

**A Novel Hamiltonian Replica Exchange Molecular Dynamics  
Protocol to Enhance Protein Conformational Space Sampling**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of  
Doctor of Natural Sciences

presented by  
**Roman Affentranger**  
Dipl. Natw. ETH  
born 06.08.1976  
citizen of Fischbach (LU)

accepted on the recommendation of

PD Dr. Ernesto E. Di Iorio, examiner  
Prof. Dr. Petros Koumoutsakos, co-examiner  
Prof. Dr. Xavier Daura, co-examiner

# ABSTRACT

---

Limited searching in the conformational space is one of the major obstacles for investigating protein dynamics by numerical approaches because classical all-atom molecular dynamics (MD) simulations of proteins tend to be confined to local energy minima, particularly when the bulk solvent is treated explicitly. To overcome this problem, we have developed a novel Hamiltonian-replica-exchange protocol that uses modified force-field parameters to treat interparticle non-bonded potentials within the protein and between protein and solvent atoms, leaving unperturbed those relative to solvent-solvent interactions. We have tested the new protocol on the 18-residue-long tip of the P domain of calreticulin in an explicit solvent. With only eight replicas, we have been able to considerably enhance the conformational space sampled during a 100 ns simulation, compared to as many parallel classical molecular dynamics simulations of the same length or to a single one lasting 450 ns. A direct comparison between the various simulations has been possible thanks to the implementation of the weighted histogram analysis method, by which conformations simulated with modified force-field parameters can be assigned different weights. Interatom, inter-residue distances in the structural ensembles obtained with our novel replica-exchange approach and by classical MD simulations compare equally well with those derived from NMR data. Rare events, such as unfolding and refolding, occur with reasonable statistical frequency. Visiting of conformations characterized by very small Boltzmann weights is also possible. Despite their low probability, such regions of the conformational space may play an important role in the search for local potential-energy minima and in dynamically controlled functions.

Our approach has not only shown to be useful in extending the search in conformational space away from the folded state towards high-free-energy regions, but also in increasing the probability of finding low-free-energy states from unfolded initial structures due to an enhanced conformational space sampling. In simulations starting from a fully extended structure of CRT18, a folded state was approached most successfully during a 200 ns long replica-exchange simulation on eight replicas according to our protocol, compared to as many classical molecular dynamics simulations of the same length or to a single one lasting 500 ns.

# ZUSAMMENFASSUNG

---

Die begrenzte Durchsuchung des Konformationsraumes ist eines der Haupthindernisse für die Erforschung der dynamischen Eigenschaften von Proteinen mittels numerischer Verfahren. Aus diesem Grund sind klassische moleküldynamische (MD) Simulationen von Proteinen auf lokale Energieminima beschränkt, besonders wenn die Lösungsmittelatome explizit behandelt werden. Um dieses Problem zu überwinden haben wir ein neues Protokoll für Hamiltonian-Replica-Exchange-Simulationen entwickelt, welches auf Änderungen der Kraftfeldparameter für nichtbindende Potentiale zwischen einzelnen Partikeln innerhalb des Proteins sowie zwischen Protein und den Lösungsmittelatomen basiert. Die Kraftfeldparameter für die Beschreibung der Lösungsmittel-Lösungsmittel Wechselwirkungen werden dabei unverändert belassen. Wir haben das neue Protokoll an der 18 Aminosäuren langen Spitze der P-Domäne von Calreticulin geprüft, wobei wir die Lösungsmittelatome explizit behandelten. Mit nur acht Replicas waren wir in der Lage, den Konformationsraum, der während einer 100 ns langen Simulation besucht wird, beträchtlich zu vergrößern, im Vergleich zu acht parallelen klassischen MD Simulationen der gleichen Länge, oder zu einer einzelnen, 450 ns dauernden. Ein direkter Vergleich zwischen den verschiedenen Simulationen wird ermöglicht durch die Implementierung einer auf gewichteten Histogrammen aufbauenden Analysemethode (WHAM, weighted histogram analysis method), bei der den Konformationen, die mit modifizierten Kraftfelderparametern simuliert wurden, unterschiedliche statistische Gewichtungen zugewiesen werden können. Die gemittelten Abstände zwischen zu verschiedenen Aminosäure-Seitenketten gehörenden Wasserstoffatomen, welche für die mit unserem neuen Replica-Exchange-Verfahren sowie durch klassische MD Simulationen generierten strukturellen Ensembles berechnet wurden, entsprechen vergleichbar gut den von NMR-Daten abgeleiteten. Seltene Ereignisse, wie Entfaltung und Neufaltung, treten während der Replica-Exchange-Simulation mit beträchtlicher statistischer Frequenz auf. Auch das Besuchen von Konformationen mit sehr niedrigen Boltzmann-Wahrscheinlichkeiten ist erleichtert. Trotz ihrer niedrigen Wahrscheinlichkeit könnten solche Regionen des Konformationsraumes sowohl in der Suche nach lokalen Potentialenergieminima, als auch in dynamisch kontrollierten Vorgängen eine wichtige Rolle spielen. Unsere neue Methode hat

sich nicht nur als nützlich erwiesen, die Suche im Konformationsraum weg vom gefalteten Zustand in Richtung von Regionen mit hoher freier Energie auszuweichen, sondern auch, aufgrund der verbesserten konformationellen Suche, die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, Zustände mit niedriger freier Energie ausgehend von entfaltenen Anfangsstrukturen zu finden. In unseren von einer völlig ausgestreckten Struktur von CRT18 ausgehenden Simulationen wurde der gefaltete Zustand am erfolgreichsten mit einer 200 ns langen Replica-Exchange-Simulation mit acht Replicas angenähert, verglichen mit gleich vielen klassischen MD Simulationen der gleichen Länge, oder mit einer einzelnen mit einer Länge von 500 ns.