

Dinámica molecular de grano grueso de la proteína tau

L. Robert-Jiménez

*Subdirección de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México,
Instituto Tecnológico Superior de Xalapa; Xalapa, Veracruz, 91096, México.
e-mail: 207002592@itsx.edu.mx*

S. Figueroa-Gerstenmaier y G. Basurto-Islas

*Departamento de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica.
Campus León, Universidad de Guanajuato, Loma del Bosque 103, León, Guanajuato 37150, México.*

S. Herrera-Velarde

*Subdirección de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México,
Instituto Tecnológico Superior de Xalapa; Xalapa, Veracruz, 91096, México.*

Received 6 September 2022; accepted 24 December 2022

Actualmente, a nivel mundial, alrededor de 48 millones de personas padecen la enfermedad de Alzheimer, la forma más común de demencia, para la cual no hay cura. La enfermedad se debe, parcialmente, a las alteraciones postraduccionales que experimenta la proteína tau y que favorecen su polimerización anormal formando fibrillas y marañas neurofibrilares. La tau es una proteína intrínsecamente desordenada, es decir, no posee una estructura bien definida. Una técnica eficaz en el estudio de este tipo de proteínas es la dinámica molecular. En este trabajo se utilizó esta técnica empleando el campo de fuerza SIRAH (del inglés: Southamerican Initiative for a Rapid and Accurate Hamiltonian) para modelar dos sistemas distintos de tau, cada uno con dos moléculas de proteína. En el primer sistema las dos proteínas están inmersas únicamente en agua (representada como solvente explícito) y en el segundo sistema, además del solvente, se agregaron iones para investigar la influencia de cargas en la posible agregación de tau. A partir de una trayectoria de $1\ \mu\text{s}$ a temperatura de 310 K, se analizaron los cambios estructurales que experimentaron los monómeros de tau. En ambos sistemas, las proteínas presentaron cambios importantes respecto a la configuración inicial; existiendo algunas diferencias en la estructura secundaria acorde a la presencia o ausencia de iones. Identificamos que, en ambos sistemas, no hay evidencia de un proceso agregativo. Los resultados aquí presentados corroboran que SIRAH no induce la formación de estructura secundaria espuria; la estructura secundaria obtenida es similar a la reportada con campos de fuerza atomísticos y, además, los resultados son similares a las observaciones con proteínas tau *in vitro*, validando así el empleo del campo de fuerza SIRAH para estudiar proteínas de gran tamaño, así como la factibilidad de alcanzar escalas temporales y espaciales cercanas a las experimentales. El análisis conformacional de las trayectorias obtenidas ofrece, por primera vez, una perspectiva desde la dinámica molecular del mecanismo de interacción de dos proteínas tau completas, lo cual contribuye a la comprensión del fenómeno y a la identificación de las regiones de interacción proteína-proteína.

Descriptor: Enfermedad de Alzheimer; tau; proteína intrínsecamente desordenada; modelado de grano grueso; SIRAH.

Currently about 48 million people worldwide live with Alzheimer's disease, the most common form of dementia, and still without cure. This disease is partially due to abnormal post-translational modifications in tau protein, that in turn induce its abnormal polymerization, forming fibrils and neurofibrillary tangles. Tau does not show a well-defined structure, known as intrinsically disordered protein. Molecular dynamics is an effective method to study this type of protein. In this work, this methodology was used in combination with the SIRAH (Southamerican Initiative for a Rapid and Accurate Hamiltonian) force field was employed to model two different systems of tau, each with two protein molecules. In the first system, the two proteins are immersed only in water (represented as an explicit solvent), in the second system, in addition to the solvent, ions were added to investigate whether the presence of charges induces protein self-aggregation. The structural modifications of tau were evaluated from $1\ \mu\text{s}$ trajectory at 310 K. For each system, the proteins showed important modifications compared to the initial structure; differences in the secondary structure were found according to the presence or absence of ions. Nevertheless, in both systems, there is no evidence of tau aggregation. These data demonstrated that SIRAH does not induce artificial secondary structures in tau; the obtained secondary structure is comparable with that reported using atomistic force fields; likewise, the results are similar to the observations of tau proteins *in vitro* studies, therefore this study validated the use of the SIRAH force field to study large proteins and the capacity to reach temporal and spatial scales similar to the experimental studies. In addition, the conformational analysis of the obtained trajectories suggests, for the first time, a molecular dynamics perspective that contributes to the understanding and identification of protein-protein interaction regions.

Keywords: Alzheimer disease; intrinsic disorder protein; coarse-grained modeling; SIRAH.

DOI: <https://doi.org/10.31349/RevMexFis.69.031701>

1. Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo, crónico e irreversible. Afecta principalmente al lóbulo temporal y a las estructuras de la neocorteza, áreas cerebrales donde se originan nuestras ideas, pensamientos y memorias [1,2]. La presencia de placas neuríticas y de marañas neurofibrilares representan las características patológicas más sobresalientes de la EA, y se relacionan con la acumulación extracelular del péptido beta amiloide y a la agregación intracelular de la proteína tau, respectivamente. Estos procesos, conducen a la disfunción y muerte neuronal [1,3].

A la fecha, las terapias dirigidas al péptido beta amiloide para combatir la EA no cubren todo el espectro de posibles causas de este desorden, por lo que ha crecido el interés en encontrar terapias enfocadas en la proteína tau [4,5]. Los estudios de imágenes en pacientes que pasan de un deterioro cognitivo leve a una EA completa, han revelado que tau es un mejor predictor de los síntomas de demencia [6,7].

La proteína tau se encuentra en su mayoría en el sistema nervioso central y dentro de sus funciones normales ayuda a estabilizar a los microtúbulos (MT). Tau, ubicada en el cromosoma 17q21, es una de las proteínas intrínsecamente desordenadas (PIDs) más grandes del sistema nervioso central. Existen seis isoformas de tau en el cerebro adulto cuyas diferencias radican en dos principales características: la primera es la presencia o ausencia de 29 a 58 aminoácidos de inserción en la terminal N, resultando en las isoformas 0N, 1N y 2N; la segunda característica es la presencia o ausencia de 31 aminoácidos, determinado por el proceso celular “splicing” alternativo donde la inclusión del exón 10 da lugar a tres isoformas con cuatro repeticiones (0N4R, 1N4R, 2N4R), mientras que la exclusión del mismo exón resulta en tres isoformas con tres repeticiones en la región de unión a los microtúbulos (0N3R, 1N3R, 2N3R) [8,9]. La isoforma más grande es la 2N4R (Fig. 1). Esta isoforma está compuesta por 441 aminoácidos, segmentados en cuatro secciones representativas: la región terminal-N (constituida por dos regiones N en el amino-terminal), una región rica en prolinas, el dominio de unión a los microtúbulos (conformados por cuatro regiones de repetición de unión-tubulina) y la región terminal-C [9].

Algunos experimentos bioquímicos muestran que ocurren varias modificaciones postraduccionales (MPTs) en tau, por mencionar algunas: fosforilación, glicosilación, nitración, glicación, ubiquitinación, cambios conformacionales y truncamiento, entre otros [10-14]. Las MPTs son fenómenos clave en la regulación de las actividades de las proteínas. Sin embargo, se sabe que desviaciones en las MPTs provocan

cambios en la estructura de tau, promoviendo por ejemplo, en el caso de la fosforilación, la disociación de tau de los MT [15,16].

El proceso de agregación de tau comienza cuando la tau hiperfosforilada se desprende de los MT y se convierte en monómero libre, dos o tres monómeros forman oligómeros y estos, a su vez, constituyen las prefibrillas que después se convierten en filamentos helicoidales apareados y/o filamentos rectos y, por último, se forman las marañas neurofibrilares en el interior de las neuronas hasta causar la muerte de las mismas. Estas marañas están directamente relacionadas con la EA [8,9].

El gran tamaño de tau y ser una PID, ha impedido que con las técnicas experimentales actuales se logre predecir el ensamble conformacional o la estructura precisa de todas las conformaciones posibles de Tau, de hecho, sólo se han resuelto algunas porciones estructurales. Las conformaciones transitorias faltantes podrían ser críticas para el reconocimiento de alguna proteína asociada o para establecer la unión de algún inhibidor [17]. La dinámica molecular (DM) y el empleo de algoritmos de muestreo mejorados que modelan la dinámica de proteínas, utilizan enfoques basados en la física estadística que pueden abordar algunos de los problemas que no resuelven las técnicas experimentales [18]. Las simulaciones de DM ayudan a entender las interacciones y las fuerzas subyacentes entre partículas de un sistema a nivel molecular y su influencia en sus propiedades macroscópicas. La DM consiste, en obtener la trayectoria de los átomos, sus posiciones y velocidades resolviendo numéricamente las ecuaciones de Newton [19], para, posteriormente, analizando dicha trayectoria, obtener diferentes propiedades macroscópicas.

La mayoría de los trabajos de DM reportados a la fecha se enfocan en analizar únicamente algunos segmentos o residuos de tau. El interés principal es estudiar segmentos cortos que presentan una alta tendencia a agregarse, así como el efecto de la fosforilación [4,15,20,21]. Por otro lado, aunque escasos, en la literatura existen estudios de DM que analizan la isoforma 2N4RTau (tau completa). Estos trabajos utilizan campos de fuerza atomísticos no parametrizados para PIDs, o bien, técnicas diferentes a las que aquí se emplean. Por ejemplo, en Battisti & Tenenbaum [22] y Battisti *et al.* [23], utilizaron modelamiento atomístico para diseñar un protocolo de simulación para una molécula de tau completa y demostraron que algunas regiones de la tau presentaban tendencia a formar estructuras secundarias [22,23]. Battisti *et al.* [24], encontraron que al combinar datos de dispersión de rayos X de ángulo reducido con metadinámica se obtiene un mejor muestreo del espacio conformacional de la tau [24]. Popov



FIGURA 1. Regiones de la isoforma 2N4RTau. La terminal N la componen los aminoácidos 1 – 150, la región rica en prolina está comprendida del 151 – 242, la región de unión a los MT del 243 – 368 y la terminal C del 369 – 441.

et al. [25], empleando información experimental de enlaces cruzados a cortas distancias en conjunto con dinámica molecular discreta encontraron que la estructura de la tau es un ensamble de conformaciones globulares compactas que presenta estructura secundaria transitoria [25]. Castro *et al.* [17], utilizaron técnicas de predicción de estructura proteica y DM atomística para estudiar la estructura de la tau en presencia de iones y la interacción con una sección de MT.

En este trabajo construimos dos sistemas de DM empleando dos monómeros tau (2N4RTau) en cada uno de ellos. El primer sistema consistió únicamente de tau en agua, y en el segundo, además de agua, agregamos iones de K^+ , Na^+ y Cl^- . En este sentido, los objetivos principales de este estudio son: 1) caracterizar la interacción de dos proteínas tau bajo dos ambientes diferentes, con el propósito de estudiar la influencia de cargas, para, posteriormente, en un estudio en proceso, agregar un inductor de la agregación para emular las condiciones de experimentos realizados *in vitro*. 2) Analizar la trayectoria, propiedades y características de tau mediante la observación de formación de estructura secundaria, radio de giro (R_g), raíz de la desviación cuadrática media (RMSD) y raíz de la fluctuación cuadrática media (RMSF) durante 1 μs . 3) Determinar la factibilidad computacional de emplear SIRAH, un modelo de grano grueso, para simular PIDs de gran tamaño como la tau, al corroborar resultados experimentales y la viabilidad de alcanzar escalas espacio-temporales que usando un modelo atomístico no se lograrían en un tiempo razonable.

2. Métodos y herramientas

La DM es una técnica determinística basada en la mecánica estadística, en donde las interacciones entre átomos unidos a otros átomos mediante enlaces químicos se modelan con funciones de potenciales obtenidos por medio de mecánica molecular o mecánica cuántica, junto con interacciones intermoleculares modeladas mediante funciones empíricas “efectivas” para calcular la energía potencial del Hamiltoniano, mientras que la energía cinética se calcula usando las ecuaciones de Newton. El conjunto de ecuaciones y parámetros ajustados se conoce como campo de fuerza. En otras palabras, los campos de fuerza son modelos descritos por un conjunto de ecuaciones, así como una colección de diferentes parámetros asociados a estas ecuaciones que permiten calcular la energía potencial y las fuerzas a partir de las coordenadas de cada partícula [26]. Aunque existen varios campos de fuerza, hay dos niveles de detalle ampliamente utilizados para representar moléculas y sistemas como las proteínas, lípidos, membranas, etc., el nivel atomístico y de grano grueso.

2.1. Modelamiento atomístico

La simulación atomística muestra cada átomo de una molécula de forma explícita en el espacio muestral. Es muy útil para representar sistemas biomoleculares que contienen cantidades reducidas de átomos, lo que permite estudiar su compor-

tamiento con gran detalle. Por consiguiente, una de sus desventajas es que representar sistemas de gran tamaño o alcanzar escalas espacio-temporales grandes resulta, en la práctica, una tarea difícil, en donde incluso teniendo computadoras de gran capacidad y corriendo en paralelo se necesitan tiempos de cómputo muy largos [27].

La mayoría de los estudios de DM reportados en la literatura de la proteína tau con modelos atomísticos consisten en analizar solamente segmentos o regiones de tau, probablemente debido a la alta demanda de recursos computacionales que se requieren para simular PIDs de gran tamaño. En años recientes han surgido varios campos de fuerza atomísticos enfocados y parametrizados para reproducir las principales propiedades y características de las PIDs, algunos de los ejemplos más representativos son el ff14IDPSFF [28] y a99SB-disp [29] (ambos de la familia Amber) y CHARMM36m [30,31].

2.2. Modelamiento de grano grueso

Los modelos de grano grueso o “Coarse Grain” reducen significativamente los requerimientos computacionales (hasta en $\sim 100X$ en comparación con las simulaciones atomísticas con solvente explícito), permitiendo acceder a simulaciones en escalas de tiempo o tamaño del sistema más grandes. Para proteínas, este tipo de modelos, pueden asumir varios niveles de resolución: desde un solo monómero (una unidad peptídica o una proteína completa), a un nivel intermedio (una sola partícula por residuo) hasta una resolución de unas cuantas partículas representando cada residuo. Este tipo de modelado proporciona múltiples ventajas como la posibilidad de explorar escalas de tiempo y eventos no comunes que son inaccesibles para las simulaciones con modelado atomístico [31].

Existen varios modelos de grano grueso para PIDs con diferente nivel de detalle como SOP-IDP, OPEP, AWSEM-IDP o UNRES [32]. Además, durante el desarrollo de este trabajo se publicó una nueva versión del conocido campo de fuerzas Martini [33]. Esta versión no está específicamente parametrizada para PIDs, y dadas sus características no es conveniente para modelar este tipo de sistemas. En un trabajo más reciente [34], se propuso una modificación al campo de fuerza Martini 3, en donde se realiza un escalamiento de las interacciones solvente-proteína para representar más adecuadamente el comportamiento de las PIDs. Sin embargo, esta versión de Martini está todavía en desarrollo y en un futuro podría ser una buena alternativa a usarse en simulaciones que involucren PIDs y proteínas globulares.

En este trabajo optamos por el recién reparametrizado campo de fuerza SIRAH [35]. Este modelo ha demostrado ser una eficaz herramienta para estudiar PIDs de diversos tamaños, logrando una buena descripción de las propiedades de este tipo de proteínas [36,37]. Entre sus características principales está el uso de solvente explícito (WT4), en el que 11 moléculas de agua son mapeadas a cuatro sitios (partículas), la columna principal (“backbone”) de los aminoácidos se representa por tres partículas manteniendo las posiciones reales

del nitrógeno, el carbono- α y el oxígeno. Las cadenas laterales se representan por entre uno y ocho partículas según el tipo de aminoácido. Este nivel de detalle químico permite hacer un mapeo inverso de grano grueso a atómico. Además, SIRAH incorpora interacciones electrostáticas de largo alcance y es capaz de definir, reproducir y mantener la estructura secundaria a lo largo de la simulación, obteniendo una trayectoria de DM de las proteínas de manera adecuada [38].

Un objetivo importante de este trabajo es establecer si el campo de fuerza SIRAH es lo suficientemente robusto para modelar sistemas de PIDs de cientos de aminoácidos. La intención es corroborar resultados experimentales de la tau *in vitro* y con ello validar SIRAH para, en un futuro cercano, simular sistemas tau más complejos. Por ejemplo, en presencia de agentes que inducen la agregación de las proteínas tau. Para ello, en esta investigación se exploraron sistemas tau para verificar si el campo de fuerza es capaz de reproducir resultados experimentales, como la no agregación o no formación de oligómeros tau, en un sistema de simulación con únicamente agua y otro, en agua y presencia de iones.

2.3. Protocolo de dinámica molecular

Para realizar las simulaciones de DM se empleó como punto de partida una estructura en formato *pdb*, proporcionada amablemente por los autores de un trabajo previo [22]. Este archivo contiene las coordenadas tridimensionales de los átomos de la proteína tau completa de 441 residuos. Para hacer el mapeo correcto al modelo de grano grueso de SIRAH fue necesario que cada residuo tuviera el estado de protonación correspondiente a un pH neutro; por tanto, el archivo *pdb* se procesó con el servidor web PDB2PQR (<https://server.poissonboltzmann.org/pdb2pqr>) [35,39]. Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron con GROMACS 2018 [40-42], utilizando un arreglo en paralelo de 16 núcleos en la supercomputadora MIZTLI de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se empleó SIRAH versión 2.2.20 – 07 (<http://www.sirahff.com/>). La estructura atómica inicial de la proteína tau fue mapeada con SIRAH Tools para obtener la estructura de grano grueso [43].

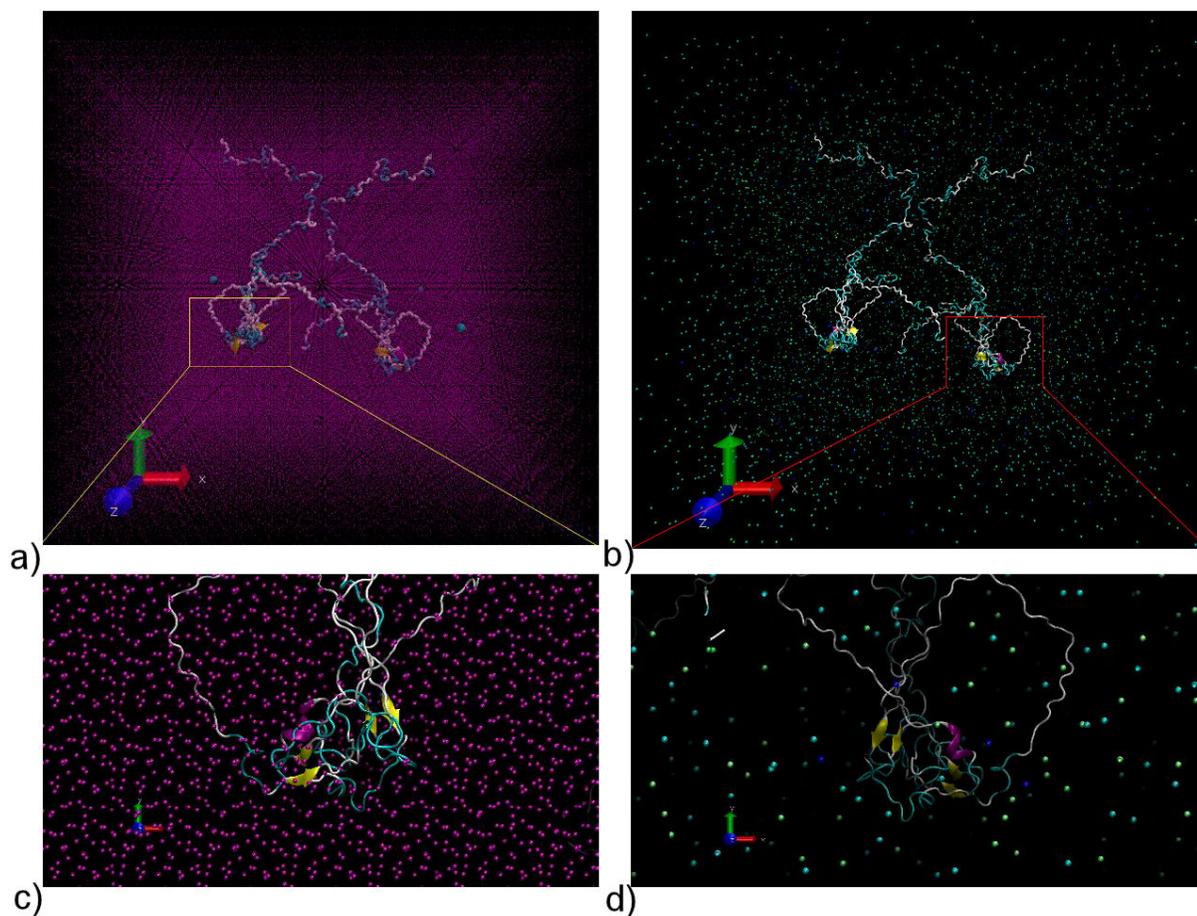


FIGURA 2. Representación visual atómica de los dos sistemas tau: a) dos monómeros tau con solvente explícito y b) dos monómeros tau en solvente explícito y en presencia de iones. En este sistema se omitió el solvente para una visualización más clara de los iones. c) Sección ampliada de las tau en únicamente agua y d) sección ampliada de las tau en iones. En ambos sistemas se observan hélices- α y láminas- β . La representación de estas estructuras se realizó con VMD y la herramienta *sirah.backmap* de SIRAH Tools [43,44].

Se exploraron dos sistemas distintos: 1) dos monómeros tau en solvente explícito (taus-agua) y 2) dos monómeros tau en solvente explícito y presencia de iones (taus-iones). En cada sistema (Fig. 2) se colocaron las proteínas tau en una caja octaédrica con volumen de 27, 548.13 nm³ y se llenaron con el solvente WatFour (WT4) [35]. Al primer sistema se le agregaron cuatro partículas de Cl⁻ (partículas CIW) para balancear la carga electrostática. El sistema tau-iones se ajustó a una concentración de 140 mM de K⁺ (1580 partículas KW) y 10 mM de Na⁺ (169 partículas NaW) para reproducir las concentraciones de experimentos *in vitro* (que a su vez representan un fluido neuronal), y con esto, analizar el efecto de la presencia de iones sobre la proteína [17,45]. Finalmente, se balanceó la carga electrostática con 1753 partículas del tipo CIW. Los dos sistemas se minimizaron con el algoritmo de descenso más pronunciado “steepest descent” con un tamaño de paso máximo de 0.05 nm [42]. Después, se sometió cada uno de los sistemas a tres etapas para llevarlo al equilibrio termodinámico. Las dos primeras etapas utilizan restricción de posiciones para el “backbone” de las proteínas. La primera parte consistió en 10 ns en el ensamble NVT, mientras que la segunda etapa fue de 10 ns en el ensamble NPT. La última etapa se realizó en el ensamble NPT durante 30 ns dejando las posiciones libres de todos los átomos. Durante la etapa de producción, trayectoria de 1 μ s, se utilizó el algoritmo salto de rana “leap-frog” con un paso de tiempo de 20 fs para integrar las ecuaciones de movimiento de Newton.

La temperatura se mantuvo fija en 310 K usando el algoritmo de reescalado de velocidad “V-rescale” (con el acoplamiento de la proteína y el solvente por separado) [46]. Para la presión isotrópica se empleó el baróstato de Parrinello-Rahman a un 1 bar [47]. Se utilizó el método PME (Particle Mesh Ewald) para calcular las interacciones electrostáticas de largo alcance con un radio de corte de 1.2 nm con un espacio de separación en la malla de 0.2 nm [48,49]. Las inte-

racciones de vdW (van der Wals) se calcularon con un radio de corte de 1.2 nm.

El cálculo de observables como el radio de giro, RMSD y RMSF, se realizó con las herramientas propias de GRO-MACS, empleando *gmx_gyrate*, *gmx_rms* y *gmx_rmf*, respectivamente [42]. Para la visualización y cálculo de estructura secundaria se empleó el software VMD [44] en conjunto con SIRAH Tools [43].

3. Resultados y discusión

A partir de las trayectorias en equilibrio de cada sistema se calcularon algunos observables para analizar los cambios conformacionales de cada proteína. Utilizando VMD se inspeccionaron de manera visual los cambios en la estructura, así como una posible agregación de las proteínas. A continuación, describimos los resultados obtenidos.

En las Figs. 3 y 4 se muestran algunas instantáneas (“snapshots”) para los dos sistemas tau a diferentes tiempos de la trayectoria de DM durante la etapa de producción. Para ambos sistemas se observó que las estructuras de las taus, tanto en la fase de minimización como en la fase de equilibrio, se mantuvieron prácticamente sin modificaciones significativas. Las estructuras iniciales en la fase de producción de ambos sistemas fueron ligeramente diferentes, sin embargo, conforme transcurrió el tiempo se comenzaron a notar mayores cambios en la conformación de las proteínas entre un sistema y otro.

Para el sistema taus-agua [Fig. 3a)], entre los 100 y 200 ns, se observó una clara compactación de las proteínas, es decir, de su configuración inicial extendida se fueron enrollando sobre sí mismas. En contraste, en el sistema taus-iones [Fig. 3b)], aunque la conformación estructural de las proteínas es diferente a la estructura inicial, no se observó en la

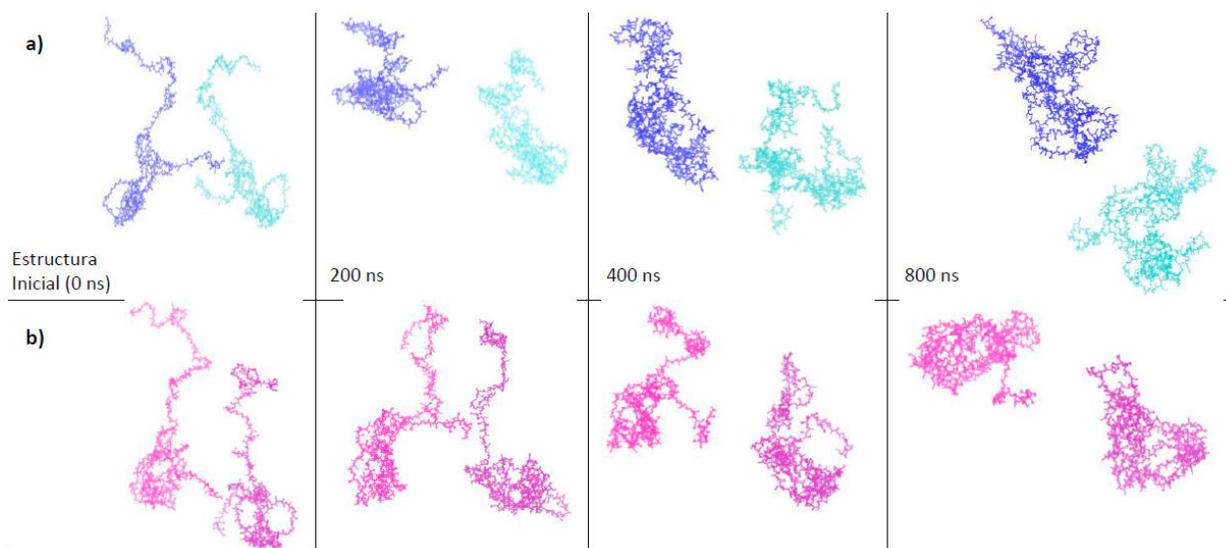


FIGURA 3. Representación visual, en grano grueso, de las proteínas (“snapshots”), a partir de las trayectorias de DM de los dos sistemas de simulación: a) sistema taus-agua en color azul y cian; b) sistema taus-iones en color magenta y lila. Para una mejor visualización en ambos sistemas el agua y los iones no están representados.

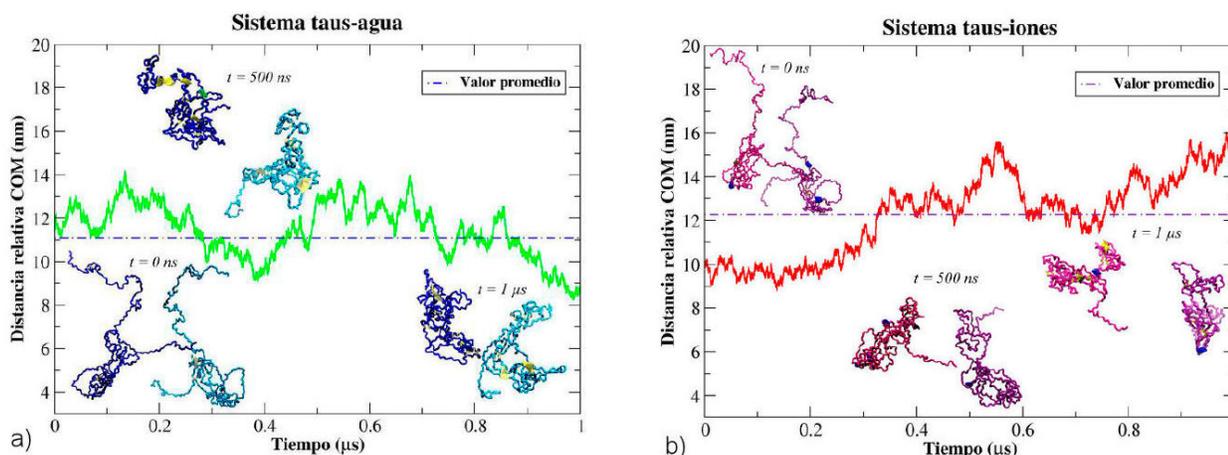


FIGURA 4. Distancias relativas entre centros de masa de las dos taus a lo largo de toda la trayectoria. Instantáneas en representación atómica a 0 ns, 500 ns y 1 μ s para los sistemas a) taus-agua y b) taus-iones.

misma escala temporal una compactación tan evidente; ambas proteínas se mantuvieron extendidas hasta los 200 ns. Alrededor de los 400 ns las proteínas en presencia de iones comenzaron a reducir su conformación extendida. Esta diferencia en los tiempos de compactación se atribuye al efecto electrostático de los iones sobre las proteínas.

Para monitorear de manera cuantitativa qué tanto se acercaron o alejaron entre sí las proteínas, se calculó, para ambos sistemas, la distancia de separación entre centros de masa (COM) de las tau (Fig. 4). Para el sistema taus-agua, la separación inicial de los COM fue de 12 nm. A lo largo de la trayectoria, la distancia entre proteínas fluctuó y aunque hacia el final de la simulación la distancia se acortó a unos 8.5 nm, no podemos hablar de un verdadero proceso agregativo. En lo que respecta al sistema taus-iones, la distancia inicial de separación fue de 10 nm y en los primeros 250 ns se mantuvo relativamente constante, pero a partir de los 300 ns las proteínas tendieron a alejarse entre sí hasta terminar la trayectoria con una separación de aproximadamente 14 nm. Para este sistema fue más evidente el hecho de que no hay tendencia a la agregación entre proteínas.

La configuración inicial de las proteínas en ambos sistemas se preparó de tal forma que las regiones de unión a los MT estuvieran lo más cerca posible entre sí. En estas regiones se localizan segmentos de residuos con una alta tendencia a agregarse [8,9,50]. Sin embargo, usando modelado de grano grueso con SIRAH, y en ausencia de un agente inductor, no hubo indicios de tendencia hacia la agregación. Este resultado reproduce lo reportado experimentalmente [51,52], respaldando así el uso del campo de fuerza SIRAH para describir adecuadamente el comportamiento de PIDs de gran tamaño y nos indica que es un buen modelo para representar sistemas más complejos con fiabilidad y confianza.

Con el fin de realizar un análisis del comportamiento estructural de las proteínas tau, a partir de las trayectorias obtenidas mediante dinámica molecular se calcularon los siguientes

observables para ambos sistemas: estructura secundaria, radio de giro, RMSD y RMSF.

3.1. Estructura secundaria

La estructura secundaria de una proteína puede observarse cuando en el proceso de plegamiento ocurren cambios conformacionales. Los dos grupos más comunes son las hélices alfa (α -helix) y las láminas beta (β -sheet). En la EA, la tau se auto agrega formando láminas- β cruzadas, siendo esto una característica distintiva de ésta y otras enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, reportes de estudios de di-croísmo circular y resonancia magnética nuclear señalan que tau en su estado monomérico libre es poco propenso a formar estructuras secundarias [53,54]. Por otro lado, trabajos como el de Popov *et al.* [25], muestran que la tau nativa en solución acuosa presenta un estado globular compacto con cierta estructura secundaria pasajera.

Con el fin de observar si hay formación de hélices- α y hojas- β , se calculó la estructura secundaria mediante la herramienta *sirah.ss*. SIRAH realiza este proceso basándose en los valores instantáneos de los ángulos de torsión de la cadena principal y de las interacciones del tipo enlace de hidrógeno. SIRAH, además de reconocer los grupos hélices- α y hojas- β , también identifica las espirales aleatorias o “random coil” [43].

En la Fig. 5 se muestra la estructura secundaria para ambas proteínas de cada sistema. Siguiendo el esquema de colores de SIRAH, se muestran las hélices- α en color lila, las hojas- β en amarillo y las espirales aleatorias en cian. Para ambos sistemas se observó que las proteínas tau exhiben una formación de hélices- α y láminas- β transitorias, lo cual concuerda con otros trabajos reportados [17,23,25,55]. En particular, para el sistema taus-agua, este presenta un 83.2 % de espirales aleatorias, un 0.8 % de formación de hélices- α y 16 % de láminas- β . Mientras que en el caso del sistema taus-iones se observó que las proteínas exhiben un 81.6 % de es-

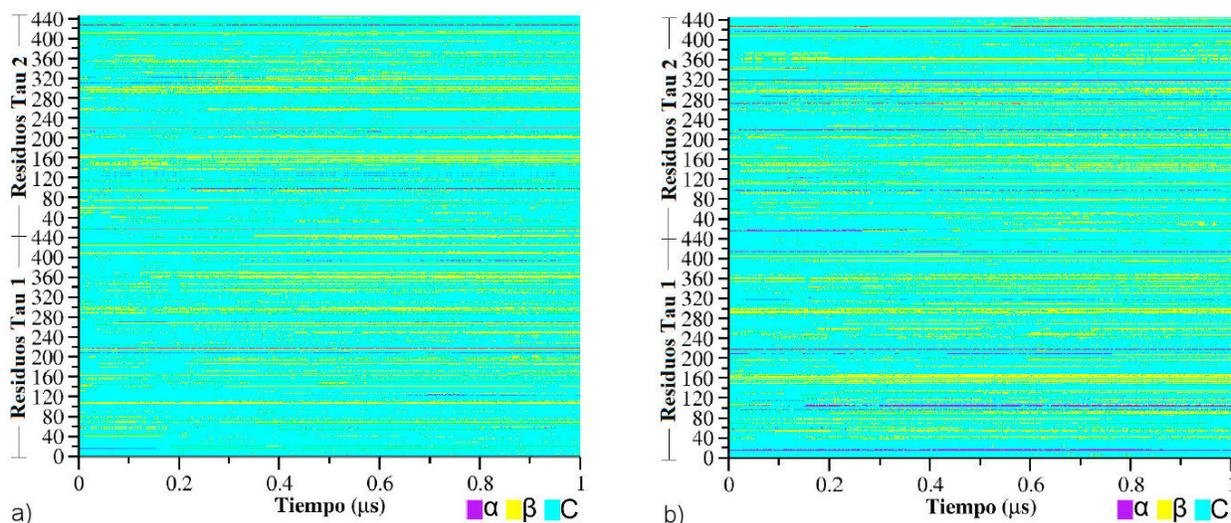


FIGURA 5. Estructura secundaria correspondiente a los dos monómeros tau con 441 aminoácidos para los sistemas a) taus-agua y b) taus-iones. El color lila muestra las hélices- α ; el amarillo las hojas- β y el cian las espirales aleatorias.

pirales aleatorias y una formación del 1.7 % de hélices- α , y 16.6 % de láminas- β .

Durante toda la trayectoria de simulación, para ambos sistemas, se presentó la formación de estructura secundaria no permanente, sin embargo, en el caso del sistema taus-iones hubo regiones que preservaron mejor la formación de hélices- α y láminas- β . Por ejemplo, para el sistema taus-iones, en ambas proteínas en los residuos cercanos al 160, se observó formación relativamente estable de láminas- β principalmente después de los 200 ns, mientras que en el sistema de taus-agua estas estructuras fueron pasajeras. Alrededor de los residuos 280 – 300 (que corresponden a la R2), en ambas proteínas, la formación de láminas- β fue muy similar en los dos sistemas. Por otro lado, para el sistema de taus-iones fue notoria la formación de hélices- α para ambas proteínas alrededor de los residuos 110 y 415 (tau 1), 320 y 420 (tau 2); este tipo de estructura, ausente en el sistema taus-agua, parece ser estable pues se mantiene a lo largo de toda la trayectoria de simulación. De manera general se observa que el ensamble conformacional está preponderantemente conformado para ambos sistemas por la presencia de espirales aleatorias (color cian).

3.2. Radio de giro

Para medir la forma y grado de compactación de una proteína se suele emplear el radio de giro [56]. Si una proteína se pliega de forma estable, se espera que el valor del R_g se mantenga aproximadamente constante. Por otro lado, si una proteína se despliega, se espera que el R_g aumente de valor conforme avanza el tiempo de simulación [57]. En la Fig. 6 se muestra el R_g para las cuatro proteínas de los sistemas taus-agua y taus-iones.

Las cuatro proteínas inician con un valor del R_g de aproximadamente 6.5 nm y al final de la trayectoria, los cuatro monómeros tau adquieren un valor del R_g de alrededor de

3.5 – 4 nm, indicando claramente una compactación importante. El elevado grado de compactación de las PIDs es un fenómeno que también se ha observado utilizando campos de fuerza parametrizados para este tipo de proteínas, principalmente cuando estas son muy grandes [58].

La compactación de la proteína tau ha sido reportada previamente; por ejemplo, Battisti & Tenenbaum [22] observaron una disminución continua del R_g de tau yendo desde un valor cercano al experimental de 6.4 nm a aproximadamente 3.6 nm en tan solo 30 ns. Por otro lado, la compactación de tau se magnifica con el aumento de temperatura, disminuyendo el R_g en un 18 % al variar la temperatura de 293 K a 333 K [59].

En este trabajo, los valores obtenidos del R_g son claramente menores a los resultados experimentales. Se observa una compactación de aproximadamente el 40 %. Este porcen-

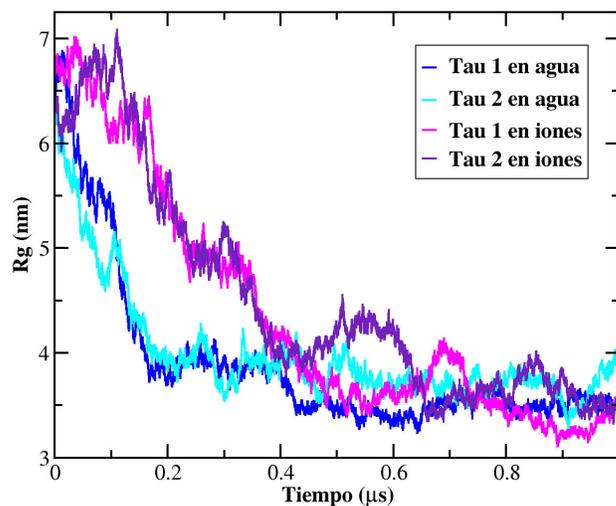


FIGURA 6. Radio de giro para ambos sistemas tau. El sistema taus-agua corresponde a las líneas azul y cian. El sistema taus-iones corresponde a las líneas magenta y lila.

taje de discrepancia es similar al obtenido con campos de fuerza atomísticos para proteínas más pequeñas y dichas discrepancias se acentúan al aumentar el número de aminoácidos en la proteína [29]. El alto grado de compactación presente en proteínas de gran tamaño es un punto para mejorar en el modelado de grano grueso [34,37]. Tanto a nivel atomístico como de grano grueso, las interacciones proteína-solvente parecen ser fundamentales para obtener conformaciones de las PIDs más extendidas y cercanas a lo observado experimentalmente [29,34].

Las proteínas tau comienzan a modificar su conformación al avanzar el tiempo en la dinámica, disminuyendo paulatinamente el valor del radio de giro, esto es, reduciendo su volumen de forma continua con el tiempo (Fig. 6). Aunque el comportamiento de las cuatro moléculas de tau consideradas fue muy similar, se pueden apreciar diferencias sutiles entre ambos sistemas considerados. Las dos taus en agua se compactaron de forma más rápida y al llegar alrededor de los 200 ns alcanzaron un valor alrededor de los 4 nm. Por otro lado, para el sistema taus-iones la compactación también fue continua, pero a una tasa más lenta, requiriendo aproximadamente el doble de tiempo (400 ns) para alcanzar un valor de 4 nm. Esta diferencia se puede asociar al efecto de los iones en las interacciones electrostáticas entre residuos de las taus [60]. A partir de los 400 ns, las proteínas para ambos sistemas ya no experimentaron cambios drásticos en su valor del R_g fluctuando dicho valor entre los 3.5 y 4 nm. Esto indicó que las proteínas habían alcanzado un grado y estado de compactación estable y muy similar para todas. Estos resultados muestran que se requieren cientos de nanosegundos para poder equilibrar un sistema conformado por dos proteínas tau.

3.3. Raíz de la desviación cuadrática media (RMSD)

La RMSD permite analizar la estabilidad de una proteína a lo largo de la trayectoria de simulación y determinar cuándo se alcanza el equilibrio [17]. El RMSD se obtiene a partir de una comparación entre dos estructuras. La estructura de referencia generalmente es la estructura de la proteína al inicio de la etapa de producción. Las otras estructuras se van generando conforme avanza la trayectoria de simulación. Si el valor del RMSD exhibe pequeñas fluctuaciones, esto indica que la estructura de la proteína es estable, es decir, que no sufre grandes cambios conformacionales a lo largo de la simulación [61].

La Fig. 7 muestra la RMSD para las cuatro proteínas: taus-agua y taus-iones, con el mismo código de colores que en la Fig. 6. Este observable nos permite comparar el comportamiento estructural de las proteínas en dos ambientes diferentes. Para el sistema taus-agua se observa que ambas proteínas alcanzan una estructura estable alrededor de los 200 ns. A partir de este tiempo las estructuras de ambas proteínas exhiben ligeras fluctuaciones. Estos resultados corroboran el análisis de visualización (Fig. 3) y lo observado con el radio de giro (Fig. 6), donde este sistema alcanza una compactación estable alrededor de los 200 ns.

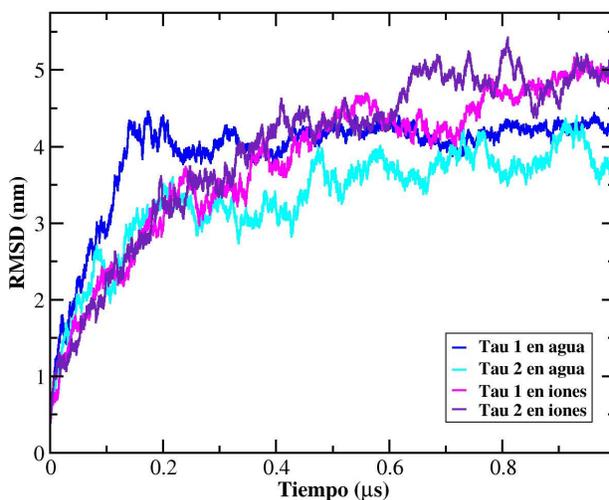


FIGURA 7. RMSD para ambos sistemas tau. El sistema taus-agua corresponde a las líneas azul y cian. El sistema taus-iones se muestra con las líneas magenta y lila.

Para el sistema taus-iones, ambas proteínas alcanzaron cierta estabilidad al alcanzar los 400 ns, sin embargo, ambas proteínas exhibieron cambios estructurales posteriores, estabilizándose hacia el final de la trayectoria simulada (alrededor de los 850 ns). El valor final de la RMSD para las proteínas en presencia de iones empleando SIRAH es muy similar al reportado para una proteína en las mismas condiciones iónicas por Castro *et al.* [17], quienes emplearon un campo de fuerza atomístico. Estos resultados resaltan la importancia de las interacciones electrostáticas y el efecto de los iones. La presencia de iones promueve mayores cambios estructurales en ambas proteínas. Del análisis del RMSD se corrobora que se requieren escalas temporales de cientos de nanosegundos para asegurar el equilibrio de este tipo de sistemas tan grandes.

3.4. Raíz de la fluctuación cuadrática media (RMSF)

La RMSF permite visualizar cuáles son los residuos más rígidos y cuáles presentan mayor flexibilidad. Proporciona una idea de la movilidad de los residuos de la estructura proteica durante la trayectoria de simulación de DM [17,62].

En la Fig. 8 se muestra el RMSF para ambos sistemas. Las regiones que presentan mayor fluctuación son el dominio de proyección (región amina) y terminal-C (carboxilo terminal). Estas regiones son las que conforman el denominado “fuzzy coat” o capa dispersa, y debido a la alta movilidad que presentan es que, presumiblemente, la tau en condiciones normales (en ausencia de un inductor) no se autoagrega [8,63]. Por otro lado, el grupo terminal-C en el sistema taus-iones muestra mayor movilidad que su contraparte, en el sistema taus-agua. Este último resultado no concuerda con lo reportado por Castro *et al.* [17], donde utilizando un campo de fuerza atomístico observaron una mayor movilidad únicamente para el grupo terminal-N y el dominio de proyección. En sus resultados el grupo terminal-C muestra una flexibilidad similar a las otras regiones.

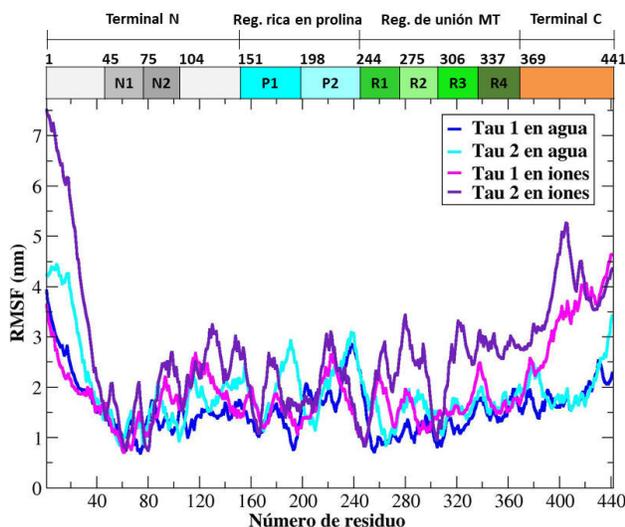


FIGURA 8. RMSF para ambos sistemas tau. La parte superior de la figura muestra las regiones de la tau, mientras que la escala horizontal muestra el número de residuo de la proteína.

Los resultados de la RMSF respecto a la movilidad de las regiones terminales coinciden con aquellos reportados por Castro et al. a nivel atómico [17]. Estas regiones en ambos sistemas son las que poseen mayor carga negativa, por lo cual las interacciones electrostáticas son de mayor intensidad. Las tau del sistema taus-iones exhiben mayores fluctuaciones en las regiones terminales respecto al sistema taus-agua [9,64].

En la región rica en prolina las tau, en ambos sistemas, exhiben fluctuaciones del mismo orden por lo cual es difícil diferenciar algún efecto debido a la presencia de iones. En lo que respecta a la región de unión a los MT, el sistema taus-agua y una de las proteínas del sistema taus-iones presentan un ligero aumento de rigidez. Esta disminución en la movilidad de las regiones R1 a la R4 fue observada para una tau interactuando con microtúbulos [17].

4. Conclusiones y perspectivas

La proteína tau ha adquirido gran relevancia en los últimos años debido a que forma estructuras fibrilares en pacientes diagnosticados con AD. Desafortunadamente, en la actualidad, se desconocen las causas precisas que inician esta enfermedad, así como el proceso de propagación de la misma. Para entender cómo es la formación de oligómeros y la posterior transición a marañas fibrilares se requiere el trabajo conjunto de varias disciplinas. En particular, la simulación computacional mediante DM es una poderosa herramienta que contribuye a caracterizar las propiedades conformacionales de monómeros tau aislados, así como el proceso de agregación de regiones o segmentos cortos de tau.

La información detallada del modelamiento atómico permite identificar a nivel molecular cuáles son las regiones de aminoácidos que tienden a agregarse o bien, explorar el proceso de formación de fibrillas a partir de un núcleo o semilla. Desafortunadamente, una descripción tan detallada no

permite estudiar el proceso completo de agregación o formación de oligómeros tau con la isoforma más extensa de 441 residuos en las escalas de tiempo en las cuales se observan estos fenómenos [55]. Para ello es imperativo recurrir a otras metodologías como el modelado de grano grueso.

En este trabajo elegimos usar el campo de fuerza de grano grueso SIRAH para modelar dos sistemas de proteínas tau en solvente explícito. SIRAH fue recientemente evaluado para modelar PIDs, encontrándose una excelente concordancia con datos experimentales y de simulación atómica. Sin embargo, los resultados reportados fueron exclusivamente para proteínas relativamente pequeñas; a la fecha y hasta donde tenemos conocimiento, SIRAH no se ha empleado para simular PIDs de cientos de aminoácidos como la tau.

Del análisis de las trayectorias en equilibrio podemos confirmar que SIRAH permite realizar simulaciones de una o varias proteínas tau en solvente explícito con un costo computacional asequible. Gracias a la dinámica acelerada de SIRAH y la reducción de grados de libertad es posible simular sistemas con decenas de miles de partículas de grano grueso, alcanzando tiempos de simulación más cercanos a la escala experimental. Sin embargo, el hecho de que SIRAH proporcione un escenario computacionalmente viable no es garantía de su fiabilidad para estudiar este tipo de sistemas. Para abordar esta interrogante optamos por analizar el comportamiento estructural e interacción de dos proteínas tau (441 residuos) en solvente explícito con y sin presencia de iones.

Una de las principales pruebas que debería superar SIRAH era reproducir los resultados observados en estudios *in vitro* donde se sabe que la tau bajo condiciones normales, (sin sufrir modificaciones postraduccionales) no se agrega [51]. Para inducir la agregación es necesario utilizar inductores tales como heparina, ácido araquidónico o bien, realizar mecanismos de nucleación y siembra, entre otras técnicas [52,65]. Por ello, antes de explorar con SIRAH un sistema de proteínas tau en presencia de inductores, era imperativo corroborar los resultados *in vitro* en presencia de iones.

De nuestros resultados observamos que las simulaciones realizadas usando el campo de fuerza SIRAH reprodujeron el comportamiento esperado; a lo largo de la trayectoria de dinámica molecular las proteínas de ambos sistemas no mostraron tendencia alguna a acumularse o formar agregados. Derivado de lo anterior consideramos que SIRAH es un campo de fuerza que puede emplearse para estudiar sistemas más complejos relacionados con tau de manera confiable.

En general, observamos que SIRAH es capaz de reproducir propiedades estándar ya reportadas y conocidas para la proteína tau, tales como la formación transitoria de estructura secundaria, compactación en una estructura globular, así como la flexibilidad de las regiones de las terminales N y C. Sin embargo, las simulaciones también muestran que tau tiende a compactarse más allá de lo reportado experimentalmente. Este efecto de sobrecompactación de las PIDs, también se ha reportado en campos de fuerza atómicos y consideramos que podría ser un punto de mejora en versiones futuras de SIRAH. Por otro lado, un aspecto importante que se desprende

de nuestros resultados es que es necesario llevar al sistema a escalas temporales de cientos de nanosegundos para garantizar el haber alcanzado el equilibrio termodinámico. Llegar a estas escalas para sistemas del tamaño aquí estudiado, en tiempos razonables de cómputo, únicamente es factible utilizando modelado de grano grueso.

Nuestros resultados muestran que es posible utilizar SIRAH para sistemas de IDPs de gran tamaño. El poder emplear un modelo de grano grueso como SIRAH abre las puertas para estudiar sistemas más complejos de gran importancia y de interés clínico y que podrían ayudar a entender tanto la formación de oligómeros como la transformación de dichos agregados a los núcleos de fibrillas y, con ello contribuir a identificar las posibles causas y terapias que ayuden a retrasar o curar la EA.

Agradecimientos

L. R-J, agradece a CONACYT por la beca de maestría con la cual se desarrolló el presente trabajo (2020-000026-02NACF-06290). Además, este trabajo ha recibido apoyo financiero de CONACYT a través del proyecto 287067 y A1-S-29906. Todos los autores reconocen el apoyo brindado por LANCAD (Laboratorio Nacional de Cómputo de Alto Desempeño) por el soporte técnico y tiempo de cómputo en la supercomputadora Miztli ubicada en la DGTIC UNAM, integrante de los laboratorios nacionales del CONACYT. Finalmente, reconocemos a la Universidad de Guanajuato (Proyecto CIIC-140/2021) por su contribución financiera.

- V. J. De-Paula, M. Radanovic, B. S. Diniz, and O. V Forlenza, Alzheimer's Disease BT - Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease, J. R. Harris, Ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, pp. 329-352.
- Instituto Mexicano del Seguro Social, Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Guía de Evidencias y Recomendaciones, *Guia Pract. Clin. Mex. IMSS*, (2017) 4.
- S. Mondragón-Rodríguez *et al.*, Causes versus effects: the increasing complexities of Alzheimer's disease pathogenesis, *Expert Rev. Neurother.* **10** (2010) 683, <https://doi.org/10.1586/ern.10.27>.
- H. Liu, X. Liu, S. Zhou, X. An, H. Liu, and X. Yao, Disclosing the Template-Induced Misfolding Mechanism of Tau Protein by Studying the Dissociation of the Boundary Chain from the Formed Tau Fibril Based on a Steered Molecular Dynamics Simulation, *ACS Chem. Neurosci.* **10** (2019) 1854, <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00732>.
- P. López-Camacho, Rn.-H. Guzmán-Hernández, G. Hernández, M. Díaz, F. García-Sierra, and G. Basurto-Islas, Research and therapeutics in Alzheimer's disease based on amyloid beta and tau, *Arch Neurocién*, **22** (2017) 72,
- J. Wan, Y. Gong, Z. Xu, X. Dong, G. Wei, and Q. Zhang, Molecular dynamics simulations reveal the destabilization mechanism of Alzheimer's disease-related tau R3-R4 Protofilament by norepinephrine, *Biophys. Chem.*, **271** (2021) 106541, <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2021.106541>.
- G. Basurto-Islas, J. Luna-Muñoz, A. L. Guillozet-Bongaarts, L. I. Binder, R. Mena, and F. García-Sierra, Accumulation of Aspartic Acid421- and Glutamic Acid391-Cleaved Tau in Neurofibrillary Tangles Correlates With Progression in Alzheimer Disease, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **67** (2008) 470, <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31817275c7>.
- A. W. P. Fitzpatrick *et al.*, Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease, *Nature*, **547** (2017) 185, <https://doi.org/10.1038/nature23002>.
- B. Nizynski, W. Dzwolak, and K. Nieznanski, Amyloidogenesis of Tau protein, *Protein Sci.* **26** (2017) 2126, <https://doi.org/10.1002/pro.3275>.
- M. Pevalova, P. Filipcik, M. Novak, J. Avila, and K. Iqbal, Post-translational modifications of tau protein, *Bratisl. Lek. Listy*, **107** (2006) 346, [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17262986/#:~:text=Inhuman%2Ctauproteinundergoes,ofAlzheimer'sdisease\(AD\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17262986/#:~:text=Inhuman%2Ctauproteinundergoes,ofAlzheimer'sdisease(AD)).
- L. Martin, X. Latypova, and F. Terro, Post-translational modifications of tau protein: implications for Alzheimer's disease, *Neurochem. Int.* **58** (2011) 458.
- F. García-Sierra, S. Mondragón-Rodríguez, and G. Basurto-Islas, Truncation of Tau Protein and its Pathological Significance in Alzheimer's Disease, *J. Alzheimer's Dis.* **14** (2008) 401, <https://doi.org/10.3233/JAD-2008-14407>.
- S. Mondragón-Rodríguez *et al.*, Cleavage and conformational changes of tau protein follow phosphorylation during Alzheimer's disease, *Int. J. Exp. Pathol.*, **89** (2008) 81, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2007.00568.x>.
- S. Mondragón-Rodríguez, G. Basurto-Islas, L. I. Binder, and F. García-Sierra, Conformational changes and cleavage; are these responsible for the tau aggregation in Alzheimer's disease?, *Future Neurol.* **4** (2008) 39, <https://doi.org/10.2217/14796708.4.1.39>.
- L. Rani, J. Mittal, and S. S. Mallajosyula, Effect of phosphorylation and O-GlcNAcylation on proline-rich domains of Tau, *J. Phys. Chem. B*, **124** (2020) 1909.
- C. Alquezar, S. Arya, and A. W. Kao, Tau Post-translational Modifications: Dynamic Transformers of Tau Function, Degradation, and Aggregation, *Frontiers in Neurology* **11** (2021), <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2020.595532>.
- T. G. Castro, F. D. Munteanu, and A. Cavaco-Paulo, Electrostatics of tau protein by molecular dynamics, *Biomolecules*, **9** (2019), <https://doi.org/10.3390/BIOM9030116>.
- S. Bhattacharya and X. Lin, Recent Advances in Computational Protocols Addressing Intrinsically Disordered Proteins, *Biomolecules* **9** (2019), <https://doi.org/10.3390/biom9040146>.

19. V. Monje-Galvan, L. Warburton, and J. B. Klauda, Setting Up All-Atom Molecular Dynamics Simulations to Study the Interactions of Peripheral Membrane Proteins with Model Lipid Bilayers In: Drin G. (eds) Intracellular Lipid Transport. *Methods in Molecular Biology*, **1949** (2019) 325, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9136-5_22.
20. H. Liu *et al.*, Disclosing the Mechanism of Spontaneous Aggregation and Template-Induced Misfolding of the Key Hexapeptide (PHF6) of Tau Protein Based on Molecular Dynamics Simulation, *ACS Chem. Neurosci.* **10** (2019) 4810, <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.9b00488>.
21. P. Derreumaux, V. H. Man, J. Wang, and P. H. Nguyen, Tau R3-R4 Domain Dimer of the Wild Type and Phosphorylated Ser356 Sequences. I. In Solution by Atomistic Simulations, *J. Phys. Chem. B*, **124** (2020) 2975.
22. A. Battisti and A. Tenenbaum, Molecular dynamics simulation of intrinsically disordered proteins, *Mol. Simul.*, **38** (2012) 139, <https://doi.org/10.1080/08927022.2011.608671>.
23. A. Battisti, G. Ciasca, A. Grottesi, A. Bianconi, and A. Tenenbaum, Temporary secondary structures in tau, an intrinsically disordered protein, *Mol. Simul.*, **38** (2012) 525, <https://doi.org/10.1080/08927022.2011.633347>.
24. A. Battisti, G. Ciasca, and A. Tenenbaum, Transient tertiary structures in tau, an intrinsically disordered protein, *Mol. Simul.* **39** (2013) 1084, <https://doi.org/10.1080/08927022.2013.794275>.
25. K. I. Popov, K. A. T. Makepeace, E. V. Petrotchenko, N. V. Dokholyan, and C. H. Borchers, Insight into the Structure of the &# x201c;Unstructured&# x201d; Tau Protein, *Structure*, **27** (2019) 1710, <https://doi.org/10.1016/j.str.2019.09.003>.
26. E. Lindahl, Molecular Dynamics Simulations, in Molecular Modeling of Proteins. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), K. A., Ed. New York, NY: Humana Press, 2015.
27. H. I. Ingólfsson *et al.*, The Power of Coarse Graining in Biomolecular Simulations, *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.*, **4** (2014) 225.
28. A. Dan and H. F. Chen, Secondary structures transition of tau protein with intrinsically disordered proteins specific force field, *Chem. Biol. Drug Des.* **93** (2019) 242, <https://doi.org/10.1111/cbdd.13407>.
29. R. Paul, P. Stefano, and S. D. E., Developing a molecular dynamics force field for both folded and disordered protein states, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **115** (2018) E4758, <https://doi.org/10.1073/pnas.1800690115>.
30. J. Huang *et al.*, CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins, *Nat. Methods*, **14** (2017) 71.
31. P. Das, S. Matysiak, and J. Mittal, Looking at the Disordered Proteins through the Computational Microscope, *ACS Cent. Sci.* **4** (2018) 534, <https://doi.org/10.1021/acscentsci.7b00626>.
32. A. P. Latham and B. Zhang, Unifying coarse-grained force fields for folded and disordered proteins, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **72** (2022) 63, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2021.08.006>.
33. P. C. T. Souza *et al.*, Martini 3: a general purpose force field for coarse-grained molecular dynamics, *Nat. Methods* **18** (2021) 382, <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01098-3>.
34. F. E. Thomasen, F. Pesce, M. A. Roesgaard, G. Tesei, and K. Lindorff-Larsen, Improving Martini 3 for Disordered and Multidomain Proteins, *J. Chem. Theory Comput.* **18** (2022) 2033, <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c01042>.
35. M. R. Machado, E. E. Barrera, F. Klein, M. Sónora, S. Silva, and S. Pantano, The SIRAH 2.0 Force Field: Altius, Fortius, Citius, *J. Chem. Theory Comput.* **15** (2019) 2719, <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00006>.
36. R. Ramis *et al.*, A Coarse-Grained Molecular Dynamics Approach to the Study of the Intrinsically Disordered Protein α -Synuclein, *J. Chem. Inf. Model.* **59** (2019) 1458, <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.8b00921>.
37. F. Klein, E. E. Barrera, and S. Pantano, Assessing SIRAH 's Capability to Simulate Intrinsically Disordered Proteins and Peptides, *J. Chem. Theory Comput.*, **17** (2021) 599, <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.0c00948>.
38. 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.*, **11** (2015) 723,
39. E. Jurrus *et al.*, Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite, *Protein Sci.* **27** (2018) 112, <https://doi.org/10.1002/pro.3280>.
40. S. Páll *et al.*, Heterogeneous parallelization and acceleration of molecular dynamics simulations in GROMACS, *J. Chem. Phys.* **153** (2020) 134110, <https://doi.org/10.1063/5.0018516>.
41. M. J. Abraham *et al.*, GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers, *SoftwareX*, **1** (2015) 19.
42. M. J. Abraham, van der S. D. L, L. E., H. B., and G. T. Development, GROMACS User Manual version 2018, www.gromacs.org (2018), 2018.
43. M. Machado and S. Pantano, SIRAH Tools: Mapping, Back-mapping and Visualization of Coarse-Grained Models, *Bioinformatics* **32** p. 1568, 2016.
44. W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, VMD: Visual Molecular Dynamics, *J. Mol. Graph.* **14** (1996) 33,
45. E. Barreto and J. R. Cressman, Ion concentration dynamics as a mechanism for neuronal bursting, *J. Biol. Phys.*, **37** (2011) 361, <https://doi.org/10.1007/s10867-010-9212-6>.
46. G. Bussi, D. Donadio, and M. Parrinello, Canonical Sampling through Velocity Rescaling, *J. Chem. Phys.* **126** (2007) 14101,
47. M. Parrinello and A. Rahman, Polymorphic Transitions in Single Crystals: A New Molecular Dynamics Method, *J. Appl. Phys.* **52** (1981) 7182.
48. T. Darden, D. York, and L. Pedersen, Particle mesh Ewald: An Nslog(N) method for Ewald sums in large systems, *J. Chem. Phys.*, **98** (1993) 10089, <https://doi.org/10.1063/1.464397>.

49. U. Essmann, L. Perera, M. L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, and L. G. Pedersen, A Smooth Particle Mesh Ewald Method, *J. Chem. Phys.* **103** (1995) 8577,
50. M. del C. Cárdenas-Aguayo, L. Gómez-Virgilio, S. DeRosa, and M. A. Meraz-Ríos, The Role of Tau Oligomers in the Onset of Alzheimer's Disease Neuropathology, *ACS Chem. Neurosci.* **5** (2014) 1178, <https://doi.org/10.1021/cn500148z>.
51. C. A. Lasagna-Reeves, D. L. Castillo-Carranza, M. J. Guerrero-Muñoz, G. R. Jackson, and R. Kaye, Preparation and Characterization of Neurotoxic Tau Oligomers, *Biochemistry* **49** (2010) 10039, <https://doi.org/10.1021/bi1016233>.
52. M. A. Meraz-Ríos, K. I. Lira-De León, V. Campos-Peña, M. A. De Anda-Hernández, and R. Mena-López, Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease, *J. Neurochem.* **112** (2010) 1353.
53. J. Avila *et al.*, Tau Structures, *Frontiers in Aging Neuroscience*, **8** (2016), <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2016.00262>.
54. D. Wang *et al.*, The Structure Biology of Tau and Clue for Aggregation Inhibitor Design, *Protein J.* **40** (2021) 656, <https://doi.org/10.1007/s10930-021-10017-6>.
55. P. M. Aguilar-Hernández, Estudio de la dinámica de agregación de dos proteínas tau usando simulación molecular, INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE XALAPA, 2020.
56. M. Y. Lobanov, N. S. Bogatyreva, and O. V Galzitskaya, Radius of gyration as an indicator of protein structure compactness, *Mol. Biol.* **42** (2008) 623, <https://doi.org/10.1134/S0026893308040195>.
57. J. A. Lemkul, Gromacs tutorial. Analysis, mdtutorials, 2022. http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/10_analysis2.html.
58. H. Liu, D. Song, Y. Zhang, S. Yang, R. Luo, and H.-F. Chen, Extensive tests and evaluation of the CHARMM36IDPSFF force field for intrinsically disordered proteins and folded proteins, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **21** (2019) 21918, <https://doi.org/10.1039/C9CP03434J>.
59. A. Battisti, G. Ciasca, A. Grottesi, and A. Tenenbaum, Thermal compaction of the intrinsically disordered protein tau: entropic, structural, and hydrophobic factors, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19** (2017) 8435, <https://doi.org/10.1039/C6CP07683A>.
60. A. L. Kolesnikov, Y. A. Budkov, and E. A. Nogovitsyn, Coarse-Grained Model of Glycosaminoglycans in Aqueous Salt Solutions. A Field-Theoretical Approach, *J. Phys. Chem. B* **118** (2014) 13037, <https://doi.org/10.1021/jp503749a>.
61. I. Aier, P. K. Varadwaj, and U. Raj, Structural insights into conformational stability of both wild-type and mutant EZH2 receptor, *Sci. Rep.* **6** (2016) 34984 <https://doi.org/10.1038/srep34984>.
62. P. Sneha and C. George Priya Doss, Chapter Seven - Molecular Dynamics: New Frontier in Personalized Medicine, in Personalized Medicine, vol. **102**, R. B. T.-A. in P. C. and S. B. Donev, Ed. Academic Press, 2016, pp. 181-224.
63. S. Wegmann, I. D. Medalsy, E. Mandelkow, and D. J. Müller, The fuzzy coat of pathological human Tau fibrils is a two-layered polyelectrolyte brush, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **110** (2013) E313, <https://doi.org/10.1073/pnas.1212100110>.
64. Y. Mutreja and T. C. Gamblin, Chapter 4 - Optimization of in vitro conditions to study the arachidonic acid induction of 4R isoforms of the microtubule-associated protein tau, in Methods in Tau Cell Biology, vol. 141, S. C. Feinstein and N. E. B. T.-M. in C. B. LaPointe, Eds. Academic Press, 2017, pp. 65-88.
65. B. Combs, C. T. Tiernan, C. Hamel, and N. M. Kanaan, Chapter 3 - Production of recombinant tau oligomers in vitro, in Methods in Tau Cell Biology, vol. 141, S. C. Feinstein and N. E. B. T.-M. in C. B. LaPointe, Eds. Academic Press, 2017, pp. 45-64.