz, P. Larsson, P. Bjelkmar, R. Apostolov, M. R. Shirts, J. C. Smith, P. M. Kasson, D. van der Spoel, B. Hess, and E. Lindahl, “Gromacs 4.5: a high-throughput and highly parallel open

- source molecular simulation toolkit,” *Bioinformatics*, vol. 29, no. 7, pp. 845–854, 2013.
- [172] M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Pall, J. C. Smith, B. Hess, and E. Lindahl, “Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers,” *SoftwareX*, vol. 1-2, pp. 19–25, 2015.
- [173] G. Tribello, M. Bonomi, D. Branduardi, C. Camilloni, and G. Bussi, “Plumed 2: New feathers for an old bird,” *Computer Physics Communications*, vol. 185, no. 2, pp. 604–613, 2014.
- [174] C. Camilloni *et al.*, “Cyclophilin a catalyzes proline isomerization by an electrostatic handle mechanism,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 111, no. 28, pp. 10 203–10 208, 2014.
- [175] D. Masone, F. C. Aloia, and M. G. D. Pópolo, “H-bond refinement for electron transfer membrane-bound protein-protein complexes: Cytochrome c oxidase and cytochrome c552,” *Computational Biology and Chemistry*, vol. 47, no. 0, pp. 31–36, 2013.



**Diego Masone** es Ingeniero Electrónico de la Universidad Nacional de Mar del Plata, Master en Tecnologías de la Información de la Universitat Politècnica de Catalunya y el Politecnico di Torino y Doctor en Biomedicina por la Universitat de Barcelona. Es investigador adjunto de CONICET y trabaja en simulaciones computacionales de sistemas biológicos en el Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM), Argentina.