



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

---

Facultad de Ciencias Fisico-Matemáticas

---

Estudio Computacional de Fragmentos Mínimos de ADN

Tesis presentada al

**Posgrado en Ciencias (Física Aplicada)**

como requisito parcial para la obtención del grado de

**Maestro en Ciencias (Física Aplicada)**

por

Rodrigo Orlando Salazar Castillo

asesorado por

Dr. Valeri Poltev

Dra. Alexandra Deriabina

Puebla Pue.  
Enero de 2015





Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

---

Facultad de Ciencias Fisico-Matemáticas

---

Estudio Computacional de Fragmentos Mínimos de ADN

Tesis presentada al

**Posgrado en Ciencias (Física Aplicada)**

como requisito parcial para la obtención del grado de

**Maestro en Ciencias (Física Aplicada)**

por

Rodrigo Orlando Salazar Castillo

asesorado por

Dr. Valeri Poltev

Dra. Alexandra Deriabina

Puebla Pue.  
Enero de 2015



**Título:** Estudio Computacional de Fragmentos Mínimos de ADN  
**Estudiante:** RODRIGO ORLANDO SALAZAR CASTILLO

COMITÉ

---

Dr. Eduardo González Jiménez  
Presidente

---

Dra. Dolores García Toral  
Secretario

---

Dr. Juan Francisco Rivas Silva  
Vocal

---

Dr. Valeri Poltev  
Asesor

---

Dra. Alexandra Deriabina  
Asesor



# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>7</b>
<b>2. Sistema a estudiar: Fragmentos de ADN</b>	<b>9</b>
2.1. El ADN	9
2.1.1. Estructura Primaria	9
2.1.2. Estructura Secundaria	11
2.1.3. Estructura Terciaria	11
2.1.4. Estructura Cuaternaria	12
<b>3. Métodos de Estudio</b>	<b>15</b>
3.1. Mecánica Molecular	15
3.1.1. Estiramiento del enlace	15
3.1.2. Flexión del ángulo de valencia	16
3.1.3. Variación del ángulo de torsión	16
3.1.4. Términos cruzados.	17
3.1.5. Interacción electrostática.	17
3.1.6. Interacciones de van der Waals	17
3.1.7. AMBER	18
3.2. Mecánica Cuántica y la Teoría de los Funcionales de la Densidad	19
3.2.1. La ecuación de Schrödinger y la aproximación de Born-Oppenheimer	19
3.2.2. DFT	19
3.2.3. Funcionales: PW91, PBE, PWB6K y M062X	23
<b>4. Metodología</b>	<b>33</b>
4.1. Elección del Sistema	33
4.2. Caracterización de Resultados	33
<b>5. Resultados y discusión</b>	<b>41</b>
5.1. Elección de los métodos de cómputo	41
5.2. Análisis Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN correspondientes a la Secuencia dApdT:dApdT	41
5.3. Análisis de Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN Obtenidos Mediante Mecánica Molecular	47
5.4. Análisis de Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN Correspondientes a la Secuencia dGpdC:dGpdC	48
5.5. Análisis de Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN Correspondientes a las Secuencias: dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA. Minimizados por Mecánica Cuántica con el funcional PW91-PW91	55
<b>6. Conclusiones</b>	<b>59</b>



# Índice de figuras

2.1. Procesos: Transcripción, Procesamiento y Traducción . . . . .	10
2.2. Los 4 Nucleótidos . . . . .	11
2.3. Familias Estructurales. . . . .	12
2.4. Un nucleosoma es un complejo de histones y nucleótidos. . . . .	13
2.5. Estructura cuaternaria densa. . . . .	13
3.1. Tipos de interacciones que componen la energía potencial en el modelo de Mecánica Molecular. . . . .	16
3.2. Ángulo dihedro. . . . .	17
3.3. Cambio de Variable DFT . . . . .	20
3.4. Escalera de Jacob. Ilustración de la evolución de los funcionales de la densidad, que se acercan cada vez más a la exactitud química . . . . .	24
3.5. Comparación de la energía de interacción con respecto la distancia de separación, en un dímero citosina-citosina, calculada por distintos métodos. Es posible observar que la mejor estimación es la del funcional PWB6K. Mientras que el método MP2 sobre estima las interacciones de apilamiento. . . . .	29
4.1. Dúplex de ADN. Puede apreciarse el sistema elegido. Dinucleósido de Monofosfato Complementario. . . . .	34
4.2. Designación de los ángulos de torsión de la cadena azúcar fosfato de un Dinucleósido de Monofosfato. . . . .	35
4.3. Empaquetamientos del anillo de azúcar característicos de la forma A y la forma B del ADN. . . . .	36
4.4. Ángulos de torsión en el anillo de azúcar. . . . .	36
4.5. Ángulo de Pseudorotación. Se ilustra la pseudorotación del anillo de azúcar conforme el ángulo varía de 0 a 360° . . . . .	37
4.6. Ilustración de los parámetros de cuerpo rígido usados para describir la geometría de pares de bases complementarios y de bases escalonadas adyacentes. Los parámetros encerrados en un recuadro rojo son los usados en este trabajo de tesis. Notar que los parámetros <i>Bucle</i> , <i>Propeller</i> y <i>Twist</i> son medidos en grados y el parámetro <i>Rise</i> es medido en Angstroms. . . . .	38
4.7. Designación de las bases. Identificaremos a cada base con las leyendas: i1, i2, j1 y j2. Notar que estos nombres dependen de la dirección del esqueleto azúcar-fosfato. De este modo la superposición de la base i1 con la base i2 se abreviará simplemente como i1-i2. De forma similar para las demás combinaciones posibles. . . . .	39
5.1. Dúplex correspondiente a la secuencia Adenina-Timina optimizado con Mecánica Molecular (Fragmento 1). Es posible observar que los pares de bases no son planos. . . . .	43

5.2. Dúplex correspondientes a la secuencia Adenina-Timina optimizados con Mecánica Cuántica. La estructura de la parte superior presenta pares ligeramente no planos (Fragmento 5). Mientras que la estructura de la parte inferior muestra pares de bases planos (Fragmento 3). Ambas estructuras son mínimas. . . . .	47
5.3. Dinucleósido de Monofosfato Complementario correspondiente a la secuencia Citosina-Adenina. Cálculo con Mecánica Molecular en el Vacío y Versus Mecánica Molecular en Agua . . . . .	51
5.4. Dinucleósido de Monofosfato Complementario correspondiente a la secuencia Adenina-Citosina en un medio solvente modelado con moléculas de agua. . . . .	52
5.5. Dinucleósido de Monofosfato Complementario correspondiente a la secuencia Guanina-Citosina. El ángulo <i>Roll</i> es mayor cuando usamos el funcional PW91-PW91. . . . .	53

# Índice de tablas

3.1. Parámetros optimizados en el funcional M06-2X. . . . .	32
5.1. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas, correspondientes a las secuencia dApdT:dApdT, calculadas con diferentes métodos (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). <i>Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].</i> . . . . .	44
5.2. Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas correspondientes a la secuencia dApdT:dApdT. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-12 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias. . . . .	45
5.3. Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión, $\chi$ , de estructuras optimizadas con distintos métodos correspondientes a la secuencia dApdT:dApdT. . . . .	46
5.4. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas con Mecánica Molecular correspondientes a diferentes secuencias (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). <i>Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].</i> . . . . .	48
5.5. Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas optimizadas con Mecánica Molecular correspondientes a diferentes secuencias. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-12 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias. . . . .	49
5.6. Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión, $\chi$ , de estructuras optimizadas con Mecánica Molecular correspondientes a diferentes secuencias. . . . .	50
5.7. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas, correspondientes a las secuencia dGpdC:dGpdC, calculadas con diferentes métodos (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). <i>Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].</i> . . . . .	54
5.8. Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas optimizadas con diferentes métodos correspondientes a la secuencia dGpdC:dGpdC. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-12 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias. . . . .	54
5.9. Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión, $\chi$ , de estructuras optimizadas por diferentes métodos correspondientes a la secuencia dGpdC:dGpdC. . . . .	55

- 5.10. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas con Mecánica Cuántica, correspondientes a las secuencias: dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). *Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].* . . . . . 56
- 5.11. Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas optimizadas con Mecánica Cuántica correspondientes a las secuencias dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-12 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias. . . . . 56
- 5.12. Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión,  $\chi$ , de estructuras optimizadas con Mecánica Cuántica correspondientes a las secuencias dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA. . . . . 57

# Objetivo

Optimizar, caracterizar y comparar estructuras de dinucleósidos de monofosfatos complementarios mediante el uso de métodos computacionales de mecánica cuántica y de mecánica molecular.



# Objetivos Particulares

1. Búsqueda de configuraciones de mínima energía de dinucleósidos de monofosfatos complementarios, usando: la teoría de los funcionales de la densidad y mecánica molecular.
2. Caracterización y comparación de los mínimos de energía obtenidos.
3. Discusión de los resultados y generación de conclusiones.



# Resumen

El ADN contiene toda la información necesaria para que los procesos biológicos se lleven a cabo. Estudios experimentales muestran preferencias estructurales en la molécula de ADN (Familias: AI, AII, BI, BII y Z). En trabajos previos estudiamos fragmentos mínimos de una sola cadena (Dinucleósidos de Monofosfatos). Encontramos que las preferencias estructurales están predispuestas en dichos fragmentos. También encontramos que la superposición de las bases depende de la secuencia.

En el presente trabajo de tesis extendimos nuestro estudio a fragmentos mínimos del dúplex de ADN, es decir, Dinucleósidos de Monofosfatos Complementarios (CdDMP). Se trata de dilucidar las regularidades en las características estructurales de dichos fragmentos. Con este fin, agregamos a nuestro análisis variables cuantitativas que caracterizan: la superposición de bases consecutivas, la inclinación de las bases con respecto al eje de la hélice, la distancia promedio entre las bases; y otros parámetros que caracterizan al par. Además, se incluyeron, como en nuestros estudios previos, los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato y el empaquetamiento de los anillos de azúcar.

Para obtener las estructuras mínimas se usaron dos enfoques: el Mecánico Cuántico y el Mecánico Molecular. Para el enfoque Mecánico Cuántico empleamos la Teoría de los Funcionales de la Densidad. Con un nivel de la teoría PW91PW91/6-31G\*, tal y como viene implementado en el programa Gaussian09, encontramos estructuras mínimas para las secuencias: dApdT:dApdT, dTp dA:dTp dA, dGpdC:dGpdC y dCpdG:dCpdG. Y con un nivel de la teoría PWB6K/6-31G\*, implementado en el programa Qchem 3.2, obtuvimos resultados para las secuencias: dApdT:dApdT y dGpdC:dGpdC. Por otro lado, usando Mecánica Molecular, encontramos mínimos estructurales para todas las secuencias posibles, es decir: dApdT:dApdT, dTp dA:dTp dA, dGpdC:dGpdC, dCpdG:dCpdG, dGpdA:dTp dC, dAp dG:dCpdT, dCpdA:dTp dG, dAp dC:dGpdT, dAp dA:dTp dT y dGpdG:dCpdC.

El análisis de los resultados reveló que existen diferentes mínimos para una misma secuencia. Tales mínimos están separados por barreras energéticas pequeñas. Fué interesante encontrar que las estructuras simétricas son más favorables energéticamente que las que no lo son. Un análisis de los resultados obtenidos con diferentes funcionales demostró que el funcional PWB6K/6-31G\*, de nueva generación y más costoso computacionalmente, no necesariamente mejora dramáticamente nuestros resultados. Sin embargo existen secuencias en las que el uso de este funcional puede ser crítico, por ejemplo, la secuencia dGpdC:dGpdC optimizada con el funcional Pw91 condujo a un resultado artificial mientras que el funcional PWB6K condujo a un resultado más cercano a la realidad biológica.

También probamos el funcional M06-2X para la secuencia dApdT:dApdT, los parámetros obtenidos de tal mínimo son los mejores hasta el momento, sin embargo debe mencionarse que existen algunas distancias cortas. Al comparar este último resultado con el del funcional PW91 observamos que a pesar de obtener parámetros estructurales ligeramente más cercanos a los datos experimentales, el costo de cómputo aún es demasiado alto para usar este funcional como el

estándar en nuestros cálculos.

Por otro lado, los fragmentos mínimos obtenidos mediante Mecánica Molecular, en general, no poseen características estructurales cercanas a las de los resultados experimentales. Mientras que aquellas estructuras de fragmentos mínimos, obtenidas usando Mecánica Cuántica, sí. Complementando esta parte del estudio se hizo una minimización de energía de Dinucleósidos de Monofosfato en presencia de moléculas de agua para modelar el medio solvente. Tal minimización se llevo a cabo usando Mecánica Molecular con el mismo campo de fuerzas, ff99. Al comparar los resultados determinamos que el campo de fuerzas, ff99, ha sido ajustado para reproducir la forma de la doble hélice sólo en presencia de agua. De hecho es posible apreciar la dependencia en la secuencia de la superposición de las bases en estos últimos cálculo, aunque con un valor cuantitativo menor.

# Capítulo 1

## Introducción

El ADN es la molécula biológica más importante debido a que es la portadora de la información genética. Toda la información necesaria para que la vida y la reproducción se lleven a cabo en los sistemas biológicos está contenida en esta molécula. El ADN es una hélice doble formada por dos cadenas de polinucleótidos complementarias, cada cadena contiene un conjunto de nucleósidos conectados uno con otro por medio de un grupo fosfato. Cada nucleósido consiste de una base nitrogenada y de un fragmento de desoxirribosa. 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 del ADN. Aún así esto es suficiente para codificar la infinita diversidad de la vida. Entender el papel de los ácidos nucleicos como bloques de construcción y sus interacciones en las conformaciones preferenciales del ADN en relación a la secuencia específica de las bases es un paso importante hacia el entendimiento de los mecanismos de los procesos genéticos y la comprensión de la vida misma.

Experimentos estructurales revelaron varios patrones en la estructura tridimensional del ADN, incluyendo las bien conocidas formas A, B y Z de la doble hélice. La riqueza de tal información estructural ha sido acumulada en el Nucleic Acid Data Bank [1] que ha sido analizado recientemente por Svozil y col. [2]. 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. Hasta ahora no existía ninguna certeza acerca del 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.

Anteriormente 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 hemos realizado recientemente cálculos de mecánica cuántica de fragmentos mínimos de cadena de ADN, usando el método de la teoría de funcionales de la densidad (DFT, por sus siglas en inglés) [3] [4]. Este nivel de la teoría provee un compromiso razonable entre la exactitud de los cálculos y la demanda de recursos de cómputo, en comparación con los métodos computacionales, no empíricos, disponibles. Usando el método DFT realizamos cálculos en monofosfatos de desoxidinucléosido (dDMP, por sus siglas en inglés) en un complejo con iones de sodio, que representan fragmentos mínimos de ADN de una sola hebra. Los dDMP consisten de dos nucleósidos situados a lo largo de la hebra de ADN y conectados por un grupo fosfato. De este modo, los dDMP pueden considerarse como unidades mínimas portadoras de la información estructural de una conformación particular

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

---

adoptada por el ADN. 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 glucosídicos, uno por base.

En este trabajo extendemos nuestros estudios. El sistema ahora se conforma por un dúplex, es decir, dos dDMP complementarios que forman un fragmento de la doble hélice. Estamos interesados en responder a la pregunta ¿el estudio de fragmentos mínimos de la doble hélice nos permitirá encontrar detalles estructurales que un sistema de una sola hebra no?

## Capítulo 2

# Sistema a estudiar: Fragmentos de ADN

### 2.1. El ADN

En cuanto a su funcionalidad el ADN es la molécula biológica más importante debido al papel que juega como portadora del código genético. El código genético contiene toda la información necesaria para que un organismo lleve a cabo todas sus funciones. El flujo de la información contenida en el ADN se lleva a cabo según se describe en la Figura 2.1. El ADN se encuentra alojado en el núcleo de la célula. Mediante dos procesos consecutivos: transcripción y procesamiento; la información contenida en el ADN pasa al citoplasma. Luego en los ribosomas tiene lugar el último proceso, la traducción, el cual da lugar a la creación de una proteína.

El ADN además de funcionar como un medio de almacenamiento de la información genética también proporciona los mecanismos para su autoreplicación. Estructuralmente el ADN es una hélice doble formada por dos cadenas de polinucleótidos complementarias, cada cadena contiene un conjunto de nucleósidos conectados uno con otro por medio de un grupo fosfato. Cada nucleósido consiste de una base nitrogenada y de un fragmento de desoxirribosa. A pesar del importante 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 (Adenina, Citosina, Guanina y Timina) a lo largo de la cadena de polinucleótidos. Aún así esto es suficiente para codificar la infinita diversidad de la vida.

#### 2.1.1. Estructura Primaria

Las características del ADN son debido a su gran riqueza estructural. Desde un punto de vista molecular el ADN es un polímero, también conocido como polinucleótido, debido a que sus unidades monoméricas son los nucleótidos. Cada nucleótido consiste de una base nitrogenada unida al azúcar (desoxirribosa) y el azúcar está unida a un grupo fosfato. Existen cuatro nucleótidos diferentes, la diferencia estriba en que sus bases nitrogenadas son diferentes: Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C) y Timina (T).

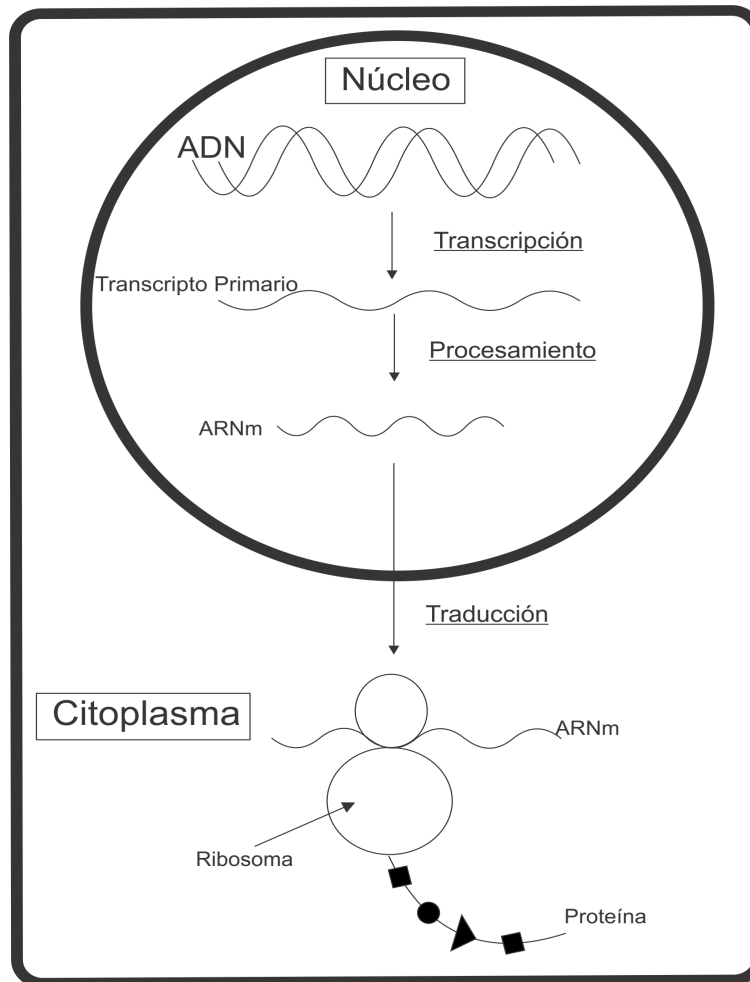


Figura 2.1: Procesos: Transcripción, Procesamiento y Traducción

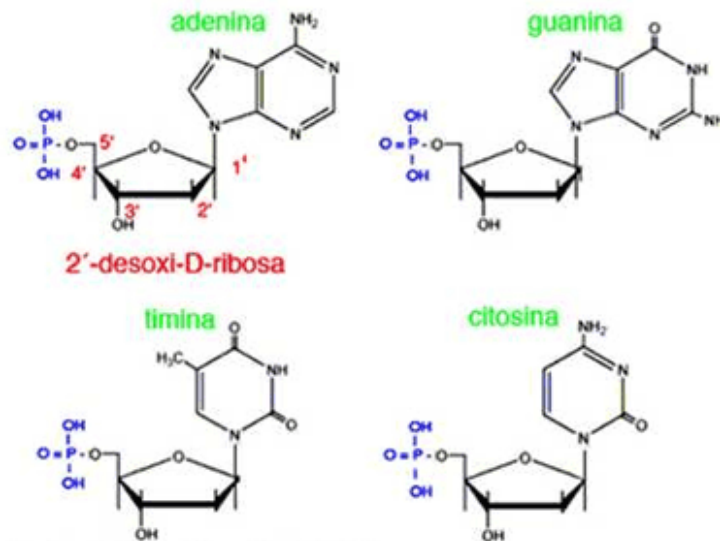


Figura 2.2: Los 4 Nucleótidos

### 2.1.2. Estructura Secundaria

La estructura secundaria del ADN corresponde a una doble hélice antiparalela lo que significa que dos hebras de ADN tienen polaridades opuestas, o dicho de otra forma sus esqueletos azúcar-fosfato van en direcciones opuestas. La dirección de los ácidos nucleicos se especifica al referirnos a los carbonos del anillo de azúcar, 5' se refiere al quinto carbono del anillo de ribosa, contando en sentido horario desde la molécula de oxígeno y 3' designa al tercer carbón en el anillo. Entonces la dirección es especificada por medio de estos dos carbonos. Por ejemplo la transcripción siempre ocurre en la dirección: de 3' a 5'.

En muestras con diferente grado de hidratación experimentos estructurales revelaron varios patrones en la estructura tridimensional del ADN, incluyendo las bien conocidas formas A, B y Z de la doble hélice. La riqueza de tal información estructural ha sido acumulada en el Nucleic Acid Data Bank que ha sido analizado recientemente por Svozil y col.[2]. Las familias y los fragmentos específicos de las secuencias de polinucleótidos dentro de cada familia, se distinguen por los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato y por el arreglo mutuo de las bases. Hasta ahora no existía ninguna certeza acerca del origen de las preferencias en la conformación del ADN.

### 2.1.3. Estructura Terciaria

La estructura primaria se refiere a la estructura molecular propiamente dicha, pero en el contexto celular tiene ciertas preferencias de empaquetamiento. Imaginemos el cromosoma de una típica célula eucariota que contiene de 1 a 20 cm de ADN. Sin embargo, durante la metafase de la mitosis y meiosis, este ADN es empaquetado en un cromosoma con un largo de 1 a 10  $\mu\text{m}$ . Es decir el ADN en la célula existe empaquetado dentro de una estructura densa y regular llamada cromatina. La cromatina está compuesta de ADN, proteínas, y una pequeña cantidad de ARN. Las proteínas encontradas en la cromatina son en su mayoría histones, una proteína básica que está cargada positivamente en un pH neutral, y proteínas cromosómicas no-histónicas que son muy ácidas en un pH neutral.

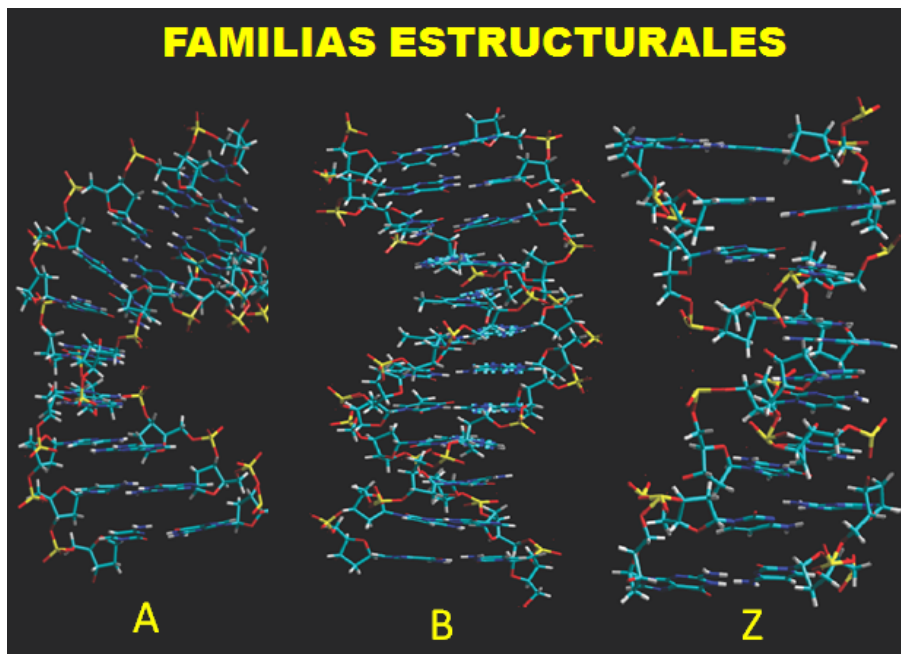


Figura 2.3: Familias Estructurales.

Los histones se han conservado en casi todas las eucariotas. Existen cinco tipos principales de histones, llamados H1, H2a, H2b, H3, y H4, y que existen en molaridades específicas en las cromatinas. Los histones se unen con el ADN para formar la subunidad estructural básica de la cromatina, los nucleosomas que son pequeñas cuentas elipsoidales de aproximadamente 11 nm de diámetro. Cada nucleosoma contiene 146 pares de nucleótidos que se envuelven  $1 \frac{3}{4}$  vueltas alrededor de un complejo de histones. Con una razón de empaquetamiento de 6. Luego los nucleosomas se empaquetan en una estructura con forma de hélice llamada fibra de 30 nm esto aumenta la razón de empaquetamiento a 40.

#### 2.1.4. Estructura Cuaternaria

En este empaquetamiento las fibras de 30 nm se organizan aún más, formando: lazadas, peldaños y esferas. Esta organización es la final y resulta en una razón total de empaquetamiento de  $10^3$  en los cromosomas de la interfase y de  $10^4$  en cromosomas mitóticos.

Es importante entender que el ADN no siempre está empaquetado en su forma más densa. Durante la interfase, es decir, en una fase no reproductiva de la célula, cuando la célula se encuentra muy activa, el ADN se encuentra a un décimo de la densidad al compararlo con el empaquetamiento durante la reproducción celular. Lo cual es importante porque se cree que la estructura cromática altamente densa inhibe la transcripción. Entonces para que los genes puedan ser expresados la estructura debe estar relajada para que las proteínas de transcripción tengan acceso a la molécula de ADN.

Queda claro que el ADN juega un papel esencial en los procesos de la vida. Que todos estos procesos son gracias a su riqueza estructural. Ahora resta preguntarnos acerca de los factores que originan tal riqueza estructural. ¿Estos factores se originan en la molécula de ADN o se debe a factores externos a ésta? Para responder esta pregunta, sabemos que, existen dos diferentes métodos para el estudio del ADN. El primero consiste en técnicas experimentales tales como:

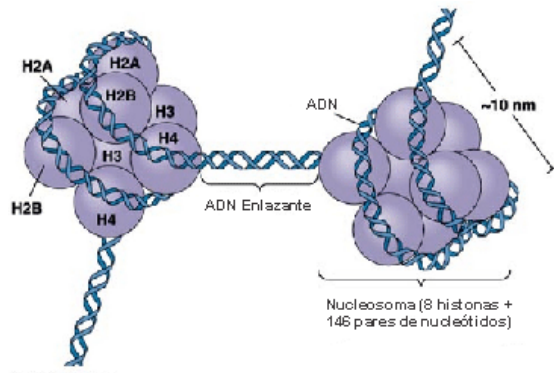


Figura 2.4: Un nucleosoma es un complejo de histones y nucleótidos.



Figura 2.5: Estructura cuaternaria densa.

## CAPÍTULO 2. SISTEMA A ESTUDIAR: FRAGMENTOS DE ADN

### 2.1. EL ADN

---

difracción de rayos X y resonancia magnética nuclear. Estas técnicas son útiles para visualizar la estructura en ciertas condiciones pero no nos permiten conocer las interacciones que existen entre las subunidades del ADN. El segundo es el de los estudios computacionales. Este método es útil para conocer las interacciones y analizar las estructuras más favorables de las moléculas.

Existen dos tipos de modelos moleculares usados para realizar cálculos: los modelos mecánico moleculares y los ab initio. Cada uno de estos modelos presenta ventajas y desventajas.

# Capítulo 3

## Métodos de Estudio

### 3.1. Mecánica Molecular

La mecánica molecular (MM) se basa en la idea de que una molécula se puede representar por un conjunto de puntos situados en el núcleo de cada átomo, cada punto cuenta con una carga que depende del tipo de átomo. Mientras que los enlaces de las moléculas son considerados como resortes. Debido a sus cargas los átomos en su conjunto producirán una superficie de energía potencial. A diferencia de los métodos semi-empíricos (aquellos basados tanto en evidencia experimental como en mecánica cuántica) la MM es un método basado sólo en la mecánica clásica.

En mecánica molecular la energía potencial ( $V$ ) de la molécula depende de las siguientes cantidades: estiramiento del enlace ( $V_{ten}$ ), flexión del ángulo de valencia ( $V_{flex}$ ), torsión de los enlaces ( $V_{tor}$ ), las interacciones entre estos movimientos ( $V_{cruc}$ ), atracciones y repulsiones del van der Waals ( $V_{vdw}$ ), e interacciones electrostáticas ( $V_{elec}$ ).

$$V = V_{ten} + V_{flex} + V_{tor} + V_{cruc} + V_{vdw} + V_{elec} \quad (3.1)$$

En MM es necesario especificar los parámetros, constantes, que caracterizan las interacciones, tales como las de van der Waals. Las constantes junto con los valores de equilibrio de: enlace, ángulo de flexión, ángulos dihedros, las cargas, las masas atómicas, el radio y la definición de la función de energía son conocidos en conjunto como un campo de fuerzas. Los valores específicos de dichos parámetros se eligen empíricamente de tal modo que las estructuras obtenidas sean congruentes con resultados experimentales o cálculos teóricos. El criterio de elección varía en cada campo de fuerzas, es por eso que los parámetros de un campo no pueden ser usados en otro.

#### 3.1.1. Estiramiento del enlace

El término del potencial para el estiramiento del enlace (o tensión) puede ser descrito en términos del potencial de Morse o por una expansión en serie. Los campos de fuerza modernos siempre incluyen términos cuadráticos para tratar con moléculas ordinarias y también han sido desarrollados otros para tratar con un gran número de moléculas que incluyen términos cúbicos. Sin embargo en el caso más simple se usa la aproximación del oscilador armónico:

$$V_{tex}(ij) = \frac{1}{2}k_{ij}(l_{ij} - l_{ij}^0)^2 \quad (3.2)$$

Dónde:  
 $l_{ij}$ : longitud de enlace.

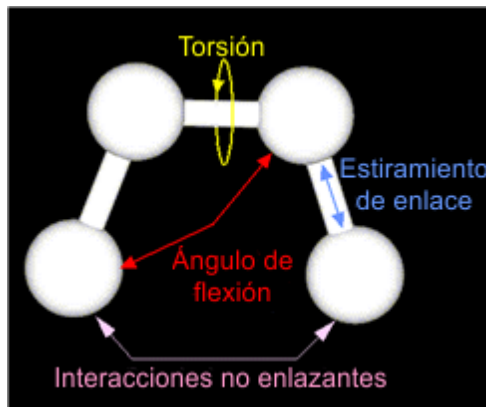


Figura 3.1: Tipos de interacciones que componen la energía potencial en el modelo de Mecánica Molecular.

$l_{ij}^0$ : longitud de equilibrio del enlace.

$k_{ij}$ : constante de fuerza para el término cuadrático.

La energía potencial total  $V_{ten}$  se obtiene al sumar la energía potencial de tensión de cualquier par de átomos  $V_{ten,ij}$  de la molécula:

$$V_{ten} = \sum_{1,2} V_{ten,ij} \quad (3.3)$$

La aproximación más simple es aquella que sólo incluye al término cuadrático, obteniendo la ecuación del oscilador armónico.

### 3.1.2. Flexión del ángulo de valencia

En espectroscopía vibracional se observa que para pequeños desplazamientos del punto de equilibrio, la variación de la energía asociada con las deformaciones del ángulo de enlace son bien modeladas por expansiones de polinomios, de esta manera la función del campo de fuerzas para un ángulo flexionado es:

$$V_{fle} = \frac{1}{2} \left[ k_{ijk} + k_{ijk}^{(3)}(\theta_{ijk} - \theta_{IJK}^0) + k_{ijk}^{(4)}(\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 + \dots \right] (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (3.4)$$

Donde  $\theta_{ijk}$  es el valor del ángulo entre los enlaces  $ij$  y  $jk$ , y  $\theta_{ijk}^0$  es el valor de referencia del ángulo. En un campo de fuerzas, un enlace es definido como un vector que conecta dos átomos. Las constantes de fuerza ahora con subíndices  $ijk$  para enfatizar que dependen de los tres átomos.

La energía potencial total  $V_{flex}$  de flexión del enlace se toma como la suma de las energías potenciales  $V_{flex;ijk}$  para la flexión de cada ángulo de enlace de la molécula. Nuevamente la opción más simple es tomar  $V_{flex;ijk}$  como una función cuadrática.

### 3.1.3. Variación del ángulo de torsión

El ángulo diedro se define como el ángulo entre el semiplano  $ijk$  y el semiplano  $jkl$ . Se escoge el intervalo de los ángulos diedros como:  $0 < \omega < 360$ . Por definición una rotación a favor de las agujas del reloj corresponde a un ángulo diedro positivo.

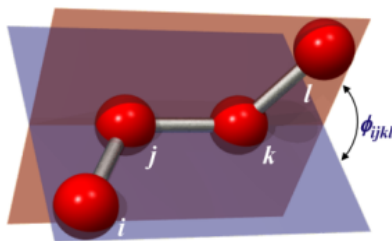


Figura 3.2: Ángulo dihedro.

Donde el valor de la amplitud y el conjunto de valores de periodicidad  $n$  son específicos a los enlaces de torsión  $ijkl$ . La energía potencial de torsión total se toma como suma de términos para todos los pares de átomos 1,4 (terminología: los átomos 1,2 son los átomos ligados entre sí: los átomos 1,3 están separados por dos enlaces: los átomos 1,4 están separados por tres enlaces y así sucesivamente).

#### 3.1.4. Términos cruzados.

Los términos cruzados  $V_{cruz}$  describen interacciones entre los movimientos de tensión, flexión y rotación. Para permitir esta interacción se puede añadir un término cruzado tensión-flexión con la fórmula:

$$\frac{1}{2}k_{12}(\Delta l_1 + \Delta l_2)\Delta\theta \quad (3.5)$$

Donde  $\Delta l_1$ ,  $\Delta l_2$  y  $\Delta\theta$  son las desviaciones de las longitudes de enlace y el ángulo de enlace con respecto a los valores de referencia. Los términos cruzados usados más comúnmente son: tensión-flexión, tensión-tensión, para dos enlaces al mismo átomo; y tensión-torsión, flexión-torsión, y flexión-flexión para dos ángulos con un átomo central común. Los términos cruzados se usan comúnmente para crear restricciones al movimiento de los átomos. La energía total que aportan estos términos cruzados es conocida como la energía de restricción.

#### 3.1.5. Interacción electrostática.

El término electrostático  $V_{ele}$  es la suma de las interacciones electrostáticas, incluyendo todos los pares de átomos, excepto los pares más próximos: 1,2 y 1,3.

$$V_{ele} = \sum_{1 \leq i < j \leq 4} V_{ele,ij} \quad (3.6)$$

El potencial electrostático  $V_{ele,ij}$  se calcula asignando cargas atómicas parciales  $Q_i$  a cada átomo, y usando la expresión de la energía potencial coulombiana.

$$V_{ele,ij} = \frac{Q_i Q_j}{\epsilon_r R_{ij}} \quad (3.7)$$

Donde  $\epsilon_r$  es la constante dieléctrica.

#### 3.1.6. Interacciones de van der Waals

Las interacciones entre átomos que no están enlazados uno al otro son generalmente referidas como interacciones de van der Waals. Las moléculas que presentan este tipo de interacciones en

**CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO**  
**3.1. MECÁNICA MOLECULAR**

---

general muestran muchos grados de libertad. El término total de interacción de van der Waals se toma como la suma de todas las interacciones posibles de pares de átomos 1,4, 1,5, 1,6:

$$V_{vdw} = \sum_{1 \leq 4} V_{vdw,ij} \quad (3.8)$$

Las interacciones de van der Waals 1,2 y 1,3 y las interacciones electrostáticas se consideran incluidas implícitamente en los parámetros de tensión de enlace y de flexión de enlace. Cada término de van der Waals de un par  $V_{vdw,ij}$  es la suma de una atracción debida a fuerzas de dispersión de London y un término de repulsión debido principalmente a la repulsión de Pauli. Algunos campos de fuerzas toman a  $V_{vdw;ij}$  como un potencial de Lennard-Jones que se puede escribir de dos formas equivalentes:

$$V_{vdw,ij} = \epsilon_{IJ} \left[ \left( \frac{R_{IJ}^*}{R_{ij}} \right)^{12} - 2 \left( \frac{R_{IJ}^*}{R_{ij}} \right)^6 \right] = 4\epsilon_{IJ} \left[ \left( \frac{\sigma_{IJ}}{R_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{IJ}}{R_{ij}} \right)^6 \right] \quad (3.9)$$

Donde  $R_{ij}$  es la distancia entre los átomos  $i$  y  $j$ , el parámetro de profundidad del pozo  $\epsilon_{IJ}$  es el valor de  $V_{vdw;ij}$  en el mínimo de la curva de interacción, el parámetro  $R_{IJ}$  da el valor de  $R_{ij}$  en el mínimo de  $V_{vdw;ij}$ , y el parámetro alternativo  $\sigma_{IJ}$  es la distancia a la que  $V_{vdw;ij}$  es cero.

### 3.1.7. AMBER

Existen diferentes programas que nos permiten hacer cálculos de energía con mecánica molecular. En particular vamos a describir brevemente el funcionamiento de *Assisted Model Building with Energy Refinement* (AMBER, por sus siglas en inglés). AMBER es el nombre de un paquete de simulación de dinámica molecular que implementa campos de fuerzas también llamados AMBER. Un campo de fuerza es una expresión analítica dada para los términos de la energía potencial en el modelo de mecánica molecular:

$$E_{Total} = \sum_{Enlace} K_R [R - R_0]^2 + \sum_{Angulos} K_\theta [\theta - \theta_0]^2 + \sum_{Diedros} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \\ + \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right] + \sum_{HB} \left[ \frac{C_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{R_{ij}^{10}} \right] \quad (3.10)$$

El paquete AMBER es un conjunto de aplicaciones especializadas. Existen programas preparatorios (como ANTECHAMBER y XLEAP), programas de cálculo de energía (como SANDER) y programas de análisis (como ANAL y PTRAJ). Cada programa juega un papel distinto en el flujo de la información.

Los programas preparatorios nos permiten asignar cargas y parámetros dependiendo del tipo de molécula y campo de fuerza con el que vayamos a trabajar. Además de permitirnos visualizar y editar el sistema bajo estudio. Los programas de cálculo de energía optimizan la geometría de la molécula. Y los programas de análisis nos permiten extraer información de los archivos de resultados.

El paquete AMBER además permite elegir entre distintos campos de fuerzas dependiendo del tipo de moléculas con las que estemos trabajando. Pues recordemos que cada campo de fuerza está ajustado a tipos de moléculas en específico. Entre estos campos existen los siguientes: ff99, ff95 y GLYCAM.[15]

## 3.2. Mecánica Cuántica y la Teoría de los Funcionales de la Densidad

### 3.2.1. La ecuación de Schrödinger y la aproximación de Born-Oppenheimer

Para determinar las propiedades de un sistema cuántico, como los son los átomos y moléculas, es necesario usar la ecuación de Schrödinger:

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{8\pi^2m} \nabla^2 + V \right] \psi(r, t) = \frac{i\hbar}{2\pi} \frac{\partial \psi(r, t)}{\partial t} \quad (3.11)$$

En la ecuación anterior,  $\psi$  es la función de onda para una partícula de masa  $m$ ,  $\hbar$  es la constante de Planck y  $V$  es el potencial.  $\psi$  no tiene interpretación física pero el producto de  $\psi$  con su complejo conjugado  $\psi^*$  se entiende como la distribución de probabilidad de la partícula a la que está asociada.

Cuando el potencial,  $V$ , no es una función del tiempo la ecuación de Schrödinger puede simplificarse. Escribiendo a la función de onda como una multiplicación de dos funciones, una espacial y otra temporal:

$$\psi(r, t) = \psi(r)\tau(t) \quad (3.12)$$

Sustituyendo esto en la ecuación de Schrödinger con un potencial independiente del tiempo y aplicando el método de separación de variables llegamos a la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo:

$$H\psi(r) = E\psi(r) \quad (3.13)$$

Para sistemas moleculares o iónicos el cálculo de la función de onda y de la energía se vuelve una tarea tediosa. La **aproximación de Born-Oppenheimer** es la primera que se usa para facilitar esta tarea. En términos básicos esta aproximación nos permite dividir el problema molecular en dos partes: una electrónica y otra nuclear.

$$\psi_{total} = \psi_{ele}\psi_{nuc} \quad (3.14)$$

Esta separación es válida debido a que los electrones son ligeros si los comparamos con los pesados núcleos. Por eso podemos considerar que los electrones se mueven alrededor de los núcleos, mientras estos últimos permanecen estáticos. De este modo podemos escribir un Hamiltoniano puramente electrónico,  $H^{elec}$ . Entonces la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo para los electrones queda como:

$$H^{elec}\psi^{elec}(r, R) = E^{eff}\psi^{elec}(r, R) \quad (3.15)$$

Dónde  $\psi$  depende de las coordenadas de los electrones,  $r$ , y de las de los núcleos,  $R$ . Resolviendo esta última para la función electrónica producirá la función potencial efectiva,  $E^{eff}$ , que depende de las coordenadas nucleares,  $R$ , y que describe la superficie potencial del sistema.

Si estamos interesados en calcular movimientos nucleares: rotaciones, vibraciones y traslaciones; se usa la función  $E^{eff}$  para determinar el hamiltoniano nuclear que ha de usarse en la ecuación de Schrödinger correspondiente.

$$H^{nucl} = T^{nucl}(R) + E^{eff}(R) \quad (3.16)$$

### 3.2.2. DFT

Los métodos *Ab initio* usan la teoría que hasta ahora mejor describe los fenómenos que ocurren en escalas atómicas y moleculares, la Mecánica Cuántica. Las ventajas de estos métodos son evidentes, pues se sirven de una teoría más general y por lo tanto podemos obtener resultados

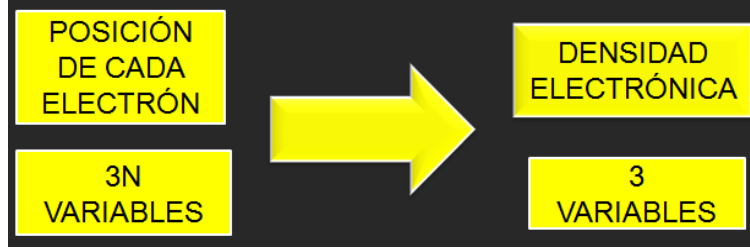


Figura 3.3: Cambio de Variable DFT

inaccesibles para otros modelos empíricos y semi-empíricos. La desventaja más clara es la gran cantidad de recursos informáticos que necesitamos para poder utilizar satisfactoriamente este modelo.

Es así que para trabajar con modelos ab initio debemos seleccionar un sistema simple que nos proporcione la mayor información posible.

Para poder realizar todos los cálculos que se requieren al usar este modelo nos vemos en la necesidad de utilizar aproximaciones adicionales adecuadas. La Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) ha demostrado ser eficiente para algunos sistemas de interés práctico. Ésta se basa en los dos teoremas de Hohenberg-Kohn los cuales demuestran que las propiedades de los sistemas moleculares están determinadas por la densidad electrónica. Con la ventaja de que la densidad electrónica es una función de sólo tres variables.

**Primer Teorema de Hohenberg-Kohn:** “*Toda observable de un sistema mecánico cuántico estacionario es determinada por la densidad electrónica del estado base*”

Como caso particular en un sistema de  $n$  electrones, la energía (una observable) será, según este primer teorema, función de la densidad electrónica. La ecuación de Schrödinger para tal sistema es:

$$\hat{H}\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3, \dots) = E\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3, \dots) \quad (3.17)$$

En el Hamiltoniano se incluyen: la energía cinética y la potencial. En la energía potencial se consideran dos términos: el correspondiente a la interacción núcleo-electrón y el correspondiente a la interacción electrón-electrón. Lo cual puede observarse en la siguiente ecuación:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee} \quad (3.18)$$

Dónde el operador de energía cinética es:

$$\hat{T} = \sum_{i=1}^N \frac{-\nabla_i^2}{2m_i} \quad (3.19)$$

La energía potencial de la interacción núcleo-electrón es:

$$\hat{V} = \sum_i^N v\vec{r}_i = - \sum_{i=1}^N \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{\alpha,i}} \quad (3.20)$$

Dónde  $Z_{\alpha}$  es el número de protones del núcleo  $\alpha$  que interactúan con el electrón  $i$ -ésimo; y  $r_{\alpha,i}$  es la distancia de separación entre el núcleo  $\alpha$  y el  $i$ -ésimo electrón.

### CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

#### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

---

La energía potencial de interacción electrón-electrón es simplemente:

$$\hat{V}_{ee} = \sum_{i < j}^N \left( \frac{1}{r_{ij}} \right) \quad (3.21)$$

Dónde  $r_{ij}$  es la distancia de separación entre los electrones  $i$ -ésimo y  $j$ -ésimo.

Una vez que contamos con la solución a la ecuación de Schrödinger es posible hacer el siguiente mapeo uno a uno con la densidad electrónica  $\rho(\mathbf{r})$ :

$$\rho(\vec{r}_i) = \sum_{\sigma=\uparrow\downarrow} \int |\psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3, \dots)|^2 dx_1 dx_2 \dots dx_N \quad (3.22)$$

Donde la sumatoria se realiza tomando en cuenta a los electrones con spin hacia arriba y a los electrones con spin hacia abajo.

Cuando exponemos al sistema a un potencial externo es posible mostrar la relación que existe entre la densidad y la función de onda; y también la relación entre la función de onda y el potencial.

$$\hat{V} \leftrightarrow \psi \leftrightarrow \rho \quad (3.23)$$

Comprobemos esta relación: en primer lugar notemos que dado el potencial  $V$  es posible, usando la ecuación de Schrödinger, encontrar la función de onda  $\psi$ ; luego con la función de onda y usando la integral anterior podemos encontrar la densidad electrónica. Es decir:

$$V \rightarrow \psi \rightarrow \rho \quad (3.24)$$

Ahora analicemos si se satisface  $V \leftarrow \psi$ . Como ya hemos probado que  $V \rightarrow \psi$  sólo resta verificar que para dos potenciales,  $V$  y  $V'$ , diferentes se tendrán dos funciones de onda,  $\psi$  y  $\psi'$ , respectivamente. Esto se hace usando el modelo de Arkani-Hamed-Dimopoulos-Dvali de 1998 que dice que "Si  $V$  y  $V'$  difieren por más de una constante  $C$ , no podrán conducir a la misma función de onda".

Para comprobar lo anterior supongamos que para un estado base no degenerado dos potenciales conducen a la misma función de onda:

$$(\hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee}) |\psi\rangle = E_{gs} |\psi\rangle \quad (3.25)$$

Y

$$(\hat{T} + \hat{V}' + \hat{V}_{ee}) |\psi\rangle = E'_{gs} |\psi\rangle \quad (3.26)$$

Restando las dos ecuaciones anteriores tenemos que:

$$(\hat{V} - \hat{V}') |\psi\rangle = (E_{gs} - E'_{gs}) |\psi\rangle \quad (3.27)$$

Lo cual implica que  $V = V' + C$ , entonces si dos potenciales conducen a la misma función de onda éstos sólo difieren por una constante.

Ya hemos probado que  $\psi \rightarrow \rho$ . Ahora para probar que además  $\psi \leftarrow \rho$  usaremos el modelo de Randall-Sundrum (R-S) que dice: "si el estado base de  $\psi$  para  $H$  y  $\psi'$  para  $H'$  son diferentes, no podrán conducir a la misma densidad electrónica".

### CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

#### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

Para comprobar esto apliquemos el principio variacional a los estados base de  $\psi$  y  $\psi'$ , cuyos hamiltonianos sólo difieren en la energía potencial. Y también para los cuales, en general, las densidades electrónicas son diferentes:

$$E_{gs} = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle < \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle = \langle \psi' | \hat{H}' + \hat{V} - \hat{V}' | \psi' \rangle = E'_{gs} + \int \rho'(\vec{r}) [v(\vec{r}) - v'(\vec{r})] \quad (3.28)$$

$$E'_{gs} = \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle < \langle \psi | \hat{H}' | \psi \rangle = \langle \psi | \hat{H} + \hat{V}' - \hat{V} | \psi \rangle = E_{gs} + \int \rho(\vec{r}) [v'(\vec{r}) - v(\vec{r})] \quad (3.29)$$

Asumiendo que  $\rho = \rho'$  y combinando estas dos ecuaciones llegamos a la contradicción:

$$E_{gs} + E'_{gs} < E_{gs} + E'_{gs} \quad (3.30)$$

Por lo tanto hemos probado que la densidad electrónica queda unívocamente determinada por la función de onda:

$$\psi \longleftrightarrow \rho(\vec{r}) \quad (3.31)$$

Entonces todas las observables del sistema son función de la densidad electrónica.

Ahora que sabemos que la densidad electrónica determina las propiedades del sistema resta saber cómo calcularla. **El segundo teorema de Hohenberg-Kohn establece que: "La densidad exacta para el estado base de un sistema con un potencial particular externo puede encontrarse por la minimización del funcional de energía"**.

Sin embargo el segundo teorema de Hohenberg-Kohn sólo nos afirma que es posible encontrar la densidad exacta pero no es posible aplicarlo directamente de forma práctica.[16]

Para calcular la densidad es preferible usar las ecuaciones de Kohn-Sham. La ecuación de Schrödinger para un sistema de electrones que no interactúan ( $V_{ee} = 0$ ) y que se encuentran bajo un potencial externo ( $V_{so}$ ) es:

$$\left( -\frac{\nabla^2}{2} + \hat{V}_{s,o}(\vec{r}) \right) \phi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (3.32)$$

Dónde la densidad del sistema se puede calcular por la sumatoria:

$$\rho_s(\vec{r}) = \sum_{i=1} |\phi_i(\vec{r})| \quad (3.33)$$

Y la energía cinética no interactiva del sistema es:

$$T_s[\rho] = \sum_{i=1}^N \left\langle \phi_i \left| -\frac{\nabla^2}{2} \right| \phi_i \right\rangle \quad (3.34)$$

Por otro lado, en general, la energía total de interacción de un sistema puede escribirse como:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + \int V_0(\vec{r})\rho(\vec{r})d\vec{r} + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}d\vec{r}' \quad (3.35)$$

Donde el funcional de energía de intercambio-correlación,  $E_{XC}(\rho)$ , se define como:

$$E_{XC}[\rho] = E[\rho] - T_s[\rho] - \int V_0(\vec{r})\rho(\vec{r})d\vec{r} - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}d\vec{r}' \quad (3.36)$$

## CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

---

El primer Teorema de HK asegura que el funcional de energía  $E[\rho]$  es estacionario para pequeñas variaciones,  $\delta\rho(r)$ , alrededor de la densidad exacta  $\rho_0(r)$ . Entonces:

$$\frac{\delta E[\rho]}{\delta\rho(\vec{r})}_{\rho=\rho_0} = 0 \quad (3.37)$$

Usando las últimas tres ecuaciones tenemos:

$$\frac{\delta F_{HK}[\rho]}{\delta\rho(\vec{r})}_{\rho=\rho_0} = -V_0(\vec{r}) \quad (3.38)$$

Aplicando este resultado al sistema no interactivo de nuestro interés tenemos:

$$\frac{\delta F_{HK}[\rho]}{\delta\rho(\vec{r})}_{\rho=\rho_0} = -V_{s,o}(\vec{r}) \quad (3.39)$$

Efectuando la derivada parcial indicada tenemos:

$$V_{s,o}(\vec{r}) = V_0(\vec{r}) + V_H(\vec{r}) + V_{X,C}(\vec{r}) \quad (3.40)$$

Al combinar esta última ecuación con la ecuación de Schrödinger tenemos:

$$\left[ -\frac{\nabla^2}{2} + V_0(\vec{r}) + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + \frac{\delta E_{XC}}{\delta\rho(\vec{r})} \right] \phi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (3.41)$$

Dónde el potencial de intercambio correlación está dado por:

$$V_{X,C}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{XC}}{\delta\rho(\vec{r})} \quad (3.42)$$

Por lo tanto éste potencial de KS depende de la densidad. En resumen las ecuaciones de KS son:

$$V_{s,o}(\vec{r}) = V_0(\vec{r}) + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + \frac{\delta E_{XC}}{\delta\rho(\vec{r})} \quad (3.43)$$

$$V_{X,C}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{XC}}{\delta\rho(\vec{r})} \quad (3.44)$$

Y deben de ser resueltas mediante un esquema auto consistente. En la práctica se asigna un valor aproximado a  $E_{XC}$  para comenzar un proceso iterativo de correcciones hasta que se logren satisfacer ambas ecuaciones simultáneamente.

### 3.2.3. Funcionales: PW91, PBE, PWB6K y M062X

Como ya se ha mencionado la forma exacta del funcional no se conoce. Se han hecho algunas propuestas para formas aproximadas del funcional. Los funcionales propuestos se clasifican usando como analogía la *Escalera de Jacob*. En la religión judía la *escalera de Jacob* conduce al cielo. En Química Cuántica usamos este concepto para referirnos a la evolución de la teoría para llegar a una descripción exacta de las moléculas. La escalera se ilustra en la figura 3.4.

El primer peldaño de la escalera corresponde a los funcionales aproximados de tipo local (LDA, por sus siglas en inglés). En un sentido general la aproximación consiste en aplicar los

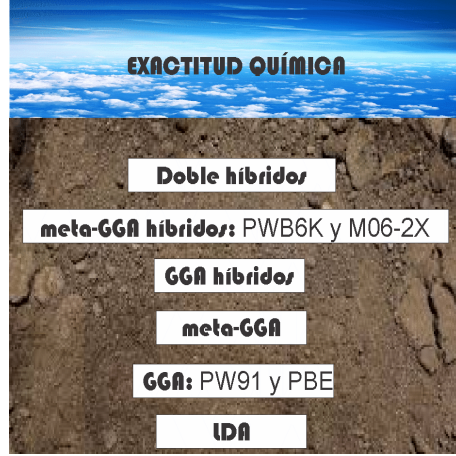


Figura 3.4: Escalera de Jacob. Ilustración de la evolución de los funcionales de la densidad, que se acercan cada vez más a la exactitud química

resultados de la teoría de un gas uniforme de electrones a densidades no uniformes reales. La expresión de la energía de intercambio correlación entonces puede escribirse como:

$$E_{XC}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r})\epsilon_{XC}(\rho)d\mathbf{r} \quad (3.45)$$

El siguiente paso lógico es hacer una expansión en serie de Taylor de la energía de intercambio y correlación ( $E_{XC}$ ) con respecto a la densidad electrónica. Lo que conduce a la expresión:

$$E_{XC}^{DGE}[\rho] = \int [e_{XC}^{(0)} + e_{XC}^{(1)}\nabla\rho + e_{XC}^{(2)}|\nabla\rho|^2 + \dots]d\mathbf{r} \quad (3.46)$$

La expansión anterior no satisface el requisito de que la energía debe ser invariante bajo rotaciones en  $\mathbf{r}$ . Satisfaciendo este requisito reescribimos la expansión:

$$E_{XC}[\rho] = \int \rho\epsilon_{XC}^{LDA}(\rho)d\mathbf{r} + \int |\nabla\rho|^2\epsilon_{XC}^{(2)}(\rho)d\mathbf{r} \quad (3.47)$$

A los funcionales de este tipo se les denomina de gradiente generalizado (GGA, por sus siglas en inglés) y se localizan en el segundo peldaño de la *escalera de Jacob*. A esta categoría pertenecen dos de los funcionales usados en este trabajo de tesis, PW91 y PBE, que se discutirán en las secciones siguientes a un mayor nivel de profundidad.

Los funcionales PW91 y PBE para intercambio y correlación agotan el número de restricciones que pueden ser impuestas para la aproximación GGA, es decir, los mejores de su tipo. Sin embargo es posible incluir a la densidad de energía cinética que se define como:

$$\tau_{\sigma}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{occ.} |\nabla\phi_{k\sigma}(\mathbf{r})|^2 \quad (3.48)$$

La cual, usando el siguiente principio variacional, puede usarse para mejorar el cálculo de la densidad electrónica.

$$\tau_{\sigma}^W \leq \tau_{\sigma}(\mathbf{r}) \quad (3.49)$$

Donde:

### CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

#### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

---

$$\tau_{\sigma}^W = \frac{1}{8} \frac{|\nabla \rho_{\sigma}|^2}{\rho_{\sigma}} \quad (3.50)$$

es la densidad de energía cinética de Weizsäcker. En la ecuación 3.49 la igualdad se presenta sólo si  $\rho_{\sigma}(\mathbf{r})$  es representada por un sólo orbital de Khon-Sham real. Por lo tanto, la cantidad:

$$\eta_{\sigma}^{SCC} = 1 - \frac{\tau_{\sigma}^W}{\tau_{\sigma}} \quad (3.51)$$

se anula para cualquier sistema de un electrón y es estrictamente positiva en sistemas con más de un electrón. En términos prácticos esto significa que  $\eta_{\sigma}^{SCC}$  puede usarse como una corrección multiplicativa de autocorrelación (SCC, por sus siglas en inglés) que asegura que  $E_C$  se anula para cualquier densidad de un sólo electrón. Lo cual no puede hacerse con la formulación GGA. Esta aproximación representa el tercer peldaño de la escalera.

El siguiente paso en la escalera conduce a los funcionales híbridos que combinan el funcional de intercambio exacto, el cálculo con Hartree-Fock, con el aproximado. Su expresión matemática es:

$$E_{XC}^{híbrido}[\rho] = \int \left[ \frac{X}{100} E_x^{exacto}(\mathbf{r}) + \left(1 - \frac{X}{100}\right) E_X^{DFT}(\mathbf{r}) + E_C^{DFT}(\mathbf{r}) \right] d\mathbf{r} \quad (3.52)$$

donde el coeficiente de combinación X puede ser una constante ajustada o una funciones de  $\mathbf{r}$ , que fija la cantidad de potencial HF para intercambio usada en el funcional híbrido. En el último caso, los funcionales se denominan *híbrido-locales*.

#### **Funcional PW91 [24]**

El funcional PW91 para intercambio y PW91 para correlación ha sido el estándar para nuestros cálculos desde que comenzamos a estudiar fragmentos mínimos de ADN con la Teoría de los funcionales de la Densidad. Se sabe que tal funcional presenta dispersión pero, de acuerdo a nuestra experiencia, esto no es crítico, pues como resultado sólo se sobre estima la distancia promedio entre los pares de bases cuando las comparamos con estructuras experimentales.

Este funcional es una propuesta analítica simple para la energía de correlación de un gas de electrones uniforme. El funcional fue construido al introducir correcciones de largo alcance para los términos de la expansión correspondientes: al intercambio y al agujero de correlación. La corrección fue hecha de tal modo que se reprodujeran tantas características conocidas de las energías de intercambio y correlación como fuera posible.

A continuación presentaré su forma matemática. Sus características serán descritas en forma general. Un funcional de intercambio correlación de tipo GGA puede escribirse como:

$$E_{XC}^{GGA}[n_{\uparrow}, n_{\downarrow}] = \int f(n_{\uparrow}, n_{\downarrow}, \nabla n_{\uparrow}, \nabla n_{\downarrow}) d\mathbf{r} \quad (3.53)$$

Donde  $n$  representa la densidad electrónica y  $\nabla n$  su gradiente. En la ecuación se incluyen los dos valores de espín posibles. El funcional PW91 en unidades atómicas ( $\hbar = e^2 = m = 1$ , energías en hartress y distancias en bohrs) para intercambio se escribe como:

$$E_X^{PW91}[n] = \int n \epsilon_x(r_s, 0) F(s) d\mathbf{r} \quad (3.54)$$

### CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

#### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

---

Donde:  $\epsilon_x$  es el coeficiente de energía de correlación dado por la expresión:

$$\epsilon_x(r_s, 0) = -\frac{3k_f}{4\pi} \quad (3.55)$$

Y la función F(s) está dada por la expresión:

$$F(s) = \frac{a + 0,19645s \sinh^{-1}(7,7956s) + (0,2743 - ,1508e^{-100s^2})s^2}{1 + 0,19645s \sinh^{-1}(7,7956s) + 0,004s^4} \quad (3.56)$$

Y  $r_s$ , es una variable introducida por conveniencia, que depende de la densidad electrónica de acuerdo a la ecuación siguiente:

$$r_s = \left( \frac{3}{4\pi n} \right)^{(1/3)} \quad (3.57)$$

Finalmente el vector de onda local de Fermi y el gradiente de densidad escalado están dados respectivamente por las ecuaciones siguientes:

$$k_F = (3\pi^2 n)^{1/3} = \frac{1,91916}{r_s} \quad (3.58)$$

$$s = \frac{|\nabla n|}{2k_F n} \quad (3.59)$$

La expresión para la energía de correlación está dada por la fórmula:

$$E_C^{PW91}[n_\uparrow, n_\downarrow] = \int n[\epsilon_C(r_s, \zeta) + H(t, r_s, \xi)] d\mathbf{r} \quad (3.60)$$

Dónde:

$$t = \frac{|\nabla n|}{2gk_s n} \quad (3.61)$$

es otro gradiente de densidad escalado y

$$k_s = \left( \frac{4k_F}{\pi} \right)^{1/2} \quad (3.62)$$

es el vector de onda local de proyección. Después la función H es la suma de dos funciones:

$$H = H_0 + H_1 \quad (3.63)$$

Que se escriben como:

$$H_0 = g^3 \frac{\beta^2}{2\alpha} \ln \left[ 1 + \frac{2\alpha}{\beta} \frac{t^2 + At^4}{1 + At^2 + A^2t^4} \right] \quad (3.64)$$

Y,

$$H_1 = \nu [C_c(r_s) - C_c(0) - 3C_C/7] g^3 t^2 \exp[-100g^4 (k_s^2/k_F^2)t^2] \quad (3.65)$$

Donde para ambas ecuaciones, las cantidades involucradas se definen como:

$$\alpha = 0,09 \quad (3.66)$$

$$\beta = \nu C_C(0) \quad (3.67)$$

$$\nu = (16/\pi)(3\pi^2)^{1/3} \quad (3.68)$$

$$C_X = -0,001667 \quad (3.69)$$

$$C_c(0) = 0,004235 \quad (3.70)$$

Donde  $C_c$  es la constante de Sham que depende de la varianle  $r_s$ , que ya ha sido definida en la ecuación 3.57;  $C_X$  es la constante de intercambio; y las demás cantidades ya han sido definidas para el funcional de intercambio.

### Funcional PBE [25]

El funcional PBE, como el funcional PW91, también ha sido obtenido a partir de la aproximación de gradiente generalizado (GGA) descrita por la ecuación 3.53. El potencial ha sido ajustado para reproducir las condiciones exactas del agujero que los funcionales de aproximación local (LSD) respetan. En la aproximación GGA la energía de intercambio puede escribirse como:

$$E_X^{GGA}[n_\uparrow, n_\downarrow] = \int n \epsilon_X^{unif}(n) F_X(s). \quad (3.71)$$

Donde:

$$\epsilon_X^{unif} = -3K_F/4\pi \quad (3.72)$$

$$k_F = (3\pi^2 n)^{1/3} \quad (3.73)$$

$$s = |\nabla n|/2k_F n \quad (3.74)$$

Debemos recordar que el funcional PBE se construye para hacer una mejora al funcional PW91 que incluye refinamientos semiempíricos y restricciones teóricas. En la aproximación PBE la función  $F_X(s)$  se construye de manera simplificada. Y aunque es obtenida por medio de un criterio diferente al del funcional PW91, la energía es numéricamente equivalente a la de este funcional, para la mayoría de los propósitos. La diferencia estriba en la función  $F_X(s)$  que se escribe como:

$$F_X^{PBE}(s) = 1 + k - k/(1 + \mu s^2/k) \quad (3.75)$$

Donde  $k = 0,804$  y  $\mu = 0,21951$  son parámetros ajustados para preservar la buena descripción, de la energía de intercambio-correlación en la respuesta lineal de un gas uniforme, hecha por la aproximación LSD.

Mientras tanto la energía de correlación, para el funcional PBE, se escribe como:

$$E_C^{PBE}[n_\uparrow, n_\downarrow] = \int n[\epsilon_C(r_s, \zeta) + H^{PBE}(r_s, \zeta, t)] d\mathbf{r} \quad (3.76)$$

Donde:

$$r_s = (3/4\pi n)^{1/3} \quad (3.77)$$

$$\zeta = (n_\uparrow - n_\downarrow)/n \quad (3.78)$$

$$t = |\nabla n|/2k_s \phi n \quad (3.79)$$

## CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

$$\phi = \frac{1}{2}[(1 + \zeta)^{2/3} + (1 - \zeta)^{2/3}] \quad (3.80)$$

$$k_s = (4k_F/\pi)^{1/2} \quad (3.81)$$

$$H^{PBE} = \gamma\phi^3 \ln \left\{ 1 + \frac{\beta}{\gamma} t^2 \left[ \frac{1 + At^2}{1 + At^2 + A^2 t^4} \right] \right\} \quad (3.82)$$

$$A = \frac{\beta}{\gamma} [\exp -\epsilon_C^{unif} / \gamma\phi^3 - 1]^{-1} \quad (3.83)$$

y  $\gamma = 0,031091$ ,  $\beta = 0,066725$ .

#### Funcional PWB6K [26]

Se trata de un funcional de 6 parámetros diseñado para termoquímica cinética, basado en el funcional PW91 para intercambio y en el funcional Becke-95 para correlación. Es un funcional de híbrido de tipo Meta-GGA que ha sido ajustado usando una base de datos experimental.

Está reportado que se trata del funcional que mejor predice las interacciones de apilamiento en sistemas moleculares biológicos [29]. En la figura 3.5 se compara la energía de interacción con respecto la distancia de separación, en un dímero citosina-citosina, calculada por distintos métodos. Es posible observar que la mejor estimación es la del funcional PWB6K. Mientras que el método MP2 sobre estima las interacciones de apilamiento.

La expresión del factor de ajuste de gradiente corregido para el funcional PW91 de intercambio es:

$$F[X_\sigma] = \frac{bx_\sigma^2 - (b - \beta)x_\sigma^2 \exp -cx_\sigma^2 - 10^{-6}x_\sigma^d}{1 + 6bx_\sigma \sinh^{-1}x_\sigma - \frac{10^{-6}x_\sigma^d}{A_X}} \quad (3.84)$$

Donde  $\beta = 5(36\pi)^{-5/3}$ ,  $c = 1,6455$ ,  $b = 0,00426$  y  $d = 4$ . Mientras que en el funcional PWB6K se han ajustado los parámetros b, c y d a valores de: 0.00539, 1.7077 y 4.0876, respectivamente.

Por otro lado la energía de correlación total de acuerdo al funcional Becke95 está dada por:

$$E_C = E_C^{opp} + E_C^{\alpha\alpha} + E_C^{\beta\beta} \quad (3.85)$$

Donde la energía de correlación para espines opuestos es,

$$E_C^{opp} = [1 + c_{opp}(x_\alpha^2 + x_\beta^2)]^{-1} E_{C_{opp}}^{UEG} \quad (3.86)$$

y para espines paralelos:

$$E_{\sigma\sigma} = [1 + c_{\sigma\sigma}x_\sigma^2]^{-2} \frac{D_\sigma}{D_{UEG}^{UEG}} E_{C_{\sigma\sigma}}^{UEG} \quad (3.87)$$

Los dos parámetros ajustados en el potencial de Becke son  $C_{opp}$  y  $C_{\sigma\sigma}$ . Cuyos valores de acuerdo a Becke son:  $C_{opp} = 0,0031$  y  $C_{\sigma\sigma} = 0,038$ . Por otro lado para el funcional PWB6K los parámetros toman los valores:  $C_{opp} = 0,00353$  y  $C_{\sigma\sigma} = 0,04120$ .

Por último el porcentaje del potencial de intercambio de Hartree-Fock es  $X = 46$ .

**CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO**  
**3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD**

---

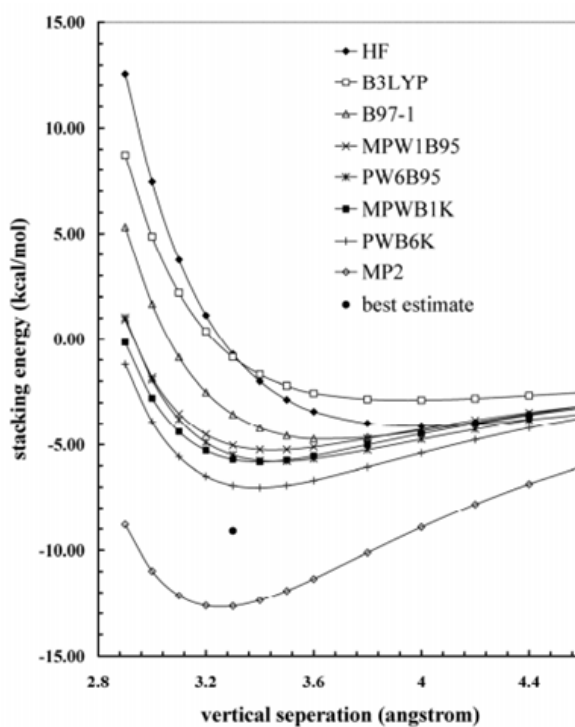


Figura 3.5: Comparación de la energía de interacción con respecto la distancia de separación, en un dímero citosina-citosina, calculada por distintos métodos. Es posible observar que la mejor estimación es la del funcional PWB6K. Mientras que el método MP2 sobre estima las interacciones de apilamiento.

## CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

#### Funcional M062X [27]

Puede clasificarse como un funcional híbrido tipo Meta-GGA. Fue ajustado con bases de datos creadas por los diseñadores a partir de datos experimentales. Ha sido diseñado para reproducir características estructurales y energéticas, además de barreras energéticas e interacciones no covalentes de los átomos del llamado grupo principal.

Se ha descubierto que describe interacciones no covalentes, incluyendo las de dispersión, mejor que los funcionales de uso corriente. Es más, es lo suficientemente general para predecir tanto detalles estructurales como energéticos. Se ha aplicado anteriormente a biomoléculas para reproducir estructuralmente la cadena única de ADN (dDMP) y del esqueleto azúcar fosfato [28].

Antes de definir las energías de intercambio y correlación fijemos algunas variables que serán empleadas: la densidad de espín ( $\rho_\sigma$ ), el gradiente de la densidad de espín reducido ( $x_\sigma$ ) y la densidad de energía cinética de espín ( $\tau_\sigma$ ):

$$x_\sigma = \frac{|\nabla\rho_\sigma|}{\rho_\sigma^{4/3}} \quad (3.88)$$

$$\tau_\sigma = \frac{1}{2} \sum_i^{\text{ocupados}} |\nabla\psi_{i\sigma}|^2 \quad (3.89)$$

Con  $\sigma = \alpha, \beta$ . Además el funcional incluye términos basados en el funcional VSXC, que incluyen una variable de trabajo  $z_\sigma$  y dos funciones de trabajo  $\gamma$  y  $h$ :

$$z_\sigma = \frac{c\tau_\sigma}{\rho_\sigma^{5/3}} - C_F \quad (3.90)$$

$$C_F = \frac{3}{5}(6\pi^2)^{2/3} \quad (3.91)$$

$$\gamma(x_\sigma, z_\sigma) = 1 + \alpha(x_\sigma^2 + z_\sigma) \quad (3.92)$$

$$h(x_\sigma, z_\sigma) = \left( \frac{d_0}{\gamma(x_\sigma, z_\sigma)} + \frac{d_1x_\sigma^2 + d_2z_\sigma}{\gamma_\sigma^2(x_\sigma, z_\sigma)} + \frac{d_3x_\sigma^4 + d_4x_\sigma^2z_\sigma + d_5z_\sigma^2}{\gamma_\sigma^3(x_\sigma, z_\sigma)} \right) \quad (3.93)$$

Nótese que  $\sigma$  denota la componente sobre un eje de un sistema arbitrario del momento angular del espín del electrón. Ahora estamos en posición de definir la energía de intercambio que está dada por:

$$E_X^{M06-2X} = \sum_\sigma \int [F_{X\sigma}^{PBE}(\rho_\sigma, \nabla\rho_\sigma)f(\omega_\sigma)]d\mathbf{r} \quad (3.94)$$

Donde  $F_{x\sigma}^{PBE}$  es la densidad de energía de intercambio del modelo PBE y  $f(\omega_\sigma)$  es el factor de mejora de la densidad de energía cinética dependiente del espín:

$$f(\omega_\sigma) = \sum_{i=0}^m a_i\omega_\sigma^i \quad (3.95)$$

donde la variable  $\omega_\sigma$  es una función de  $t_\sigma$ , y a su vez  $t_\sigma$  es función de la densidad de energía cinética de espín  $\tau_\sigma$  y de la densidad de espín  $\rho_\sigma$ . Definidos a continuación:

$$\omega_\sigma = (t_\sigma - 1)/(t_\sigma + 1) \quad (3.96)$$

$$t_\sigma = \tau_\sigma^{LSDA}/\tau_\sigma \quad (3.97)$$

### CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE ESTUDIO

#### 3.2. MECÁNICA CUÁNTICA Y LA TEORÍA DE LOS FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

---

donde:

$$\tau_{\sigma}^{LSDA} \equiv \frac{3}{10} (6\pi^2)^{2/3} \rho_{\sigma}^{5/3} \quad (3.98)$$

Por otro lado la energía de correlación está dado por la expresión:

$$E_C = E_C^{\alpha\beta} + E_C^{\alpha\alpha} + E_C^{\beta\beta} \quad (3.99)$$

Donde la energía de correlación de espines opuestos está dada por:

$$E_C^{\alpha\beta} = \int \epsilon_{\alpha\beta}^{UEG} [g_{\alpha\beta}(x_{\alpha}, x_{\beta}) + h_{\alpha\beta}(x_{\alpha\beta}, z_{\alpha\beta})] d\mathbf{r} \quad (3.100)$$

Donde  $g_{\alpha\beta}(x_{\alpha}, x_{\beta})$  es:

$$g_{\alpha\beta}(x_{\alpha}, x_{\beta}) = \sum_{i=0}^n c_{C\alpha\beta,i} \left( \frac{\gamma C_{\alpha\beta}(x_{\alpha}^2 + x_{\beta}^2)}{1 + \gamma C_{\alpha\beta}(x_{\alpha}^2 + x_{\beta}^2)} \right)^i \quad (3.101)$$

Con  $x_{\alpha\beta}^2 \equiv x_{\alpha}^2 + x_{\beta}^2$  y  $z_{\alpha\beta}^2 \equiv z_{\alpha}^2 + z_{\beta}^2$ . La energía para espines paralelos:

$$E_C^{\sigma\sigma} = \int \epsilon_{\sigma}^{UEG} [g_{\sigma\sigma}(x_{\sigma}) + h_{\sigma\sigma}(x_{\sigma}, z_{\sigma})] D_{\sigma} d\mathbf{r} \quad (3.102)$$

Donde:

$$g_{\sigma\sigma}(x_{\sigma}) = \sum_{i=0}^n c_{C\sigma\sigma,i} \left( \frac{\gamma C_{\sigma\sigma} X_{\sigma}^2}{1 + \gamma C_{\sigma\sigma} X_{\sigma}^2} \right)^i \quad (3.103)$$

$D_{\sigma}$  es el factor de corrección de autointeracción:

$$D_{\sigma} = 1 - \frac{x_{\sigma}^2}{4(z_{\sigma} + C_F)} \quad (3.104)$$

Notemos que  $D_{\sigma}$  desaparece para cualquier sistema de un electrón y  $\epsilon_{\alpha\beta}^{UEG}$  y  $\epsilon_{\sigma\sigma}^{UEG}$  son la densidad de energía de correlación UEG para espines paralelos y antiparalelos. Los valores de dos parámetros no lineales se toman como:  $\gamma C_{\alpha\beta} = 0,0031$  y  $\gamma C_{\sigma\sigma} = 0,06$ . Los demás valores no ajustados son tomados de un trabajo previo. Consultar la [27] para más información.

Se optimizaron los parámetros  $a_i$ ,  $C_{C\alpha\beta,i}$ ,  $C_{C\sigma\sigma,i}$ ,  $d_i$ ,  $d_{C\alpha\beta,i}$  y  $d_{C\sigma\sigma}$  junto con  $X$ , que determina el porcentaje de contribución del potencial de intercambio exacto o de Hartree-Fock. El resultado de la optimización se resume en la tabla 3.2.3.

**Tabla 3.2.3**

$i$	$a_i$	$c_{C\alpha\beta,i}$	$c_{C\sigma\sigma,i}$	$d_i$	$d_{C\alpha\beta,i}$	$d_{C\sigma\sigma,i}$
0	0.4600000	0.8833596	0.3097855	0	0.1166404	0.6902145
1	-0.220652	33.57972	-5528642	0	-0.09120847	0.09847204
2	-0.09431788	-70.43548	13.47420	0	-0.06726189	0.2214797
3	2.164494	49.78271	-32.13623	0	0.00006720580	-0.001968264
4	-2556466	-18.52891	28.46742	0	0.0008448011	-0.006775479
5	-14.22133					
6	15.55044					
7	35.98078					
8	-27.22754					
9	-39.24093					
10	15.22808					
11	15.22227					

Tabla 3.1: Parámetros optimizados en el funcional M06-2X.

# Capítulo 4

## Metodología

### 4.1. Elección del Sistema

Se desea evaluar la contribución de unidades moleculares mínimas a la riqueza estructural de la molécula de ADN. Pero antes de elegir un sistema a estudiar debemos de considerar que los costos de cómputo de moléculas crecen exponencialmente conforme se incrementa el número de átomos. Por tal razón debemos ser selectivos. En estudios previos [30] se ha evaluado la contribución de la secuencia de bases a la conformación tridimensional de dinucleósidos de monofosfatos. Tal unidad molecular puede considerarse como un monómero de la doble hélice. Al estudiar tal sistema fue posible obtener mínimos de este fragmento, correspondientes a las cuatro familias del ADN (AI, AII, BI y BII). Estableciendo que la estructura de la doble hélice se encuentra predeterminada en dichos fragmentos.

Lamentablemente tal estudio estuvo limitado a una sola cadena. En el presente trabajo de tesis con el fin de dar una respuesta, que incluya las interacciones del par, se decidió ampliar el sistema de estudio a un fragmento mínimo de la doble hélice, es decir, a un dinucleósido de monofosfato complementario. De este modo seremos capaces de caracterizar las interacciones en el par y hacer conclusiones acerca de su contribución a la estabilidad de la doble hélice. En la figura 4.1 se ilustra el sistema elegido.

Nuestro estudio se centro en fragmentos correspondientes a la familia BI del ADN. Como primer paso se buscó una estructura experimental de la secuencia Adenina-Timina que presentara ángulos de torsión en la región correspondiente a tal familia. Para garantizar la simetría de la estructura se construyó el dúplex a partir de un sólo dinucleósido de monofosfato de tal fragmento. Se usó más de un fragmento para crear diferentes archivos iniciales de la misma secuencia (A-T), que después se sometieron a cálculo por diferentes métodos. Es importante mencionar que los archivos iniciales para las demás secuencias se construyeron por sustitución de bases.

### 4.2. Caracterización de Resultados

Nuestro estudio se centró en el análisis de las características estructurales de Dinucleósidos de Monofosfatos Complementarios. Para efectuar tal análisis se midieron diferentes parámetros cuantitativos y cualitativos: los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato, el empaquetamiento del anillo de azúcar, la superposición de bases, parámetros de hélice y algunos parámetros del par.

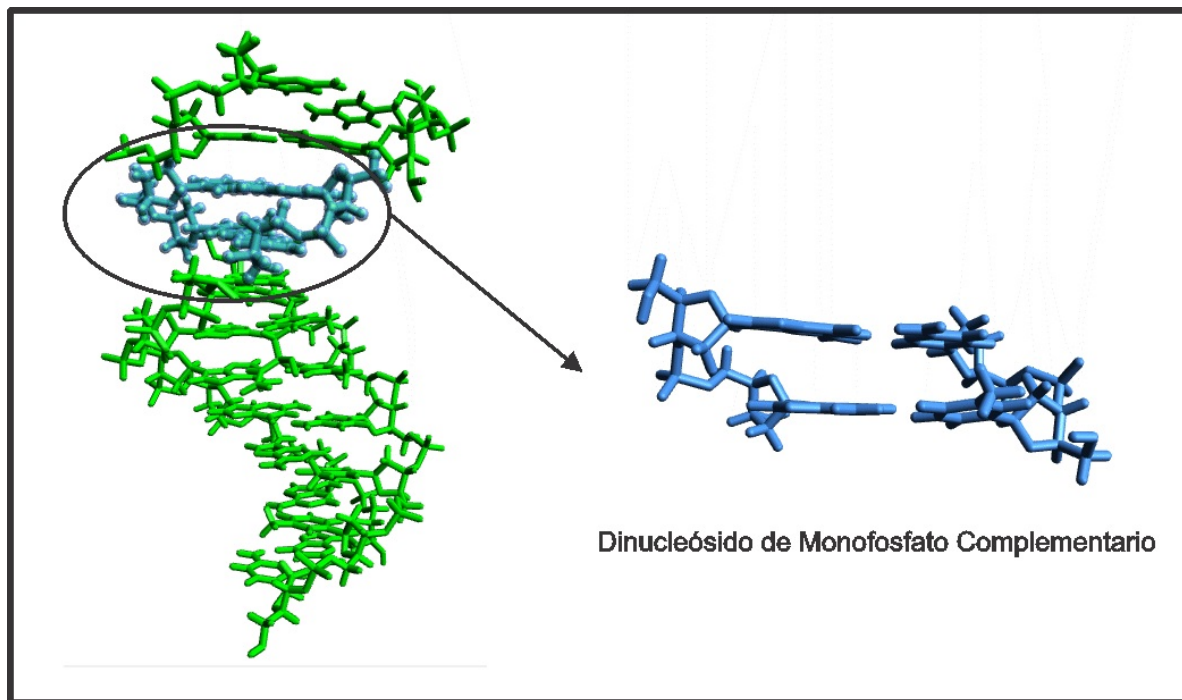


Figura 4.1: Dúplex de ADN. Puede apreciarse el sistema a elegido. Dinucleósido de Monofosfato Complementario.

El conjunto de ángulos de torsión, o dihedros, de la cadena azúcar fosfato permiten distinguir entre una familia estructural y otra, he ahí su importancia y la necesidad de incluir dichos ángulos en el presente trabajo de tesis. Recordemos que nuestro sistema se conforma por dos dDMP complementarios. Dada la simetría del sistema es posible designar los ángulos de torsión para un solo fragmento y usar la misma designación para el fragmento complementario. De esta forma cada dDMPc tendrá dos conjuntos de ángulos de torsión, un primer conjunto para una de las cadenas y otro para la restante. La designación de los ángulos de torsión de un dDMP se muestra en la figura 4.2.

No hemos definido los parámetros para caracterizar al esqueleto azúcar fosfato del todo. Hace falta caracterizar al anillo de azúcar. La opción lógica sería incluir cada uno de los ángulos de torsión. Sin embargo dadas las constricciones que existen en el anillo es posible describirlo con menos parámetros: uno cualitativo y dos cuantitativos.[21]

Los anillos de ribosa sufrirán en general algún tipo de empaquetamiento dada la libertad de los enlaces, de los átomos en el anillo, de rotar. Del análisis de estructuras experimentales de sólidos se sabe que el anillo de azúcar, la mayoría de las veces, adopta una estructura en la que 4 átomos del anillo son coplanares y uno no. Para describir cualitativamente tal tendencia se usa la siguiente notación. Se dice que un átomo sufre un empaquetamiento **Endo** si el átomo no coplanar sale del anillo en dirección del átomo C5'. De manera similar se dice que existe un empaquetamiento **Exo** si el átomo no coplanar sale del anillo en dirección opuesta. Véase la figura 4.3.

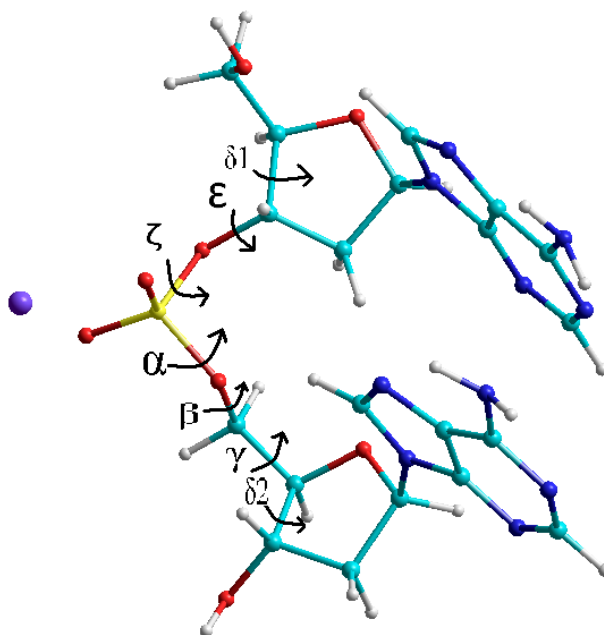


Figura 4.2: Designación de los ángulos de torsión de la cadena azúcar fosfato de un Dinucleósido de Monofosfato.

La pseudorotación es la característica de algunas moléculas de recuperar su estructura inicial después de una serie de movimientos de algunos de los átomos que la conforman. El anillo de azúcar presente en el ADN posee esta característica. El ángulo de pseudorotación,  $P$ , describe tal comportamiento. Sabemos que los ángulos de torsión,  $\nu_i$ , pueden calcularse a partir de la ecuación 4.1.

$$\nu_i = \nu_m \cos(P + j\delta) \quad (4.1)$$

Dónde:  $P$  es el ángulo de pseudorotación que varía de  $0$  a  $360^\circ$ ,  $j$  toma los valores del  $0$  al  $4$  para cada ángulo de torsión,  $\nu_m$  es el ángulo de rotación máximo y  $\delta = 144^\circ$ . En la figura 4.5 puede observarse la dependencia de la estructura en el ángulo de pseudorotación.

De este modo observamos que la estructura depende de dos valores cuantitativos: el ángulo de pseudorotación,  $P$ , y el ángulo de torsión máximo,  $\nu_m$ ; que serán incluidos en nuestras tablas para su análisis. También incluiremos el ángulo de torsión  $\chi$ , medido en el enlace de la base nitrogenada al anillo de desoxiribosa.

Los átomos que conforman las bases nitrogenadas se mantienen, a excepción de los hidrógenos del grupo amino, en un mismo plano. Es así que es posible modelar a tales estructuras como sólidos rígidos. Tomando en cuenta esta y otras características se han definido parámetros estructurales de la doble hélice en una nomenclatura[22], cuyos parámetros se describen en la figura 4.6.

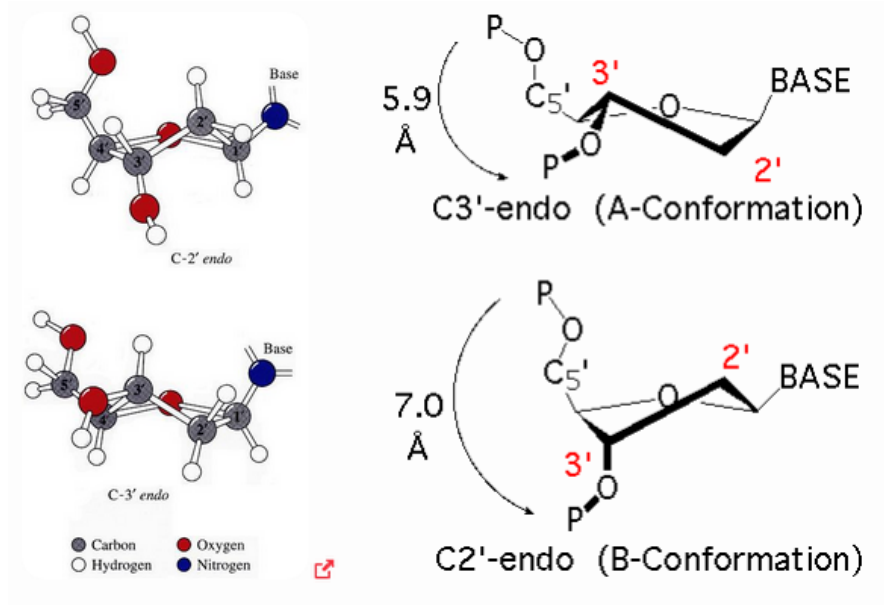


Figura 4.3: Empaquetamientos del anillo de azúcar característicos de la forma A y la forma B del ADN.

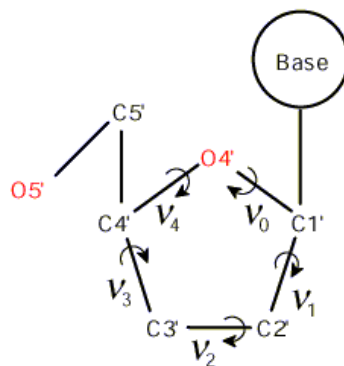


Figura 4.4: Ángulos de torsión en el anillo de azúcar.

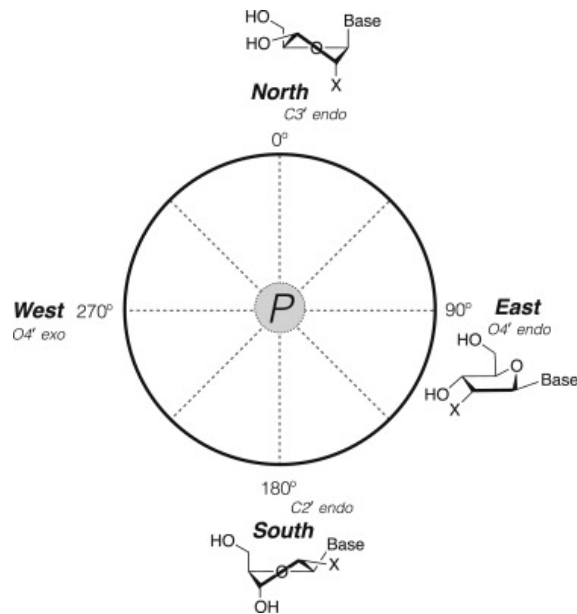


Figura 4.5: Ángulo de Pseudorotación. Se ilustra la pseudorotación del anillo de azúcar conforme el ángulo varía de 0 a 360°

Es de nuestro interés usar sólo algunos de estos parámetros para caracterizar los pares de bases y la posición relativa entre bases escalonadas adyacentes de nuestros resultados, pues la información acerca de la familia estructural ya se encuentra presente en los ángulos de torsión y en el empaquetamiento del anillo de azúcar. Es por eso que de todos los parámetros disponibles sólo ocuparemos aquellos que brinden información acerca: de imperfecciones en el par (*Buckle y Propeller*), la distancia promedio entre los pares de bases (*Rise*) y la posición relativa entre pares de bases sucesivos (*Twist*). La naturaleza de estos parámetros es evidente en la figura [22].

Una característica importante de la doble hélice es la superposición de anillos de bases consecutivas escalonadas. Hasta ahora sólo habíamos indicado la presencia de superposición cualitativamente. Esta vez, usando el programa *3DNA*[23], nos fue posible obtener un parámetro cuantitativo de dicha superposición, medido en  $\text{Å}^2$ . El software empleado permite calcular la superposición entre anillos de bases consecutivas de una cadena o de la cadena adyacente. Veáse la figura 4.7 una descripción completa.

**CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA**  
**4.2. CARACTERIZACIÓN DE RESULTADOS**

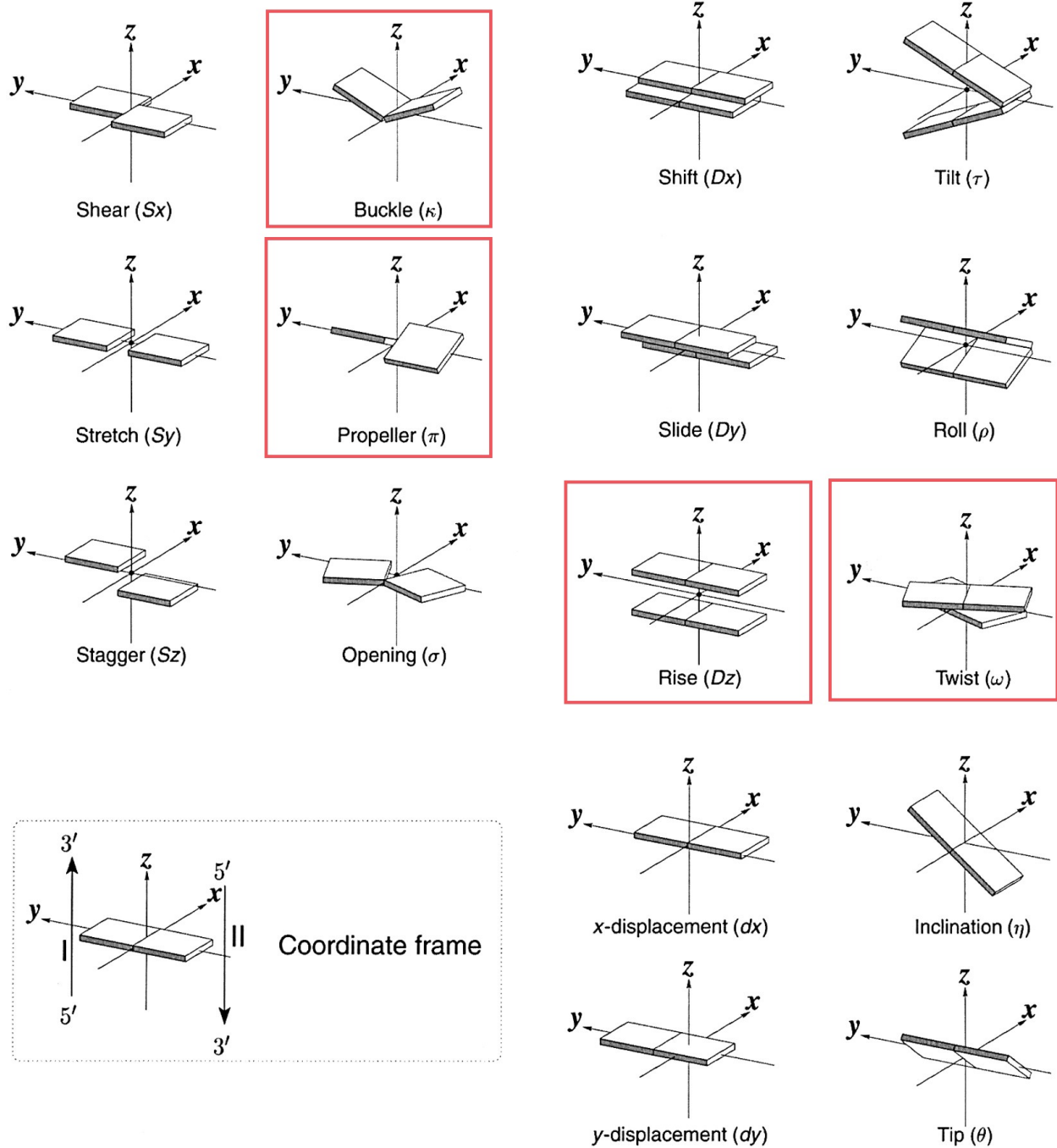


Figura 4.6: Ilustración de los parámetros de cuerpo rígido usados para describir la geometría de pares de bases complementarios y de bases escalonadas adyacentes. Los parámetros encerrados en un recuadro rojo son los usados en este trabajo de tesis. Notar que los parámetros *Buckle*, *Propeller* y *Twist* son medidos en grados y el parámetro *Rise* es medido en Angstroms.

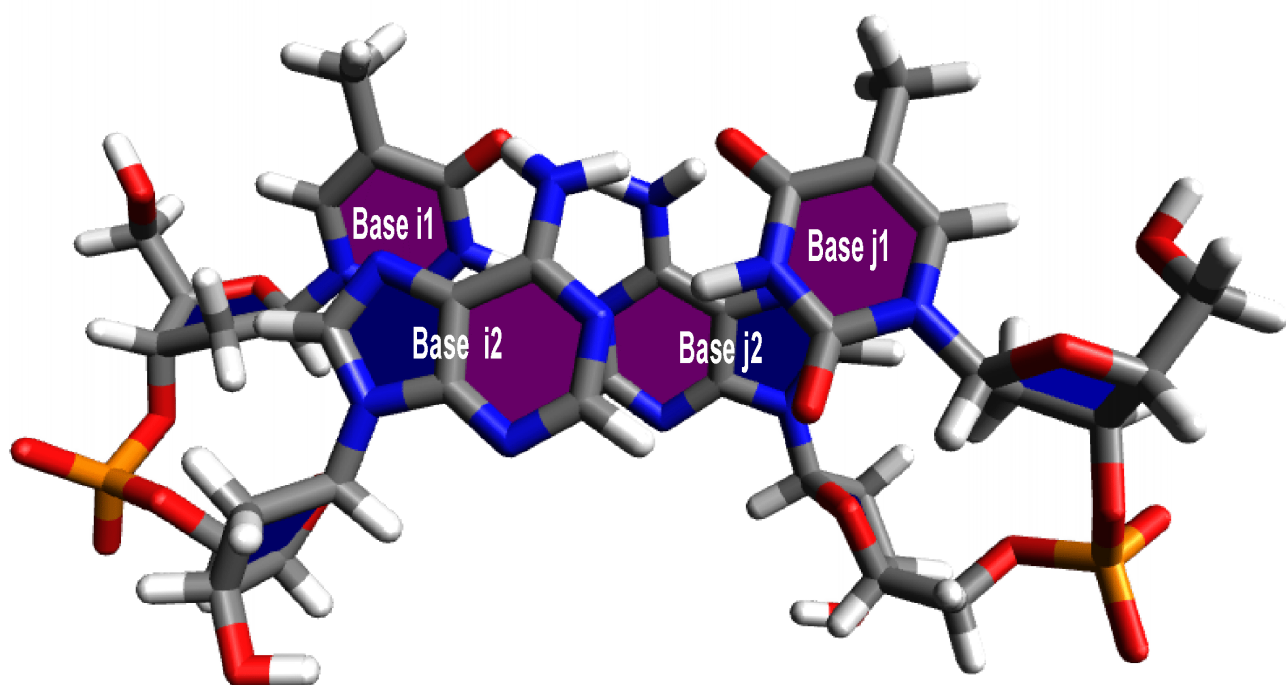


Figura 4.7: Designación de las bases. Identificaremos a cada base con las leyendas: i1, i2, j1 y j2. Notar que estos nombres dependen de la dirección del esqueleto azúcar-fosfato. De este modo la superposición de la base i1 con la base j2 se abreviará simplemente como i1-j2. De forma similar para las demás combinaciones posibles.



# Capítulo 5

## Resultados y discusión

### 5.1. Elección de los métodos de cómputo

Los fragmentos fueron sometidos a cálculos con distintos métodos de cómputo. En particular deseamos evaluar el desempeño de Mecánica Molecular, usando AMBER, versus Mecánica Cuántica, usando DFT.

Los funcionales usados en DFT fueron escogidos conforme a nuestras necesidades y experiencias. El funcional PW91 nos ha brindado resultados satisfactorios al usarlo en dDMP's, por eso fue nuestra primera elección. También se sabe que el funcional PBE en ocasiones es capaz de reproducir resultados obtenidos con el funcional PW91 en un tiempo menor.

De nuestra experiencia al calcular dinucleósidos de monofosfatos (algunos complementarios) notamos que los funcionales PW91 y PBE no son lo suficientemente buenos para reproducir interacciones de apilamiento debido a que éstas últimas son de naturaleza dispersiva. Dada esta situación nos vimos en la necesidad de buscar otros funcionales que sí pudieran reproducir dichas interacciones. En particular el funcional PWB6K [26] fue diseñado específicamente para reproducir lo mejor posible interacciones de apilamiento en biomoléculas.

También decidimos evaluar el funcional de nueva generación M062X y establecer si es capaz de mejorar dramáticamente nuestros resultados o no.

Finalmente en los cálculos con DFT, siempre que sea posible, calcularemos las frecuencias vibracionales de los fragmentos optimizados para evaluar si realmente corresponden a estructuras mínimas. Mientras que en Mecánica Molecular minimizaremos las estructuras usando segundas derivadas para lograr el mismo fin.

### 5.2. Análisis Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN correspondientes a la Secuencia dApdT:dApdT

Nuestro estudio comenzó con la secuencia Adenina - Timina. En las tablas 8.1, 8.2 y 8.3 se resumen las características estructurales de los mínimos obtenidos. En la tabla 8.1 observamos los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato. En la tabla 8.2 se incluyen los datos sobre el empaquetamiento del anillo de azúcar. Y en la tabla 8.3 se encuentran las características del par.

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.2. ANÁLISIS FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DAPDT:DAPDT

---

Usando dos cadenas únicas, obtenidas del DNA databank, construimos dos archivos iniciales con ángulos de torsión distintos cuyos valores se encuentran cerca de la forma canónica BI. Al minimizar tales estructuras, usando el campo de fuerzas amber 99, obtuvimos los fragmentos 1 y 2. La minimización se hizo en el vacío. Es importante notar que ambas estructuras mínimas, separadas por una barrera de energía lo suficientemente grande, cuentan con diferentes ángulos de torsión. Cualitativamente y cuantitativamente es posible observar que tales estructuras se encuentran alejadas de la forma canónica BI del ADN pues, por ejemplo, los pares de bases en ambas estructuras no son planos. Además algunos de sus ángulos de torsión están fuera de la región que corresponde a la familia BI. Estos resultados ilustran la flexibilidad de la doble hélice, es decir, su capacidad de adoptar diferentes mínimos estructurales. Por último es posible apreciar que las características estructurales son simétricas tal como se espera de fragmentos complementarios iguales, es decir, dApdT:dApdT.

Los resultados obtenidos con Mecánica Molecular no son de todo satisfactorios pues la naturaleza empírica del campo de fuerza no permite hacer conclusiones acerca de las interacciones fundamentales que existen dentro de nuestro sistema. Aún más importante, no fue posible reproducir la forma canónica BI del ADN. Por tal motivo decidimos hacer cálculos posteriores usando un nivel de teoría más general, DFT.

Usando como archivos iniciales los fragmentos 1 y 2; y aplicando un nivel de teoría DFT PW91 para intercambio y PW91 para correlación con una base 6-31G\*. Seguido de un cálculo de frecuencias vibracionales, las cuales resultaron todas positivas. Obtuvimos los fragmentos 3 y 4.

Los ángulos de torsión de estas estructuras después de esta segunda optimización se encuentran más cercanos a la forma canónica BI. Además de que ilustran en una forma más confiable, pues se ha usado un nivel de teoría más general, que dicha estructura es flexible. Finalmente nótese que es posible observar simetría, tal y como se esperaría de fragmentos complementarios iguales.

El fragmento 5 corresponde a otro mínimo de energía al que se le aplicó iguales metodología y nivel de teoría que a los fragmentos 3 y 4. A diferencia de los fragmentos 3 y 4 este fragmento proviene de una estructura inicial construida a partir coordenadas experimentales, es decir, no se usó previamente Mecánica Molecular. El fragmento presenta la simetría esperada. Y en esta ocasión fué posible conseguir pares de bases paralelos, tal y como se observa en la forma canónica del ADN. Cabe mencionar que desde el punto de vista energético este mínimo es el más favorable.

Al fragmento 6 también se le sometió a la misma metodología y a igual nivel de teoría. A diferencia del fragmento 5, el fragmento 6 no es simétrico. Las coordenadas de ambas cadenas son experimentales. Nótese que sus ángulos de torsión y demás características estructurales se encuentran próximos a los del fragmento 5. Los pares de bases son casi paralelos. Y energéticamente es más favorable que las estructuras con pares de bases no paralelos.

Las estructuras 7, 8 y 9 son cálculos de mecánica cuántica realizados con diferentes funcionales. El uso de otros funcionales fué motivado por la aparición de nuevas capacidades. Entre las que destacan la velocidad (PBE) o la capacidad de reproducir interacciones de dispersión (PWB6K y M06-2X). La estructura 7 corresponde a un cálculo realizado con el funcional PBE para intercambio y PBE para correlación. La estructura 8 corresponde al último paso de un cálculo realizado con el funcional de nueva generación M06-2X. Este cálculo se inició hace 3 meses usando un promedio de 6 procesadores. Y la estructura 9 corresponde a un cálculo en el que se usó el funcional PWB6K. Los fragmentos 8 y 9 fueron calculados con Gaussian09 mientras que la

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.2. ANÁLISIS FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DAPDT:DAPDT

---

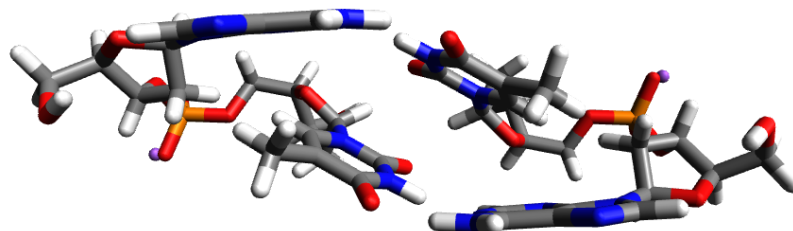


Figura 5.1: Dúplex correspondiente a la secuencia Adenina-Timina optimizado con Mecánica Molecular (Fragmento 1). Es posible observar que los pares de bases no son planos.

estructura 9 se calculó con QCHEM3.1 debido a que el funcional PWB6K sólo está disponible en este último programa.

El fragmento 7 tuvo como archivo inicial la misma estructura que el fragmento 5. De este cálculo queda pendiente la prueba de frecuencias. Aunque su semejanza al fragmento 5 apunta a que el resultado será el mismo.

El fragmento 8 proviene de una serie de minimizaciones: a partir del fragmento 5 se tomó una sola cadena que fue minimizada usando el funcional PW91 para intercambio y PW91 para correlación, cuyos ángulos se presentan al final de la tabla 8.1 bajo la leyenda *cadena única*; seguido de una minimización con el funcional M06-2X. Después se construyó el dúplex, copiando y pegando una segunda cadena de manera complementaria. El dúplex anterior se sometió a cálculo usando el funcional M06-2X; usando la misma base, 6-31G\*, que en los casos anteriores. Esperamos a que el cálculo finalice para hacer el cálculo de frecuencias.

A fin de validar nuestros cálculos y compararlos con resultados previos (referencia a artículo con mi participación) se minimizó una sola cadena proveniente del mínimo más profundo obtenido, a saber, Fragmento 5. Observamos que presenta ángulos de torsión cercanos a los valores iniciales. También destaca el hecho de que la distancia entre bases es un poco mayor que en el caso del dúplex.

La tabla 8.2 muestra que existe superposición de bases en los fragmento Adenina-Timina. Se esperaba encontrar tal superposición pues se trata de una secuencia Purina-Pirimidina. Tal superposición sólo puede observarse en los fragmentos calculados con Mecánica Cuántica, lo cual ilustra el alcance de este nivel de teoría. De igual modo la tabla 8.2, ilustra que la distancia promedio entre pares de bases, denominada *helical rise*, en general es mayor que la observada en estructuras experimentales. Con la excepción de que el funcional M06-2X da una distancia menor.

La tabla 8.3 muestra el empaquetamiento del anillo de azúcar. Observamos que el empaquetamiento de las estructuras obtenidas corresponde a la familia AI y a la familia BI. Se deja a trabajos futuros el cálculo de estructuras cuyos nucleótidos pertenezcan todos a una sola familia estructural.

**Tabla 5.1**

dDMP:dDMP	$\delta 1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta 2$
Dúplex calculados con el campo de fuerzas Amber99 usando AMBER							
dApdT:dApdT	134.2	194.0	283.5	292.4	183.9	44.5	122.9
Fragmento 1	134.0	193.7	283.1	292.7	184.3	44.5	124.0
dApdT:dApdT	119.7	193.9	281.3	292.6	183.9	47.1	126.1
Fragmento 2	119.6	194.0	281.4	292.6	184.0	47.1	126.2
Dúplex calculados con DFT-PW91 usando GAUSSIAN							
dApdT:dApdT	146.3	166.7	278.0	280.4	233.8	48.8	145.7
Fragmento 3	146.4	166.8	278.0	280.4	233.9	48.8	145.7
dApdT:dApdT	136.1	173.2	274.0	287.7	229.0	47.5	138.6
Fragmento 4	136.1	173.3	274.0	287.9	228.8	47.5	138.7
dApdT:dApdT	143.4	195.2	279.6	288.3	174.5	51.9	106.0
Fragmento 5	143.5	195.2	279.5	288.3	174.6	52.0	106.2
dApdT:dApdT	141.0	193.1	276.2	292.7	175.1	53.0	113.5
Fragmento 6	140.7	192.4	275.2	294.4	176.3	52.1	127.2
Dúplex calculado con DFT-PBE usando GAUSSIAN							
dApdT:dApdT	143.5	195.3	279.4	288.5	174.0	52.1	105.7
Fragmento 7	143.2	195.3	279.5	288.5	174.2	52.0	105.9
Dúplex calculado con DFT-M062X usando GAUSSIAN							
dApdT:dApdT	141.3	184.7	274.8	298.0	165.1	56.3	102.4
Fragmento 8	141.1	184.6	274.6	297.9	165.5	56.2	102.6
Dúplex calculado con DFT-PWB6K usando QCHEM							
dApdT:dApdT	139.7	192.0	272.8	296.4	164.6	54.5	96.2
Fragmento 9	141.7	185.3	273.1	299.1	166.3	54.9	98.3
Cadena única DFT-PW91 usando GAUSSIAN							
dApdT:dApdT	140.3	196.7	278.5	287.3	174.3	52.3	94.7
Valores promedio forma BI [2]							
Forma Canónica BI	132.8	181.7	263.2	299.0	179.3	48.4	132.8

Tabla 5.1: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas, correspondientes a las secuencia dApdT:dApdT, calculadas con diferentes métodos (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). *Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].*

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

5.2. ANÁLISIS FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN CORRESPONDIENTES  
A LA SECUENCIA DAPDT:DAPDT

---

**Tabla 5.2**

Estructura	i1-i2	i1-j2	j1-i2	j1-j2	sum	h-twist	h-rise	Buckle	Propeller
Dúplex calculados con el campo de fuerzas Amber99 usando AMBER									
dApdT:dApdT	0	0	0	0	0.00	29.98	6.05	36.54	-6.60
Fragmento 1								-36.80	-6.36
dApdT:dApdT	0	0	0	0	0.01	32.49	5.99	35.03	-7.50
Fragmento 2								-35.07	-7.45
Dúplex calculados con DFT-PW91 usando GAUSSIAN									
dApdT:dApdT	0.85	0	0	0.85	1.70	35.53	5.85	17.77	8.40
Fragmento 3								-17.53	8.45
dApdT:dApdT	0.63	0	0	0	0.63	39.63	5.66	14.84	3.76
Fragmento 4								-14.92	3.71
dApdT:dApdT	3.66	0	0	3.67	7.33	24.49	3.30	-3.73	2.23
Fragmento 5								3.48	2.28
dApdT:dApdT	3.29	0	0	3.13	6.42	26.45	3.45	-5.26	1.53
Fragmento 6								4.45	2.33
Dúplex calculado con DFT-PBE usando GAUSSIAN									
dApdT:dApdT	3.67	0	0	3.65	7.32	24.48	3.30	-3.54	2.35
Fragmento 7								3.70	2.30
Dúplex calculado con DFT-M062X usando GAUSSIAN									
dApdT:dApdT	3.06	0	0	2.95	6.01	25.1	2.90	-3.91	-7.24
Fragmento 8								4.38	-7.04
Dúplex calculado con DFT-PWB6K usando QCHEM									
dApdT:dApdT	2.86	0	0	3.04	5.90	23.99	3.32	-2.14	-2.95
Fragmento 9								2.45	-3.00

Tabla 5.2: Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas correspondientes a la secuencia dApdT:dApdT. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-i2 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias.

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

5.2. ANÁLISIS FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN CORRESPONDIENTES  
A LA SECUENCIA DAPDT:DAPDT

---

**Tabla 5.3**

dDMPs	Nucleósido 5'-extremo				Nucleósido 3'-extremo			
	Empaquetamiento	P	$V_{max}$	$\chi$	Empaquetamiento	P	$V_{max}$	$\chi$
Dúplex calculados con el campo de fuerzas Amber99 usando AMBER								
dApdT:dApdT	C1'-exo	143.7	40.8	-161.5	C1'-exo	127.7	42.3	-165.2
Fragmento 1	C3'-endo	143.8	40.7	-161.2	C1'-exo	128.9	42.2	-164.9
dApdT:dApdT	C1'-exo	124.1	45.1	-168.6	C1'-exo	132.6	41.1	-162.1
Fragmento 2	C1'-exo	124.2	45.0	-168.8	C1'-exo	132.5	41.2	-162.1
Dúplex calculados con DFT-PW91 usando Gaussian								
dApdT:dApdT	C2'-endo	161.9	40.6	-136.2	C2'-endo	162.4	35.4	-119.4
Fragmento 3	C2'-endo	161.8	40.6	-136.5	C2'-endo	162.4	35.4	-119.4
dApdT:dApdT	C1'-exo	124.1	45.1	-168.6	C1'-exo	132.6	41.1	-162.1
Fragmento 4	C1'-exo	124.2	45.0	-168.8	C1'-exo	132.5	41.2	-162.1
dApdT:dApdT	C2'-endo	175.8	30.5	-123.4	C1'-exo	115.5	44.0	-118.4
Fragmento 5	C2'-endo	175.6	30.5	-123.4	C1'-exo	115.6	44.0	-118.3
dApdT:dApdT	C2'-endo	175.6	28.5	-124.8	C1'-exo	123.5	42.1	-116.71
Fragmento 6	C2'-endo	176.3	28.0	-125.3	C1'-exo	130.0	42.1	-114.0
Dúplex calculado con DFT-PBE usando Gaussian								
dApdT:dApdT	C2'-endo	175.5	30.5	-123.3	C1'-exo	115.5	44.0	-118.8
Fragmento 7	C2'-endo	175.4	30.6	-123.5	C1'-exo	115.5	44.0	-118.7
Dúplex calculado con DFT-M062X usando Gaussian								
dApdT:dApdT	C2'-endo	177.1	27.7	-110.6	C1'-exo	108.9	44.9	-126.7
Fragmento 8	C2'-endo	177.2	27.6	-110.6	C1'-exo	109.1	44.8	-126.6
Dúplex calculado con DFT-PWB6K usando QCHEM								
dApdT:dApdT	C2'-endo	170.9	28.2	-112.5	O4'-endo	101.2	43.7	-126.5
Fragmento 9	C3'-exo	180.9	27.9	-102.1	O4'-endo	104.6	44.8	-124.3

Tabla 5.3: Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión,  $\chi$ , de estructuras optimizadas con distintos métodos correspondientes a la secuencia dApdT:dApdT.

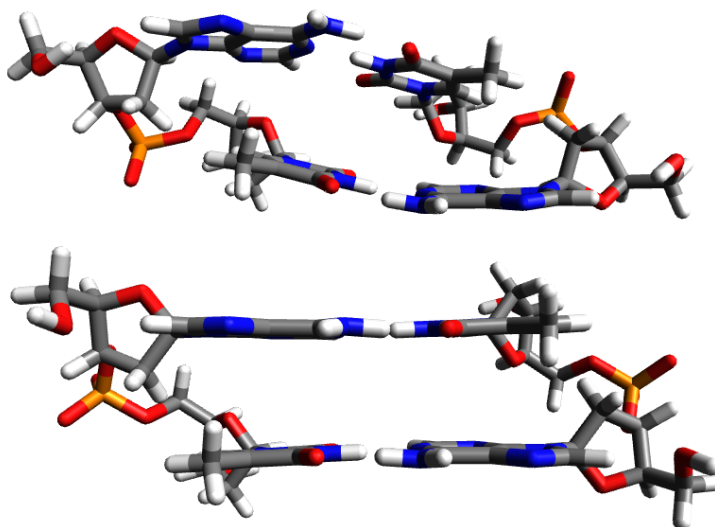


Figura 5.2: Dúplex correspondientes a la secuencia Adenina-Timina optimizados con Mecánica Cuántica. La estructura de la parte superior presenta pares ligeramente no planos (Fragmento 5). Mientras que la estructura de la parte inferior muestra pares de bases planos (Fragmento 3). Ambas estructuras son mínimas.

### 5.3. Análisis de Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN Obtenidos Mediante Mecánica Molecular

El modelado clásico de sistemas moleculares usando un campo de fuerzas permite realizar cálculos de optimización de estructuras moleculares a una velocidad mucho mayor, cuando lo comparamos con cálculos Mecánico Cuánticos. Además, estos modelos siguen vigentes como lo sugieren su mejora continua en el sistema de cargas y su uso rutinario en el refinamiento de estructuras moleculares obtenidas experimentalmente.

En el presente trabajo se usó el campo de fuerzas no polarizable ff99[19] de amber que usa un sistema de cargas parciales centradas en los átomos. Dicho campo ha sido optimizado por sus creadores, específicamente, para su uso en biomoléculas. El sistema utilizado para generar cargas fue AM1-BCC cuyo objetivo es emular a las cargas calculados con un nivel de teoría de Mecánica Cuántica HF/6-31G\*[20].

Se minimizaron todas las secuencias en dos ocasiones. La primera usando el campo de fuerzas en el vacío. Y la segunda simulando un medio solvente con una caja de moléculas de agua. El número aproximado de moléculas de agua usado para construir la caja fue de 330. Ver la figura 5.4.

La Tabla 8.4 muestra los ángulos de torsión del esqueleto azúcar fosfato. La Tabla 5.5 incluye información acerca de la superposición de las bases y los parámetros de hélice. Y la Tabla 5.6 resume las características de empaquetamiento del anillo de desoxirribosa.

En la Tabla 5.4 puede observarse que para ambos modelos clásicos, uno con solvente y otro sin solvente, los ángulos de torsión se mantienen en general en las mismas regiones. Sin embargo para la secuencia dCpdA:dTpdG obtuvimos un resultado artificial al no usar solvente pues

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**  
**5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN**  
**CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC**

**Tabla 5.4**

dDMP:dDMP	$\delta 1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta 2$
Dúplex calculados con el campo de fuerzas Amber99 usando AMBER							
dCpdA:dTpdG	Ángulos fuera de región.						
Vacío							
dCpdA:dTpdG	134.3	184.2	272.3	287.1	175.9	45.4	96.2
Agua	139.5	204.7	283.3	283.9	169.1	48.5	130.6
dApdC:dGpdT	134.7	192.3	284.7	291.8	181.0	44.4	120.2
Vacío	127.5	187.9	271.1	292.9	197.3	44.3	127.5
dApdC:dGpdT	142.1	193.3	279.0	296.6	180.2	36.4	141.9
Agua	144.4	194.5	266.4	282.2	157.5	70.2	127.4
dApdA:dTpdT	135.4	192.8	284.1	294.6	179.5	47.3	118.9
Vacío	137.6	190.2	280.0	295.8	191.9	44.9	137.9
dApdA:dTpdT	141.1	187.9	274.4	291.3	177.9	38.7	142.0
Agua	142.9	193.0	276.1	283.1	174.0	44.8	130.1
dApdT:dApdT	134.5	193.6	283.6	292.0	183.5	45.6	134.5
Gaussian Vacío	125.3	193.6	283.5	292.0	183.6	45.6	125.5
dApdT:dApdT	140.3	189.3	267.7	297.1	165.5	52.2	109.8
Gaussian Agua	145.6	205.6	291.2	278.9	166.7	56.6	107.8
dApdT:dApdT	134.2	194.0	283.5	292.4	183.9	44.5	122.9
Vacío	134.0	193.7	283.1	292.7	184.3	44.5	124.0
dApdT:dApdT	141.7	182.8	261.6	296.7	190.6	49.4	146.1
Agua	137.2	175.2	269.0	298.2	167.3	66.1	117.0

Tabla 5.4: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas con Mecánica Molecular correspondientes a diferentes secuencias (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). *Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].*

los ángulos de torsión se alejaron de las regiones correspondientes a la doble hélice. Ver la figura 5.3.

La Tabla 5.5 muestra que los fragmentos calculados en agua presentan mayor superposición que los calculados en el vacío. También observamos que los pares de bases son más planos en el caso de las estructuras calculadas en un medio solvente. Finalmente los parámetros de hélice no cambiaron significativamente de uno a otro modelo.

Finalmente, al comparar el empaquetamiento del anillo de azúcar (mostrada en la Tabla 5.6), de secuencias optimizadas en agua y en el vacío, no se observó una variación importante.

## 5.4. Análisis de Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN Correspondientes a la Secuencia dGpdC:dGpdC

La secuencia dGpdC:dGpdC requiere especial atención. En primer lugar, fue curioso notar que la estructura minimizada usando Mecánica Molecular en el vacío presentó características estructu-

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**  
**5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN**  
**CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC**

---

**Tabla 5.5**

Estructura	i1-i2	i1-j2	j1-i2	j1-j2	sum	h-twist	h-rise	Buckle	Propeller
Dúplex calculados con el campo de fuerzas Amber99 usando AMBER									
dCpdA:dTpdG	Ángulos fuera de región.								
Vacío									
dCpdA:dTpdG	0	0	0.33	0.07	0.40	28.99	2.82	3.56	-9.70
Agua								-1.06	-11.54
dApdC:dGpdT	0	0	0	0.18	0.18	31.59	5.04	34.05	12.46
Vacío								-27.57	-9.73
dApdC:dGpdT	2.16	0	0	3.03	5.19	28.6	3.05	3.73	4.99
Agua								20.31	-4.56
dApdA:dTpdT	0	0	1.92	0	1.92	30.46	6.27	51.60	11.01
Vacío								-50.91	-5.92
dApdA:dTpdT	2.72	0	0	1.49	4.22	25.84	3.09	-10.89	-8.25
Agua								-4.60	-1.26
dApdT:dApdT	0	0	0	0	0	30.57	6.06	37.46	-8.54
Gaussian Vacío								-37.48	-8.49
dApdT:dApdT	3.21	0	0	2.89	6.11	28.02	2.86	15.12	4.08
Gaussian Agua								35.90	-2.06
dApdT:dApdT	0	0	0	0	0	29.98	6.05	36.54	-6.60
Vacío								-36.80	-6.36
dApdT:dApdT	0.31	0	0	3.32	3.63	38.08	3.36	-14.23	-20.96
Agua								-8.58	-10.51

Tabla 5.5: Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas optimizadas con Mecánica Molecular correspondientes a diferentes secuencias. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-i2 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias.

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**  
**5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN**  
**CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC**

**Tabla 5.6**

		Nucleósido 5'-extremo			Nucleósido 3'-extremo			
dDMPs	Empaquetamiento	P	$V_{max}$	$\chi$	Empaquetamiento	P	$V_{max}$	$\chi$
dCpdA:dTpdG	Vacío	Ángulos Fuera de Región						
dCpdA:dTpdG	C2'-endo	154.8	35.1	-109.2	O4'-endo	91.6	41.9	-122.0
	Agua	176.7	28.2	-140.4	C1'-exo	138.8	41.2	-122.6
dApdC:dGpdT	C2'-endo	144.5	41.4	-154.5	C1'-exo	125.3	44.6	-165.7
	Vacío	135.7	41.1	-159.8	C2'-endo	150.6	34.9	-148.6
dApdC:dGpdT	C2'-endo	173.0	31.9	-134.9	C2'-endo	150.1	42.2	-97.4
	Agua	189.7	28.0	-110.5	C1'-exo	134.7	41.7	-116.9
dApdA:dTpdT	C2'-endo	146.9	39.6	-153.9	C1'-exo	123.9	43.8	-177.8
	Vacío	149.2	40.3	-153.5	C2'-endo	152.3	37.0	-166.0
dApdA:dTpdT	C2'-endo	174.8	29.4	-126.0	C2'-endo	148.4	43.2	-105.8
	Agua	170.2	33.0	-120.6	C1'-exo	135.2	42.6	-98.7
dApdT:dApdT	C2'-endo	144.2	40.6	-162.1	C1'-exo	131.6	41.5	-163.9
	Gaussian Vacío	144.2	40.7	-162.1	C1'-exo	131.8	41.5	-163.8
dApdT:dApdT	C3'-exo	187.3	25.8	-108.9	C1'-exo	109.6	36.4	-113.9
	Gaussian Agua	181.6	18.3	-156.7	C1'-exo	111.5	40.3	-129.8
dApdT:dApdT	C1'-exo	143.7	40.8	-161.5	C1'-exo	127.7	42.3	-165.2
	Vacío	143.8	40.7	-161.2	C1'-exo	128.9	42.2	-164.9
dApdT:dApdT	C2'-endo	174.4	29.7	-132.8	C2'-endo	168.6	32.0	-104.7
	Agua	164.9	32.6	-107.1	C1'-exo	119.4	35.7	-124.2

Tabla 5.6: Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión,  $\chi$ , de estructuras optimizadas con Mecánica Molecular correspondientes a diferentes secuencias.

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC

---

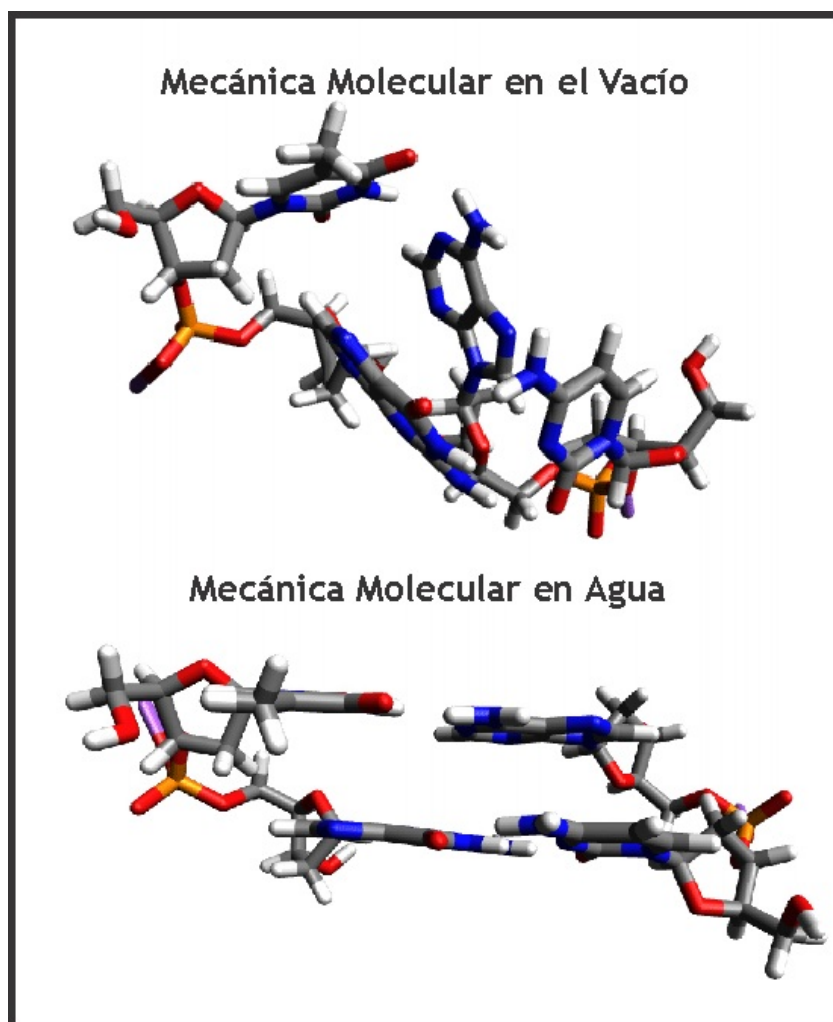


Figura 5.3: Dinucleósido de Monofosfato Complementario correspondiente a la secuencia Citosina-Adenina. Cálculo con Mecánica Molecular en el Vacío y Versus Mecánica Molecular en Agua

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**  
**5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN**  
**CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC**

---

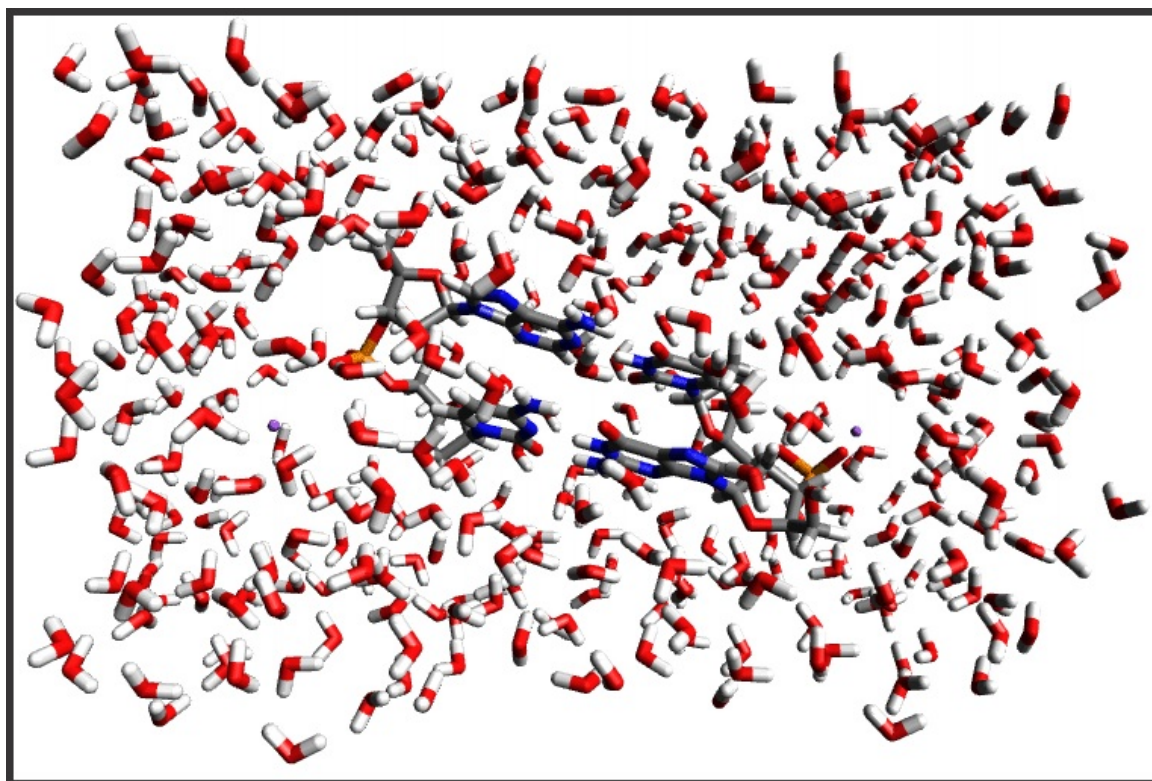


Figura 5.4: Dinucleósido de Monofosfato Complementario correspondiente a la secuencia Adenina-Citosina en un medio solvente modelado con moléculas de agua.

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC

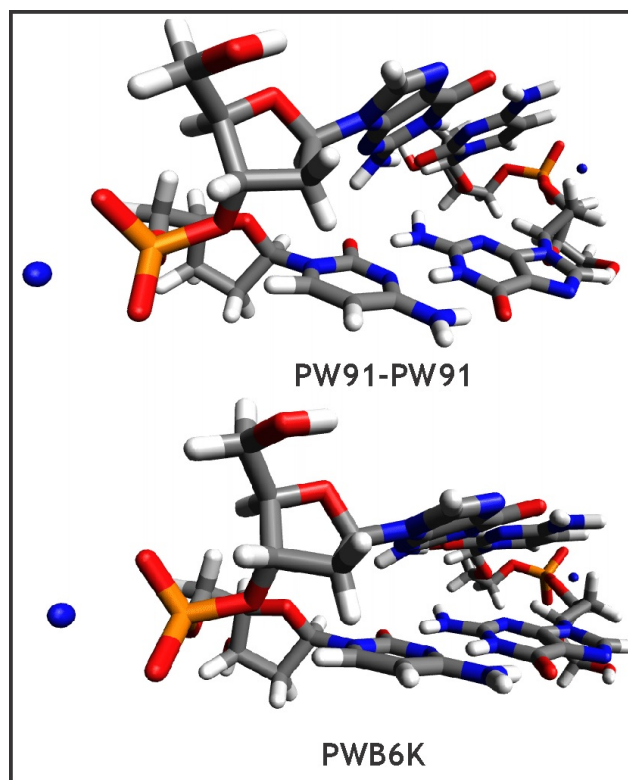


Figura 5.5: Dinucleósido de Monofosfato Complementario correspondiente a la secuencia Guanina-Citosina. El ángulo *Roll* es mayor cuando usamos el funcional PW91-PW91.

rales cercanas a la doble hélice, mientras que otras secuencias minimizadas por el mismo método no.

En segundo lugar, al minimizar la secuencia usando el funcional PW91 con la base 6-31G\* implementado en el programa *Gaussian*, hallamos una estructura artificial con un ángulo *Roll* demasiado grande. Esta fue la única estructura, de las que calculamos, en la que el funcional PW91 no presentó un resultado cercano a la forma B canónica de la doble hélice de ADN. Atribuimos la falla al funcional PW91 que, como se sabe, no es capaz de reproducir correctamente las interacciones de apilamiento.

Para resolver este problema optamos por usar el funcional PWB6K que ha demostrado ser útil al reproducir tales interacciones en sistemas biológicos. La minimización, usando este funcional, se efectuó con la base 6-31G\* en el programa *Qchem*. El resultado fue satisfactorio pues el ángulo *Roll* se redujo considerablemente. Ver la figura 5.5. Es importante comentar que el tiempo de cálculo usando el nuevo funcional aumentó considerablemente al compararlo con el tiempo de cálculo usando el funcional PW91, pasando de semanas a un par de meses.

Los detalles estructurales en los que basamos nuestra discusión se encuentran resumidos en las Tablas: 5.7, 5.8 y 5.9.

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**  
**5.4. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN**  
**CORRESPONDIENTES A LA SECUENCIA DGPDC:DGPDC**

---

**Tabla 5.7**

dDMP:dDMP	$\delta 1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta 2$
Mecánica Cuántica							
dGpdC:dGpdC	137.2	279.4	149.7	290.5	132.8	52.3	130.1
PW91 Gaussian	137.5	278.5	149.6	290.6	133.5	52.2	131.0
dGpdC:dGpdC	136.6	274.2	148.5	292.3	127.7	49.9	114.2
PWB6K Qchem	137.2	275.5	148.9	291.7	127.3	49.9	114.0
Mecánica Molecular							
dGpdC:dGpdC	124.6	281.8	131.7	292.5	109.9	57.4	108.1
Amber99	124.1	281.4	132.2	292.0	110.6	57.5	110.2

Tabla 5.7: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas, correspondientes a las secuencia dGpdC:dGpdC, calculadas con diferentes métodos (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). *Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].*

**Tabla 5.8**

Estructura	i1-i2	i1-j2	j1-i2	j1-j2	sum	h-twist	h-rise	Buckle	Propeller
Mecánica Cuántica									
dGpdC:dGpdC	0.07	0	0	0.06	0.14	63.95	3.18	8.34	9.99
PW91 Gaussian								-8.05	9.99
dGpdC:dGpdC	0.87	0	0	0.89	1.76	43.23	3.61	5.18	10.11
PWB6K Qchem								-6.36	10.53
Mecánica Molecular									
dGpdC:dGpdC	1.49	0	0	1.31	2.80	35.32	3.32	-1.88	2.12
Amber99								1.24	4.29

Tabla 5.8: Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas optimizadas con diferentes métodos correspondientes a la secuencia dGpdC:dGpdC. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-i2 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias.

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**  
**5.5. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN**  
**CORRESPONDIENTES A LAS SECUENCIAS: DAPDA:DTPDT, DCPDG:DCPDG Y**  
**DTPDA:DTPDA. MINIMIZADOS POR MECÁNICA CUÁNTICA CON EL FUNCIONAL**  
**PW91-PW91**

**Tabla 5.9**

		Nucleósido 5'-extremo			Nucleósido 3'-extremo			
dDMPs	Empaquetamiento	P	$V_{max}$	$\chi$	Empaquetamiento	P	$V_{max}$	$\chi$
Mecánica Cuántica								
dGpdC:dGpdC	C1'-exo	137.6	41.8	-113.2	C1'-exo	140.3	38.2	-123.9
PW91 Gaussian	C1'-exo	137.8	41.8	-112.8	C1'-exo	141.9	38.0	-123.3
dGpdC:dGpdC	C1'-exo	134.6	44.9	-96.5	C1'-exo	119.0	43.4	-133.7
PWB6K Qchem	C1'-exo	135.2	45.1	-97.2	C1'-exo	118.5	43.4	-133.3
Mecánica Molecular								
dGpdC:dGpdC	C1'-exo	123.8	48.3	-90.3	C1'-exo	111.6	42.4	-141.2
Amber99	C1'-exo	123.9	48.0	-91.6	C1'-exo	113.9	42.1	-140.2

Tabla 5.9: Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión,  $\chi$ , de estructuras optimizadas por diferentes métodos correspondientes a la secuencia dGpdC:dGpdC.

**5.5. Análisis de Fragmentos Mínimos del Dúplex de ADN**  
**Correspondientes a las Secuencias: dApdA:dTpdT,**  
**dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA. Minimizados por**  
**Mecánica Cuántica con el funcional PW91-PW91**

Las Tablas: 5.10, 5.11 y 5.12 contienen los parámetros estructurales del resto de las secuencias estudiadas a un nivel de teoría PW91/6-31G\* con el programa *Gaussian*. Los ángulos de torsión están en el rango esperado. La superposición de las bases es la esperada según la secuencias. Los pares de bases son normales junto con los parámetros de hélice. Por último el empaquetamiento de la desoxirribosa también se encuentra en el margen esperado.

Lo anterior sugiere que un nivel de teoría DFT/PW91/6-31G\* es suficiente para reproducir la mayoría de las características estructurales de la doble hélice en un tiempo y con una exactitud razonables.

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

5.5. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN  
CORRESPONDIENTES A LAS SECUENCIAS: DAPDA:DTPDT, DCPDG:DCPDG Y  
DTPDA:DTPDA. MINIMIZADOS POR MECÁNICA CUÁNTICA CON EL FUNCIONAL  
PW91-PW91

---

**Tabla 5.10**

dDMP:dDMP	$\delta 1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta 2$
dApdA:dTpdT	138.8	194.4	273.2	292.9	170.0	55.6	98.2
PW91	141.9	195.4	274.1	293.4	173.3	51.8	121.9
dCpdG:dCpdG	137.2	279.4	149.7	290.5	132.8	52.3	130.1
PW91	137.5	278.5	149.6	290.6	133.5	52.2	131.0
dTpdA:dTpdA	140.7	199.3	284.6	281.9	177.4	46.2	115.1
PW91	140.7	199.2	284.7	281.9	177.3	46.2	114.9

Tabla 5.10: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras optimizadas con Mecánica Cuántica, correspondientes a las secuencias: dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA (véase la designación de los ángulos en la figura 4.2). *Nota: Los ángulos de la Forma Canónica BI corresponden a los valores promedio de la Referencia [2].*

**Tabla 5.11**

Estructura	i1-i2	i1-j2	j1-i2	j1-j2	sum	h-twist	h-rise	Buckle	Propeller
dApdA:dTpdT	0.59	0	0	2.60	3.19	31.51	3.34	-9.11	-7.44
PW91								2.50	-8.96
dCpdG:dCpdG	0	0	0	0	0	44.78	3.26	-1.43	4.84
PW91								1.39	4.79
dTpdA:dTpdA	0.02	0	0.64	0.02	0.68	38.49	1.91	7.80	-8.15
PW91								-7.86	-8.16

Tabla 5.11: Superposición de las bases y parámetros estructurales del par de estructuras mínimas optimizadas con Mecánica Cuántica correspondientes a las secuencias: dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA. Los valores han sido calculados usando el programa X3DNA [3]. Notar que: i1-i2 y j1-j2, corresponden a la superposición de bases de la misma cadena. Y j1-i2 e i1-j2 corresponden a la superposición de bases de cadenas complementarias.

**CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

5.5. ANÁLISIS DE FRAGMENTOS MÍNIMOS DEL DÚPLEX DE ADN  
CORRESPONDIENTES A LAS SECUENCIAS: DAPDA:DTPDT, DCPDG:DCPDG Y  
DTPDA:DTPDA. MINIMIZADOS POR MECÁNICA CUÁNTICA CON EL FUNCIONAL  
PW91-PW91

---

**Tabla 5.12**

	Nucleósido 5'-extremo				Nucleósido 3'-extremo			
dApdA:dTpdT	C2'-endo	167.1	29.3	-125.9	O4'-endo	103.7	39.5	-121.1
PW91	C2'-endo	177.6	28.8	-124.6	C1'-exo	133.2	40.6	-107.3
dCpdG:dCpdG	C1'-exo	131.2	44.9	-109.1	C2'-endo	156.5	36.6	-101.4
PW91	C1'-exo	131.3	44.9	-109.1	C2'-endo	156.6	36.5	-101.3
dTpdA:dTpdA	C2'-endo	161.5	32.4	-127.0	C1'-exo	125.4	43.3	-115.5
PW91	C2'-endo	161.4	32.5	-126.9	C1'-exo	125.2	43.3	-115.4

Tabla 5.12: Empaquetamiento del anillo de azúcar y ángulos glucosídicos de torsión,  $\chi$ , de estructuras optimizadas con Mecánica Cuántica correspondientes a la secuencias: dApdA:dTpdT, dCpdG:dCpdG y dTpdA:dTpdA.



## Capítulo 6

# Conclusiones

Optimizamos dDMP complementarios, obteniendo mínimos con características cercanas a las de la familia estructural BI, de la doble hélice. En particular, logramos obtener estructuras mínimas, con tales características, para todas las secuencias de las bases posibles, usando Mecánica Molecular con el campo de fuerzas *ff99* como viene implementado en el programa *Amber*, tanto en el vacío como en un medio solvente (el medio solvente se modeló usando directamente moléculas de agua).

Por otro lado, usando la aproximación DFT/PW91/6-31G\* con el programa *Gaussian* encontramos mínimos para las secuencias: dApdT:dApdT, dGpdC:dGpdC, dCpdG:dCpdG, dTpdA:dTpdA y dApdA:dTpdT. Complementando nuestro estudio se calcularon estructuras mínimas para las secuencias dGpdC:dGpdC y dApdT:dApdT. La secuencia dGpdC:dGpdC con un nivel de teoría DFT/PWB6K/6-31G\* con el programa *Qchem*. Mientras que la secuencia dApdT:dApdT se estudio con los niveles de teoría: DFT/PB6K/6-31G\*, DFT/PBE/6-31G\* y DFT/M06-2X/6. El primero tal y como viene implementado en el programa *Qchem* y los dos restantes en el paquete *Gaussian*.

Los resultados obtenidos con Mecánica Molecular en el vacío en general presentaron características cualitativas diferentes a las de la doble hélice, en particular, los pares de bases resultaron no planos. Es más, la secuencia dCpdA:dTpdG presentó pares de bases anormales conduciendo a una estructura con bases perpendiculares, entre sí. Por otro lado las estructuras calculadas en un medio solvente presentaron características cualitativas más cercanas a la doble hélice. Sin embargo, la superposición exhibida fue menor que la esperada. Y las estructuras en las que se esperaba simetría, como las correspondientes a la secuencia dApdT:dApdT, no la presentaron. Concluimos que el campo de fuerzas está ajustado a reproducir mejor las características de la doble hélice en presencia de agua, como medio solvente.

El análisis energético de los fragmentos mínimos, obtenidos con un nivel de teoría DFT/PW91/6-31G\*, correspondientes a la secuencia dApdT:dApdT, muestra que la doble hélice es una estructura flexible, pues encontramos configuraciones con parámetros estructurales ligeramente distintos separados por pequeñas barreras energéticas. Sin embargo la estructura más parecida a la forma canónica del ADN resultó ser la más favorable. Es importante recalcar que todas las estructuras optimizadas en este análisis se sometieron a una prueba de frecuencias vibracionales. Esto ilustra la riqueza estructural de la doble hélice.

Haciendo otro análisis energético de fragmentos mínimos, calculados con la misma aproximación (DFT/PW91/6-31G\*), de la secuencia dApdT:dApdT hallamos, que estructuras con parámetros estructurales simétricos son más favorables que aquellas que no presentan simetría.

Un resultado que puede extrapolarse a otras secuencias que presenten simetría.

El uso de los funcionales PWB6K y M06-2X en el cálculo de la secuencia dApdT:dApdT no mejoró dramáticamente nuestros resultados, pues los ángulos de torsión y el empaquetamiento del anillo de ribosa no sufrieron cambios importantes. Pero debe señalarse que la distancia promedio entre pares de bases resultó menor, lo que indica que estos funcionales son mejores para reproducir interacciones de apilamiento. Sin embargo pudimos identificar algunas distancias, entre átomos de bases consecutivas, demasiado cortas. Otro inconveniente con estos funcionales es el tiempo de cálculo pues, con el funcional PW91 el tiempo de cálculo fue de aproximadamente 2 semanas, mientras que con los funcionales PWB6K Y M06-2X, el tiempo de cálculo fue de 2 y 4 meses respectivamente.

El funcional PWB6K y su capacidad de reproducir las interacciones de apilamiento fue esencial para optimizar la secuencia dGpdC:dGpdC, pues sólo fue posible hallar una estructura correspondiente a la realidad biológica usando esta formulación de la teoría. Cabe señalar que se intentó estabilizar a la secuencia con el funcional PW91, usando diferentes archivos iniciales, bases más extendidas y diferentes paquetes (*Gaussian* y *Qchem*) pero sin éxito.

Las demás secuencias calculadas: dCpdG:dCpdG, dTpdA:dTpdA y dApdT:dApdT. Presentaron las características estructurales del dúplex: Ángulos de torsión y empaquetamiento del anillo de desoxirribosa dentro de la región esperada, los pares de bases son aproximadamente planos y normales, y con superposición dependiente de la secuencia.

Finalmente resta señalar que no recomendamos el uso del campo de fuerzas ff99 en el vacío para el cálculo de fragmentos pequeños de ADN. La predicción de la estructura mejora si se incluyen moléculas de agua para modelar el medio solvente, pero por la naturaleza del modelo no permite hacer conclusiones acerca de la simetría de los sistemas. Queda pendiente para estudios futuros poner a prueba otros campos de fuerza.

En el caso de Mecánica Cuántica recomendamos el uso del funcional PW91 para el cálculo de fragmentos mínimos de ADN donde las interacciones de apilamiento no sean críticas, pues presenta un compromiso razonable entre la calidad de los parámetros conformacionales, que son cercanos a los experimentales, y el tiempo de cálculo. Se identificó que este funcional falla al reproducir las interacciones de apilamiento, por lo que si es necesario calcular estructuras donde esta interacción es fundamental se recomienda el uso de los funcionales M06-2X y PWB6K. Aunque debe considerarse que estos últimos funcionales aumentarán significativamente el tiempo de cálculo y producirán distancias demasiado cortas entre pares de bases consecutivos.

Es claro que de los métodos estudiados ninguno reproduce todas las características estructurales del dúplex de ADN. Los mejores métodos son los de naturaleza mecánico cuántica. Pero aún estos fallan en reproducir las interacciones de apilamiento pues, mientras que los funcionales PW91 y PBE las subestiman, los funcionales M06-2X y PWB6K las sobreestiman.

# Bibliografía

- [1] Berman, H. M.; Olson, W. K.; Beveridge, D. I.; Westbrook, J.; Gelbin, A.; Demeny, T.; Hsieh, S.-H.; Srinivasan, A. R.; Schneider, B.: *The nucleic acid database. A comprehensive relational database of three-dimensional structures of nucleic acids*, Biophysical Journal, Vol. 63, No. 3, pp. 751- 759, 1992.
- [2] Svozil, D.; Kalina, J.; Omelka, M.; Schneider B.: *DNA conformations and their sequence preferences*, Nucleic Acids Research 2008, 36, 3690 - 3706.
- [3] Poltev, V. I.; Anisimov, V. M.; Danilov, V.I.; Deriabina, A.; Gonzalez, E.; Jurkiewicz, A.; Leś, A.; Polteva, N.: *DFT Study of B-like Conformations of Deoxydinucleoside Monophosphates Containing Gua and/or Cyt and their Complexes with Na+ Cation* (p. 563-572), Journal of Biomolecular Structure and Dynamics 2008, 25, 563-572.
- [4] Poltev, V. I.; Anisimov, V. M.; Danilov, V. I.; Deriabina, A.; Gonzalez, E.; Garcia,D.; Rivas, F.; Jurkiewicz, A.; Leś, A.; Polteva, N.: *DFT study of minimal fragments of nucleic acid single chain for explication of sequence dependence of DNA duplex conformation* Journal of Molecular Structure THEOCHEM 2009, 912, 53-59.
- [5] Beveridge, D. L.; Barreiro, G.; Byun, K. S.; Case, D. A.; Cheatham III, T. E.; Dixit, S. B.; Giudice, E.; Lankas, F.; Lavery, R.; Maddocks, J. H.; Osman, R.; Seibert, E.; Sklenar, H.; Stoll, G.; Thayer, K. M.; Varnai, P.; Young. M. A.: *Molecular Dynamics Simulations of the 136 Unique Tetranucleotide Sequences of DNA Oligonucleotides. I. Research Design and Results on d(CpG) Steps* Biophysical Journal 2004, 87, 3799-3813.
- [6] Perez, A.; Luque, F. J.; Orozco, M.: *Dynamics of B-DNA on the Microsecond Time Scale* Journal of the American Chemical Society 2007, 129, 14739 -14745.
- [7] Svozil, D.; Šponer, J. E.; Marchan, I.; Perez, A.; Cheatham III, T. E.; Forti, F.; Luque, F. J.; Orozco, M.; Šponer, J.: *Geometrical and Electronic Structure Variability of the Sugar-phosphate Backbone in Nucleic Acids*, Journal of Physical Chemistry B 2008, 112, 8188-8197.
- [8] Tsuzuki, T.; Luthi, H. P.: *Interaction energies of van der Waals and hydrogen bonded systems calculated using density functional theory: Assessing the PW91 model* Journal of Chemical Physics 2001, 114, 3949-3957.
- [9] van der Wijst, T.; Guerra, C. F.; Swart, M.; Bickelhaupt, F. M.: *Performance of various density functionals for the hydrogen bonds in DNA base pairs*, Chemical Physics Letters 2006, 426, 415-421, No. 4-6.
- [10] Šponer, J.; Jurecka, P.; Hobza, P.: *Accurate Interaction Energies of Hydrogen-Bonded Nucleic Acid Base Pairs*, Journal of the American Chemical Society 2004, 126, 10142-10151.
- [11] Swart, M.; van der Wijst, T.; Guerra, C. F.; Bickelhaupt, F. M.:  *$\pi$ - $\pi$  stacking tackled with density functional theory* Journal of Molecular Model 2007, 13, 1245-1257.

- [12] Sun, G.; Voigt, J. H.; Filippov, I. V.; Marquez, V. E.; Nicklaus, M. C.: *PROSIT: pseudo-rotational online service and interactive tool, applied to a conformational survey of nucleosides and nucleotides*, J Chem Inf Model 2004, 44, No.5, 1752-1762
- [13] V. I. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, D. Garcia, A. Deriabina, E. Gonzalez, R. Salazar, F. Rivas, N. Polteva: *DFT Study of DNA Sequence Dependence at the Level of Dinucleoside Monophosphates*, Computational and Theoretical Chemistry, 2011, Volume 975, Issue 1-3, Pages 69-75.
- [14] R.E. Dickerson, in: R.H. Sarma, M.H. Sarma (Eds.), *Structure, Motion, Interaction and Expression of Biological Macromolecules, vol. 1, Adenine Press, Albany, NY, 1998, pp. 17-36.*
- [15] David A. Case, Thomas E. Cheatham III, Tom Darden, Holger Gohlke, Ray Luo, Kenneth M. Merz Jr., Alexey Onufriev, Carlos Simmerlings, Bing Wang, and Robert J. Woods: *The Amber Biomolecular Simulation Programs*, J. Comput. Chem. 2005 December, 26(16): 1668-1688.
- [16] Kohn, Walter, Sham, Lu Jeu (1965) *Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. Physical Review* 140 (4A): A1133-A1138
- [17] Igos Novak *Ab Initio vs Molecular Mechanics Thermochemistry: Homocubanes. J. Chem. Inf. Comput. Sci., 2004, 44 (3), pp 903-906*
- [18] Cramer, Christopher J. (2002). *Essentials of Computational Chemistry. Chicgeste: Jhon Wiley and Sons, Ltd. pp. 154-168*
- [19] Cornell Wendy D., Cieplak Piotr, Bayly Christopher I., Gould Ian R., Merz Kenneth M., Ferguson David M., Spellmeyer David C., Fox Thomas, Caldwell James W., Kollman Peter A. (1995) *A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. J. Am. Chem Soc.*1995, 117, pp. 5179-5197
- [20] Jakalian Araz, Jack David B., Bayly Christopher I. (2002). *Fast, efficient generation of high-quality atomic charges. AM1-BCC model: II. Parameterization and validation. J. Computational Chemistry: Wiley, Volume 23, Issue 16, pp. 1623-1641.*
- [21] Altona C. y Sundaralingam M. (1972). *Conformational Analysis of the Sugar Ring in Nucleosides and Nucleotides. A New Description Using the Concept of Pseudotation.*
- [22] Dickerson R.E., Bansal M., Calladine Cr.R., Diekmann S., Hunter W.N., Kennard O., von Kitzing E., Lavery R., Nelson H.C.M., Olson W.K. et al. (1989). *Definitions and nomenclature of nucleic acid structure parameters*
- [23] Lu X-J, Olson WK. (2003). *3DNA: a software package for the analysis, rebuilding, and visualization of three-dimensional nucleic acid structures. Nucleic Acids Res. 2003;31:pp.5108-5121.*
- [24] Perdew John P. y Wang Yue (1992). *Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. Physical Review B, Volume 45, Number 23. p. 13244.*
- [25] Perdew John P., Burke Kieron y Wang Wang (1996). *Generalized gradient approximation for the exchange-correlation hole of a many-electron system. Physical Review B, Volume 54, Number 23, p. 53*
- [26] Zhao Yan y Truhlar Donald G (2005). *Design of Density Functionals That Are Broadly Accurate for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Nonbonded Interaction. J. Phys. Chem. A, 109, pp. 5656-5667*

- [27] Zhao Yan, Schultz N.E. y Truhlar D.G. (2006). *The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. Journal of Chemical Theory and Computation*
- [28] Zubatiuk T.A., Shishkin O.V., Gorb L., Hoyorun D.M., Leszczynski J. (2013) *B-DNA characteristics are preserved in double stranded d(A)3-d(T)3 and d(G)3-d(C)3 mini-helices: conclusions from DFT/M06-2X study. J Phys Chem 2013 Nov 7;15(41):18155-66*
- [29] Zhao Y. y Truhlar Donald G. *How Well Can New-Generation Density Functional Methods Describe Stacking Interactions in Biological Systems?*
- [30] Poltev V.I., Anisimov V.M., Danilov V.I., García D., Deriabina A., González E., Salazar R., Rivas F. y Polteva N. (2011) *DFT study of DNA sequence dependence at the level of dinucleoside monophosphates. Comp. and Theo. Chemistry 975 pp. 69-75*