

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas

Análisis de estructuras de dDMPs obtenidos por métodos de mecánica cuántica

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

Licenciado en Física

por

Maribel Sánchez Campos

asesorada por

Dr. Valeri Poltev

Dra.Dolores García Toral

Puebla Pue. DICIEMBRE 2013



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas

Análisis de estructuras de dDMPs obtenidos por métodos de mecánica cuántica

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

Licenciado en Física

por

Maribel Sánchez Campos

asesorada por

Dr. Valeri Poltev

Dra.Dolores García Toral

Puebla Pue. DICIEMBRE 2013

Título: Análisis de estructuras de dDMPs obtenidos por métodos de mecánica cuántica **Estudiante:** MARIBEL SÁNCHEZ CAMPOS

COMITÉ

Dr. Eduardo Gonzáles Jiménez Presidente

Dr. Alexandra Deriabina Secretario

MC. Pablo Martínez Garcilazo Vocal

Dra. Ma. Luisa Roxana Licona Ibarra Suplente

Suplente

Agradecimientos

A mis papás por su apoyo, la confianza depositada en mí y el amor que siempre me han dado, ya que sin todo eso no hubiese sido posible todo lo que eh logrado y tengo hoy. A mis hermanos por todo su cariño y respecto que me han mostrado siempre y a todos los demás miembros de mi familia que me quieren y los quiero mucho. A mis asesores de tesis:

El Dr. Valery Poltev por compartir sus conocimientos de esta área de la física en cada una de sus clases, por su paciencia y apoyo.

La Dra. Dolores García Toral por su apoyo, paciencia y la disponibilidad que siempre mostro para resolver mis dudas.

A cada uno de mis amigos que siempre tuvieron las palabras adecuadas para levantarme el ánimo cada que lo necesitaba.

Y a la VIEP por financiar el proyecto del cual formar parte esta tesis.

Índice general

Ag	grade	ecimientos	III
01	ojetiv	VOS	XI
Re	esum	en 2	XIII
In	trod	ıcción	xv
1.	Ácio	lo desoxirribonucleico	1
	1.1.	Estructura del ADN	1
	1.2.	Descripción de subunidades del ADN	3
		1.2.1. Bases Nitrogenadas	3
		1.2.2. Pentosa	4
		1.2.3. Nucleósido	5
		1.2.4. Grupo fosfato	6
		1.2.5. Nucleótidos	6
		1.2.6. Esqueleto azúcar fosfato	8
	1.3.	Fragmentos mínimos de la cadena del ADN	9
2.	Met	odología utilizada en el estudio de fragmentos mínimos de la cadena	
	de A	ADN	11
	2.1.	Métodos Cuánticos	11
	2.2.	Métodos ab initio	12
		2.2.1. Métodos Hartree-Fock	12
		2.2.2. Correlación electrónica	12
		2.2.3. Teoría de perturbaciones de $M\phi$ ller-Plesset	13
	2.3.	La Teoría del funcional de la densidad	13
		2.3.1. Teorema de Hohenberg-Kohn	13
		2.3.2. El primer Teorema de Hohenberg-Kohn	14
		2.3.3. El segundo Teorema de Hohenberg-Kohn	16
		2.3.4. Ecuaciones de Kohn-Sham	16
	2.4.	Metodología para el estudio de desoxidinucleosidos	18
3.	Res	ultados	21
	3.1.	Análisis de fragmentos mínimos de cadena única optimizados con	
		cálculos MP2 vs DFT	21

	3.1.1. Interacciones por Apilamiento	24
3.2.	Análisis de fragmentos mínimos para cadena única optimizados	
	con DFT	26
3.3.	Cálculos DFT para fragmentos mínimos de la doble cadena	28
Conclus	ziones	20
Conclus	SIONES	JJ

Índice de figuras

1.1.	Formas posibles del ADN	3
1.2.	Conjunto de bases nitrogeadas	4
1.3.	Tipo de pentosa presente en el ARN y en el ADN respectivamente	5
1.4.	Formas comunes que puede tomar el anillo de azúcar	5
1.5.	Estructura del nucleosido con citosina como base nitrogenada. \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	6
1.6.	Estructura del nucleosido con Adenina como base nitrogenada	6
1.7.	Estructura del nucleótido.	7
1.8.	Estructuras de los nucleótidos.	8
1.9.	Dinucleósido de Monofosfato (dDMP) con designación de los ángulos de torsión del es-	
	queleto azúcar-fosfato.	9
2.1.	Desoxidinucleósido monofosfato con catión de sodio	19
3.1.	Estructura del dGpdC correspondiente a la familia BI, (a) con optimización MP2 y (b)	
	correspondiente a una secuencia de cálculos DFT a partir de la geometría optimizada con cálculo MP2.	23
3.2.	Estructura del dGpdC con optimización MP2, se muestran las distancias átomo-átomo en el apilamiento de las bases cómo resultado de este cálculo.	24
3.3.	El apilamiento de las bases nitrogenadas. Nota: éstas exhiben la tendencia a apilarse unas sobre otras, con una orientación más o menos perpendicular al eje de la hélice, para	25
24	mantener la estructura del ADN	20
3.4.	Estructura del dApd I correspondiente a la familia BI, (a) con primera optimización DF I u (b) correspondiente a los cólculos de la segunda entimización	97
35	Deble cadena con pares de bases A-T	20
3.5. 3.6	Estructure del d'AndT en la deble hélice correspondiente e la familie PL con matedología	23
J .0.	DFT/PW91PW91/TZP	30
3.7.	Estructura con DFT para el dApdT en la doble hélice, bajo tres secuencias de optimiza- ción, correspondiente a la familia BI.	30
3.8.	Apareamiento A=T, A través de dos puentes de hidrógeno. Estos se muestran con líneas	21
2.0	En este estemeture melecular, electromas la deble se dere nore el d'AndT con entimización	51
J.J.	DFT y se observa que las bases se encuentran aproximadamento en el mismo plano	34
3 10	Estructura de la doble cadena para el d'ApdT con DET se muestra la superpecieión de	04
0.10.	bases con respecto al método de cálculo.	34

3.11.	Estructura de la doble cadena para el dApdT, mostrando la no planaridad de las bases	
	en el apareamiento de estas y el no apilamiento. Resultado obtenido con el programa	
	GAUSSIAN	35

VIII

Índice de tablas

3.1.	Valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para el dGpdC con cálculo	
	MP2 y los calculos DFT	22
3.2.	Empaquetamiento del anillo de azúcar para los cálculos MP2 y DFT para el dGpdC	23
3.3.	Distancias átomo-átomo en el apilamiento de las bases para el dGpdC	24
3.4.	Valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para las conformaciones del	
	dApdT con optimización DFT/PW91/TZP	26
3.5.	Empaquetamiento del azúcar para el d Apd T con cálculos DFT/PW91/TZP $\ \ . \ . \ .$	27
3.6.	Resultados de los cálculos DFT para doble cadena con d Ap dT $\ .$	28
3.7.	Empaquetamiento del Azúcar para el dApdT en la doble cadena	29
3.8.	Distancias promedio de átomo-átomo entre pares de bases	31
3.9.	Secuencia de cálculos para el dApdT con ADF y GAUSSIAN	32
3.10	. Empaquetamiento del azúcar para la doble cadena del dApdT, cálculos ADF y cálculos	
	GAUSSIAN	33
3.11	. Energías en kcal/mol para los cálculos con ADF y GAUSSIAN	35

Objetivos

Objetivo general

 Análisis de estructuras para fragmentos mínimos de la cadena del ADN optimizados por métodos de Mecánica Cuántica a diferentes niveles, DFT/PW91PW91/DZVP y MP2/6-311++G**

Objetivos específicos

- Preparación de archivos a partir del banco de datos de ácidos nucleicos para la Optimización de su geometría por diferentes métodos de mecánica cuántica.
- Medición de parámetros geométricos para las estructuras optimizadas por métodos de mecánica cuántica.
- Comparación de parámetros conformacionales de estas estructuras obtenidas por dos métodos diferentes y el análisis de discrepancias entre dichas estructuras.

Resumen

Uno de los objetivos generales para los investigadores es entender el papel de los ácidos nucleicos como interacciones de pequeños bloques, y el comportamiento en las conformaciones preferenciales en el ADN con relación a la secuencia específica de las bases, dado que es un paso importante hacia el entendimiento de los mecanismos en los procesos genéticos y comprensión de la vida misma. En ésta tesis se hace un análisis comparativo de estructuras para fragmentos mínimos de la hélice doble del ADN, llamados monofosfato desoxidinucleosido (dDMP por sus siglas en inglés). Se considera el estudio de las características presentes en una sola hebra de la hélice, por medio del estudio de fragmentos mínimos y fragmentos de la doble cadena del ADN, las moléculas de dDMP fueron optimizados por métodos de Mecánica Cuántica bajo una serie de cálculos, con la teoría del funcional de la densidad (DFT) y teoría de perturbaciones (MP2). Se realizaron las respectivas mediciones de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato que nos da información fundamental sobre la conformación del dDMP, las características generales del empaquetamiento del azúcar y la distancia entre bases. Como bloque único obtenemos características generales que permiten la comparación de parámetros geométricos de las estructuras del dDMP optimizadas por dichos métodos cuánticos.

Introducción

Una de las áreas más fascinantes de la investigación moderna es la de los ácidos nucleicos, que transportan los códigos genéticos de los sistemas vivientes. Debido a la información contenida en la estructura de los ácidos nucleicos, un organismo es capaz de biosintetizar diferentes tipos de proteína (pelo, piel, músculos, enzimas, etc.).

Existen dos tipos principales de ácidos nucleicos, los ácidos desoxirribonucleicos (ADN) y los ácidos ribonucleicos (ARN). El ADN se encuentra principalmente en el núcleo de las células; transporta el código genético y puede reproducir o replicarse a sí mismo con el propósito de formar nuevas células o para la reproducción del organismo.

En 1953 J.D Watson y F. H. C. Crick propusieron un modelo para el ADN que representa su comportamiento, este modelo será descrito con más detalle en el capítulo uno; el modelo es una doble hélice de dos moléculas antiparalelas del ADN unidas por enlaces de hidrogeno [antiparalelas significa que las dos moléculas del ADN son paralelas pero están alineadas en direcciones opuestas; cada extremo de la doble hélice consiste por tanto en un extremo 3' (de una molécula) y un extremo 5' (de la otra molécula)]. El apareamiento de las bases explica por qué cantidades iguales de adenina y timina, cantidades iguales de citosina y guanina se encuentran en el ADN. Así mismo es la secuencia de las bases las que determinan el código genético, se encuentran sólo cuatro bases principales en el ADN, dos de ellas son pirimidinas y dos son purinas y en este trabajo consideramos a los dDMP (Dinucleosido Monofosfato) como las unidades mínimas que lo constituyen.

Entender el papel de los ácidos nucleicos como interacción de bloques y sus interacciones en las conformaciones preferenciales del ADN en relación a la secuencia especifica de las bases es un paso importante hacia el entendimiento de los mecanismos de los procesos genéticos y comprensión de la vida misma. Para evaluar los detalles de los procesos moleculares y comprender la estructura y características es necesario hasta hoy en día utilizar los métodos de mecánica cuántica. La utilización de los llamados métodos ab initio nos restringe a moléculas menores. Esa es la razón de la utilización de la aproximación DFT (Density Functional Theory) ya que tiene un buen compromiso entre la exactitud, rapidez y la posibilidad de los recursos de cómputo para sistemas moleculares no muy grandes.

En esta tesis se hace un análisis comparativo de estructuras para fragmentos mínimos de la cadena del ADN optimizados por métodos de Mecánica Cuántica bajo una serie de cálculos, con la teoría del funcional de la densidad (DFT), utilizando el programa ADF (Amsterdam Density Functional), DFT/PW91PW91/DZVP y cálculos ab-initio MP2/6- $311++G^{**}$ utilizando el programa GAUSSIAN. Las consideraciones para cada tipo de cálculo serán descritas en el capítulo dos.

Los dDMP representan fragmentos mínimos del ADN de una sola hebra y pueden considerarse como unidades mínimas portadoras de la información estructural de una conformación particular adoptada por el ADN. Observaciones que se han hecho ya en trabajos anteriores [1],[2], llevaron a los investigadores a concluir que la cadena azúcar fosfato es la contribución principal de la estructura tridimensional de cadena única del ADN; debido a que los dDMP pueden ser descritos totalmente por los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato, el empaquetamiento de los dos anillos de la desoxirribosa, y los dos ángulos de torsión glucosidicos, uno por base. En el capítulo tres se encuentran las comparaciones de parámetros geométricos de las estructuras optimizadas por dichos métodos, así como características generales del empaquetamiento del azúcar, la estructura del esqueleto azúcar fosfato y la distancia entre bases.

XVI

Capítulo 1

Ácido desoxirribonucleico

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la molécula individual más importante de las células vivas y contiene toda la información que especifica la célula. En este capítulo se describe la estructura de los nucleótidos y la forma de unirse para formar un polinucleótido; en esta sección también se muestra como interaccionan entre si los nucleótidos para formar una doble hélice a partir de dos polinucleótidos cuya secuencia de bases es complemanetaria y se presenta el modelo de Watson-Crick para la doble hélice del ADN.

1.1. Estructura del ADN

Un suceso inicial que condujo a la aceptación del ADN como material genético fue la publicación en 1944 de Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty sobre la naturaleza química de un principio transformante en bacterias. Este trabajo, junto con posteriores descubrimientos por parte de otros equipos de investigación, constituyo la prueba experimental directa de que el ADN es la biomolecula responsable de la herencia (portadora del código genético). Toda la información necesaria para que la vida y la reproducción se lleven a cabo en los sistemas biológicos está contenida en esta molécula. Al cabo de la división celular, las células hijas heredan la misma información genética contenida en la célula progenitora. Como esa información se halla en el ADN, cada una de sus moléculas debe generar previamente dos moléculas de ADN idénticas a las del ADN originario para ser repartidas de manera equitativa entre las células hijas. Esta duplicación, gracias a la cual el ADN se propaga a las células, de generación en generación, lleva el nombre de replicación. En los primeros estudios físicos llevados a cabo con el ADN muchos experimentos indicaban que la molécula era una cadena extendida con una estructura altamente ordenada. La técnica más importante mediante la cual se obtuvo la disposición y las dimensiones de las distintas partes de la molécula fue el análisis por difracción de rayos X.

El ADN es un biopolímero, es una hélice doble, formada por dos cadenas de polinucleótidos complementarias y helicoidales, cada cadena contiene un conjunto de nucleósidos conectados uno con otro por medio de un grupo fosfato. A pesar del importantísimo papel en la diversidad química del ADN, se trata de una molécula sorprendentemente simple y está limitada a la combinación de cuatro posibles bases nitrogenadas a lo largo de la cadena de polinucleótidos. Aun así esto es suficiente para codificar la infinita diversidad de la vida.

CAPÍTULO 1. ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO 1.1. ESTRUCTURA DEL ADN

Sobre la base de los datos de difracción de rayos X obtenidos por Wilkins y Franklin. El modelo de estructura en doble hélice fue propuesto en 1953 por James Watson[3] y Francis Crick, quienes combinaron los datos químicos y físicos del ADN con una característica del diagrama de difracción de rayos X. Este modelo radica en su consistencia con las propiedades físicas y químicas mostrando una complementariedad de bases, replicación así como la importancia de la secuencia de las mismas como portadora de información genética. Las dos cadenas de polinucleótidos con giro a la derecha, forman una doble hélice alrededor del eje central y las bases de los nucleótidos están apiladas en el interior de la hélice, en un plano perpendicular al eje helicoidal y los planos de las bases estan separados por una distancia de 3.4Å. Las dos cadenas son antiparalelas, es decir que sus uniones 3', 5' fosfodiéster se encuentran en direcciones opuestas. Ambas cadenas se hallan unidas entre si por medio de puentes de hidrogeno establecidos entre los pares de base, se tiene que entre los dos azucares de las cadenas opuestas existe una distancia fija, ya que solo ciertos pares de bases pueden acomodarse dentro de la estructura.

El ADN existe en muchas conformaciones. Sin embargo, en organismos vivos sólo se han observado las conformaciones ADN-A, ADN-B y ADN-Z. La conformación que adopta el ADN depende de su secuencia, la cantidad y dirección de superenrollamiento que presenta, la presencia de modificaciones químicas en las bases y las condiciones de la solución, tales como la concentración de iones de metales y poliaminas. De las tres conformaciones, la forma "B.^{es} la más común en las condiciones existentes en las células. Las dos dobles hélices alternativas del ADN difieren en su geometría y dimensiones.

La forma A es una espiral que gira hacia la derecha, más amplia que la "B", con una hendidura menor superficial y más amplia, y una hendidura mayor más estrecha y profunda. La forma A ocurre en condiciones no fisiológicas en formas deshidratadas de ADN, mientras que en la célula puede producirse en apareamientos híbridos de hebras ADN-ARN. Es la segunda forma más detectada de ADN, y ha sido determinada tanto en cristales como en fibras.

Los segmentos de ADN en los que las bases han sido modificadas por el proceso de metilación pueden sufrir cambios conformacionales mayores y adoptar la forma Z. En este caso, las hebras giran alrededor del eje de la hélice en una espiral que gira a mano izquierda, lo opuesto a la forma B más frecuente. Estas estructuras poco frecuentes pueden ser reconocidas por proteínas específicas que se unen a ADN-Z y posiblemente estén implicadas en la regulación de la transcripción.



Figura 1.1: Formas posibles del ADN

1.2. Descripción de subunidades del ADN

1.2.1. Bases Nitrogenadas

Las bases nitrogenadas son compuestos orgánicos cíclicos, con dos o más átomos de nitrógeno, que constituyen una parte fundamental de los nucleótidos; ácidos nucleicos. Desde el punto de vista de la Biología existen cinco bases nitrogenadas principales, que se clasifican en dos grupos, bases púricas (derivadas de la estructura de la purina) y bases pirimidínicas (derivadas de la estructura de la pirimidina). Se consideran cuatro de estas bases las que forman parte de la cadena de ADN son la adenina (A), la citosina (C), la guanina (G) y la timina (T). Una característica importante de las bases nitrogenadas es su carácter aromático, consecuencia de la presencia en el anillo de dobles enlaces en posición conjugada. Ello les confiere la capacidad de absorber luz en la zona ultravioleta del espectro en torno a los 260nm, lo cual puede aprovecharse para determinar el coeficiente de extinción del ADN y hallar la concentración existente de los ácidos nucleicos. Otra de sus características es que presentan tautomería o isomería de grupos funcionales, debido a que un átomo de hidrógeno unido a otro átomo puede migrar a una posición vecina. Por otro lado, y aunque se trate de moléculas apolares, las bases nitrogenadas presentan suficiente carácter polar como para establecer puentes de hidrógeno, ya que tienen átomos muy electronegativos (nitrógeno y oxígeno) que presentan carga parcial negativa, y átomos de hidrógeno con carga parcial positiva, de manera que se forman dipolos que permiten que se formen estos enlaces débiles. La complementariedad de las bases es la clave de la estructura del ADN y tiene importantes implicaciones, ya que permite procesos como la replicación del ADN y la traducción del ARN en proteínas. La adenina y la timina son complementarias (A-T) al igual que la guanina y la citosina (G-C).



Figura 1.2: Conjunto de bases nitrogeadas

En el ADN las cantidades de residuos de adenina es proporcional a las cantidades de residuo de timina de cualquier especie, al igual que la cantidad de residuos de guanina es proporcional a la cantidad de residuos de citosina. La suma de pirimidinas (C+T) es igual a la suma de purinas (A+T). Pero el porcentaje de (C+G) no es necesariamente igual al porcentaje de (A+T).

La nomenclatura para la TIMINA es 2, 4-dioxo, 5-metilpirimidina. Es un derivado pirimidínico con un grupo oxo en las posiciones 2 y 4, y un grupo metil en la posición 5. En el ADN, la timina siempre se empareja con la adenina de la cadena complementaria mediante 2 puentes de hidrógeno, T=A.

La CITOSINA tiene nomenclatura de 2-oxo, 4-aminopirimidina, y se representa en el código genético con la letra C. Es un derivado pirimidínico, con un grupo amino en posición 4 y un grupo oxo en posición 2. La citosina siempre se empareja en el ADN con la guanina de la cadena complementaria mediante tres enlaces de hidrógeno, $C \equiv G$.

Para la ADENINA su nomenclatura es 6-aminopurina, y en el código genético se representa con la letra A. Es un derivado de la purina con un grupo amino en la posición 6. En el ADN siempre se empareja con la timina de la cadena complementaria mediante 2 puentes de hidrógeno, A=T.

Y finalmente la nomenclatura de la GUANINA es 6-oxo, 2-aminopurina. Es un derivado púrico con un grupo oxo en la posición 6 y un grupo amino en la posición 2. La guanina siempre se empareja en el ADN con la citosina de la cadena complementaria mediante tres enlaces de hidrógeno, $G \equiv C$.

1.2.2. Pentosa

Las pentosas son monosacáridos de 5 átomos de carbono (glúcidos simples). Como en los demás monosacáridos aparecen en su estructura los grupos alcohólicos (OH). Además, también pueden llevar grupos cetónicos o aldehídicos. El azúcar que interviene en los nucleótidos puede ser o la ribosa o la desoxirribosa. Ambas son aldopentosas y las encontraremos en los nucleótidos como β furanosas. Conviene destacar que la única diferencia entre ambas está en que en el carbono 2 de la desoxirribosa hay un hidrogeno (-H) en lugar del grupo alcohol (-OH). Una de las principales diferencias entre el ADN y el ARN es el azúcar, pues en el ARN la 2-desoxirribosa del ADN es reemplazada por una pentosa alternativa, la ribosa.

Los azucares siempre se nombran con "prima", la nomenclatura de la ribosa y desoxirribosa comienza por el carbono unido a la base, que se denomina 1' y sigue de tal manera que el carbono unido al grupo $-CH_2OH$ es el 4' y el oxígeno del anillo se nombra O4'. La nomenclatura se observa en la siguiente imagen.



Figura 1.3: Tipo de pentosa presente en el ARN y en el ADN respectivamente

Los mencionados anillos de azúcar adoptan empaquetamientos en los cuales 1 o 2 átomos están fuera del plano formado por el resto. El anillo de azúcar se puede encontrar en la forma E (por su nombre en inglés envelope), donde cuatro carbonos se encuentran en el plano y el oxígeno se encuentra fuera del Plano. O bien se puede encontrar en la forma T (por su nombre en inglés Twist), en el cual dos átomos del anillo (C2' y C3') se encuentran fuera del plano (arriba del plano, exo y abajo endo). Tal como se observa en la figura 1.4.



Figura 1.4: Formas comunes que puede tomar el anillo de azúcar

La conformación de un anillo de cinco miembros puede ser descrita por sólo dos parámetros gracias a las restrincciones del anillo: el ángulo de pseudorrotación o ángulo de fase (P) y a la amplitud de puckering v_{max} . El primer parámetro da información sobre el átomo (o los átomos) que éstan fuera del plano formado por el resto y el segundo indica el grado de distorsión de la planaridad.

1.2.3. Nucleósido

En el ADN, las bases están unidas a la desoxirribosa en la posición 1 de las pirimidinas (ver figura 1.5) y en la posición 9 (ver figura 1.6) de las purinas mediante un enlace N-glucósidico (con la perdida de una molécula de agua). Por lo que los nucleósidoS son las moléculas resultantes de la unión de una base nitrogenada y una pentosa. Se nombran añadiendo al nombre de la base la terminación -osina si es una base púrica, por ejemplo

la adenosina, o la terminación idina si se trata de una base pirimidinica, por ejemplo la citidina. Si la pentosa es la desoxirribosa, se añade el prefijo desoxi, por ejemplo: desoxiadenosina o desoxiacetidina.

Base Nitrogenada + Azúcar = Nucleósido



Figura 1.5: Estructura del nucleosido con citosina como base nitrogenada.



Figura 1.6: Estructura del nucleosido con Adenina como base nitrogenada.

La Timina forma el nucleósido timidina (siempre desoxitimidina, ya que sólo aparece en el ADN) La Citocina forma el nucleósido citidina (desoxicitidina en el ADN) La Adenina forma el nucleósido adenosina (desoxiadenosina en el ADN) La Guanina Forma el nucleósido (desoxi) guanosina

1.2.4. Grupo fosfato

El grupo fosfato es un radical del ácido fosfórico, en las moléculas biológicas, el fosforo está presente principalmente en la forma de grupos de fosfato acido. El fosforo normalmente tiene una valencia de 5. El grupo funcional más común en las moléculas orgánicas es el grupo fosfato (simbolizado como PO4-). El fosforo está unido covalentemente a 4 átomos de oxígeno en los grupos fosfato un enlace doble P=O y tres enlaces simples P-O-. El compuesto H3PO4 es el ácido fosfórico, un ácido fuerte que se ioniza fácilmente para dar H2PO4- y un ion de hidrogeno (H+). Este compuesto puede favorecer la ionización a HPO4- y H+, y aun al PO4- y H+.

1.2.5. Nucleótidos

Los nucleótidos están formados por 3 unidades fundamentales: una molécula de ácido fosfórico (H3PO4), una pentosa y una base nitrogenada (de 4 tipos). Cada una de estas cuatro bases está unida al armazón de azúcar-fosfato a través del azúcar para formar el

nucleótido completo (base-azúcar-fosfato).Tanto los nucleótidos como los nucleósidos pueden contener como azúcar la D-ribosa (ribo nucleótidos y ribonucleósidos) o la pentosa 2-desoxi-D-ribosa (desoxirribonucleótidos y desoxirribonucleósidos). Además, los nucleótidos pueden tener 1, 2 o 3 grupos fosfato unidos al carbono 5' de la pentosa, existiendo por tanto, nucleótidos 5' monofosfato, nucleótidos 5' difosfato y nucleótidos 5' trifosfato. También en algunos casos el ácido fosfórico se une a la pentosa por el carbono 3', existiendo nucleótidos 3' monofosfato, difosfato o trifosfato según el número de grupos fosfato que posea.



Figura 1.7: Estructura del nucleótido.

La Timina forma el nucleótido timidilato o timidina monofosfato (dTMP). La Citosina forma el nucleótido citidilato o (desoxi)citidina monofosfato (dCMP en el ADN, CMP en el ARN) La Adenina forma el nucleótido adenilato o (desoxi) adenosina monofosfato (dAMP, AMP) Asi como también tenemos que la Guanina forma el nucleótido guanilato o (desoxi)guanosina monofosfato (dGMP, GMP).



Figura 1.8: Estructuras de los nucleótidos.

1.2.6. Esqueleto azúcar fosfato

La estructura de soporte de una hebra de ADN está formada por unidades alternas de grupos fosfato y azúcar. El azúcar en el ADN es una pentosa, concretamente, la desoxiribosa. Las moléculas de azúcar se unen entre sí a través de grupos fosfato, que forman enlaces fosfodiéster entre los átomos de carbono tres prima y cinco prima de dos anillos adyacentes de azúcar. La formación de enlaces asimétricos implica que cada hebra de ADN tiene una dirección. En una doble hélice, la dirección de los nucleótidos en una hebra $(3' \rightarrow 5')$ es opuesta a la dirección en la otra hebra $(5' \rightarrow 3')$. Los movimientos de rotación respecto a los diferentes enlaces se nombra por un ángulo diedro o de torsión. Éste marca la rotación respecto al enlace en cuestión, siempre en sentido de las agujas del reloj. Hay 7 ángulos diedros por nucleótido que tienen que ser especificados para caracterizar la estructura secundaria de los ácidos nucleicos y todos ellos están correlacionados a excepción de γ .

CAPÍTULO 1. ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO 1.3. FRAGMENTOS MÍNIMOS DE LA CADENA DEL ADN



Figura 1.9: Dinucleósido de Monofosfato (dDMP) con designación de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato.

Y es este esqueleto azúcar-fosfato una de las partes fundaméntales para describir a los dDMP, mediante los ángulos de torsión $\delta 1$, ε , ζ , α , β , γ , χ y $\delta 2$.

1.3. Fragmentos mínimos de la cadena del ADN

Los desoxidinucleosidos (dDMP) representan fragmentos mínimos del ADN de una sola hebra, cada dDMP consiste de dos nucleósidos conectados por un grupo fosfato, son unidades portadoras de la información estructural de una conformación particular adoptada por el ADN, los desoxidinucleosidos por su tamaño son aproximados por métodos cuánticos con una muy buen exactitud, mientras que unidades moleculares más largas que los dDMP solo pueden ser aproximados usando mecánica molecular.

El análisis del esqueleto azúcar-fosfato, de la geometría en general de los dDMPs y experimentos estructurales revelaron varios patrones en la estructura tridimensional del ADN, incluyendo las bien conocidas familias A, B y Z de la doble hélice. La riqueza de tal información estructural ha sido acumulada en el Nucleic Acid Data Bank [4] que ha sido analizado recientemente por Svozil [5]. Las familias y los fragmentos específicos de las secuencias de polinucleósidos dentro de cada familia, se distinguen por los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato y por el arreglo mutuo de las bases. Los investigadores buscan conocer el origen de las preferencias en la conformación del ADN tal como lo expresan las siguientes preguntas ¿Qué factores (internos o externos) determinan las características de conformación de las formas A, B y Z del ADN, y en particular los rangos de valores de los ángulos de torsión?; ¿Estos factores se originan en una sola cadena o son impuestos por la doble cadena?, encontrar respuestas a estas preguntas requiere el uso de herramientas teórico-computacionales debido a que estas respuestas están más allá del alcance de las técnicas experimentales, para evaluar la contribución de las conformaciones preferentes presentes en una sola cadena de ADN, respecto a la variación de la estructura de la doble hélice.

Capítulo 2

Metodología utilizada en el estudio de fragmentos mínimos de la cadena de ADN

La función de onda electrónica de una molécula poliatómica depende de varios parámetros: las distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros de rotación en torno a enlaces simples (estos ángulos definen la conformación molecular). Dado que un tratamiento teórico completo de una molécula poliatómica incluye el cálculo de la función de onda electrónica para un intervalo de cada uno de sus parámetros.

Existen aproximaciones importantes para los cálculos de las propiedades moleculares de las moléculas poliatómicas: los métodos ab initio, los métodos semiempíricos, el método del funcional de la densidad y el método de mecánica molecular. En esta tesis solo se emplearan dos métodos, éstos son: el métodos ab initio y el método del funcional de la densidad para el estudio de desoxidinucleosidos monofosfatos.

2.1. Métodos Cuánticos

El objetivo de la metodología cuántica es la interpretación y la predicción de la estructura molecular de la reactividad química a partir de la formulación cuántica de la física molecular.

Dentro del formalismo de la mecánica cuántica (QM), un sistema queda descrito por su función de onda, ya que ésta incluye toda la información del sistema. La función de onda puede ser obtenida a partir de la resolución de la correspondiente ecuación de Schrödinger dependiente del tiempo o dentro del nivel de la aproximación usual de la ecuación independiente del tiempo (ecuación 2.1), es decir, encontrando las funciones propias del operador hamiltoniano \hat{H} .

Las moléculas están formadas de electrones y núcleos. La mayor parte de las aplicaciones de la mecánica cuántica separa el movimiento de los núcleos del de los electrones (aproximación de Born-Oppenheimer). Así la ecuación de Schrödinger, de la función de onda y la energía de una molécula es:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \tag{2.1}$$

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA UTILIZADA EN EL ESTUDIO DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DE LA CADENA DE ADN 2.2. MÉTODOS AB INITIO

La función de onda electrónica para un sistema de n-electrones depende de 3n coordenadas espaciales y n coordenadas de espín. Ya que el operador Hamiltoniano electrónico a estudiar contiene los términos espaciales de varios electrones, la energía molecular se puede escribir en términos de integrales que implican seis coordenadas espaciales. En este sentido, la función de onda para una molécula polielectrónica contiene más información que la que es necesaria, y falta un significado físico directo. Esto ha motivado la búsqueda de funciones que impliquen menos variables para la función de onda y que se puedan utilizar para calcular la energía y otras propiedades.

2.2. Métodos ab initio

Un cálculo ab initio o de primeros principios usa el hamiltoniano correcto, y no emplea otros datos experimentales que no sean los valores de las constantes físicas fundamentales. Los métodos ab initio, se caracterizan por tratar la resolución del sistema de interés de la forma más rigurosa posible. Es decir, no se recurre a ninguna información adicional de tipo empírico para la resolución de la ecuación de Schrödinger (2.1). Entre estos métodos, destacan aquellos basados en la aplicación del principio variacional. Este principio establece que la energía de una función de onda aproximada siempre será superior a la energía exacta. Consecuentemente, la mejor función de onda se obtiene cuando la energía es mínima.

2.2.1. Métodos Hartree-Fock

En la metodología Hartree-Fock (HF) se emplea un operador para el qué se busca la función propia, pero cuya expresión depende de esta misma función propia. Por tanto, se lleva a cabo un procedimiento de tipo autoconsistente, en virtud del cual, partiendo de unas funciones prueba iniciales, se van generando sucesivamente operadores y funciones hasta llegar a la convergencia.

La función analítica que se utiliza en el método HF es un determinante de orbitales de espín monoelectrónicos. Dentro de la aproximación MO-LCAO (Orbitales Moleculares-Combinación Lineal de Orbitales Atómicos), estos orbitales de espín (denominados entonces orbitales atómicos, OA) quedan expresados a su vez como práctica, lo que se optimiza no es la función analítica en sí, sino los diferentes coeficientes de las combinaciones lineales.

2.2.2. Correlación electrónica

La teoría de Hartree-Fock da un tratamiento inadecuado de la correlación entre los movimientos de los electrones dentro de un sistema molecular, especialmente entre los electrones de spin opuesto. Esta teoría considera a los movimientos de los electrones como independientes unos de otros. Esto conduce a una energía de repulsión electrón-electrón alta y como consecuencia también a una energía total alta. La energía de correlación se define como la diferencia entre la energía de Hartree-Fock y la energía experimental.

Cuando la teoría de Hartree Fock cumple los requerimientos que $|\Psi|^2$ sea invariante con respecto al intercambio de los electrones de la función de onda simétrica y antisimétrica, automáticamente incluye los efectos de correlación. Un método que intenta tratar a este fenómeno es conocido como un método de correlación electrónica.

2.2.3. Teoría de perturbaciones de $M\phi$ ller-Plesset

Otra aproximación a la correlación electrónica es la teoría de perturbación de M
 $\phi ller-Plesset$

En 1934 Møller y Plesset, en 1934 propusieron un tratamiento de perturbaciones de átomos y moléculas en el que la función de onda sin perturbar es la función de Hartree-Fock; esta forma de teoría de perturbaciones de muchos cuerpos se llama teoría de perturbaciones de Møller-Plesset (MP). Cualitativamente, esta teoría añade excitaciones más altas a la teoría de Hartree-Fock. La teoría de la perturbación se basa en dividir el Hamiltoniano electrónico \hat{H} en dos partes:

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \lambda \hat{V} \tag{2.2}$$

donde $\hat{H_0}$ corresponde a la solución exacta y $\lambda \hat{V}$ es una perturbación aplicada a $\hat{H_0}$ como una corrección. Los métodos de correlación electrónica suponen una aproximación a la solución exacta de la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo y no relativista. En un orden creciente de aproximación tenemos: HF-MP2-MP3....

Tomando la energía molecular como

$$E^0 + E^1 + E^2 = E_{HF} + E^2 \tag{2.3}$$

, obtenemos un cálculo designado como MP2, donde el número dos indica la inclusión de la corrección de energía hasta segundo orden [6].

2.3. La Teoría del funcional de la densidad

La metodología de los funcionales de la densidad (DFT) considera a la interacción electrónica representada por el llamado potencial de intercambio y correlación (XC). Para expresar este potencial se puede usar la aproximación de densidad local (LDA), que propone que la interacción sólo depende de la densidad electrónica del punto en cuestión, mientras que la aproximación de gradiente generalizado (GGA) incluye también una dependencia en las derivadas espaciales de esa densidad. Se han desarrollado en la literatura varios potenciales de intercambio y correlación (XC) concretos y los códigos han implementado los que consideran mejores.

El programa ADF contiene entre otros, la aproximación de densidad local (LDA), así como la aproximación del gradiente generalizado (GGA). En la literatura aparecen muchos artículos comparativos de esos funcionales remarcando ciertas ventajas de su aplicación a determinados sistemas. El funcional usado aquí es el PW91 (Predew-Wang) pues permite obtener los detalles geométricos en nuestros sistemas más consistentemente. Otra de las opciones usadas en ADF importantes de mencionar para la obtención de nuestros datos es la base atómica triple zata (TZP) con una función de polarización que permite obtener mejores longitudes de enlace para el grupo fosfato.

2.3.1. Teorema de Hohenberg-Kohn

En 1964, Pierre Hohenberg y Walter Khon probaron que para un sistema electrónico con estado base no degenerado, la energía del estado fundamental, la función de onda y

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA UTILIZADA EN EL ESTUDIO DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DE LA CADENA DE ADN 2.3. LA TEORÍA DEL FUNCIONAL DE LA DENSIDAD

todas las demás propiedades electrónicas, están determinadas unívocamente por la densidad electrónica del estado fundamental, una función de solamente tres variables. La teoría del funcional de la densidad (DFT) intenta calcular E_0 y otras propiedades moleculares del estado fundamental a partir de la densidad electrónica del estado fundamental, ρ_0 .

2.3.2. El primer Teorema de Hohenberg-Kohn

"Toda observable de un sistema mecánico cuántico estacionario es determinado por la densidad electrónica del estado base"

En otras palabras, se encuentra la energía del sistema como una función de la densidad, sin referencia a la función de onda. Esto establece que todas las observables de muchos electrones son funciones únicamente de la densidad electrónica, lo cual produce las bases para **DFT** (*density functional theory*).

Considerando un sistema de N-electrones no relativista en la aproximación Born-Oppenheimer. El hamiltoniano en la Ecuación Schrödinger (SE) es

$$\ddot{H}\Psi(\vec{x_1}, \vec{x_2}, \vec{x_3}...) = E\Psi(\vec{x_1}, \vec{x_2}, \vec{x_3}...)$$
(2.4)

Donde se considera en \hat{H} a la energía cinética \hat{T} , la interacción núcleo-electrón \hat{V} , y la interacción electrón-electrón $\hat{V}_{e,e}$. Además en la ecuación (2.4), $\vec{x_i}$ denota las variables espaciales $\vec{r_i}$ y de spin $\vec{\sigma_i}$ de los electrones. Con el hamiltoniano dado por

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee} \tag{2.5}$$

donde

$$\hat{T} = \sum_{i=1}^{N} \left(\frac{-\nabla_i^2}{2}\right)$$
(2.6)

$$\hat{V} = \sum_{i=1}^{N} v(\vec{r_i}) = -\sum_{i=1}^{N} \sum_{\alpha}^{N} \frac{Z_{\alpha}}{r_{\alpha,i}}$$
(2.7)

$$\hat{V}_{ee} = \sum_{i(2.8)$$

En el teorema Hohenberg-Kohn (HK) el mapeo uno a uno entre la densidad electrónica ρ_0 está dado por:

$$\rho(\vec{r_i}) = \sum_{\sigma=1 \downarrow} N \int |\Psi(x_1, x_2, ... x_N)| dx_1 dx_2 ... dx_N$$
(2.9)

si el potencial externo \hat{V} es provisto. Podemos mostrar la relación entre la densidad, la función de onda y el potencial

$$\hat{V} \rightleftharpoons \Psi \rightleftharpoons \rho \tag{2.10}$$

Por lo que es simple y preciso que cada \hat{V} relacione a la función de onda Ψ mediante la solución de la ecuación Schrödinger, (2.4), y la correspondiente densidad puede encontrarse mediante la integración en la ecuación (2.9).

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA UTILIZADA EN EL ESTUDIO DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DE LA CADENA DE ADN 2.3. LA TEORÍA DEL FUNCIONAL DE LA DENSIDAD

La prueba del mapeo en la otra dirección (ρ se determina por \hat{V})

$$\hat{V} \leftarrow \Psi \leftarrow \rho$$
 (2.11)

y este se hace en dos casos

- Si \hat{V} y \hat{V}' difieren por más de una constante C, no podrán conducir a la misma función de onda Ψ (el modelo de Arkani-Hamed-Dimopoulos-Dvali de 1998 y)
- Si el estado base de Ψ para \hat{H} y $\hat{\Psi}'$ para \hat{H}' son diferentes, no podrán conducir a la misma densidad ρ . (el modelo de Randall-Sundrum (R-S) de 1999.)

Teniendo un estado base no degenerado, entonces

$$(\hat{T} + \hat{V} + \hat{V_{e,e}})|\Psi\rangle = E_{gs}|\Psi\rangle \tag{2.12}$$

$$(\hat{T} + \hat{V}' + \hat{V_{e,e}})|\Psi\rangle = E'_{gs}|\Psi\rangle$$
(2.13)

Y asumiendo que $\Psi = \Psi'$, uno obtiene

$$(\hat{V} + \hat{V}')|\Psi\rangle = (E_{gs} - E'_{gs})|\Psi\rangle$$
(2.14)

Lo cual conduce inmediatamente a $\hat{V} = \hat{V}' + C$, en contradicción con la suposición hecha en (i).

Usando el teorema variacional, en el caso para (ii) uno prueba que Ψ es diferente a Ψ' y esto implica que $\rho(\vec{r}) \neq \rho'(\vec{r})$.

$$E_{gs} = \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle < \langle \Psi' | \hat{H} | \Psi' \rangle = \langle \Psi' | \hat{H}' + \hat{V} - \hat{V}' | \Psi' \rangle + E'_{gs} + \int \rho'(\overrightarrow{r}) [v(\overrightarrow{r}) - v'(\overrightarrow{r})] \quad (2.15)$$

Y similarmente

$$E_{gs} = \langle \Psi' | \hat{H}' | \Psi' \rangle < \langle \Psi | \hat{H}' | \Psi \rangle = \langle \Psi | \hat{H} + \hat{V}' - \hat{V} | \Psi \rangle + E_{gs} + \int \rho(\overrightarrow{r}') [v'(\overrightarrow{r}) - v(\overrightarrow{r})] \quad (2.16)$$

Asumiendo que $\rho(\vec{r}) = \rho'(\vec{r})$, la combinación de las ecuaciones (2.15) y (2.16) lleva a la siguiente contradicción

$$E_{gs} + E'_{gs} < E_{gs} + E'_{gs} \tag{2.17}$$

Por lo tanto, los mapeos entre \hat{V} , $\hat{\Psi}$ y $\rho(\overrightarrow{r})$ son biyectivos (uno a uno)

$$\hat{V} \longleftrightarrow \Psi \longleftrightarrow \rho(\overrightarrow{r})$$
 (2.18)

Y como consecuencia el mapeo biyectivo $\Psi \leftrightarrow \rho(\vec{r})$, para todas las observables \hat{O} del sistema son funciones únicamente de la densidad

$$\langle |\Psi[\rho]|\hat{O}|\Psi[\rho]\rangle = O[\rho] \tag{2.19}$$

2.3.3. El segundo Teorema de Hohenberg-Kohn

"La densidad exacta para el estado base de un sistema con un potencial particular externo puede encontrarse por la minimización del funcional de energía".

Como una consecuencia directa entre la relación biyectiva $\hat{V} \leftrightarrow \Psi \leftrightarrow \rho(\vec{r})$ y la relación de $\rho(\vec{r}) \rightarrow \hat{V}$ se indica que determinará el potencial externo aplicado sobre el sistema y así el hamiltoniano completo, por lo tanto, en adición al primer teorema de Hohenberg-Kohn (HK) nos dice que el funcional de energía de un sistema dentro de un potencial particular externo \hat{V}_0 debe tener la forma

$$E_{V_0}[\rho] = \langle |\Psi[\rho]| \hat{T} + \hat{V}_0 + \hat{V}_{ee} |\Psi[\rho] \rangle$$
(2.20)

donde la densidad exacta del estado base puede ser encontrado por la minimización de $E_{V_0}[\rho]$ en términos precisamente de ρ

$$E_0[\rho] = minE_{V_0}[\rho] \tag{2.21}$$

Así la parte funcional de energía, $F_{HF}[\rho]$, el cual no incluye al potencial externo, se entiende como un funcional universal de la densidad

$$E_{XC}[\rho] = F_{HF}[\rho] - T_s[\rho] - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\overrightarrow{r}) d\overrightarrow{r} \rho(\overrightarrow{r'}) d\overrightarrow{r'}}{|\overrightarrow{r} - \overrightarrow{r'}|}$$
(2.22)

Y donde $T_s[\rho]$ es la energía cinética del sistema y el integrando correspondería a la interacción coulombiana respectivamente.

$$F_{HK}[\rho] = \langle |\Psi[\rho]|\hat{T} + \hat{V}_{ee}|\Psi[\rho]\rangle$$
(2.23)

Desafortunadamente el teorema de HK no es sencillo de ser utilizado directamente. Por lo que más tarde en 1965 Kohn y Sham proponen un esquema más practico de resolverse bajo un método auto-consistente, dando lugar a la aproximación de las ecuaciones de KS.

2.3.4. Ecuaciones de Kohn-Sham

La ecuación Schrödinger para un sistema de electrones no interactúantes ($\hat{V}_{ee} = 0$), los cuales se mueven en un potencial externo $\hat{V}_{s,0}$

$$\left(\frac{-\nabla'}{2} + \hat{V}_{s,0}(\overrightarrow{r})\right)\phi_i(\overrightarrow{r}) = \varepsilon_i\phi_i(\overrightarrow{r})$$
(2.24)

donde la densidad de tal sistema es determinada por los N orbitales ocupados en los primeros estados

$$\rho_s(\overrightarrow{r}) = \sum_{i=1} |\phi(\overrightarrow{r})|^2 \tag{2.25}$$

La energía cinética de este sistema KS no interactuante es dada por

$$\hat{T}_s[\rho] = \sum_{i=1}^{\infty} \langle |\phi_i| \frac{-\nabla^2}{2} |\phi_i\rangle$$
(2.26)

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA UTILIZADA EN EL ESTUDIO DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DE LA CADENA DE ADN 2.3. LA TEORÍA DEL FUNCIONAL DE LA DENSIDAD

Por otro lado al llegar a una expresión útil del potencial $\hat{V}_{s,0}$, nosotros escribimos la energía total para la interacción del sistema molécular de la siguiente forma

$$E[\rho] = T_s[\rho] + \int V_0(\overrightarrow{r})\rho(\overrightarrow{r})d\overrightarrow{r} + \frac{1}{2}\int \int \frac{\rho(\overrightarrow{r})d\overrightarrow{r}\rho(\overrightarrow{r}')d\overrightarrow{r}'}{|\overrightarrow{r}-\overrightarrow{r'}|} + E_{XC}[\rho]$$
(2.27)

Introduciendo el funcional de energía de intercambio-correlación (XC)

$$E_{XC}[\rho] = F_{HF}[\rho] - T_s[\rho] - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\overrightarrow{r}) d\overrightarrow{r} \rho(\overrightarrow{r}') d\overrightarrow{r}'}{|\overrightarrow{r} - \overrightarrow{r'}|}$$
(2.28)

El Teorema de HK asegura que el funcional de energía $E[\rho]$ es estacionario para pequeñas variaciones $\delta\rho(\vec{r})$ alrededor de la densidad exacta $\rho_0(\vec{r})$

$$\frac{E[\rho]}{\rho(\overrightarrow{r})}|_{\rho-\rho_0} = 0 \tag{2.29}$$

Por lo que conduce a

$$\frac{\delta F_{HK}[\rho]}{\delta \rho(\vec{r})}|_{\rho-\rho_0} = -V_0(\vec{r})$$
(2.30)

Similarmente para el sistema no interactuante nosotros podemos encontrar

$$\frac{\delta T_{HK}[\rho]}{\delta\rho(\vec{r})}|_{\rho-\rho_0} = -V_{s,0}(\vec{r})$$
(2.31)

Diferenciando la ecuación (2.28) tendremos

$$V_{s,0}(\overrightarrow{r}) = V_0(\overrightarrow{r}) + \int \frac{\rho(\overrightarrow{r})}{|\overrightarrow{r} - \overrightarrow{r'}|} d\overrightarrow{r'} + \frac{\delta E_{XC}}{\delta\rho(\overrightarrow{r})}$$
(2.32)

El cual es denotado de una forma más corta como:

$$V_{s,0}(\overrightarrow{r}) = V_0(\overrightarrow{r}) + V_H(\overrightarrow{r}) + V_{XC}(\overrightarrow{r})$$
(2.33)

Y de aquí con la ecuación (2.24) encontramos

$$\left[\frac{-\nabla^2}{2} + V_0(\overrightarrow{r}) + \int \frac{\rho(\overrightarrow{r})}{|\overrightarrow{r} - \overrightarrow{r'}|} d\overrightarrow{r'} + \frac{\delta E_{XC}}{\delta\rho(\overrightarrow{r})}\right] \phi_i(\overrightarrow{r}) = \varepsilon_i \phi_i(\overrightarrow{r})$$
(2.34)

El potencial de intercambio correlación está dado por

$$V_{XC}(\overrightarrow{r}) = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho_i(\overrightarrow{r})}$$
(2.35)

por tanto éste potencial de KS depende de la densidad. Las ecuaciones de KS (2.32) y (2.34) deben poder resolverse por medio de un esquema auto-consistente. Para ello, se da una primera aproximación para la energía de intercambio-correlación (XC) E_{XC} que inicie el proceso. Las ecuaciones KS proveen un camino para el cálculo de la densidad $\rho(\vec{r})$, y así obtener la energía del sistema en su estado base.

2.4. Metodología para el estudio de desoxidinucleosidos

Se realizó la optimización mecánica cuántica para la geometría de estructuras iniciales de dDMP-Na+ de fragmentos de doble hélice de la base de datos de ácidos nucleicos, con valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato correspondientes a la familia B y éstos parámetros obtenidos a partir de rayos-X.

Los resultados obtenidos en este trabajo con DFT (La Teoría del Funcional de la Densidad)[7], se comparan con cálculos realizados con MP2. También se hace una comparación de resultados DFT, obtenidos con el programa ADF y resultados obtenidos con el programa GAUSSIAN.

La mayoría de los resultados presentados en este trabajo fueron obtenidos usando el programa ADF, éste usa el llamado conjunto base de ajuste para una rápida proximación de la energía de Coulomb, facilitando el estudio mecánico cuántico de sistemas relativamente grandes; los cálculos fueron realizados en base al funcional PW91PW91 y el conjunto base DZVP. Tsuzuki [8] y Luthi llegaron a la conclusión de que a pesar de las dificultades presentadas con la dispersión en el funcional PW91, es una alternativa viable a los costosos métodos ab initio. Estudios más recientes con el funcional PW91 demostraron que éste reproduce razonablemente resultados de primemeros principios, para complejos con enlaces de hidrógeno y de complejos con bases de ADN apiladas.

Las estructuras generadas fueron sometidas a optimización de todos sus átomos y fueron analizadas las características geométricas de las configuraciones de mínima energía obtenidas, incluyendo la longitud de enlace, los ángulos de torsión y de valencia, así como las características del enlace de hidrógeno (en el caso de que los hubiera) y el arreglo mutuo de las bases. El programa PROSIT [9] fue usado para el análisis del empacamiento del anillo de azúcar y de los ángulos de torsión de los enlaces glucosídicos. Para algunos fragmentos de dDMP se realizó una prueba más extensa por medio de una sucesión de optimizaciones. En tal prueba después de realizar una optimización con MP2 la estructura se sometió a cálculos con DFT, seguidos de una nueva ronda de optimizaciones con diferente o igual funcional (PW91 o PBE). Los cationes de Sodio de los dDMP fueron situados de forma equidistante a los aniones de oxígeno del grupo fosfato a una distancia de 2.2 Å por medio del programa oxford para obtener dDMP-Na+ (ver figura 2.1). También se realiza el estudio de un fragmento mínimo de la doble cadena (ver figura 3.6) y apareamientro entre base A-T T-A. Otro programa utilizado, esto para la medición de los respectivos ángulos de torsión y de valencia en pares de base de ADN, fue HyperChem y previamente para visualizar y preparar los archivos de entrada, se utilizó el programa Raswin y Oxford.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA UTILIZADA EN EL ESTUDIO DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DE LA CADENA DE ADN 2.4. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE DESOXIDINUCLEOSIDOS



Figura 2.1: Desoxidinucleósido monofosfato con catión de sodio.

Capítulo 3

Resultados

Se describe el estudio comparativo de estructuras optimizadas para fragmentos mínimos del ADN, inicialmente se muestran los resultados obtenidos por medio de un cálculo MP2/6-311++G^{**}, posteriormente se dan los resultados para los procesos de optimización mediante el programa ADF[10] y se consideran dos potenciales de interacción PW91[10], PBE[11], usando la base TZP siguiendo la metodología descrita en el capítulo anterior. También se dan los resultados de los cálculos con el paquete GAUSSIAN. El fragmento inicial del banco de datos será marcado con un asterisco, de tal manera, que sea posible distinguir los cambios en los valores de los ángulos, antes y después de la optimización.

Las características de los mínimos encontrados en cada optimización se muestran en las siguientes tablas, como son los valores de los ángulos de torsión para el esqueleto azúcarfosfato, los ángulos promedio entre los planos de las bases apiladas, los ángulos entre enlaces glucosídicos y para los resultados del fragmento con doble cadena se dará también el ángulo promedio entre los planos de las bases que participan en la interacción por puentes de hidrógeno. Se muestra la información correspondiente a las características del empaquetamiento del anillo de azúcar: Los valores para el ángulo de torsión glucosídico, χ , el ángulo de pseudorrotación o ángulo de fase P y a la amplitud de puckering v_{max} para los dDMP correspondientes.

El análisis del empaquetamiento del anillo de azúcar se realiza con el programa PROSIT para todos los dDMP en listados en este trabajo

3.1. Análisis de fragmentos mínimos de cadena única optimizados con cálculos MP2 vs DFT

Las estructuras iniciales para los dDMP-Na+ fueron tomadas de las geometrías experimentales de los fragmentos de la doble hélice del ADN, tomadas del banco de datos de ácidos nucleicos; éstos son marcados con un asterisco y así mismo, sus ángulos de torsión característicos son mostrados en la primera fila de cada tabla. Se muestran los resultados obtenidos por medio de un cálculo cuántico MP2 en las tablas: 3.1, 3.2 y 3.3. En el análisis de las estructuras optimizadas se encontraron mínimos correspondientes a la familia de hélice doble de Watson y Crick, es decir la familia B. Las características del esqueleto azúcar fosfato para estos mínimos encontrados del dDMP, se muestran en las tablas 3.1 y 3.4. con los valores promedio de los ángulos Φ entre los planos de las bases apiladas y λ el

angulo promedio entre enlaces glucosídicos. Así como también se muestra la información correspondiente al empaquetamiento del anillo de azúcar, para este análisis de cadena única, ver tablas 3.2 y 3.5.

Tabla 3.1: Valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para el dGpdC con cálculo MP2 y los calculos DFT

	dDMPs	$\delta 1$	ε	ζ	α	β	γ	$\delta 2$	Φ	λ
1	$dGpdC^*$	136,8	166,8	290,5	$291,\! 6$	182,9	49,8	113,0	4,0	32,2
2	MP2	145,9	164,8	269,9	$286,\!6$	$212,\!9$	48,8	$150,\!6$	6,7	45,4
3	2/PW91	143,5	171,4	268,7	287,9	209,2	$50,\!0$	146,2	9,3	43,7
4	2/PBE	144,0	170,5	269,9	287,4	208,3	49,6	146,8	8,4	44,6
5	$3/\mathrm{PBE}$	142,2	174,1	268,4	290,0	207,0	49,4	$145,\!8$	10,7	42,7
6	5/PW91	134,5	187,0	$267,\!8$	290,4	$195,\!9$	$51,\!5$	138,1	22,0	39,0

Nota: La descripción del tipo de cálculo para cada fila de la tabla se describe en el texto. Los valores de los ángulos de torsión están en grados (o).

En la primera fila de la tabla 3.1 se muestran los valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato para el fragmento dGpdG^{*}, estructura tomada directamente del banco de datos, en la fila dos se muestran los resultados correspondientes a un cálculo cuántico MP2 apartir de la estructura inicial del banco de datos. En las filas posteriores de esta tabla se tienen los resultados obtenidos mediante una secuencia de optimizaciones bajo el programa ADF, con cálculos DFT, haciendo uso de los funcionales PW91, PBE y base TZP. Los resultados DFT mostrados, tuvieron el siguiente orden de optimización : La geometría optimizada con cálculo MP2 se toma como estructura inicial, ésta se sometió a un cálculo usando el funcional PW91 y base TZP, cuyos resultados se muestran en la fila tres, posteriormente se hace un cálculo con funcional PBE y misma base, cuyos resultados se tienen en la fila cuatro, en seguida tenemos los resultados para un cálculo con secuencia MP2/PW91/PBE y por último los resultados para un cálculo con secuencia MP2/PW91/PBE y por último los resultados para un cálculo una estructura sometida a 4 optimizaciones consecutivas.

Al comparar las estructuras dGpdC^{*} con dGpdC de la primera y segunda fila respectivamente, se observa una diferencia grande entre el ángulo $\delta 2$ que une el grupo fosfato a la molécula del azúcar en la terminación 3', ver tabla 3.1. Así mismo tenemos que mencionar la existencia de cambios evidentes para la organización de esta familia de hélice doble. Otro de los datos importantes por mencionar es el ángulo de torsión glucosídico χ en el empaquetamiento del azúcar, ya que es una característica principal, que nos permite distinguir entre conformaciones existentes de la familia A y B respectivamente del ADN. Ver tablas 3.2 y 3.5.

		5' - 6	end		3'-en	d			
	dDMPs	Azúcar	P	v_{max}	χ	Azúcar	P	v _{max}	χ
1	$dGpdC^*$	C3' - exo	186,2	24,4	265,1	C1' - exo	118,0	34,8	239,6
2	MP2	C2' - endo	$163,\!8$	$_{38,2}$	242,9	C2' - endo	174,1	33,7	262,9
3	2/PW91	C2' - endo	165,4	36,9	237,3	C2' - endo	176,9	32,2	263,1
4	2/PBE	C2' - endo	167,1	36,8	239,6	C2' - endo	177,4	32,6	262,6
5	3/PBE	C2' - endo	164,7	36,2	234,9	C2' - endo	175,2	32,4	263,3
6	5/PW91	C2' - endo	151,4	34,3	222,0	C2' - endo	154,1	33,6	265,3

Tabla 3.2: Empaquetamiento del anillo de azúcar para los cálculos MP2 y DFT para el dGpdC

Nota: La designación del resultado para el tipo de cálculo de las filas es igual a la tabla anterior. Los valores de los ángulos están en grados.

Los diferentes pliegues en el azúcar, muestran una característica principal que distingue a una de las conformaciones de la familia BI, ver tabla 3.2, las características estructurales correspondientes a los valores de esta tabla, independientemente de la secuencia de optimizaciones o bajo diferentes métodos cuánticos se mantuvieron en el rango de valores correspondientes a la familia BI.



Figura 3.1: Estructura del dGpdC correspondiente a la familia BI, (a) con optimización MP2 y (b) correspondiente a una secuencia de cálculos DFT a partir de la geometría optimizada con cálculo MP2.

La posición relativa de las secuencias de bases de los anillos en los dDMPs es dependiente, se observa un traslape significativo para el dGpdC . Este comportamiento es sistemático en las estructuras optimizadas de la familia BI para los dDMPs, y concuerda totalmente con la regla para la cadena doble del ADN en los cristales [12], a pesar de la ausencia de la segunda cadena de nucleótidos.

3.1.1. Interacciones por Apilamiento

Las bases también interaccionan entre ellas, en este tipo de interacción por apilamiento, dos bases se disponen aproximadamente paralelas, una sobre otra a una distancia cercana de 3.4 Å. Esta interacción es considerada una de las más importantes, de forma que las interacciones de nubes electrónicas de los orbitales entre las bases apiladas contribuye a la estabilidad de la hélice.



Figura 3.2: Estructura del dGpdC con optimización MP2, se muestran las distancias átomo-átomo en el apilamiento de las bases cómo resultado de este cálculo.

Tabla 3.3: Distancias átomo-átomo en el a	apilamiento de las bases	para el dGpdC
---	--------------------------	---------------

G-C	MP2	MP2/PW91	MP2/PBE	MP2/PW91/PBE	MP2/PW91/PBE/PW91
C2-C2	3.1	3.4	3.4	3.4	3.4
N2-O2	3.0	3.1	3.2	3.1	3.0
N1-N3	3.1	3.3	3.3	3.3	3.2
C5-C4	3.1	3.6	3.5	3.7	3.9
C6-C4	3.1	3.4	3.4	3.5	3.5
C4-C5	3.1	3.7	3.6	3.8	4.2
O6-N4	3.2	3.3	3.3	3.3	3.2
H21-O2	2.3	2.4	2.4	2.3	2.1

Nota: Las distancias en el apilamiento de las bases para cada optimización del dGpdC están en Angstroms.



Figura 3.3: El apilamiento de las bases nitrogenadas. Nota: éstas exhiben la tendencia a apilarse unas sobre otras, con una orientación más o menos perpendicular al eje de la hélice, para mantener la estructura del ADN.

Como se puede ver en la tabla 3.3, se tienen mejores resultados con cálculos DFT respecto a las distancias del apilamiento de bases nitrogenadas.

Un aspecto importante del perfil de conformación de la cadena única es la dependencia de la cadena complementaria, como una predisposición inherente en el esqueleto del azúcar-fostato del dDMP. Esto desempeña un papel importante para la doble hélice y por lo tanto promueve la formación de las diferentes estructuras tridimensionales locales de la molécula del ADN que son importantes para su función biológica. Los cálculos realizados por las teorías involucradas alrededor de MP2 y DFT son independientes para la organización del esqueleto azúcar -fostato que son de vital importancia en la organización de la cadena doble del ADN.

3.2. Análisis de fragmentos mínimos para cadena única optimizados con DFT

Acontinuación se muestran los resultados para los cálculos del mínimo de energía de los fragmentos de dApdT correspondientes a cada cadena de la hélice doble, a través del programa ADF.

Tabla 3.4: Valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para las conformaciones del d ApdT con optimización $\rm DFT/PW91/TZP$

	dDMPs	$\delta 1$	ε	ζ	α	β	γ	$\delta 2$	Φ	λ		
	Primera cadena											
1	$dApdT^*$	134,6	172,1	264,9	301,3	$173,\!3$	58,0	117,8	7,8	33,9		
2	1/PW91	140,4	183,9	272,2	297,1	184,6	$56,\!6$	128,6	8,4	34,0		
3	2/PW91	142,9	189,1	279,4	294,7	216,9	56,2	141,5	52,7	40,0		
4	dApdT**	140,7	201,3	277,8	287,7	168,1	46,0	83,3	20,4	24,7		
				Segu	ında Ca	dena						
1	$dApdT^*$	119,2	168,3	264,7	310,1	183,5	45,0	$123,\!6$	7,3	34,5		
2	1/pw91	131,9	184,0	$266,\!6$	296,7	186,4	55,4	122,5	$5,\!6$	34,4		
3	2/pw91	137,9	184,9	269,2	294,5	190,7	54,6	122,5	6,7	31,9		
4	dApdT**	141,7	196,1	278,4	288,7	180,0	$52,\!6$	92,8	13,8	24,0		

Nota: La descripción del tipo de cálculo para cada fila se describe en el texto. Con Φ ángulo promedio entre los planos de las bases apiladas y (λ) el angulo promedio entre enlaces glucosídicos. Los valores de los ángulos de torsión están en grados (^o).

Los resultados de la fila uno, dApdT^{*}, corresponden a una estructura tomada directamente del banco de datos, la cual se sometió al cálculo mecánico cuántico con DFT/PW91/TZP. En la fila dos se muestran los valores para los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para una primera optimización (DFT/PW91/TZP), los resultados en la tercera fila corresponden a una segunda optimización con ADF del dDMP-Na+ iniciada de la estructura ya optimizada con cálculo DFT y utilizando el mismo funcional y misma base, pero con mayor exigencia en el criterio de convergencia. Por último se tienen los resultados dApdT^{**} que se realizaron con el programa GAUSSIAN. Después de la optimización de la estructura inicial se tienen cambios considerados en los ángulos de torsión $\varepsilon, \zeta, \beta$ y δ^2 con un incremento en el promedio de diez grados. Los ángulos de torsión ε, α y β para los mínimos encontrados en la primera optimización tienen valores característicos de la familia BI y el empaquetamiento del anillo de azúcar nos confirma dicho resultado ver tabla 3.5. Cabe destacar que los valores de estos mismos ángulos después de la segunda optimización difieren por unos cuantos grados, pero siguen perteneciendo a la familia B. Así se observa que el ángulo promedio entre los planos de las bases apiladas, Φ aumenta de manera considerada después de la segunda optimización aplicada al dApdT (ver figura 3.4 (b)), reflejando la importancia de la cadena complementaria, para mantener la estabilidad estructural del dinucleósido, debido a las interacciones entre base de una sóla cadena.

En la siguiente tabla se tienen las características del empaquetamiento del anillo de

CAPÍTULO 3. RESULTADOS 3.2. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS PARA CADENA ÚNICA OPTIMIZADOS CON DFT

azúcar para cada tipo de cálculo al que fue sometido el dApdT de cada cadena de la hélice doble del ADN:

		5' -	end	3'-end								
	dDMPs	dDMPs Azúcar P v_{max} χ					P	v _{max}	χ			
	Primera cadena											
1	$dApdT^*$	C1' - exo	129,2	30,3	-118,8	C1' - exo	142,6	26,6	-108,4			
2	1/PW91	C2' - endo	$150,\!0$	32,4	-115,8	C1' - exo	137,8	34,5	-116,5			
3	2/PW91	C2' - endo	174,1	$32,\!6$	-118,4	C2' - endo	159,3	33,1	-125,9			
4	dApdT**	C2' - endo	$177,\!6$	27,7	-122,7	C4' - exo	70,4	43,5	-112,8			
				Segu	ında cadei	na						
1	$dApdT^*$	C2' - endo	175,2	27,0	-112,4	C1' - exo	130,2	32,5	-121,0			
2	1/PW91	C2' - endo	$176,\!5$	$29,\!6$	-113,8	C1' - exo	135,7	35,7	-116,8			
3	2/PW91	C2' - endo	166,4	$_{30,3}$	-116,1	C1' - exo	137,7	34,4	-115,8			
4	dApdT**	C2' - endo	176,7	29,0	-122,0	O4' - endo	99,4	43,2	-115,8			

Tabla 3.5: Empaquetamiento del azúcar para el dApdT con cálculos DFT/PW91/TZP

Nota: Los valores de los ángulos están en grados.



Figura 3.4: Estructura del dApdT correspondiente a la familia BI, (a) con primera optimización DFT y (b) correspondiente a los cálculos de la segunda optimización.

3.3. Cálculos DFT para fragmentos mínimos de la doble cadena

Los resultados de la optimización de la estructura electrónica del fragmento mínimo de la doble (figura 3.5) cadena del ADN tomado del banco de datos se muestran en las siguientes tablas:

	Cálculo con ADF												
	dDMPs	$\delta 1$	ε	ζ	α	β	γ	$\delta 2$	Φ	λ	Φ1		
1	dApdT*	134.6	172.1	264.9	301.3	173.3	58.0	117.8	7.8	34.0	11.4		
		119.2	168.3	264.7	310.1	183.5	45.0	123.6	7.3	34.5	16.4		
2	1/PW91	140.4	184.0	270.9	298.5	182.9	57.0	126.8	5.5	33.9	12.3		
		131.1	183.7	266.4	297.0	185.7	55.7	122.4	5.6	34.4	12.1		
3	2/PW91	140.3	183.9	271.1	298.4	183.0	56.8	126.9	5.6	34.0	12.3		
		131.2	183.7	266.5	296.9	185.7	55.8	122.1	5.5	34.4	12.1		
4	3/PW91	140.4	184.0	271.1	298.4	183.0	56.9	126.9	5.5	34.2	12.3		
		131.3	183.7	266.6	296.9	185.7	55.8	122.1	5.5	34.0	12.2		
				Cálc	ulo con	GAUSS	IAN						
5	dApdT**	134.2	201.4	283.0	289.5	182.8	46.6	120.4	34.3	31.1			
		133.9	200.9	283.4	289.0	181.5	48.6	116.7	34.3	32.7			

Tabla 3.6: Resultados de los cálculos DFT para doble cadena con dApdT

Nota: Valores en grados (o) de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para una serie de secuencias de cálculos, a la que se sometió la doble cadena. El tipo de cálculo para cada fila se describe en el texto.

En esta tabla se muestran los valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcarfosfato para las conformaciones de dDMP para la doble cadena. Con (Φ) los valores promedio de los ángulos entre los planos de las bases apiladas, (λ) el angulo promedio entre enlaces glucosídicos y $(\Phi 1)$ el ángulo promedio entre los planos de las bases que participan en el apareamiento, con interacción de puentes de hidrogeno. La descripción del tipo de cálculo es la siguiente:

Nuevamente tenemos, que lo valores que se muestran en la primera fila corresponden al fragmento tomado del banco de datos, posteriormente se realiza una secuencia de tres optimizaciones consecutivas a la estructura inicial (dApdT^{*}). Los resultados de la segunda fila, corresponden a una primera optimización DFT/PW91/TZP, los resultados en la fila tres, corresponden a una segunda optimización realizada a partir de la primera optimizacón, y en la cuarta fila se tienen los valores para los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato con cálculo cuántico iniciado a partir de la geometría con dos optimizaciones anteriores y el resultado en la fila cinco corresponde a un cálculo con el programa GAUSSIAN. Como puede observarse en la tabla 3.6 los ángulos de torsión ε , ζ , α , γ y Φ , difieren significativamente de los valores obtenidos entre estas dos metodologías.

Con ambos programas se observaron ángulos de torsión semejantes, para la primera y segunda cadena de nuestro fragmento (figura 3.5). Se usó el nombre de doble cadena, sólo

para referimos al fragmento con dos dDMP, los cuales se encuentran unidos por puentes de hidrógeno y así poder distinguir entre cálculos realizados a un solo dDMP y cálculos realizados a un fragmento de doble dDMP. La mayor diferencia encontrada en los valores de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, es de nueve grados aproximadamente, ésto es solo para el ángulo $\delta 1$ de la primera cadena y de la segunda cadena, para cada uno de los cálculos realizados con DFT.



Figura 3.5: Doble cadena con pares de bases A=T

		5' -	end	3'-end					
	dDMPs	Azúcar	P	v_{max}	χ	Azúcar	P	v_{max}	χ
1	dApdT*	C2'-endo	175.2	27.0	-112.4	C1'-exo	130.2	32.5	-121.0
		C1'-exo	129.2	30.3	-118.8	C1'-exo	142.6	26.6	-108.4
2	1/PW91	C2'-endo	176.6	29.3	-113.7	C1'-exo	132.9	35.7	-118.5
		C2'-endo	148.7	32.6	-116.0	C1'-exo	137.6	34.5	-117.6
3	2/PW91	C2'-endo	176.5	29.4	-113.8	C1'-exo	133.0	35.8	-118.5
		C2'-endo	148.8	32.5	-115.9	C1'-exo	137.5	34.5	-117.7
4	3/PW91	C2'-endo	176.6	29.4	-113.6	C1'-exo	133.0	35.7	-118.4
		C2'-endo	148.7	32.5	-116.0	C1'-exo	137.5	34.5	-117.7
5	dApdT**	C1'-exo	142.8	41.1	-163.1	C1'-exo	121.3	44.9	-169.3
		C1'-exo	143.1	40.8	-164.0	C1'-exo	124.0	44.9	-168.2

Tabla 3.7: Empaquetamiento del Azúcar para el dApdT en la doble cadena

Nota: Los valores de los ángulos están en grados.



Figura 3.6: Estructura del dApdT en la doble hélice, correspondiente a la familia BI, con metodología DFT/PW91PW91/TZP.



Figura 3.7: Estructura con DFT para el dApdT en la doble hélice, bajo tres secuencias de optimización, correspondiente a la familia BI.

Al observar las tablas 3.6 y 3.7, los resultados si dependen de la metodología de los programas utilizados para el cálculo, pero los valores de los ángulos de torsión después del cálculo, se mantienen en regiones que corresponden a la familia inicial antes del proceso de optimización. En la tabla 3.7 se tienen resultados C1'-exo para el empaquetamiento del anillo de azúcar, para la segunda cadena de nuestro fragmento, pero éste empaquetamiento se encuentra en la región de C2'-endo, confirmando así que sus características estructurales de los dDMP analizados con una diferencia en la exigencia del criterio de convergencia, se mantienen pertenecientes a la familia BI.

Es importante mencionar que las distancias entre átomos de una base y otra en el apilamiento, son distancias mayores de 3.5 Å, y que las distancias entre los átomos que participan en el apareamiento de bases no cambian con el número de optimizaciones bajo el cálculo DFT al que fue sometido el dApdT, ver tabla 3.8.



Figura 3.8: Apareamiento A=T, A través de dos puentes de hidrógeno. Estos se muestran con líneas punteadas.

Tabla 3.8: Distancias promedio de átomo-átomo entre pares de bases

Átomos involucrados	Distancias
	PRIMER PAR A-T
N1-N3	2.77\AA
N6-O4	2.85\AA
	SEGUNDO PAR A-T
N1-N3	2.78\AA
N6-O4	2.87\AA

	dDMPs	$\delta 1$	ε	ζ	α	β	γ	$\delta 2$	Φ	λ	Φ1
	Cálculos con ADF										
1	$dApdT^*$	119.0	168.1	264.7	310.0	183.4	45.0	123.5	7.4	34.9	5.7
		119.2	168.2	264.6	310.1	183.4	44.9	123.6	8.7	47.5	10.5
2	1/PBE	139.3	181.4	268.1	296.8	185.4	54.1	122.8	6.9	32.0	5.1
		139.2	181.0	268.1	296.6	187.1	54.5	124.8	7.2	32.5	7.5
3	1/PW91	138.4	178.8	267.7	296.6	187.6	54.8	125.5	6.6	33.0	5.1
		138.5	178.6	267.0	297.0	188.4	54.9	126.9	6.9	33.4	7.3
4	1/PW91	139.9	182.5	269.5	295.6	187.9	54.9	123.6	6.6	32.2	7.1
		139.9	182.0	269.2	295.8	188.9	54.9	125.2	6.8	32.4	7.4
5	8/PW91	138.0	194.7	284.9	288.4	195.2	49.8	122.3	33.7	35.8	51.4
		138.3	194.8	285.0	288.4	195.8	49.1	122.8	44.1	35.7	42.3
6	10/PW91	140.3	199.1	280.7	287.8	176.0	50.8	98.7	9.3	24.9	6.8
		140.3	198.7	280.7	287.7	176.3	50.7	98.9	7.0	24.9	2.5
7	3/PW91	141.0	200.4	281.4	285.8	186.1	49.6	97.1	9.0	22.4	1.2
		140.9	200.1	281.4	286.2	186.1	49.6	97.1	8.8	22.6	1.5
		Cálculos con GAUSSIAN									
8	PW91	145.5	167.6	277.0	280.0	231.9	50.5	143.0	23.9	34.6	8.8
		145.5	167.7	277.0	280.1	232.0	50.3	143.0	16.8	34.6	15.4
9	8/PW91	146.3	166.7	278.0	280.3	233.7	48.8	145.6	21.7	32.9	8.8
		146.4	166.8	277.9	280.4	233.8	48.7	145.6	22.9	32.8	9.0
10	PW91	142.5	191.7	275.6	292.7	172.8	51.8	114.3	3.1	24.8	5.3
		142.4	191.7	275.5	292.7	173.2	51.8	114.5	3.8	24.8	3.5
11	10/PW91	143.4	195.2	279.4	288.2	174.5	51.8	106.0	6.1	25.1	4.0
		143.4	195.1	279.4	288.3	174.5	51.9	106.2	6.1	24.8	2.3

Tabla 3.9: Secuencia de cálculos para el dApdT con ADF y GAUSSIAN

Nota: Los ángulos están en grados y la secuencia de cálculos se describe en el texto a continuación. En la fila cuatro se muestra un cálculo con mayor criterio de convergencia, DFT/PW91/TZP.

En la primera parte de la tabla 3.9, la fila número dos y la fila número tres, corresponden a cálculos estándar con potenciales PBE y PW91 respectivamente, así como el uso de la base TZP. Los resultados en la fila número cuatro, corresponden a un criterio de cálculo con una exigencia mayor en el criterio de convergencia. Los mínimos fueron encontrados a partir de la optimización de la estructura inicial del banco de datos. Para la segunda parte de la tabla 3.9, se muestran los cálculos con el paquete GAUSSIAN, se realiza una secuencia de cálculos con funcional PW91 por medio de este programa, pero con diferentes criterios de convergencia. Observemos en las filas restantes que los resultados para los ángulos de torsión, de las dos cadenas del fragmento con doble dDMP, son casi iguales, hay diferencia en los valores de los ángulos pero entre una y otra metodología cuántica, estos cambios se encuentran presentes en los ángulos ε , ζ , α , β , $\delta 2$, λ y $\Phi 1$.

Acontinuación se muestra el empaquetamiento del anillo de azúcar para la respectiva optimización de esta estructura:

Tabla 3.10: Empaquetamiento del azúcar para la doble cadena del d Apd
T, cálculos ADF y cálculos GAUSSIAN

		5' -	end	3'-end					
	dDMPs	Azúcar	P	v_{max}	χ	Azúcar	P	v_{max}	χ
	Cálculos con ADF								
1	dApdT*	C1'-exo	129.5	30.3	-118.7	C1'-exo	142.7	26.5	-108.3
		C1'-exo	129.2	30.3	-118.8	C1'-exo	142.5	26.7	-108.4
2	PBE	C2'-endo	170.9	30.8	-111.6	C1'-exo	137.4	35.8	-115.7
		C2'-endo	169.6	30.9	-112.9	C1'-exo	140.7	35.5	-115.0
3	PW91	C2'-endo	168.1	30.9	-111.3	C1'-exo	142.0	34.9	-113.9
		C2'-endo	167.6	31.2	-112.1	C1'-endo	144.2	34.6	-113.4
4	PW91	C2'-endo	173.0	30.3	-113.7	C1'-exo	138.9	35.3	-115.7
		C2'-endo	172.8	30.4	-114.2	C1'-exo	141.5	35.1	-114.7
5	8/PW91	C2'-endo	149.3	39.7	-153.8	C1'-exo	126.1	40.5	-160.6
		C2'-endo	150.1	39.5	-154.0	C1'-exo	126.9	40.5	-160.5
6	10/PW91	C2'-endo	172.6	29.8	-122.0	O4'-endo	106.5	42.6	-121.6
		C2'-endo	172.7	29.8	-122.1	O4'-endo	106.4	42.6	-121.6
7	3/PW91	C2'-endo	173.1	30.1	-119.1	O4'-endo	104.6	43.5	-117.4
		C2'-endo	172.7	30.2	-118.9	O4'-endo	104.7	43.5	-117.54
	Cálculos con GAUSSIAN								
8	PW91	C2'-endo	159.2	41.3	-136.6	C2'-endo	158.5	34.4	-126.6
		C2'-endo	159.3	41.3	-136.6	C2'-endo	158.6	34.4	-126.5
9	8/PW91	C2'-endo	161.8	40.6	-136.2	C2'-endo	162.3	35.3	-119.4
		C2'-endo	161.8	40.6	-136.5	C2'-endo	162.4	35.4	-119.3
10	PW91	C2'-endo	177.8	29.2	-119.7	C1'-exo	124.4	43.8	-116.0
		C2'-endo	177.9	29.2	-119.0	C1'-exo	123.9	43.9	-116.0
11	$10/\mathrm{PW91}$	C2'-endo	175.7	30.4	-123.4	C1'-exo	115.4	44.0	-118.4
		C2'-endo	175.6	30.5	-123.4	C1'-exo	115.6	43.9	-118.2

Nota: Los valores de los ángulos están en grados.



Figura 3.9: En esta estructura molecular, observamos la doble cadena para el dApdT con optimización DFT y se observa que las bases se encuentran aproximadamente en el mismo plano.

Esta característica corresponde a la disposición de las bases, una posición más paralela en las conformaciones obtenidas después del cálculo. Este resultado viene a depender del método de cálculo.



Figura 3.10: Estructura de la doble cadena para el dApdT, con DFT, se muestra la superpocición de bases con respecto al método de cálculo.



Figura 3.11: Estructura de la doble cadena para el dApdT, mostrando la no planaridad de las bases en el apareamiento de estas y el no apilamiento. Resultado obtenido con el programa GAUSSIAN.

A continuacion se muestran las energías para los dDMPs de la doble cadena antes y después de la optimización.

dApdT	Energía inicial	Energía final					
	Energías para los cálculos con el programa ADF						
2	-18604.39145	-18719.37547					
3	-18696.38572	-18808.80422					
4	-18696.61683	-18809.97976					
5	-18752.87366	-18805.02408					
6	-18807.54909	-18811.73014					
7	-18809.5632	-18811.38493					
	Energías para lo	os cálculos con el programa GAUSSIAN					
8	-3031904.689	-3031972.395					
9	-3031974.677	-3031975.136					
10	-3031848.683	-3031973.854					
11	-3031975.484	-3031976.192					

Tabla 3.11: Energías en kcal/mol para los cálculos con ADF y GAUSSIAN

Nota: Se muestran los valores de las energías iniciales y finales de la optimización, con criterios de convergencia diferentes.

Por trabajos previos, se sabe que las características del empaquetamiento del anillo de azúcar es la característica principal que nos permite distinguir entre las diferentes familias existentes. El empaquetamiento C2'-endo es observado en la familia B y los valores del ángulo δ , que son característicos para diferenciar entre una familia y otra; a pesar de la superposición que pueda llegarse a tener para algunos valores de los ángulos de torsión, no se tiene ambigüedad al determinar a qué familia pertenece cada dDMP, ya que esto es de suma importancia para la valides de nuestros resultados.

Las características obtenidas de conformación para las estructuras de desoxinucleósidos para la doble cadena correspondientes a la familia BI, y los mínimos de energía para los dDMP se resumen en la Tabla 3.11. Los mínimos locales obtenidos, para la conformación de los nucleósidos de pirimidina en la forma BI con C2'-endo, mostranron ciertos dobleces en el azúcar. Como lo describe la literatura [2], la existencia de un pequeño cambio en el pliegue del azúcar del C3'-endo al C1'-exo, para la optimización de las estructuras de algunos nucleósidos dDMPs. Estos valores son muy próximos a la región $(141^o - 143^o)$ como lo muestra para C2'-endo.

El análisis de los resultados obtenidos para los puntos calculados del tipo BI, y los puntos de mínima energía juega un papel crucial para el soporte (esqueleto) azúcar-fosfato para la disposición casi paralela de las bases de los dDMPs, así como de la cadena doble del ADN. La disposición en paralelo de las bases no depende de su grado de superposición y por lo tanto no se puede atribuir a las interacciones de apilamiento entre las bases. Esto, además, justifica nuestra elección sobre el criterio de convergencia para llevar a cabo los cálculos. Por otra parte, se observa que la posición relativa de las secuencias de bases de los anillos en dDMPs es dependiente. Las bases de PUR-PYR se superponen de manera significativa. Este comportamiento sistemático en las estructuras optimizadas de la familia BI para el dDMPs concuerda totalmente con la regla para la cadena doble del ADN en los cristales [12], a pesar de la ausencia de la segunda cadena de nucleótidos y los vecinos en ambos sentidos de la cadena. Esta observación nos permite sugerir la importancia de la estructura de una sola cadena para la secuencia, que depende de las propiedades de los pares del ADN. Siguiendo esta observación importante que se refiere a la dependencia de la secuencia para la posición mutua de las bases.

Los estudios de la mecánica cuántica de mínimos locales de dDMPs son importantes para comprender la estructura y funciones del ADN, y así buscar las raíces de estas propiedades a nivel de subunidades y grupos individuales. La existencia de mínimos locales de energía de dDMPs en la hélice doble con los pares de bases de Watson-Crick, muestra la idea de que la doble hélice tiene una estructura óptima, no sólo para facilitar las interacciones base a base, sino también para encontrar los mínimos locales de energía para los fragmentos de la cadena sencilla. Por lo tanto, "la molécula más importante de la vida"se construye de tal manera, que la estructura es un mínimo de energía global donde esta se compone geométricamente y similarmente, a la de las estructuras de mínima energía, teniendo un emparejamiento óptimo entre las bases de Watson-Crick. Este tipo de construcción facilita el almacenamiento y el uso de la información genética. La existencia de los mínimos locales favorece la construcción de la estructura en bloques para la doble hélice, facilitando la restauración después de relajarse y así ayudar a la adición de un nuevo nucleótido en la síntesis o durante la reparación del ADN.

Otro aspecto importante del perfil de conformación de la cadena única es la dependencia de la secuencia de las bases, como una predisposición en los fragmentos mínimos. Se confirma el papel importante para la dependencia de la secuencia de la doble hélice y por lo tanto promueve la formación de las diferentes estructuras tridimensionales locales de la molécula de ADN que son importantes para su función biológica. La diferencia en el modelo para la superposición de bases entre las secuencias se inició de las purinas y pirimidinas como una regla común para todas las hélices dobles a derecha de Watson y Crick, y otros tipos de hélice doble. En general, las regularidades observadas proporcionan una evidencia adicional en apoyo de la estructura y propiedades únicas de la doble hélice de Watson y Crick.

Conclusiones

Fragmentos mínimos dDMP de la cadena única y fragmentos de la doble cadena del ADN, fueron optimizados por mecánica cuántica, con ésto las características estructurales y conformacionales fueron analizadas, este análisis nos muestra características comunes para los dos diferentes métodos MP2/6-311++G^{**} y DFT/PW91PW91/DZVP. Esta comparación con teoría de perturbaciones es un cálculo exclusivo extremadamente costoso de supercomputadora y que se toma como modelo para nuestras comparaciones con la teoría de los funcionales de la densidad.

Se observa que esta comparación de métodos cuánticos no exhibe diferencias en las características comunes del análisis estructural, sino por el contrario se muestran características usuales de la estructura del ADN, como son la superposición de bases, las características del empaquetamiento del azúcar y la distinción entre familias. Otra evidencia mostrada, es que la exactitud del cálculo en la geometría, es inútil en la exigencia del costo del cálculo, al exigirle una base más extendida.

Usando cálculos DFT/PW91PW91/DZVP se obtuvieron mínimos locales de energía para todas las secuencias dGpdC y dApdT de las familias B. El análisis de las características de estos mínimos reveló la importante contribución del esqueleto azúcar-fosfato al paralelismo de las bases en cadena del ADN. Así mismo la posición mutua de los anillos de las bases que resulta ser nuevamente la característica común de la secuencia de las mismas. Estos resultados en general, confirman nuevamente el importante papel del esqueleto azúcar-fosfato en la estabilidad del dúplex.

Basados en los resultados, se tiene la confirmación de que las conformaciones de estas familias están predispuestas en las preferencias de disposición de una sóla cadena. Reafirmando la predisposición que puede ser importante en la funcionalidad biológica del ADN al facilitar la adición de un nuevo nucleótido en los procesos de duplicación y restauración de la doble hélice después del desdoblamiento.

Los cálculos realizados por las dos diferentes teorías de mecánica cuántica involucradas alrededor de MP2 y DFT son independientes para la organización del esqueleto azúcar -fosfato, que es de vital importancia en la organización de la cadena doble del ADN. Observando distancias cortas en el apilamiento de bases, con cálculo MP2. Lo cual nos permite comprobar nuevamente que los cálculos DFT son cálculos con mayor precisión, dando resultados que se encuentran en el rango de valores reales para la descripción de la estructura de doble cadena del ADN, en su forma estructural más común que es perteneciente a la familia B.

Bibliografía

- Poltev, V. I.; Anisimov, V. M.; Danilov, V.I.; Deriabina, A.; Gonzalez, E.; Jurkiewicz, A.; Les, A.; Polteva, N., *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 25, 563-572, 2008.
- [2] Poltev, V. I.; Anisimov, V. M.; Danilov, V. I.; Deriabina, A.; Gonzalez, E.; Garcia, D.; Rivas, F.; Jurkiewicz, A.; Les, A.; Polteva, N. Journal of Molecular Structure THEOCHEM, 912, 53-59, 2009.
- [3] Watson JD, Crick FHC; A structure for Deoxyribose Nucleic Acid. Nature 171(4356), 737-738, 1953.
- [4] Svozil, D.; Kalina, J.; Omelka, M.; Schneider B. Nucleic Acids Research, 36, 3690 -3706, 2008.
- [5] Svozil, D.; Sponer, J. E.; Marchan, I.; Perez, A.; Cheatham III, T. E.; Forti, F.; Luque, F. J.; Orozco, M.; Sponer, J. *Journal of Physical Chemistry B*, **112**, 8188-8197, 2008.
- [6] Iran N. Levine, Teoría de perturbaciones de Mφller-Plesset Química Cuántica 5, 544-549
- [7] te Velde, G.; Bickelhaupt, F. M.; van Gisbergen, S. J. A.; Guerra, C. F.; Baerends, E. J.; Snijders, J. G.; Ziegler, T., *Journal of Computational Chemistry*, 22, 931-967, 2001.
- [8] Tsuzuki, T.; Luthi, H. P., Journal of Chemical Physics, 114, 3949-3957, 2001.
- [9] Sun, G.; Voigt, J. H.; Filippov, I. V.; Marquez, V. E.; Nicklaus, M. C., Journal of Chemical Information and Modeling, 5, 1752-1762, 2004.
- [10] Perdew, J. P.; Wang, Y. Phys Rev B, 45, 13244, 1992.
- [11] Becke, A. D. Phys Rev A, **3**8, 3098, 1988.
- [12] Dickerson, R. E. Adenine Press, N.Y., 1 17-36, 1998.