

OBSERVAÇÃO DA FORMAÇÃO DE *LIPID RAFTS* EM BICAMADAS LIPÍDICAS POR SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS

Ingrid Bernardes Santana Martins
ingridbsmartins@hotmail.com

RESUMO

Cada vez mais as simulações computacionais vêm sendo utilizadas como ferramenta no estudo de diversos sistemas, isso deve-se ao fato de que esses resultados oriundos de experimentos virtuais juntamente com os reais permite que os fenômenos envolvidos sejam mais completamente entendidos. As simulações são amplamente utilizadas na análise de sistemas moleculares para se obter diversas propriedades importantes dos componentes em estudo a partir de sua organização e comportamento. Uma das técnicas existentes mais utilizadas é a Dinâmica Molecular (MD) por fornecer resultados extremamente confiáveis.

Um dos sistemas biológicos de maior interesse para o estudo usando simulações computacionais são as membranas biológicas. Tais membranas são constituídas, em geral, por uma bicamada lipídica contendo, basicamente, fosfolípidios e colesterol. As membranas biológicas apresentam estruturas que são importantes para sinalização celular e transporte de outras macromoléculas biológicas chamadas *Lipid Rafts*, em simulações de Dinâmica Molecular de interação de proteínas ou outros tipos de moléculas com bicamadas lipídicas é necessário que se utilize uma bicamada já equilibrada, logo, para que seja realizada uma simulação com alguma estrutura que interaja com os *lipid rafts* é necessário que primeiramente essas estruturas estejam formadas na membrana. Neste trabalho, apresentamos uma simulação de Dinâmica Molecular realizada a fim de observar a formação de domínios *lipid rafts* em bicamada lipídica mista, contendo DOPC, colesterol e esfingomielina.

Palavras-chave: Dinâmica Molecular. Membranas lipídicas. Lipid rafts.

1 INTRODUÇÃO

A membrana plasmática das células dos organismos eucariotos possui uma variedade de fosfolípidios, glicoesfingolípidios e colesterol, além de diversas

proteínas de membrana¹. As descobertas no ramo da biofísica nos últimos anos apontam que a membrana celular apresenta diversas fases de organização do empacotamento lipídico e de fluidez, oriundas das diferenças nas composições da membrana em cada região da mesma².

Em algumas situações, regiões da membrana se organizam na forma de *Lipid Rafts*³, que possuem alta concentração de esfingolipídios e colesterol. Esses domínios possuem diversas funções na células, várias dessas ligadas à sinalização celular, promover interações cineticamente favoráveis, promovendo a ligação de receptores de membrana, entre outros⁴. Além disso, os *lipid rafts* alteram a fluidez da membrana, regulam o tráfico de receptores e proteínas de membrana. Essas estruturas são frequentemente mais ordenadas e compactadas do que o restante da membrana. Também existem evidências de que esses domínios de membrana podem também ser encontrados em lisossomos, complexo de Golgi e retículos endoplasmáticos⁵.

No ramo da biofísica podemos realizar estudos teóricos, por simulações computacionais, utilizando miméticos de membranas biológicas é necessário que sejam construídas bicamadas lipídicas com a composição desejada⁶ e as mesmas sejam equilibradas, para que a área da superfície da bicamada varie até que adquira área por lipídio compatível com a sua composição lipídica⁷.

A Dinâmica Molecular é um método que simula a evolução temporal de um sistema de biomoléculas utilizando potenciais clássicos para descrever as interações

¹ VOET, Donald; VOET, Judith G., **Bioquímica**, 4ª edição. [s.l.]: Artmed, 2013; NELSON, David L.; COX, Michael M., **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, 7ª edição. [s.l.]: Artmed, 2018.

² ATKINS, Peter; PAULA, Julio de, **Físico-química - Fundamentos**, 6ª edição. [s.l.]: LTC, 2017.

³ ALLEN, John A.; HALVERSON-TAMBOLI, Robyn A.; RASENICK, Mark M., Lipid raft microdomains and neurotransmitter signalling, **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 2, p. 128–140, 2007.

⁴ *Ibid.*

⁵ VAN MEER, G., Lipid traffic in animal cells, **Annual Review of Cell Biology**, v. 5, p. 247–275, 1989.

⁶ JO, Sunhwan *et al*, CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM, **Journal of Computational Chemistry**, v. 29, n. 11, p. 1859–1865, 2008; JO, Sunhwan *et al*, CHARMM-GUI Membrane Builder for Mixed Bilayers and Its Application to Yeast Membranes, **Biophysical Journal**, v. 97, n. 1, p. 50–58, 2009.

⁷ DENNISON, Sarah R.; HARRIS, Frederick; PHOENIX, David A., Chapter Three - Langmuir–Blodgett Approach to Investigate Antimicrobial Peptide–Membrane Interactions, *in*: IGLIČ, Aleš; KULKARNI, Chandrashekhar V. (Orgs.), **Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes**, [s.l.]: Academic Press, 2014, v. 20, p. 83–110; DOS SANTOS CABRERA, Marcia Perez *et al*, Influence of the bilayer composition on the binding and membrane disrupting effect of Polybia-MP1, an antimicrobial mastoparan peptide with leukemic T-lymphocyte cell selectivity, **Biochemistry**, v. 51, n. 24, p. 4898–4908, 2012.

moleculares, de modo que é possível obter informações sobre a dinâmica do sistema em nível atômico/molecular, o que, em muitos casos, pode ser inviável experimentalmente⁸.

A primeira simulação por Dinâmica Molecular foi realizada em 1957 por Alden e Wainwright utilizando modelo de esferas rígidas⁹. Com o tempo, a técnica evoluiu até ser possível a simulação de um líquido. A primeira simulação desse tipo foi uma simulação de água líquida realizada por Stillinger em 1974¹⁰. Avanços na área computacional e desenvolvimento de novos modelos tornaram possível simular sistemas de maior complexidade e tamanho como as macromoléculas biológicas. A primeira simulação de Dinâmica Molecular de uma proteína foi o estudo da BPTI (inibidor pancreático bovino da tripsina) realizado por McCammon em 1977¹¹ e de uma bicamada lipídica por Berendsen e Van Der Ploeg em 1982¹². Desde então, as simulações de DM vêm sendo amplamente utilizadas no estudo dos mais diversos sistemas biológicos sendo, no caso de proteínas, a principal técnica de simulação.

A confiabilidade dos resultados de DM está diretamente relacionada com a modelagem utilizada (parametrização, escolha do campo de força adequado, entre outros). Uma boa modelagem reproduz, de forma satisfatória, o comportamento do sistema real em estudo. A Mecânica Quântica poderia ser utilizada para modelar um sistema muito detalhadamente, mas, para sistemas de muitos átomos essa abordagem se torna inviável devido à complexidade dos cálculos necessários e ao elevado custo computacional. Assim, em simulações de DM, os modelos das moléculas investigadas são construídos a partir de potenciais clássicos efetivos, que incorporam os fenômenos quânticos, de modo a reproduzir, dentro de uma determinada precisão, o comportamento do sistema real. A evolução temporal do sistema é obtida resolvendo as equações de Newton que descrevem o movimento

⁸ LEACH, Andrew R.; LEACH, **Molecular Modelling: Principles and Applications**, 2ª edição. Harlow, England ; New York: Prentice Hall, 2001; FRENKEL, Daan; SMIT, Berend, **Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications**, 2ª edição. [s.l.]: Academic Press, 2001.

⁹ ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E., Phase Transition for a Hard Sphere System, **The Journal of Chemical Physics**, v. 27, n. 5, p. 1208–1209, 1957.

¹⁰ STILLINGER, Frank H.; RAHMAN, Aneesur, Improved simulation of liquid water by molecular dynamics, **The Journal of Chemical Physics**, v. 60, n. 4, p. 1545–1557, 1974.

¹¹ MCCAMMON, J. A.; GELIN, B. R.; KARPLUS, M., Dynamics of folded proteins, **Nature**, v. 267, n. 5612, p. 585–590, 1977.

¹² VAN DER PLOEG, P.; BERENDSEN, H. J. C., Molecular dynamics simulation of a bilayer membrane, **The Journal of Chemical Physics**, v. 76, n. 6, p. 3271–3276, 1982.

dos átomos. A aproximação de Born-Oppenheimer é utilizada para dividir o Hamiltoniano e separar o movimento do núcleo do movimento dos elétrons. Os núcleos são considerados como esferas de Van der Waals que interagem entre si e, porventura, com campos externos.

Nesse estudo fizemos uso da técnica de Dinâmica para a construção de uma bicamada lipídica mista equilibrada, contendo di-oleil-fosfatidil-glicerol (DOPC), esfingomiélna de cérebro (BSM) e colesterol (CHL1), para que as mesmas possam ser utilizadas em outras simulações de interação com macromoléculas biológicas que interagem com essas estruturas.

2 DESENVOLVIMENTO

A Dinâmica Molecular nos fornece a evolução temporal do sistema que se deseja simular resolvendo as equações de movimento: as equações de Newton. Essas equações são resolvidas numericamente, uma vez que uma solução analítica não é possível para um sistema de muitos corpos¹³.

Em uma Dinâmica Molecular os átomos são modelados como se fossem partículas, ligadas por molas, interagindo com as outras partículas dentro do seu raio de alcance por um potencial de interação. Para se obter as equações de movimento é necessário um potencial que modele o sistema da maneira mais realista possível. A melhor modelagem seria descrever o sistema fazendo uso da Mecânica Quântica, o que demandaria um tempo computacional muito grande para um sistema de tantos corpos. A alternativa é, então, utilizar potenciais clássicos que incorporem esses efeitos quânticos. A escolha do campo de força a ser utilizado na simulação é o que nos dá a forma do potencial e parâmetros de modelagem.

O sistema a ser estudado e as propriedades que vão ser analisadas nessa simulação vão guiar a escolha do campo de força a ser utilizado. De maneira geral,

¹³ LEACH; LEACH, **Molecular Modelling**; FRENKEL; SMIT, **Understanding Molecular Simulation**.

os campos de força mais utilizados para macromoléculas biológicas são: OPLS¹⁴, AMBER¹⁵, CHARMM¹⁶, GROMOS¹⁷, entre outros.

Nesse trabalho, o campo de força utilizado foi o CHARMM, cujo potencial é formado por diversos termos que descrevem mudanças na energia potencial em função de diferentes parâmetros do sistema. O primeiro termo é devido ao estiramento e contração da ligação covalente entre os átomos, o segundo termo à variação do ângulo entre três átomos, o terceiro à variação do ângulo diedral, o quarto aos diedros impróprios, o quinto é o termo harmônico de Urey-Bradley e o sexto termo, CMAP, é aplicado para aprimorar as propriedades conformacionais do backbone das proteínas, o sétimo à interação coulombiana devido a forças eletrostáticas entre as cargas parciais dos átomos e o último descreve as interações de Van der Waals entre os átomos por um potencial de Lennard-Jones 6-12.

Para realizar uma simulação de Dinâmica Molecular é necessário construir uma caixa de simulação com um número finito de partículas. O número de partículas na caixa de simulação pode ser insignificante perto do sistema macroscópico que se desejaria estudar, além de efeitos de borda que também se fazem presentes nesse caso. Uma alternativa para contornar essas limitações é criar réplicas em torno da caixa principal, onde o movimento de uma molécula será igual ao movimento da mesma molécula nas outras caixas replicadas. Quando uma partícula sai da caixa principal, a mesma partícula entra pela face oposta da caixa, com a mesma velocidade, mantendo o número de partículas na caixa principal constante. Essa técnica é chamada de Condições Periódicas de Contorno (PBC, do inglês Periodic Boundary Conditions). Com o emprego de PBC o número de interações entre as partículas pode aumentar muito, devido ao fato de que as partículas de uma determinada caixa podem interagir com as imagens presentes nas caixas réplicas. O

¹⁴ JORGENSEN, William L.; MAXWELL, David S.; TIRADO-RIVES, Julian, Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids, **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 45, p. 11225–11236, 1996.

¹⁵ HORNAK, Viktor *et al*, Comparison of multiple AMBER force fields and development of improved protein backbone parameters, **Proteins**, v. 65, n. 3, p. 712–725, 2006.

¹⁶ HUANG, Jing; MACKERELL, Alexander D., CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data, **Journal of Computational Chemistry**, v. 34, n. 25, p. 2135–2145, 2013.

¹⁷ HORTA, Bruno A. C. *et al*, A GROMOS-Compatible Force Field for Small Organic Molecules in the Condensed Phase: The 2016H66 Parameter Set, **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 12, n. 8, p. 3825–3850, 2016.

aumento no número de interações também pode aumentar exponencialmente o tempo de simulação; dessa forma para contornar esse problema fazemos o uso de um raio de corte para as interações não ligadas. Assim, uma partícula vai interagir apenas com as que possuem o seu centro de massa dentro desse raio de corte e, a partir dessa distância, a magnitude dessa interação varia devido à aplicação de uma função dependente da distância que modifica o potencial chamada switching que leva o valor da interação a zero. Além disso, o método da mínima imagem também é utilizado para impedir que uma partícula interaja com a sua própria imagem presente em uma das caixas replicadas.

A utilização de raio de corte funciona bem para as interações não ligadas de curto alcance como as interações de Van der Waals. Para potenciais eletrostáticos, que são interações de longo alcance, essa abordagem leva o potencial a zero de maneira muito brusca em relação ao alcance desse potencial. Um dos métodos mais utilizados para contornar essa situação e tratar essas interações eletrostáticas é o método de Particle Mesh Ewald (PME), que consiste em utilizar o espaço recíproco para o cálculo das interações, sendo possível determinar a energia eletrostática das partículas.

Outras grandezas macroscópicas que precisam ser incluídas nas simulações de DM são o controle de temperatura e pressão, para simulações realizadas no ensemble isotérmico-isobárico (ou NPT), já que a maioria dos experimentos são realizados a temperatura e pressão constante. Esse ensemble descreve um sistema com um número fixo de partículas em contato com banhos térmico e de pressão¹⁸.

No software NAMD, é mais comum a utilização do método pistão de Langevin para o controle da pressão na simulação¹⁹ e, no decorrer da simulação, o tamanho da célula é ajustado e as coordenadas das partículas são re-escaladas. Esse método é combinado ao termostato de Langevin²⁰, simulando um banho

¹⁸ BERENDSEN, H. J. C. *et al*, Molecular dynamics with coupling to an external bath, **The Journal of Chemical Physics**, v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984; ULINE, Mark J.; CORTI, David S., Molecular Dynamics at Constant Pressure: Allowing the System to Control Volume Fluctuations via a “Shell” Particle, **Entropy**, v. 15, n. 9, p. 3941–3969, 2013.

¹⁹ FELLER, Scott E. *et al*, Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method, **The Journal of Chemical Physics**, v. 103, n. 11, p. 4613–4621, 1995.

²⁰ DAVIDCHACK, Ruslan L.; HANDEL, Richard; TRETYAKOV, M. V., Langevin thermostat for rigid body dynamics, **The Journal of Chemical Physics**, v. 130, n. 23, p. 234101, 2009.

térmico e, a cada passo de simulação as velocidades também são re-calculadas, computando a energia cinética das partículas mantendo a temperatura constante.

Em suma, com a Dinâmica Molecular é possível obter a trajetória do sistema ao longo do tempo e, a partir dela, analisar diversas de suas propriedades físico-químicas. As análises foram realizadas usando o software VMD²¹ e o plugin Membplugin²².

Para realizar as simulações de Dinâmica Molecular no equilíbrio dos sistemas aqui investigados, foi construída uma bicamada lipídica composta por 280 lipídeos de DOPC, esfingomielina e colesterol em uma proporção de 3:3:1 utilizando o Membrane Builder plugin²³ do website CHARMM-GUI²⁴ utilizando o campo de força CHARMM 36²⁵. A bicamada foi solvatada em uma caixa de água (modelo TIP3P²⁶). Então, foram adicionados íons para neutralizar a caixa e também sal NaCl a 150 mM para mimetizar o ambiente fisiológico. A caixa foi equilibrada utilizando os arquivos do próprio CHARMM-GUI.

Todas as simulações de DM foram realizadas com um time-step de 2 fs, condições periódicas de contorno, no ensemble NPT a 298 K e 1 atm. Temperatura e pressão foram controladas pelo termostato Langevin²⁷ e pistão de Langevin²⁸, respectivamente. O algoritmo SHAKE²⁹ foi utilizado para controlar o comprimento das ligações covalentes, e para preservar a geometria das moléculas de água o algoritmo SETTLE³⁰ foi aplicado.

²¹ HUMPHREY, William; DALKE, Andrew; SCHULTEN, Klaus, VMD: Visual molecular dynamics, **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996.

²² R, Guixà-González *et al*, MEMBPLUGIN: studying membrane complexity in VMD., **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 30, n. 10, p. 1478–1480, 2014.

²³ JO *et al*, CHARMM-GUI Membrane Builder for Mixed Bilayers and Its Application to Yeast Membranes.

²⁴ JO *et al*, CHARMM-GUI.

²⁵ HUANG; MACKERELL, CHARMM36 all-atom additive protein force field.

²⁶ MARK, Pekka; NILSSON, Lennart, Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K, **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 105, n. 43, p. 9954–9960, 2001.

²⁷ DAVIDCHACK; HANDEL; TRETYAKOV, Langevin thermostat for rigid body dynamics.

²⁸ FELLER *et al*, Constant pressure molecular dynamics simulation.

²⁹ ELBER, Ron; RUYMGAART, A. Peter; HESS, Berk, SHAKE parallelization, **The European physical journal. Special topics**, v. 200, n. 1, p. 211–223, 2011.

³⁰ MIYAMOTO, Shuichi; KOLLMAN, Peter A., Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models, **Journal of Computational Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 952–962, 1992.

As interações de Van der Waals foram calculadas com um raio de corte de 14 Å com distância de switching de 12 Å e as interações de longo alcance foram tratadas com o algoritmo PME³¹.

2.1 Formação dos *Lipid Rafts*

Utilizando a metodologia apresentada anteriormente foi realizada uma simulação de Dinâmica Molecular de 1 μ s de uma bicamada lipídica mista contendo DOPC, colesterol e esfingomiéline (3:3:1). Com esse tempo de simulação foi possível observar separação entre o DOPC e a esfingomiéline e o colesterol, formando as estruturas de *lipid rafts* já mencionadas. Essas estruturas podem ser observadas na figura 1, onde os diferentes lipídios se encontram coloridos com cores diferentes. No início da simulação eles se encontram distribuídos de maneira aleatória e, ao final da simulação podemos observar separação de fases desses lipídios.

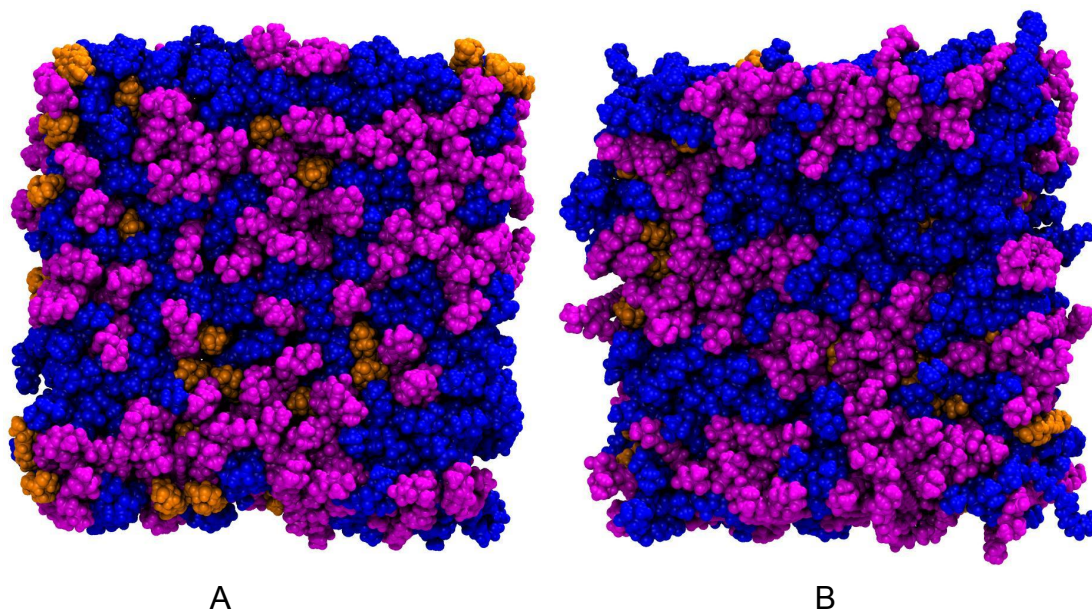


Figura 1. A) Início da simulação computacional mostrando a bicamada lipídica gerada no Charmm-Gui, com os lipídios distribuídos aleatoriamente na bicamada. B) Bicamada lipídica ao fim de 1 μ s de simulação, demonstrando a formação de *lipid rafts*.

³¹ DARDEN, Tom; YORK, Darrin; PEDERSEN, Lee, Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems, **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993.

2.2 Área por lipídio

Pode-se dizer que uma bicamada lipídica está equilibrada quando a área da superfície xy que cada lipídio ocupa permanece constante. Por isso, é necessário que em uma simulação com bicamadas esse parâmetro seja monitorado até adquirir um valor constante e apenas a partir daí podemos considerar que a bicamada está equilibrada e podemos coletar outras informações biofísicas da simulação. Então a área por lipídio é um dos primeiros parâmetros a ser analisados para dizer se a simulação foi ou não o suficiente para equilibrar a bicamada.

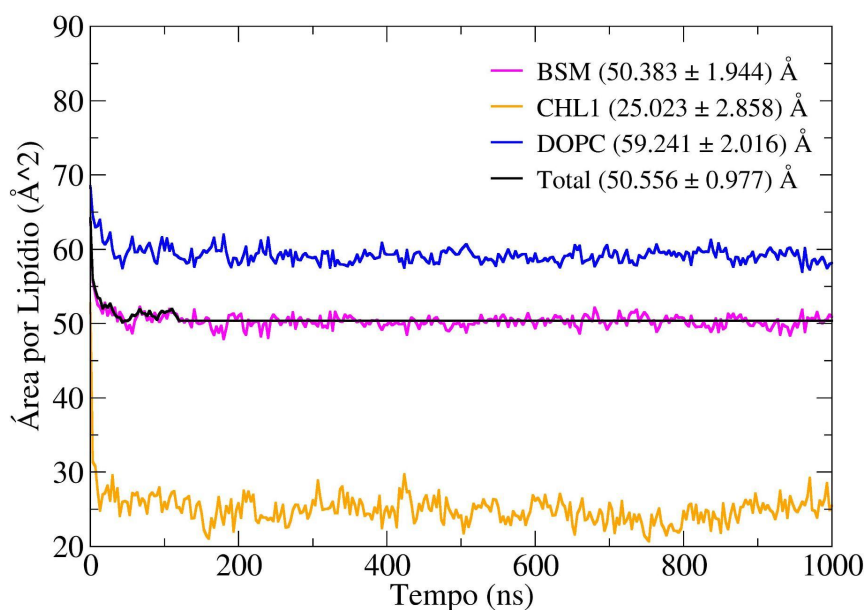


Figura 2. Área por lipídio dos diferentes componentes da bicamada mista (DOPC, BSM e CHL1), bem como a área por lipídio total combinada.

Pode-se notar pela figura 2 que a área por lipídio dessa bicamada lipídica se iniciou em torno de 60 Å² e foi diminuindo no decorrer da simulação até atingir o valor de 50,5 Å² que assim permaneceu até o final mostrando que a área total dessa bicamada lipídica encontra-se equilibrada.

2.3 Parâmetros de ordem

O parâmetro de ordem é uma medida do grau de organização das cadeias acílicas dos lipídios, baseando-se no ângulo formado entre os hidrogênios e os carbonos das caudas dos lipídeos. Esse parâmetro é uma medida da amplitude de movimento do eixo longo molecular de lipídios em uma bicamada ou outras membranas modelo. Um aumento do parâmetro de ordem implica em maior espessura da bicamada e diminuição na flexibilidade da cadeia acílica (isto é, aumento da ordem).

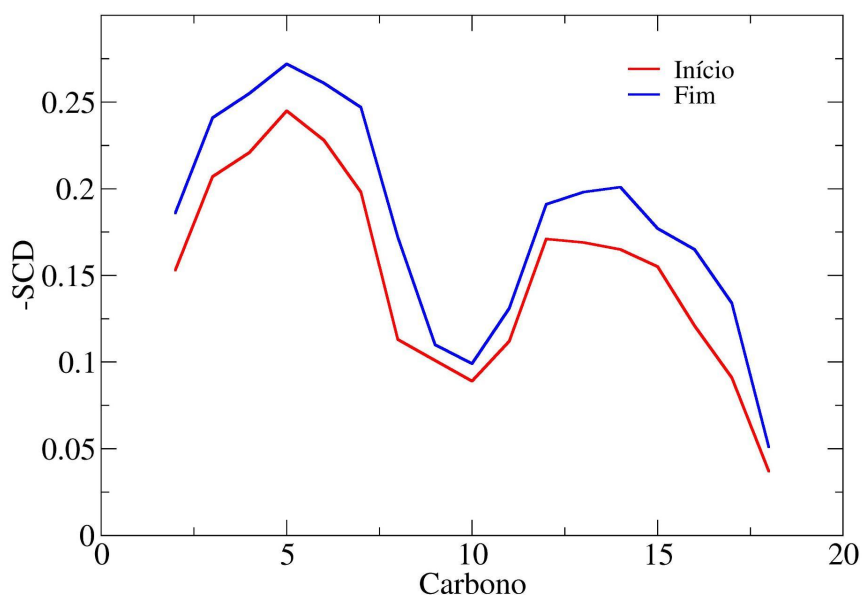


Figura 3. Parâmetros de ordem para as caudas oleil do DOPC no início da simulação (vermelho) com os lipídios distribuídos aleatoriamente e para o final da simulação (azul) após a formação dos lipid rafts.

Pode-se notar pela figura 3, que a segregação lipídica faz com que as cadeias acílicas adquiram maior ordem do que quando misturadas, mostrando a importância dessas estruturas que alteram a fase da membrana de líquido desordenada para líquido ordenada.

3 CONCLUSÃO

Com esse trabalho foi possível obter uma bicamada lipídica mista equilibrada e os *lipid rafts* foram formados com sucesso. Essa bicamada pode ser então subseqüentemente utilizada em simulações computacionais de interação com outros tipos de macromoléculas biológicas que tem afinidade com tal estrutura.

4 REFERÊNCIAS

- ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Phase Transition for a Hard Sphere System. **The Journal of Chemical Physics**, v. 27, n. 5, p. 1208–1209, 1957.
- ALLEN, John A.; HALVERSON-TAMBOLI, Robyn A.; RASENICK, Mark M. Lipid raft microdomains and neurotransmitter signalling. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 2, p. 128–140, 2007.
- ATKINS, Peter; PAULA, Julio de. **Físico-química - Fundamentos**. 6ª edição. [s.l.]: LTC, 2017.
- BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M.; VAN GUNSTEREN, W. F.; *et al.* Molecular dynamics with coupling to an external bath. **The Journal of Chemical Physics**, v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984.
- DARDEN, Tom; YORK, Darrin; PEDERSEN, Lee. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993.
- DAVIDCHACK, Ruslan L.; HANDEL, Richard; TRETYAKOV, M. V. Langevin thermostat for rigid body dynamics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 130, n. 23, p. 234101, 2009.
- DENNISON, Sarah R.; HARRIS, Frederick; PHOENIX, David A. Chapter Three - Langmuir–Blodgett Approach to Investigate Antimicrobial Peptide–Membrane Interactions. *In*: IGLIČ, Aleš; KULKARNI, Chandrashekhar V. (Orgs.). **Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes**. [s.l.]: Academic Press, 2014, v. 20, p. 83–110. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124186989000034>>. Acesso em: 24 maio 2021.
- DOS SANTOS CABRERA, Marcia Perez; ARCISIO-MIRANDA, Manoel; GORJÃO, Renata; *et al.* Influence of the bilayer composition on the binding and membrane disrupting effect of Polybia-MP1, an antimicrobial mastoparan peptide with leukemic T-lymphocyte cell selectivity. **Biochemistry**, v. 51, n. 24, p. 4898–4908, 2012.
- ELBER, Ron; RUYMGAART, A. Peter; HESS, Berk. SHAKE parallelization. **The European physical journal. Special topics**, v. 200, n. 1, p. 211–223, 2011.
- FELLER, Scott E.; ZHANG, Yuhong; PASTOR, Richard W.; *et al.* Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method. **The Journal of Chemical Physics**, v. 103, n. 11, p. 4613–4621, 1995.
- FRENKEL, Daan; SMIT, Berend. **Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications**. 2ª edição. [s.l.]: Academic Press, 2001.
- HORNAK, Viktor; ABEL, Robert; OKUR, Asim; *et al.* Comparison of multiple AMBER force fields and development of improved protein backbone parameters. **Proteins**, v. 65, n. 3,

p. 712–725, 2006.

HORTA, Bruno A. C.; MERZ, Pascal T.; FUCHS, Patrick F. J.; *et al.* A GROMOS-Compatible Force Field for Small Organic Molecules in the Condensed Phase: The 2016H66 Parameter Set. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 12, n. 8, p. 3825–3850, 2016.

HUANG, Jing; MACKERELL, Alexander D. CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data. **Journal of Computational Chemistry**, v. 34, n. 25, p. 2135–2145, 2013.

HUMPHREY, William; DALKE, Andrew; SCHULTEN, Klaus. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996.

JO, Sunhwan; KIM, Taehoon; IYER, Vidyashankara G.; *et al.* CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. **Journal of Computational Chemistry**, v. 29, n. 11, p. 1859–1865, 2008.

JO, Sunhwan; LIM, Joseph B.; KLAUDA, Jeffery B.; *et al.* CHARMM-GUI Membrane Builder for Mixed Bilayers and Its Application to Yeast Membranes. **Biophysical Journal**, v. 97, n. 1, p. 50–58, 2009.

JORGENSEN, William L.; MAXWELL, David S.; TIRADO-RIVES, Julian. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 45, p. 11225–11236, 1996.

LEACH, Andrew R.; LEACH. **Molecular Modelling: Principles and Applications**. 2^a edição. Harlow, England ; New York: Prentice Hall, 2001.

MARK, Pekka; NILSSON, Lennart. Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 105, n. 43, p. 9954–9960, 2001.

MCCAMMON, J. A.; GELIN, B. R.; KARPLUS, M. Dynamics of folded proteins. **Nature**, v. 267, n. 5612, p. 585–590, 1977.

MIYAMOTO, Shuichi; KOLLMAN, Peter A. Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. **Journal of Computational Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 952–962, 1992.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7^a edição. [s.l.]: Artmed, 2018.

R, Guixà-González; I, Rodríguez-Espigares; JM, Ramírez-Anguita; *et al.* MEMBPLUGIN: studying membrane complexity in VMD. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 30, n. 10, p. 1478–1480, 2014.

STILLINGER, Frank H.; RAHMAN, Aneesur. Improved simulation of liquid water by molecular dynamics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 60, n. 4, p. 1545–1557, 1974.

ULINE, Mark J.; CORTI, David S. Molecular Dynamics at Constant Pressure: Allowing the System to Control Volume Fluctuations via a “Shell” Particle. **Entropy**, v. 15, n. 9, p. 3941–3969, 2013.

VAN DER PLOEG, P.; BERENDSEN, H. J. C. Molecular dynamics simulation of a bilayer membrane. **The Journal of Chemical Physics**, v. 76, n. 6, p. 3271–3276, 1982.

VAN MEER, G. Lipid traffic in animal cells. **Annual Review of Cell Biology**, v. 5, p. 247–275, 1989.

VOET, Donald; VOET, Judith G. **Bioquímica**. 4^a edição. [s.l.]: Artmed, 2013.