

Kurzbericht

- öffentlich -

Zuwendungsempfänger:	Max-Planck Gesellschaft, MPI für Multidisziplinäre Naturwissenschaften (bis 31.12.2021 MPI für Biophysikalische Chemie)
Projektleitung:	Prof. Dr. Helmut Grubmüller
Verbund:	BMBF-Verbundprojekt 16ME0713
Thema:	Rechenzeitoptimierte Exascale-Simulationen für biomedizinische Anwendungen - FlexFMM

1. Ziel und Inhalt des Projektes

Molekulardynamik (MD) Simulationen ermöglichen es uns, das Verhalten von Biomolekülen wie z. B. Proteinen, Zellmembranen und DNA auf Grundlage physikalischer Gesetze in atomarem Detail im Computer zu berechnen. MD Simulationen sind numerisch anspruchsvoll und können, abhängig von der zu berechnenden Anzahl an Zeitschritten, einen HPC (High Performance Computing) Cluster über Tage oder Wochen beschäftigen. Insbesondere die elektrostatischen Wechselwirkungen sind aufgrund ihrer nur sehr langsamen Abnahme mit der Entfernung rechnerisch aufwendig, da sie zwischen allen Atompaaren berücksichtigt werden müssen. Eine zusätzliche Herausforderung bei der Simulation von Biomolekülen sind ihre zahlreichen titrierbaren Gruppen. Das sind chemische Seitenketten, deren Protonierungszustand und Ladungsverteilung abhängig vom pH-Wert der sie umgebenden Lösung fluktuiert. Da die Funktionsweise vieler Biomoleküle kritisch von ihrem Protonierungszustand abhängt, ist es für realistische Simulationen essentiell, die Protonierungsdynamik zu berücksichtigen. Dies stellt jedoch besondere Anforderungen an die Berechnung der Elektrostatik.

Um realistische Simulationen von Biomolekülen auf künftigen HPC Systemen zu ermöglichen, muss die eingesetzte Methode zur Berechnung der Protein-Elektrostatik folgende drei Voraussetzungen erfüllen: 1.) Sie muss grundsätzlich sehr gut parallelisierbar sein, 2.) sie muss dynamische Protonierung ermöglichen, 3.) sie muss GPUs unterstützen, weil der Großteil der Rechenkapazität zukünftiger HPC-Cluster von GPUs bereitgestellt werden wird. Das Ziel dieses Vorhabens ist die Entwicklung eines Elektrostatik-Moduls für die MD Simulationssoftware GROMACS, welches alle drei oben genannten Voraussetzungen erfüllt. Derzeit setzt GROMACS die PME (Particle Mesh Ewald) Methode ein, um elektrostatische Wechselwirkungen zu berechnen. Die dabei eingesetzten schnellen Fouriertransformationen (FFTs) skalieren jedoch schlecht mit zunehmender Parallelität: Zwischen N parallelen Prozessen müssen insgesamt N^2 Nachrichten verschickt werden, was bei hohen N zu einem Kommunikationsengpass führt. Um diesen zu vermeiden (Punkt 1), soll eine Elektrostatik-Methode verwendet werden, die ohne FFTs auskommt. Die schnelle Multipol-Methode (FMM) ist eine solche Methode. Weil sie per Konstruktion besser skaliert als PME, sollen die für dynamische Protonierung nötigen Erweiterungen in eine bestehende FMM Implementation integriert werden. Dabei sollen alle für die Performance relevanten Teile auf der GPU laufen (siehe folgendes Kapitel).

Ablauf und Ergebnisse des Vorhabens

Die von uns für GROMACS entwickelte GPU-FMM haben wir so erweitert, dass sie auch die für dynamische Protonierung nötigen Energieterme berechnet. Gleichzeitig haben wir ein weiteres Modul für GROMACS implementiert, welches basierend auf diesen Energietermen die zeitliche Entwicklung der Protonierung bestimmt. Unsere Implementation haben wir sorgfältig getestet, u.a. indem wir die FMM-optimierten Energieterme mit denen aus PME verglichen haben.

Das Ergebnis dieses Vorhabens ist eine produktionsreife, leistungsfähige FMM-basierte Methode zur Simulation dynamischer Protonierung in GROMACS. Unsere erweiterte GPU-FMM baut auf der FMSolvr FMM Bibliothek auf, die am Jülich Supercomputing Centre (JSC) von Ivo Kabadshow und Holger Dachsel entwickelt wird. Wir haben diese FMM in enger Zusammenarbeit mit dem JSC auf die GPU portiert und für MD Simulationen mit GROMACS angepasst und erweitert. In Zusammenarbeit mit den GROMACS Entwicklern am KTH Royal Institute of Technology (Stockholm) ist ein offizielles Interface entstanden, mit dem FMM Code zur Verwendung in GROMACS eingebunden werden kann (ab GROMACS Version 2026).

Unsere Benchmarks zeigen, dass das Hinzufügen von 512 titrierbaren Gruppen zu einem MD System mit einer Million Atomen die Laufzeit im Vergleich zu einer regulären, FMM-basierten Simulation lediglich um weniger als 20% erhöht. Durch Integration unseres GPU-beschleunigten FMM-Codes in die Simulationssoftware GROMACS ist ein einfacher und müheloser Wechsel von Standard-Simulationen zu solchen mit dynamischer Protonierung möglich. Unser Code ist für jedermann frei verfügbar, und kann mit Dokumentation und Beispielen von unserer Webseite geladen werden. In umfangreichen Simulationen mit dynamischer Protonierung konnten wir zeigen, dass unsere Methode experimentell ermittelte Beobachtungsgrößen wie Säurekonstanten korrekt reproduziert. Die Methode und die darauf basierenden Simulationen haben wir in zwei Veröffentlichungen zusammengefasst.

Ausführliche Dokumentation (Tutorial), in dem die praktische Durchführung von FMM-basierten λ -Dynamik-Simulationen im Programm GROMACS beschrieben ist:

<https://grubmueller.pages.mpcdf.de/docs-gromacs-fmm-constantph/>

<https://www.mpinat.mpg.de/grubmueller/gromacs-fmm-constantph>

Kohnke B, Briand E, Kutzner C, Grubmüller H (2025) Constant pH Simulation with FMM Electrostatics in GROMACS. (B) GPU Accelerated Hamiltonian Interpolation. *J Chem Theory Comput* 21:1787-1804. doi:10.1021/acs.jctc.4c01319

Briand E, Kohnke B, Kutzner C, Grubmüller H (2025) Constant pH Simulation with FMM Electrostatics in GROMACS. (A) Design and Applications. *J Chem Theory Comput* 21:1762-1786. doi:10.1021/acs.jctc.4c01318

Teil II – Eingehende Darstellung

Zuwendungsempfänger: Max-Planck Gesellschaft,
MPI für Multidisziplinäre Naturwissenschaften

Projektleitung: Hon.-Prof. Dr. Helmut Grubmüller
Förderkennzeichen: BMBF-Projekt 16ME0713

Bewilligungszeitraum: 1.11.22 – 31.10.25

1 Einleitung

Die Dynamik von biologischen Makromolekülen wie Proteinen, DNA, RNA und deren Komplexen wird stark durch Protonierungsänderungen ihrer zahlreichen titrierbaren Gruppen beeinflusst, was ihre Empfindlichkeit gegenüber pH-Änderungen erklärt. Umgekehrt beeinflussen Änderungen sowohl der Struktur als auch der Umgebung eines Biomoleküls seinen Protonierungszustand.

Mit wenigen Ausnahmen berücksichtigen herkömmliche, Kraftfeld-basierte Molekulardynamik (MD) Simulationen diese Effekte nicht und ermöglichen auch keine Kopplung an einen pH-Puffer. Durch solch eine Kopplung werden Simulationen bei konstantem pH-Wert („Constant-pH-MD“) möglich, welche die Situation in der zellulären Umgebung wesentlich besser widerspiegeln als herkömmliche Methoden. Dazu müssen die titrierbaren Gruppen während der Simulation ihren Protonierungszustand ändern können.

Lambda-Dynamik¹² (λ -Dynamik) ist eine Methode, mit der die dynamische Protonierung und Deprotonierung von titrierbaren Gruppen wie Histidin (His), Asparaginsäure (Asp) oder Glutaminsäure (Glu) in einer MD Simulation berechnet werden kann. Dabei kommt eine kontinuierliche Titrationskoordinate λ zum Einsatz, um zwischen den Energiefunktionen zu interpolieren, die den protonierten und den deprotonierten Zustand einer titrierbaren Gruppe beschreiben. Ohne weitere Anpassungen führt eine kontinuierliche Titrationskoordinate jedoch dazu, dass ein großer Teil der Simulationszeit in unphysikalischen Zwischenzuständen verbracht wird. Dieses Problem kann mit einem Korrektur-Potenzial behoben werden, welches die physikalischen Endzustände begünstigt.⁵

Für die Interpolation zwischen Protonierungszuständen wurden zwei unterschiedliche, aber konzeptionell ähnliche Ansätze vorgeschlagen: die Interpolation der Energiefunktionen (*Hamilton-Interpolation*) sowie die *Ladungsinterpolation*.¹ Während die Hamilton-Interpolation der allgemeine, physikalisch kanonische Ansatz ist, sahen sich frühere Implementierungen mit rechnerischen Hürden konfrontiert: Die Notwendigkeit, in einem Simulationssystem mit S titrierbaren Gruppen (sog. „Sites“) für jeden Protonierungszustand das elektrostatische Potenzial auszurechnen, führte

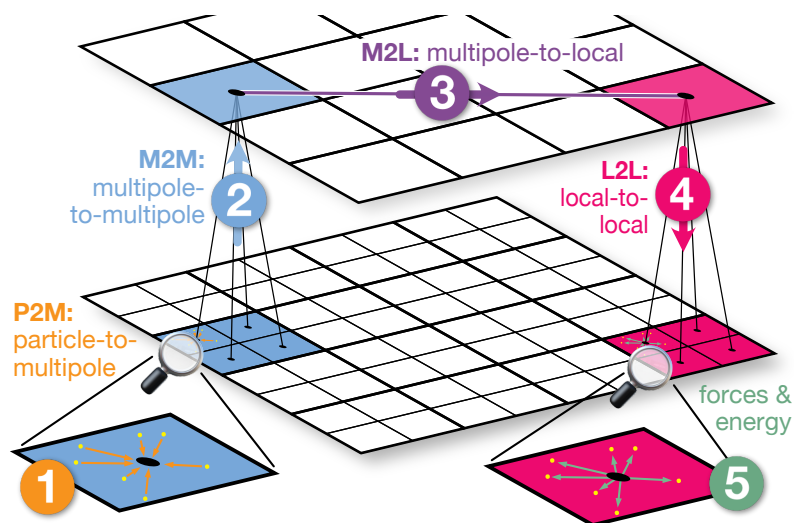


Abbildung 1: **FMM-Fernfeldberechnung.** Die einzelnen Schritte und Operatoren der Fernfeldberechnung, dargestellt für die beiden untersten Ebenen des FMM-Baumes: ① P2M: Auf der untersten Ebene werden die einzelnen Ladungen (gelbe Punkte) zu einer Multipoldarstellung zusammengefasst. ② M2M: Die Multipole der höheren Ebenen werden aus denen der unteren Ebenen (blau) abgeleitet. ③ M2L: Die Multipole (blau) werden auf jeder Ebene des Baums in lokale Momente (magenta) umgewandelt. ④ L2L: Die lokalen Momente werden den Baum hinunter bis zur untersten Ebene weitergegeben. ⑤: Die lokalen Momente werden verwendet, um den Beitrag des Fernfelds zu den Kräften auf die Teilchen zu berechnen.

zu einer S -fach erhöhten Rechenzeit.⁵ Aus Performance-Gründen greifen daher manche Implementierungen auf Ladungsinterpolation zurück, da diese eine größtenteils von S unabhängige Simulationsleistung ermöglicht.^{1,7}

Ein bedeutender Erfolg dieses Projekts ist, dass wir mithilfe unserer Implementierung zeigen konnten, dass eine gute Skalierung nahezu unabhängig von S auch mit Hamilton-Interpolation erreicht werden kann. Dies wurde möglich, weil wir zur Berechnung der Elektrostatik statt der in MD Codes üblicherweise eingesetzten Particle-Mesh-Ewald-Methode (PME) eine schnelle Multipolmethode (FMM) verwenden⁹⁻¹¹ (Abb. 1).

Aufgrund der verwendeten schnellen Fouriertransformationen (FFTs) wird PME immer weniger effizient, je mehr Prozessoren zum Einsatz kommen: In einer parallelen FFT auf p Prozessoren

Tabelle 1: **Vergleich der Skalierung von FMM und PME für die Berechnung von λ -Dynamik.**

Mit PME müssen für jede titrierbare Gruppe S zwei FFTs durchgeführt werden, was zu einem erheblichen Mehraufwand führt, der linear mit S wächst. Durch das Vermeiden von FFTs und ein effizientes Korrekturschema ist dieser Mehraufwand mit FMM jedoch sehr gering.

Skalierung	PME	FMM
Teilchen N	$\mathcal{O}(N \log N)$	$\mathcal{O}(N)$
Kommunikation, Prozessoren p	$\mathcal{O}(p^2)$	$\approx \mathcal{O}(p \log p)$
titrierbare Gruppen, Sites S	$\mathcal{O}(S)$	$\approx \mathcal{O}(\epsilon S)$

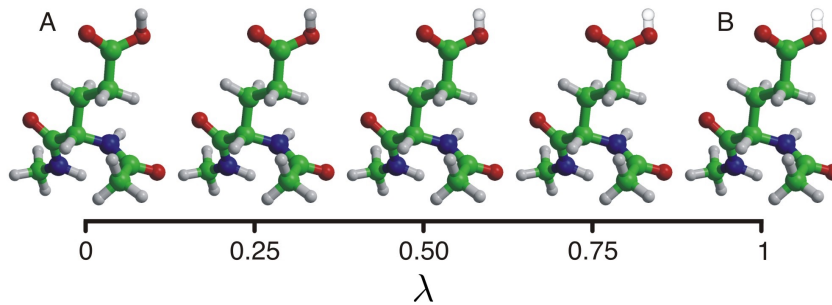


Abbildung 2: **Lambda-Dynamik.** Die dynamische Protonierung einer titrierbaren Gruppe (hier die Carboxygruppe oben) wird erreicht, indem die Energiefunktion H des Gesamtsystems aus der des protonierten H_A (links, $\lambda = 0$) und der des deprotonierten H_B Zustandes (rechts, $\lambda = 1$) zusammengesetzt wird, und zwar über einen λ Parameter: $H = (1 - \lambda)H_A + \lambda H_B$. (Bild © MPI für multidisziplinäre Naturwissenschaften, G. Groenhof.)

müssen insgesamt p^2 Nachrichten verschickt werden, was bei hohen p zu einem Kommunikations-Engpass führt.¹⁵ Im Gegensatz zu PME kommt die FMM ohne FFTs aus, und der größte Teil des Kommunikationsvolumens findet lokal statt. Tab. 1 vergleicht die Skalierungseigenschaften von FMM und PME.

2 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse dieses Teilvorhabens

2.1 Implementation eines Lambda-Dynamik Moduls für GROMACS

Wir haben ein Modul für λ -Dynamik entwickelt und in die MD Simulationssoftware GROMACS¹⁶ integriert, welches die zeitlichen Änderungen der Protonierung von Biomolekülen unter Verwendung der von der FMM gelieferten Energieterme berechnet. Dadurch sind Simulationen bei konstantem pH-Wert möglich. Diese erlauben unter anderem die Bestimmung der pH-abhängigen Protonierungswahrscheinlichkeiten der titrierbaren Gruppen im Protein sowie deren Dissoziationskonstanten (pK_a -Werte).

Die hier verwendete λ -Dynamik-Methode baut auf früheren Arbeiten auf.^{3-5,12} Dabei werden titrierbare Gruppen, oder allgemeiner „Sites,“ typischerweise Proteinreste, die ihre Gesamtladung bei (De-)Protonierung um ± 1 ändern, durch eine λ -abhängige Hamiltonfunktion $\mathcal{H}(\lambda)$ beschrieben.¹⁷ $\mathcal{H}(\lambda)$ ist eine gewichtete Summe der beiden Energiefunktionen, die den protonierten (\mathcal{H}_A) und den deprotonierten Zustand (\mathcal{H}_B) der Gruppe darstellen (Abb. 2). Die Variable λ interpoliert linear zwischen beiden chemisch Zuständen A und B, wobei einen Zustand auch als *Form* bezeichnen. Sites können nicht nur protonierbare Gruppen, sondern auch Peptid-Termini, ionisierbare Lipide und kleine Moleküle wie Liganden oder wirkstoffähnliche Verbindungen umfassen.

Im Gegensatz zu Methoden zur Berechnung der freien Energie wie der thermodynamischen Integration,¹⁸ die λ als Eingabeparameter verwenden, um die Energiefunktion vom Zustand A in den Zustand B zu überführen, wird λ hier als zusätzlicher dynamischer Freiheitsgrad behandelt^{12,17} – als Pseudopartikel mit Masse, Geschwindigkeit und damit auch kinetischer Energie $\frac{m}{2}\dot{\lambda}^2$. Die auf das λ -Pseudopartikel wirkenden Kräfte, gegeben durch $F_\lambda = -\partial\mathcal{H}/\partial\lambda$,

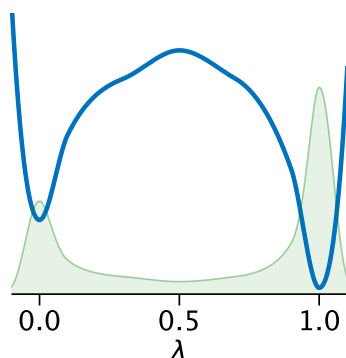


Abbildung 3: **Skizze des $V(\lambda)$ Potentials (blau)**, mit der sich daraus ableitenden Wahrscheinlichkeitsverteilung der λ Werte in grün.

leiten sich aus der folgenden, erweiterten Energiefunktion ab

$$\mathcal{H}(\lambda) = (1 - \lambda)\mathcal{H}_A + \lambda\mathcal{H}_B + \frac{1}{2}m\lambda^2 + V(\lambda). \quad (1)$$

Mit dem Term $V(\lambda)$ lässt sich die Dynamik des λ -Teilchens entsprechend der chemischen und physikalischen Vorgaben steuern (Abb. 3). $V(\lambda)$ besteht aus mehreren unterschiedlichen Beiträgen. Insbesondere modellieren wir mit $V(\lambda)$ die chemische Energiedifferenz zwischen dem protonierten und dem deprotonierten Zustand, die im Kraftfeld nicht eingeschlossen ist. Der gewählte pH-Wert wird berücksichtigt, indem für jede Art von titrierbarer Gruppe (His, Asp, Glu) die freie Energie der Protonierung vorgegeben wird. Des weiteren fokussiert $V(\lambda)$ die λ -Koordinate auf Werte nahe 0 oder 1, die vollständig protonierte bzw. deprotonierte Zustände darstellen. Intermediäre, unphysikalische Zustände werden hingegen unterdrückt. Darüber hinaus schafft $V(\lambda)$ eine Barriere zwischen dem protonierten und dem deprotonierten Zustand, wodurch sich die Übergangskinetik steuern lässt.

2.2 Multiple Accelerated Hamiltonian Interpolation („MAHI“)

Wir haben die bestehende, GPU-optimierte FMM plangemäß um die Berechnung derjenigen Energierterme erweitert, die für λ -Dynamik Simulationen erforderlich sind. Durch ein geschickt gewähltes Berechnungsschema wird dies mit nur minimalem Mehraufwand gegenüber der regulären FMM erreicht (Abb. 4 und 5).

Dabei haben wir beide Ansätze zur Berechnung der dynamischen Protonierung, Hamilton- und Ladungsinterpolation, in unsere GPU-optimierte FMM integriert. Durch umfangreiche Optimierungen ist unsere Hamilton-Interpolation fast so schnell wie Ladungsinterpolation. Wir konnten mit Benchmarks zeigen, dass die Einführung von z.B. 512 titrierbaren Gruppen in einem System mit einer Million Atomen die Laufzeit um weniger als 20% erhöht (Abb. 6).

Abb. 7 zeigt als Beispiel die Titration einer Asp-Gruppe. Links ist ein Ausschnitt aus dem zeitlichen Verlauf des λ -Wertes bei pH = 4.0 zu sehen. Man sieht, dass die Gruppe über einen Zeitraum von ca. 7 ns mehrere Male zwischen dem protonierten ($\lambda = 0$) und dem deprotonierten ($\lambda = 1$) Zustand wechselt. Auf der rechten Seite ist gezeigt, wie groß der Anteil des deprotonierten Zustandes von Asp in Abhängigkeit des pH Wertes ist. Dazu wurden für fünf verschiedene pH Werte jeweils mehrere Repliken (leicht unterschiedliche Kopien des Simulationssystems)

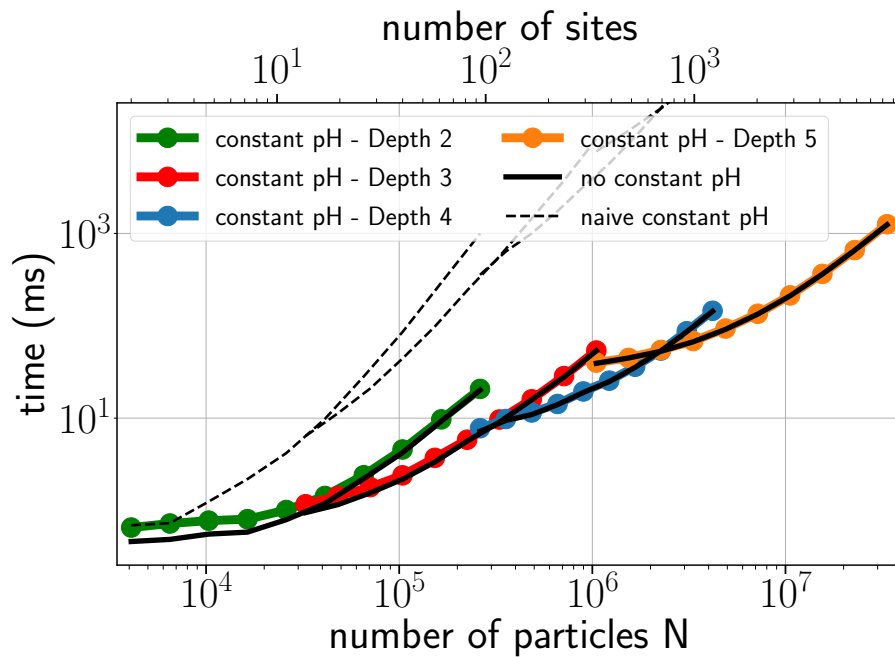


Abbildung 4: Laufzeit der regulären FMM (schwarz) und der für λ -Dynamik erweiterten FMM (farbig). Dieser Benchmark mit zufällig verteilten Ladungen verwendet eine typische Anzahl von einer titrierbaren Gruppe mit zehn Atomen je 4000 Atome im Gesamtsystem. Durch sorgfältige Code-Optimierung ist der mit λ -Dynamik einhergehende Mehraufwand für Systeme ab ca. 10^5 Teilchen vernachlässigbar klein.

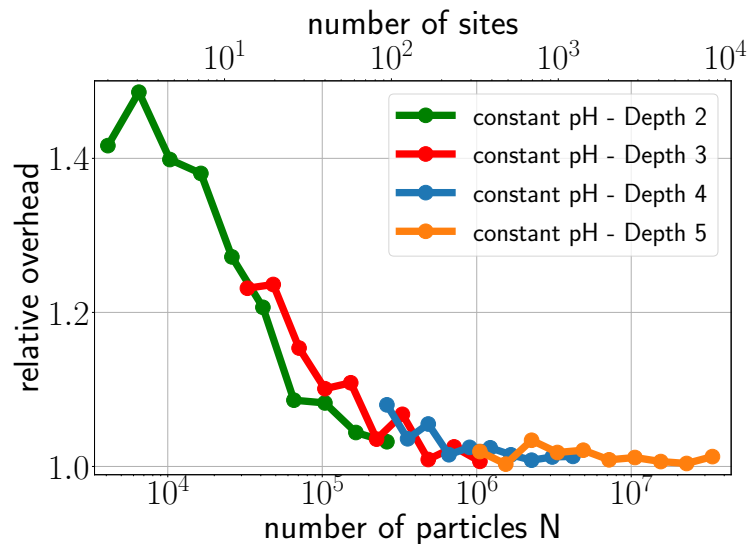
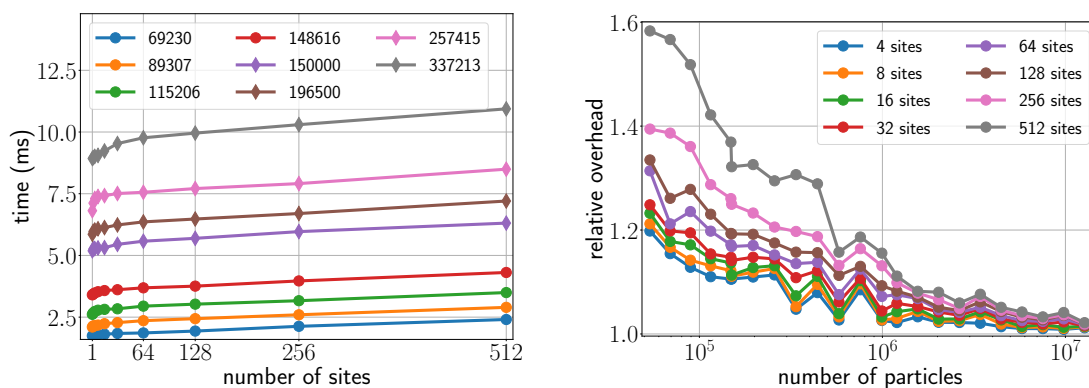


Abbildung 5: Relativer Mehraufwand durch die λ -Dynamik Erweiterungen. Wie Abb. 4, aber relativ zur regulären FMM Laufzeit.



(a) FMM-Laufzeit als Funktion der Zahl der titrierbaren Gruppen für verschiedene Partikelzahlen (s. Legende oben). Rauten stehen für Tiefe 3, Kreise für Tiefe 4. (b) Relativer Aufwand für das Hinzufügen von titrierbaren Gruppen als Funktion der MD Systemgröße. Die Basislinie entspricht einem Lauf ohne konstante pH-Funktionalität.

Abbildung 6: Skalierung des FMM-basierten MAHI-Schemas für unterschiedliche Zahlen von titrierbaren Gruppen und Atomen. Die Ergebnisse sind jeweils für die optimale Tiefe des FMM-Baums gezeigt.

simuliert (blaue Punkte) und daraus die mittlere Zahl der protonierten und deprotonierten Zustände berechnet (schwarze Punkte).

2.3 Erweiterung zweier Kraftfelder für Simulationen bei konstantem pH

Wir haben zwei der gebräuchlichsten Kraftfelder für biomolekulare Simulationen, Amber99sb*-ILDN^{2,14} und CHARMM36m,⁶ so erweitert, dass sie für Berechnungen bei konstantem pH-Wert verwendbar sind (Abb. 8). Durch die nahtlose Integration in die Software GROMACS können jetzt MD Simulationen bei konstantem pH Wert ohne großen Aufwand durchgeführt werden. Die erweiterten Kraftfelder haben wir unter <https://grubmuller.pages.mpcdf.de/docs-gromacs-fmm-constantph/docs/cph/forcefields/> zum Download bereit gestellt.

2.4 Durchführung umfangreicher Tests

Zur Überprüfung der Korrektheit der Implementierung wurden sowohl für das FMM- als auch für das λ -Dynamik-Modul umfangreiche Tests durchgeführt und in Form von Unit-Tests im Code abgebildet. Diese Tests bauen genau wie die anderen GROMACS Unit-Tests auf dem „Google Test“-Framework auf.¹ Die Tests können jederzeit mit dem Befehl `make tests` für jede GROMACS-Installation ausgeführt werden, um sicherzustellen, dass alle Module auf der verwendeten Hardware korrekte Ergebnisse liefern.

Über die Unit-Tests hinaus, die jeweils genau eine bestimmte Funktionalität testen, wurden des weiteren umfangreiche Titrationssimulationen zur Bestimmung des pK_a -Wertes von Histidin, Asparaginsäure und Glutaminsäure in verschiedenen Proteinumgebungen durchgeführt wie z.B. für Pentapeptide, Cardiotoxin, Lysozym und Staphylokokken-Nuklease (SNase). Die ermittelten

¹<https://github.com/google/googletest>

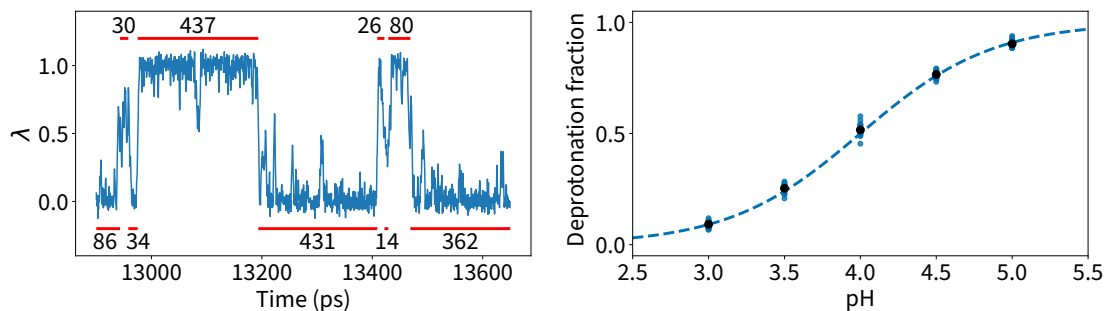


Abbildung 7: **Titration einer Asp-Gruppe.** Links: Beispiel des zeitlichen Verlaufs des λ -Wertes bei pH = 4. Rote Intervalle zeigen die Zustände, die als protoniert bzw. deprotoniert gelten. Rechts: Resultierende Titrationskurve, wobei blaue Punkte den Anteil der deprotonierten Zustände für jede Replik an jedem pH-Punkt zeigen. Schwarze Punkte zeigen den Durchschnitt aller Repliken. Die gestrichelte blaue Linie ist eine an die Datenpunkte gefittete Henderson-Hasselbalch Gleichung, eine Formel zur Modellierung des Zusammenhangs zwischen pH-Wert und der Lage des Gleichgewichts einer Säure-Base-Reaktion.

pK_a -Werte stimmen gut mit NMR-Daten überein, soweit diese verfügbar sind (Abb. 7), und auch mit pK_a -Werten aus anderen Implementierungen.

2.5 Charakterisierung der Unterschiede zwischen Hamilton- und Ladungsinterpolation

Da unsere FMM sowohl Ladungs- als auch Hamilton-Interpolation ermöglicht, konnten wir die Unterschiede im Protonierungsverhalten in Abhängigkeit vom gewählten Interpolationschema untersuchen. Dabei konnten wir zeigen, dass im Vergleich zur Ladungsinterpolation die Hamilton-Interpolation zu einer schnelleren Protonierungsdynamik führt und damit zu einer größeren Simulationseffizienz (Abb. 9).

Zuerst haben wir die Unterschiede zwischen den Interpolations-Schemata für einen einzelnen Glu-Rest in Wasser untersucht. Abbildung 9A zeigt die kumulative Anzahl der Übergänge zwischen protonierten und deprotonierten Zuständen für beide Schemata im Vergleich. Mit etwa zwölf Übergängen pro Nanosekunde für Hamilton-Interpolation gegenüber nur vier für Ladungsinterpolation unterscheiden sich die Übergangsraten erheblich. Die entspricht einer zusätzlichen Barriere von etwa $1 k_B T$.

Anschließend haben wir am Beispiel des SNase Systems die Relevanz dieser zusätzlichen Barriere für größere Proteine untersucht. In der Proteinumgebung variieren die Übergangsraten für jeden Rest aufgrund der unterschiedlichen lokalen Umgebungen. Beispielsweise weist Glu 57 sowohl für Hamilton- als auch für Ladungsinterpolation die höchste Übergangsrate auf (Abb. 9B und C) mit insgesamt über 600 bzw. 300 Übergängen, während Glu 10 in 60 ns weniger als 300 Übergänge aufweist (Abb. 9D). Während die Übergangsrate für einen bestimmten Rest zwischen einzelnen Simulationen und im Laufe der Zeit variiert, ist die durchschnittliche Rate (Abb. 9C) für Hamilton-Interpolation durchweg höher als für Ladungsinterpolation.

Insgesamt konnten wir zeigen, dass mit Hamilton-Interpolation die Übergangsraten zwischen

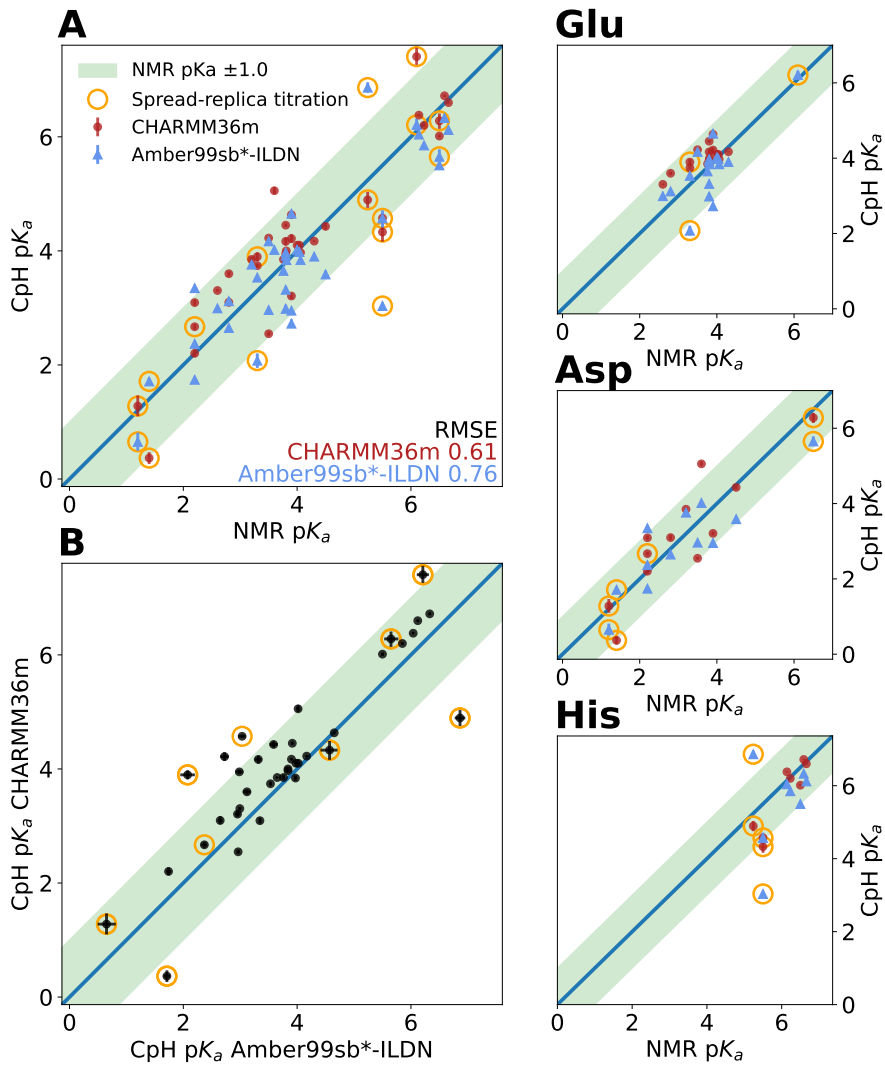


Abbildung 8: **Computergestützte vs. experimentelle Titration für verschiedene MD-Systeme und Kraftfelder.** Mit unserer Implementation berechnete pK_a -Werte für die beiden Kraftfelder CHARMM36m (rot) und Amber99sb*-ILDN (blau) im Vergleich zu NMR Messungen (schwarz). Die berechneten pK_a -Werte stimmen generell sehr gut mit den experimentell ermittelten überein. Der grüne Bereich zeigt eine Abweichung von ≤ 1 pK_a -Punkten an. Orange Kreise markieren titrierbare Gruppen mit großer Variation im Titrationsverhalten. (A): Vergleich der pK_a -Werte zwischen Experiment und Simulation für alle titrierbaren Gruppen, rechts aufgeteilt in spezifische Gruppen Glu, Asp und His. (B): Vergleich zwischen CHARMM36m und Amber99sb*-ILDN.

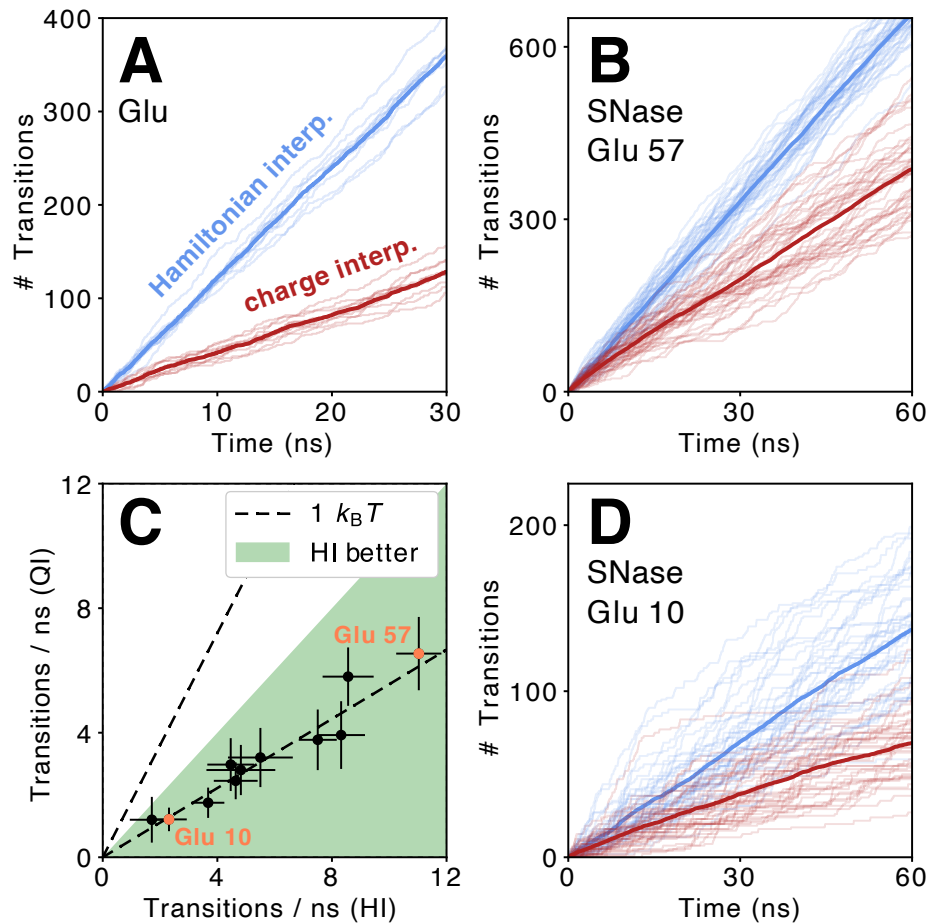


Abbildung 9: **Vergleich von Hamilton- und Ladungsinterpolation.** Gesamtzahl der protoniert/deprotoniert Übergänge für einen einzelnen Glu-Rest in Wasser (A) und für Glu 57 (B) und Glu 10 (D) im SNase-Protein. Transparente Linien entsprechen jeweils einer einzelnen Simulation, durchgezogene Linien dem Durchschnitt aller Simulationen; Hamilton-Interpolation in Blau und Ladungsinterpolation in Rot. (C) vergleicht die Übergangsraten aller Glu-Gruppen im SNase Protein. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der einzelnen Simulationen an. Die gestrichelte Linie zeigt, um wie viel eine zusätzliche Barriere von $1 k_B T$ die Übergangsraten verringern würde.

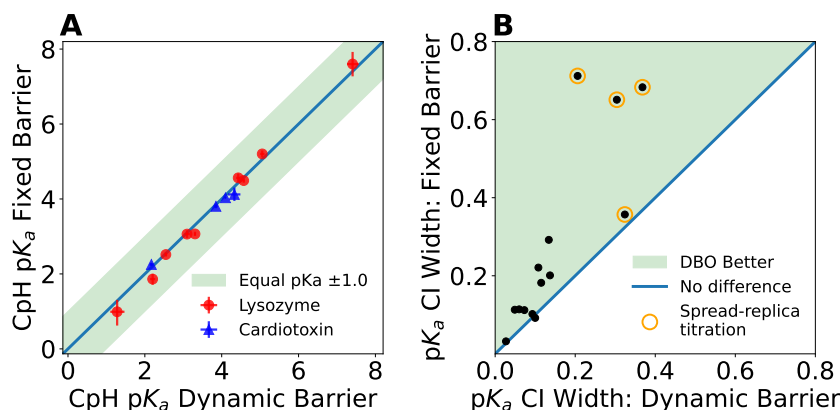


Abbildung 10: **Auswirkung der dynamischen Optimierung der λ -Barriere auf die Titration von Cardiotoxin V (blau) und HEWL (rot).** (A): Vergleich der pK_a -Werte mit und ohne dynamische Optimierung, wobei der grüne Bereich eine Differenz von ≤ 1 pK_a -Punkten anzeigt. Die Fehlerbalken sind 95% Konfidenzintervalle. (B): Vergleich der Genauigkeit in Bezug auf die Breite des pK_a -Konfidenzintervalls. Gruppen, für die das Konfidenzintervall mit dynamischer Optimierung enger ist, liegen im grünen Bereich. Orange Kreise markieren titrierbare Gruppen mit großer Variation im Titrationsverhalten.

den protonierten und deprotonierten Zuständen höher sind als mit Ladungsinterpolation, was für die Auswertung dieser Simulationen im Allgemeinen von Vorteil ist.

2.6 Verbesserte Methoden für Simulationen mit dynamischer Protonierung

Wir haben verbesserte Methoden zur Durchführung von Simulationen (z.B. automatische Korrektur der Zustandssumme und Dynamische Anpassung der λ -Barriere, Abb. 10) und zur Auswertung von Constant-pH-Simulationen (z.B. Titration sortiert in FMA^{8,13}-Fenster zur Bestimmung der Kopplung zwischen Konformation und Protonierung) entwickelt. Diese Methoden erleichtern es dem Benutzer, Simulationen bei konstantem pH-Wert durchzuführen und unterstützen ihn bei der Auswertung der Ergebnisse.

2.7 Dokumentation

Wir haben eine ausführliche Dokumentation inklusive Tutorials erstellt, in denen die praktische Durchführung von FMM-basierten λ -Dynamik-Simulationen in GROMACS beschrieben ist: <https://grubmueller.pages.mpcdf.de/docs-gromacs-fmm-constantph/>

2.8 Offizielle GROMACS Schnittstelle für FMM Anbindung

In Zusammenarbeit mit anderen GROMACS-Entwicklern der KTH Stockholm wurde eine FMM-Schnittstelle in GROMACS integriert, die ab der GROMACS Version 2026.0 in der offiziellen Distribution verfügbar ist² Darüber können verschiedene Bibliotheken angebunden werden, die die elektrostatischen Wechselwirkungen per FMM berechnen.

²<https://manual.gromacs.org/current/reference-manual/special/fmm.html>

3 Verwendung der Zuwendung

Mit den Mitteln dieses Projekts ist ein Postdoktorand (75%) und eine Doktorandin finanziert worden. Die Doktorarbeit wurde bereits vor Projektende abgeschlossen und veröffentlicht (Publikationen siehe unten). Ferner wurde das Projekt zeitweise durch eine wissenschaftliche Hilfskraft unterstützt.

4 Erzielte Ergebnisse mit Gegenüberstellung der vereinbarten Ziele

Siehe oben, Abschnitt 2.

5 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Alle im Rahmen des Projekts durchgeführten Arbeiten waren wissenschaftlich notwendig und angemessen.

6 Voraussichtliche Nutzen

Siehe dazu insbesondere die Erläuterungen in den obigen Abschnitten 2.6 bis 2.8.

7 Während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordenen Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Fortschritte an anderen Stellen, welche mit den in diesem Projekt vergleichbar wären, sind dem Zuwendungsempfänger nicht bekannt.

8 Erfolgte und geplante Veröffentlichungen der Projektergebnisse

Die Ergebnisse dieses Projekts wurden in zwei Journal-Veröffentlichungen sowie einer Doktorarbeit ausführlich dargestellt.

- E. Briand, B. Kohnke, C. Kutzner, and H. Grubmüller. Constant pH Simulation with FMM Electrostatics in GROMACS. (A) Design and Applications. *J. Chem. Theory Comput.*, 21(4): 1762–1786, 2025.
- B. Kohnke, E. Briand, C. Kutzner, and H. Grubmüller. Constant pH Simulation with FMM Electrostatics in GROMACS. (B) GPU Accelerated Hamiltonian Interpolation. *J. Chem. Theory Comput.*, 21(4): 1787–1804, 2025

- E. Briand. Constant pH Molecular Dynamics through λ -dynamics. PhD thesis, University of Göttingen, GAUSS IMPRS-PBCS, 2025

Literatur

- [1] N. Aho, P. Buslaev, A. Jansen, P. Bauer, G. Groenhof, and B. Hess. Scalable Constant pH Molecular Dynamics in GROMACS. *J. Chem. Theory Comput.*, 18(10):6148–6160, 2022.
- [2] R. B. Best and G. Hummer. Optimized molecular dynamics force fields applied to the helix-coil transition of polypeptides. *J. Phys. Chem. B*, 113(26):9004–9015, 2009.
- [3] P. Dobrev, S. Donnini, G. Groenhof, and H. Grubmüller. Accurate three states model for amino acids with two chemically coupled titrating sites in explicit solvent atomistic constant pH simulations and pK_a calculations. *J. Chem. Theory Comput.*, 13(1):147–160, 2017.
- [4] P. Dobrev, S. P. B. Vemulapalli, N. Nath, C. Griesinger, G. Groenhof, and H. Grubmüller. Probing the accuracy of explicit solvent constant pH molecular dynamics simulations for peptides. *J. Chem. Theory Comput.*, 16(4):2561–2569, 2020.
- [5] S. Donnini, F. Tegeler, G. Groenhof, and H. Grubmüller. Constant pH molecular dynamics in explicit solvent with λ -dynamics. *J. Chem. Theory Comput.*, 7:1962–1978, 2011.
- [6] J. Huang, S. Rauscher, G. Nawrocki, T. Ran, M. Feig, B. L. De Groot, H. Grubmüller, and A. D. MacKerell. CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. *Nat. Methods*, 14(1):71–73, 2017.
- [7] Y. Huang, W. Chen, J. A. Wallace, and J. Shen. All-atom continuous constant pH molecular dynamics with particle mesh Ewald and titratable water. *J. Chem. Theory Comput.*, 12(11):5411–5421, 2016.
- [8] J. S. Hub and B. L. de Groot. Detection of Functional Modes in Protein Dynamics. *PLoS Comput. Biol.*, 5(8):1–13, 08 2009.
- [9] I. Kabadshow. *Periodic Boundary Conditions and the Error-Controlled Fast Multipole Method*, volume 11. Forschungszentrum Jülich, 2012.
- [10] B. Kohnke, C. Kutzner, and H. Grubmüller. A GPU-Accelerated Fast Multipole Method for GROMACS: Performance and Accuracy. *J. Chem. Theory Comput.*, 16(11):6938–6949, 2020.
- [11] B. Kohnke, C. Kutzner, A. Beckmann, G. Lube, I. Kabadshow, H. Dachsel, and H. Grubmüller. A CUDA fast multipole method with highly efficient M2L far field evaluation. *Int. J. High Perform. Comput. Appl.*, 35(1):97–117, 2021.
- [12] X. Kong and C. L. Brooks. λ -Dynamics: A new approach to free energy calculations. *J. Chem. Phys.*, 105(6):2414–2423, 1996.
- [13] T. Krivobokova, R. Briones, J. S. Hub, A. Munk, and B. L. de Groot. Partial Least-Squares Functional Mode Analysis: Application to the Membrane Proteins AQP1, Aqy1, and CLC-ec1. *Biophys. J.*, 103(4):786–796, 2012.

- [14] K. Lindorff-Larsen, S. Piana, K. Palmo, P. Maragakis, J. L. Klepeis, R. O. Dror, and D. E. Shaw. Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field. *Proteins Struct. Funct. Bioinf.*, 78(8):1950–1958, 2010.
- [15] S. Páll, M. J. Abraham, C. Kutzner, B. Hess, and E. Lindahl. *Tackling Exascale Software Challenges in Molecular Dynamics Simulations with GROMACS*, page 1–25. Springer International Publishing Switzerland, 2015.
- [16] S. Páll, A. Zhmurov, P. Bauer, M. Abraham, M. Lundborg, A. Gray, B. Hess, and E. Lindahl. Heterogeneous parallelization and acceleration of molecular dynamics simulations in GROMACS. *J. Chem. Phys.*, 153(13):134110, 2020.
- [17] B. Tidor. Simulated annealing on free energy surfaces by a combined molecular dynamics and Monte Carlo approach. *J. Phys. Chem.*, 97(5):1069–1073, 1993.
- [18] W. F. van Gunsteren, T. C. Beutler, F. Fraternali, P. M. King, A. E. Mark, and P. E. Smith. Computation of free energy in practice: choice of approximations and accuracy limiting factors. *Computer simulation of biomolecular systems, theoretical and experimental applications*, 2(3):15–348, 1993.