



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO-MATEMÁTICAS

POSGRADO EN CIENCIAS
(FÍSICA APLICADA)

ESTUDIO COMPUTACIONAL DE FRAGMENTOS SIMPLES DE ADN CON CITOSINAS MODIFICADAS EN POSICIÓN 5

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS
(FÍSICA APLICADA)**

Presenta:

ALEJANDRO ACEVEDO VÁZQUEZ

Directores de tesis:

**DR. VALERI POLTEV
DRA. VERÓNICA DOMÍNGUEZ BENÍTEZ**

PUEBLA, PUEBLA.
AGOSTO. 2025



BUAP

**MTR. ALFREDO AVENDAÑO ARENAZA,
DIRECTOR GENERAL DE BIBLIOTECAS,
BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
P R E S E N T E.**

A través de este conducto me dirijo a usted para informarle que la tesis con Título: **Estudio Computacional de Fragmentos Simples de ADN con Citosinas Modificadas en Posición 5**. Ha sido avalada bajo los preceptos de integridad académica; por tanto, se autoriza la impresión de tesis del alumno:

NOMBRE DEL ALUMNO:	ACEVEDO VAZQUEZ ALEJANDRO
MATRÍCULA:	223470382
FACULTAD	FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS
PROGRAMA EDUCATIVO	MAESTRÍA EN CIENCIAS (FÍSICA APLICADA)
NIVEL:	POSGRADO

Sin otro particular y agradeciendo de antemano su atención al presente, me despido de usted.

ATENTAMENTE
"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"
H. Puebla de Z., a 27 de junio de 2025



DR. SEVERINO MUÑOZ AGUIRRE
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y
ESTUDIOS DE POSGRADO

Ccp.Archivo
DR. SMA / mesa*

Polter

DR. POLTEV VALERI
DIRECTOR DE TESIS

Facultad
de Ciencias
Físico Matemáticas

Av. San Claudio y 18 sur, edif. FM1
Ciudad Universitaria, Col. San
Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
(222) 229 55 00 Ext. 7550 y 7552

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México perteneciente a la red de laboratorios nacionales CONAHCYT, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica. Se agradece a CONAHCYT por los recursos a través del proyecto “Ciencia de Frontera” CF-2023-G-1051.

Resumen

La 5-metilcitosina (5mC) es una modificación muy importante en el ADN, ya que funciona como marca epigenética durante la transcripción de proteínas. Sin embargo, durante el proceso de desmetilación de ésta surgen otras modificaciones intermedias que pueden tener distintas consecuencias y funciones en el genoma. En este trabajo se emplearon métodos de optimización de la geometría molecular, basados en la mecánica molecular y mecánica cuántica, con el objetivo de estudiar las contribuciones de tales modificaciones en la posición 5 de la base nitrogenada citosina a la conformación de distintas subunidades del ADN. Las modificaciones intermedias que participan en el proceso de desmetilación de 5mC incluyen la 5-hidroximetilcitosina (5hmC), 5-formilcitosina (5fC) y 5-carboxilcitosina (5caC). Para ello, se analizaron las características estructurales presentes en tales bases modificadas aisladas, las interacciones presentes en los pares de bases que forman con la base canónica guanina y las posibles conformaciones que pueden adoptar los nucleósidos de tales bases modificadas, además de fragmentos mínimos de la cadena única del ADN. De los cálculos realizados con bases aisladas, empleando métodos DFT y MP2, se encontró la existencia de diversos isómeros estables de estas modificaciones, siendo el isómero más favorable, en cada modificación estudiada, aquél que presentó un enlace por puente de hidrógeno entre el grupo funcional modificado en posición 5 y el grupo amino ya presente en la base canónica citosina. Así mismo, no se observaron cambios significativos estructurales al analizar los pares de bases y los nucleósidos cuando cambiamos la citosina canónica por una modificación en posición 5.

Índice general

Resumen	III
1. Objetivos	1
2. Introducción	2
3. Estructura del ADN	4
3.1. Estructura del ADN	4
3.1.1. Bases Nitrogenadas	4
3.1.2. Desoxirribosa	5
3.1.3. Grupo Fosfato y Nucleótidos	7
3.1.4. Doble Hélice, Pares de Bases y Formas del ADN	9
3.1.5. Desoxidinucléosidos Monofosfatos y Clases Conformacionales	10
3.2. Ciclo de Metilación y Desmetilación de Citosina	12
3.2.1. Metilación de Citosina	12
3.2.2. Desmetilación de 5mC	12
4. Metodología	15
4.1. Mecánica Molecular	15
4.1.1. Términos que se consideran en la ecuación de la energía potencial. . .	16
4.1.1.1. Energía de enlace	16
4.1.1.2. Energía de los ángulos de valencia	16
4.1.1.3. Energía de los ángulos de torsión	17

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	V
4.1.1.4. Energía electrostática	17
4.1.1.5. Energía de Van der Waals	17
4.1.1.6. Términos 1-4	18
4.1.2. Campos de Fuerzas	18
4.1.2.1. Campo de Fuerzas AMBER	19
4.1.2.2. Campo de Fuerzas POLTEV	19
4.2. Mecánica Cuántica	19
4.2.1. Método de perturbación de Moller-Plesset	20
4.2.2. Teoría del Funcional de la Densidad	21
4.2.2.1. Teoremas de Hohenberg y Kohn	21
4.2.2.2. Ecuaciones de Kohn y Sham	22
4.2.2.3. Funcionales	22
4.2.2.4. Funcional PW91	23
4.2.2.5. Funcional PBE	23
4.2.2.6. Funcional M05-2X	24
4.2.3. Funciones base	25
4.2.3.1. Bases de Pople	26
4.2.3.2. Polarización	26
4.3. Modelos de solvente implícito	26
4.3.1. Modelo de Born Generalizado (GB)	26
4.3.2. Modelo del continuo polarizable (PCM)	27
Método computacional	28
5. Antecedentes	31
6. Resultados y Análisis	33
6.1. Potencial POLTEV en AMBER	33
6.2. 5-metilcitosina	38

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	VI
6.3. 5-hidroximetilcitosina	44
6.4. 5-formilcitosina	65
6.5. 5-carboxilcitosina	74
6.6. Comparación de las Modificaciones con Citosina Canónica	94
6.7. Desoxidinucléosidos Monofosfatos de 5-hidroximetilcitosina	105
7. Conclusiones	116

OBJETIVOS

Objetivo General

Estudiar las características estructurales e interacciones presentes en bases aisladas, pares de bases y nucleósidos de citosinas modificadas en la posición 5, así como fragmentos mínimos de ADN con estas, empleando métodos de mecánica molecular y mecánica cuántica.

Objetivos Particulares

- Búsqueda y preparación de estructuras de diversos fragmentos de subunidades del ADN que contengan las modificaciones a estudiar, obtenidas del banco de datos de los ácidos nucleicos (NAKB) y el banco de datos de proteínas (PDB).
- Optimización geométrica de bases nitrogenadas aisladas, resultado de modificaciones a citosinas en la posición 5, optimización de sus pares de bases, desoxinucleósidos y fragmentos mínimos de cadena única de ADN, empleando los campos de fuerzas AMBER y POLTEV, y los métodos de mecánica cuántica MP2 y DFT.
- Comparación de las características conformacionales e interacciones de los mínimos locales obtenidos mediante los métodos de MM y MC para los diversos sistemas moleculares estudiados con las citosinas modificadas en posición 5 y los de citosinas normales.

INTRODUCCIÓN

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la biomolécula más importante para la vida, ya que en ella se almacena la información genética que se transmite para crear nuevos seres vivos, así como la información necesaria en la síntesis de proteínas para el correcto funcionamiento celular.

La información contenida en el ADN es copiada en cadenas de ARN en un proceso llamado transcripción. Esta cadena de ARN, llamado ARN mensajero, contiene la información de la secuencia de aminoácidos que conformará eventualmente a las proteínas. Al proceso de síntesis de proteínas se le llama traducción. Estos procesos, junto con la duplicación del ADN que sucede en el núcleo de la célula durante la división celular, están descritos en el *dogma central de la biología molecular*, el cual nos dice que la información genética fluye en una dirección (Figura 2.1).

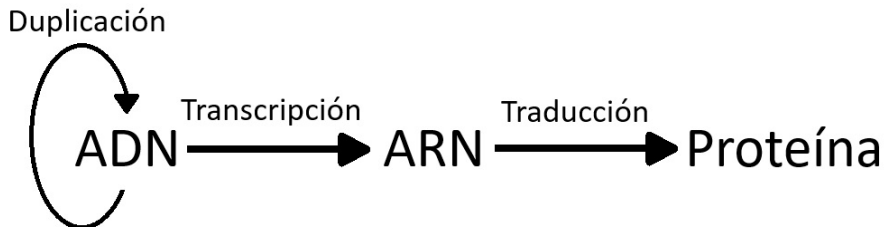


Figura 2.1: Dogma central de la biología molecular.

Sin embargo, durante los distintos procesos celulares, no todas las células sintetizan las mismas proteínas, por lo cual, en el ADN existen marcas, llamadas marcas epigenéticas, que controlan qué genes se sintetizan y cuándo se sintetizan. Una de estas marcas más importantes es la modificación en posición 5 de la citosina, 5-metilcitosina (5mC), modificación que surge al agregar un grupo metilo (-CH₃) en dicha posición.

Esta metilación no está presente en todo momento en el ADN, ya que su función es específica para ciertos procesos celulares, por lo cual debe ser eliminada cuando ya no es requerida. El mecanismo para remover la 5mC no se realiza de forma directa, sino que se siguen varios pasos para regresar a la citosina canónica. Estos pasos incluyen más modificaciones realizadas en citosina en su posición 5, comenzando por la 5-hidroximetilcitosina (5hmC) que surge como una oxidación de 5mC, siguiendo con 5-formilcitosina (5fC), oxidación a su vez de 5hmC, y terminando con 5-carboxilcitosina (5caC), oxidación de 5fC. Estas oxidaciones sucesivas son mediadas por la familia de enzimas TET. Tanto la 5fC como la 5caC pueden ser removidas del ADN y, mediante reparación del ADN, regresar a la base canónica citosina. A todo este proceso, que incluye la metilación de citosina, oxidación de 5mC, 5hmC y 5fC y remoción de 5fC o 5caC para obtener la citosina canónica se le llama ciclo de metilación y desmetilación de citosina [1]. En la Figura 2.2 observamos una representación esquemática de este ciclo.

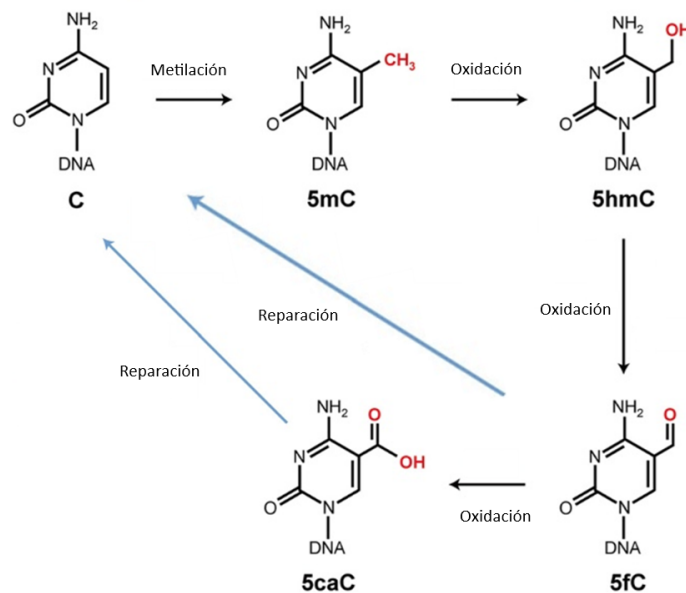


Figura 2.2: Ciclo de metilación y desmetilación de la citosina. Imagen extraída modificada de [2].

Conocer la estructura tridimensional del ADN es fundamental para comprender mejor las posibles interacciones del ADN con proteínas u otras biomoléculas. Es por ello, que en el presente trabajo se estudian las características estructurales de diferentes subunidades de ADN que contienen modificaciones de citosina en la posición 5, específicamente 5mC, 5hmC 5fC y 5caC y así comprender la influencia de dichas modificaciones en la estructura y estabilidad del ADN.

ESTRUCTURA DEL ADN

En este capítulo revisamos la estructura del ADN, comenzando por las 4 bases nitrogenadas, seguido por la desoxirribosa y su empaquetamiento, dando lugar a los primeros parámetros estructurales de la cadena de ADN, después veremos el grupo fosfato, con el cual podemos formar los nucleótidos, y finalmente veremos los fragmentos mínimos de una cadena de ADN, los desoxidinucléosidos monofosfatos, así como los ángulos de torsión presentes en el esqueleto azúcar-fosfato de estos últimos y el apilamiento de las bases, para dar lugar a los siguientes parámetros estructurales.

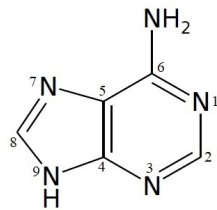
Para terminar, veremos el proceso de metilación y desmetilación de la base nitrogenada citosina, en posición 5 de su anillo aromático, en el cual, como ya se mencionó en el Capítulo 2, intervienen distintas modificaciones de citosina.

3.1. Estructura del ADN

3.1.1. Bases Nitrogenadas

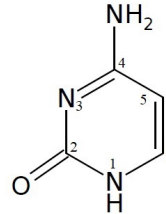
El código genético presente en el ADN está escrito gracias a la secuencia de 4 bases nitrogenadas: adenina (A), guanina (G), timina (T) y citosina (C). Estas se clasifican en dos grupos, purinas (G y A) y pirimidinas (T y C). Tanto las purinas (Pur) como las pirimidinas (Pyr) son moléculas en forma de anillo que contienen átomos de carbono y de nitrógeno, las primeras tienen un par de anillos enlazados (un anillo de seis miembros y un anillo de 5), mientras que las segundas tienen un anillo sencillo (de 6 miembros). Todos los átomos dentro de los anillos se numeran, en las pirimidinas del 1 al 6, siendo el átomo 1 donde la base se une a la desoxirribosa, mientras que en las purinas es en el átomo 9 (Figura 3.1).

Purinas

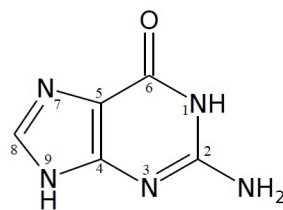


Adenina

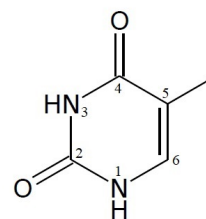
Pirimidinas



Citosina



Guanina



Timina

Figura 3.1: Bases nitrogenadas presentes en el ADN.

Debido a que en estas bases se tienen enlaces dobles deslocalizados, y por ende un número de electrones π , las bases nitrogenadas son aromáticas, lo cual hace que todos los átomos de los anillos se encuentren en el mismo plano.

3.1.2. Desoxirribosa

La desoxirribosa es un azúcar en forma de anillo, formado por 4 átomos de carbono y uno de oxígeno. Se numeran los carbonos del azúcar y se priman para diferenciarlos de la numeración de las bases (Figura 3.2), el oxígeno del anillo se numera como O4'. Existe un quinto carbono (C5') fuera del anillo, unido al carbono 4' y el cual se encuentra enlazado un grupo -OH(O5').

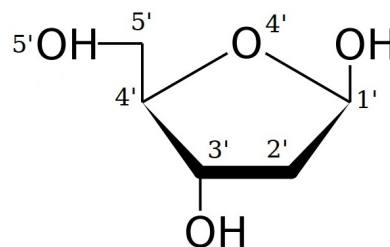


Figura 3.2: Estructura de la desoxirribosa, azúcar presente en el ADN.

A diferencia de las bases nitrogenadas, en las cuales los anillos permanecen en el mismo plano debido a su aromaticidad, los anillos que forman la desoxirribosa, al tener enlaces sencillos, pueden tener varias conformaciones, dependiendo del arreglo de los átomos que forman dicho anillo. Por lo general, se pueden “acomodar” en un mismo plano a los átomos C1', O4' y C4', siendo los carbonos 2' y 3' los que quedan fuera del plano. Dependiendo del átomo que sobresalga más del plano es cómo llamaremos a la conformación. Si el átomo Xn' sobresale en dirección a C5' se denotará a la conformación como Xn'-endo, mientras que, si es en dirección contraria, se le denotará como Xn'-exo.

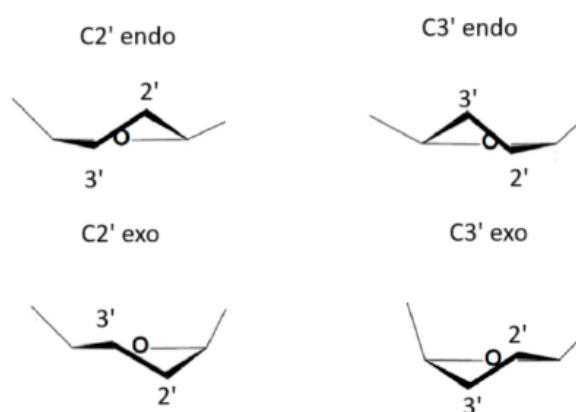


Figura 3.3: Empaquetamiento de la desoxirribosa

Este empaquetamiento lo podemos describir de forma cuantitativa con la pseudorrotación (P) y la máxima amplitud de empaquetamiento (ν_{max}). Dentro del anillo de la desoxirribosa, podemos definir 5 ángulos de torsión ($\nu_j, j = 0, 4$), como podemos ver en la Figura 3.4.a, con los cuales podemos obtener P y por ende ν_{max} :

$$\tan P = \frac{\nu_4 + \nu_2 - \nu_3 - \nu_1}{2\nu_0(\sin 36 + \sin 72)} \quad (3.1)$$

y

$$\nu_{max} = \frac{\nu_0}{\cos P} \quad (3.2)$$

De esta forma, dependiendo del valor de la pseudorrotación, se tiene el empaquetamiento del azúcar. La relación entre P y el empaquetamiento se puede observar en la gráfica presente en la Figura 3.4.b

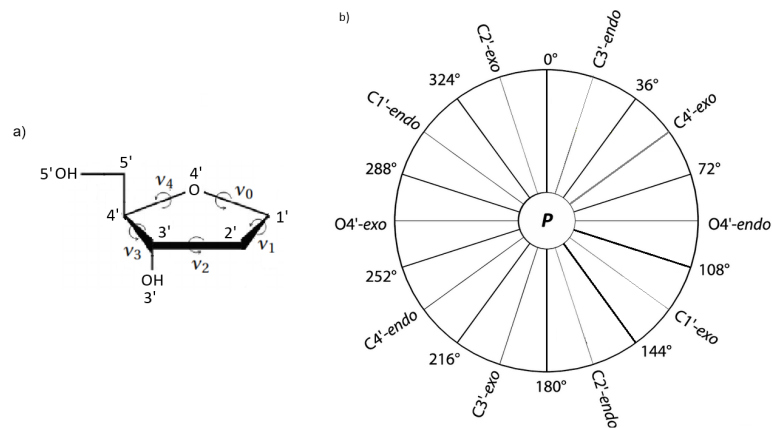


Figura 3.4: Forma cuantitativa del empaquetamiento del azúcar. a) Ángulos de torsión en el anillo de la desoxirribosa. b) Círculo de pseudorrotación.

En la estructura del ADN, la desoxirribosa se une mediante un enlace glucosídico a una de las nucleobases, dicho enlace sucede entre el carbono C1' y un nitrógeno de una base nitrogenada (N1 en el caso de pirimidina y N9 en el caso de purinas). A esta unión de azúcar con base nitrogenada se llama nucleósido.

En este enlace podemos definir el ángulo glucosídico (χ), el cual es el ángulo de torsión que hay entre el azúcar y la base nitrogenada. Dependiendo si es una purina o una pirimidina, serán los átomos que se usan para determinar el ángulo glucosídico: en el caso de las purinas, χ es el ángulo de torsión entre los átomos O4'-C1'-N9-C4, mientras que en las pirimidinas los átomos serán O4'-C1'-N1-C2. Existen dos orientaciones principales: la orientación anti, en la cual la base se encuentra alejada del anillo del azúcar ($-120^\circ > \chi > 180^\circ$) y la orientación syn, en la cual la base nitrogenada se encuentra sobre el anillo del azúcar ($0 < \chi < 90^\circ$), como podemos ver en la Figura 3.5. La orientación anti es la predominante en la forma B del ADN.

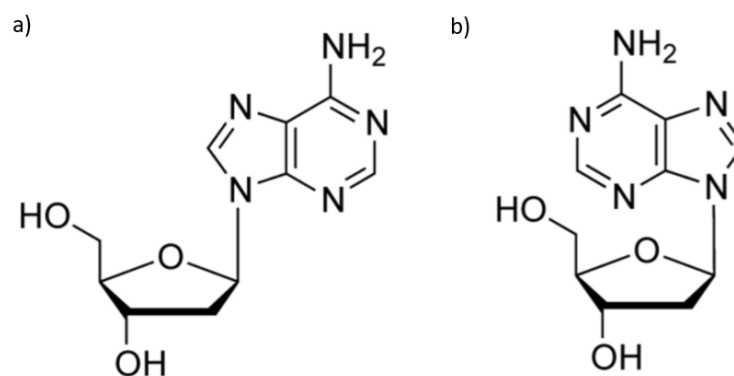


Figura 3.5: Orientaciones del ángulo glucosídico para el caso del nucleósido con la base nitrogenada adenina. a) Conformación anti. b) Conformación syn.

3.1.3. Grupo Fosfato y Nucleótidos

El grupo fosfato consiste en un ion fosfato (HPO_4^{2-}) en forma tetraédrica, con el átomo P en el centro. Los nucleótidos, formados por un nucleósido y un grupo fosfato, son ésteres

de fosfato de nucleósidos. Para formar los nucleótidos, se une el carbono 5' del azúcar mediante un enlace éster con el ion fosfato (Figura 3.6).

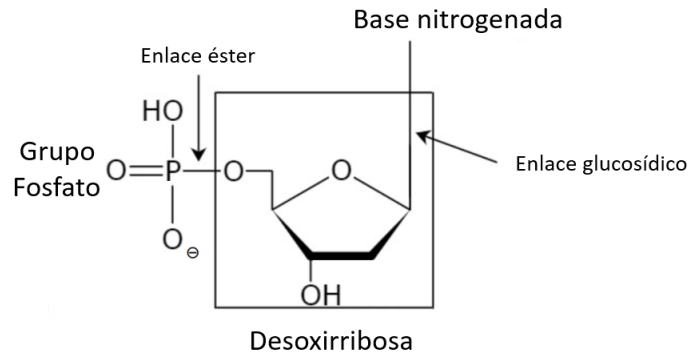


Figura 3.6: Estructura general de un nucleótido.

Para formar las cadenas de nucleótidos, y así el ADN, estos se enlazan entre sí a través del carbono 3' de la desoxirribosa del primer nucleótido y el oxígeno del grupo fosfato del siguiente nucleótido, mediante enlaces éster (Figura 3.7.a). Debido a que una cadena comienza en el oxígeno 5' enlazado al carbono 5' de la desoxirribosa del primer nucleótido, y termina en el oxígeno 3' unido al carbono 3' de la desoxirribosa del último nucleótido, se tiene una dirección en la cadena, denotada como 5'→3' (Figura 3.7). Esta cadena de nucleótidos conforma la estructura primaria del ADN.

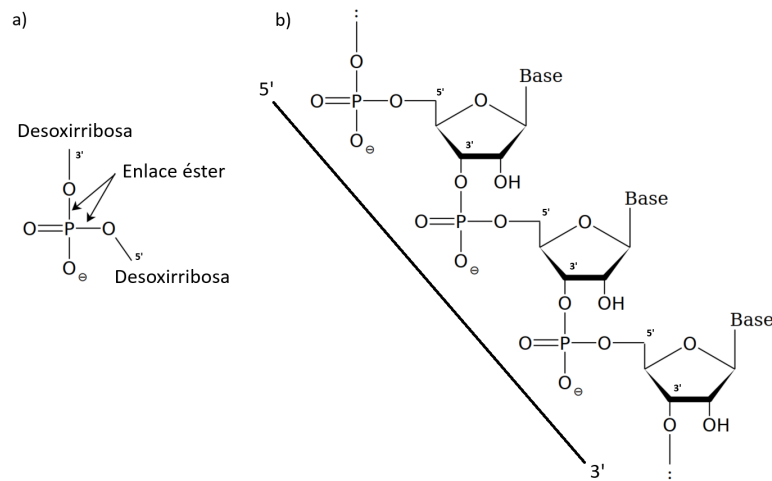


Figura 3.7: Estructura primaria del ADN. a) Grupo fosfato donde se muestran los enlaces éster con las desoxirribosas en C5' y C3'. b) Enlace entre 3 nucleótidos. Se muestra la direccionalidad de la cadena 5'→3'.

En la Figura 3.7 también se puede observar una estructura importante en el estudio del ADN que es el esqueleto azúcar-fosfato (SPB por sus siglas en inglés: *Sugar Phosphate Backbone*), el cual consiste de la cadena de azúcares y grupos fosfatos de forma alternada, sin incluir a las bases nitrogenadas.

3.1.4. Doble Hélice, Pares de Bases y Formas del ADN

La estructura secundaria del ADN corresponde a una doble hélice formada por dos cadenas complementarias antiparalelas de nucleótidos, es decir, una de las cadenas va en dirección 5'→3', mientras que la segunda cadena va en dirección 3'→5'. Esta doble hélice se enrolla a la derecha, formando varios surcos, algunos de mayor amplitud (surcos mayores) y otros de menor tamaño (surcos menores).

La parte externa de la doble hélice corresponde a los SPB de cada cadena, mientras que en la parte interior de la doble hélice se encuentran las bases nitrogenadas (Figura 3.8.b). En cada cadena las bases nitrogenadas se encuentran apiladas de tal forma que mantienen unidas ambas cadenas mediante enlaces por puente de hidrógeno entre pares de bases complementarios, es decir, A siempre forma pares de bases con T mediante 2 enlaces por puente de hidrógeno y G forma pares de bases con C mediante 3 enlaces por puente de hidrógeno (Figura 3.8.a).

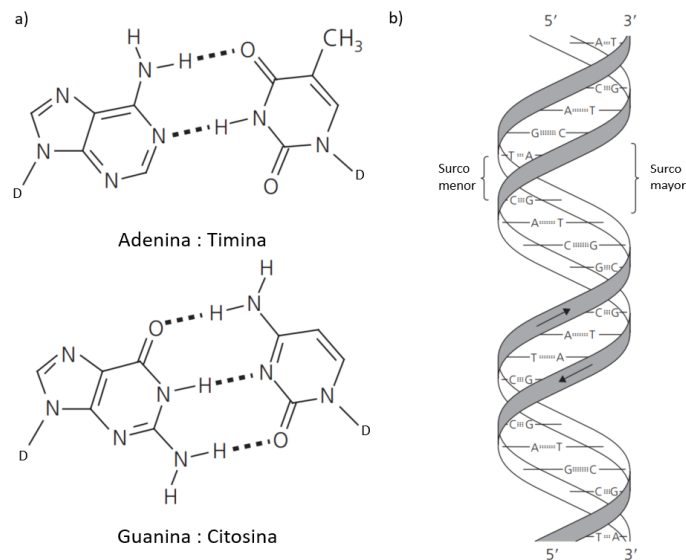


Figura 3.8: Estructura secundaria del ADN. a) Pares de bases complementarias: A-T, G-C. b) Doble hélice del ADN, se observan los surcos mayores y menores. Imagen extraída y modificada de [3]

Este modelo fue propuesto por Watson y Crick en 1953 [4], basado en los experimentos por difracción de rayos-X realizados por Rosalind Franklin [5]. En este modelo del ADN hay 10 pares de bases aproximadamente por cada vuelta de la hélice, con una elevación de la hélice de 34Å y un diámetro de 20Å. Esta forma es conocida como forma B del ADN y es la forma más encontrada en las células (Figura 3.9.a).

Existen otras dos variantes que se han podido encontrar más comúnmente en el estudio de la estructura del ADN, que son las formas A y Z. La forma A también se encontró en estudios de rayos-X, pero en casos de baja humedad. Está caracterizado por ser más amplio, con un diámetro de 26Å, 11 pares de bases por vuelta y sus surcos mayores son más angostos que en la forma B. Una distinción importante entre las formas A y B es el empaquetamiento del azúcar, en la forma B usualmente es C2'-endo, mientras que en la forma A es C3'-endo (Figura 3.9.b).

Finalmente, la forma Z se enrolla hacia la izquierda, a diferencia de las dos anteriores que giran a la derecha. Esta forma se obtiene en condiciones de alta salinidad, además de secuencias pur-pyr-pur-pyr como CGCG, donde las purinas se encuentran en conformación syn y las pirimidinas en conformación anti. Otra diferencia es el número de bases por vuelta, en la cual hay 12, y el diámetro es más pequeño, de 18Å (Figura 3.9.c).

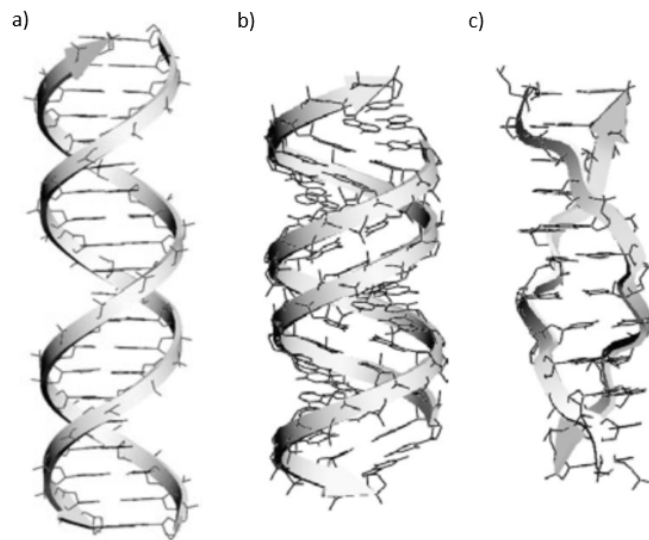


Figura 3.9: Formas del ADN. a) Forma B. b) Forma A. c) Forma Z. Imagen extraída y modificada de [3]

Estas tres formas son conocidas como grandes familias conformacionales del ADN. Dentro de cada familia se pueden tener ligeras variaciones en su estructura, lo que da lugar a subdivisiones para cada una de las familias, teniéndose así para las subdivisiones: AI y AII para la familia A, BI y BII para la familia B y ZI y ZII para la familia Z.

3.1.5. Desoxidinucléosidos Monofosfatos y Clases Conformacionales

Para estudiar las diferentes familias estructurales del ADN, debemos considerar fragmentos mínimos de una cadena de ADN: los desoxidinucléosidos monofosfatos (dDMP). Estos consisten en dos desoxinucléosidos unidos por un grupo fosfato. Para estudiar las características estructurales presentes en el SPB, se consideran 7 ángulos de torsión ($\delta_1, \epsilon, \zeta, \alpha, \beta, \gamma, \delta_2$) los cuales podemos ver en la Figura 3.10. Al conjunto de regiones de estos diferentes ángulos de torsión en el SPB, así como de los ángulos glucosídicos (χ_1 y χ_2) se le ha denominado clase conformacional [6].

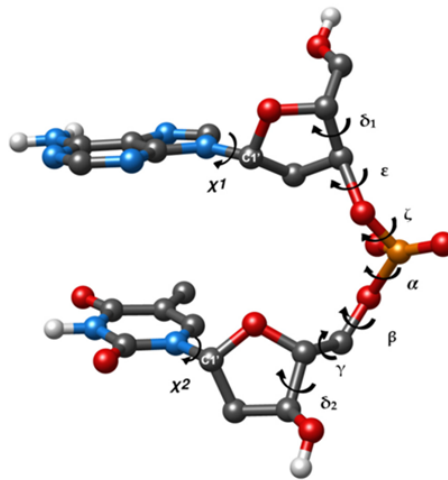


Figura 3.10: Desoxidinucleósidos monofosfato (dDMP). Se muestra la designación de los ángulos de torsión sobre el SPB y los ángulos glucosídicos. Imagen extraída de [7]

Como se mencionó anteriormente, la familia A del ADN tiene dos subdivisiones, AI y AII. La forma AI es la que predomina en la hélice de la familia A, donde el cambio más significativo con la forma AII se da en los ángulos α y γ . En la forma AI estos valores son cercanos a 294° y 55° respectivamente, mientras que en la forma AII, $\alpha \sim 149^\circ$ y $\gamma \sim 182^\circ$ [8].

Así mismo, la familia B se divide en las formas BI y BII, donde los cambios en los ángulos de torsión entre ambas formas se dan en los valores de ϵ y ζ , con valores aproximados de 184° y 262° en la forma BI respectivamente, mientras que en la forma BII estos valores son 245° y 172° respectivamente [8]. La forma BI es la forma más frecuente que se encuentra en el ADN.

Hasta el momento se han mostrado diversos parámetros conformacionales con los que se puede estudiar la estructura tridimensional del ADN y sus diversas familias, tales como el empaquetamiento del azúcar, el ángulo glucosídico o los ángulos de torsión sobre el SPB. Otros de los parámetros importantes para el estudio de la estructura del ADN son los relacionados con la posición mutua de las bases y pares de bases apilados en los dDMPs y en los fragmentos mínimos de cadenas complementarias (dDMPs complementarios).

El *stacking* es el área de traslape entre las bases apiladas de una misma cadena. *Helical Rise (h-rise)* es la longitud que separa a los pares de bases apilados. *Helical Twist (h-twist)* es el ángulo que se forma alrededor del eje helicoidal. *Tilt* y *Roll* son los ángulos entre pares de bases complementarios (Figura 3.11). A pesar de que estos parámetros están definidos para pares de bases, se pueden aplicar a bases apiladas en un mismo dDMP. Existen otros parámetros asociados a la doble hélice, pero en este trabajo solo usaremos los antes mencionados.

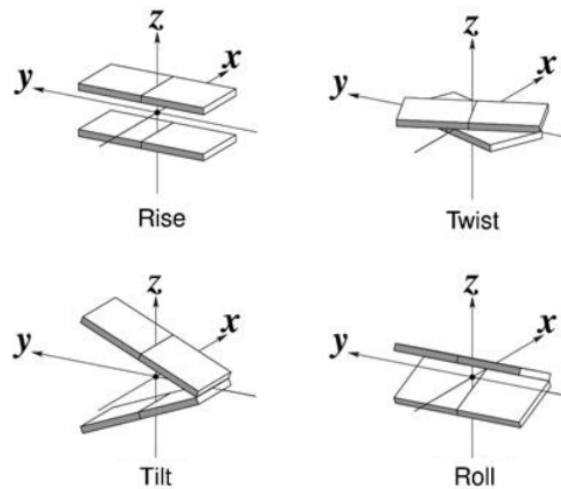


Figura 3.11: Parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de los pares de bases apilados. Imagen extraída y modificada de [9]

3.2. Ciclo de Metilación y Desmetilación de Citosina

3.2.1. Metilación de Citosina

Aunque las 4 bases nitrogenadas antes mencionadas son las principales como alfabeto del código genético, existen varias modificaciones a ellas que surgen debido a diferentes factores, ya sea por envejecimiento, exposición a radiación, tales como rayos UV o rayos gamma, o por el metabolismo celular, entre otros. Una de las modificaciones más importantes que se encuentran en el ADN es la metilación de la citosina en posición 5, 5-metilcitosina (5mC), la cual se puede observar en la Figura 3.12.b. Ésta actúa como señal en varios procesos biológicos, el más importante quizá, sea la transcripción del ADN para la producción de proteínas.

Esta modificación es considerada como la quinta base del código genético [10] debido a que representa el 4% del total de las citosinas canónicas totales [10], y ocurre por la intervención de una enzima llamada ADN (citosina-5-)-metiltransferasa (Dnmt) [11], siendo su incidencia mayormente en secuencias CG. La modificación se da en el carbono 5 de la citosina canónica, en donde se cambia un H por un grupo metil ($-CH_3$) (Figura 3.12.b).

3.2.2. Desmetilación de 5mC

La remoción de 5mC no es tan simple y se debe de realizar en varios pasos. El proceso para remover el grupo metil requiere de enzimas específicas que convierten a la 5mC en otros residuos, producto de oxidaciones, algunos de los cuales pueden ser retirados y cambiados por una citosina canónica.

A estos procesos, que incluyen la metilación de la citosina, las subsecuentes oxidaciones y la eliminación de los productos de oxidación de 5mC para obtener una citosina canónica se le conoce como *ciclo de metilación y desmetilación de citosina*. En la Figura 3.12 se observa una representación esquemática de este ciclo, el cual se explicará más adelante. Estos productos de oxidación de 5mC son otras modificaciones en posición 5 de citosina, las cuales son: 5-hidroximetilcitosina (5hmC), 5-formilcitosina (5fC) y 5-carboxilcitosina (5caC).

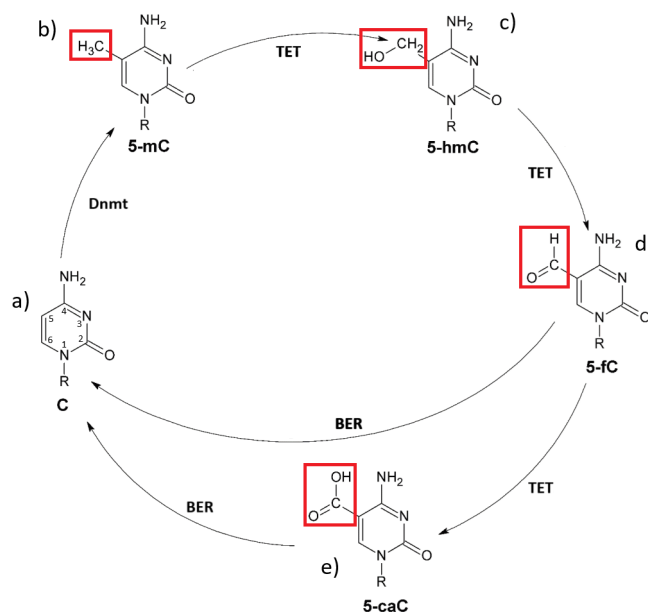


Figura 3.12: Ciclo de metilación y desmetilación de citosina. En rojo se muestran los grupos funcionales que cambian en la citosina canónica (a) La metilación ocurre por la enzima Dnmt para obtener 5mC (b). Las enzimas TET oxidan 5mC para obtener 5hmC (c), que a su vez las enzimas TET oxidan para obtener 5fC (d) y finalmente ocurre otra oxidación para obtener 5caC (e). Tanto 5fC como 5caC pueden ser removidas con la reparación por escisión de bases (BER). Imagen extraída y modificada de [1].

La 5hmC, considerada como la sexta base del código genético debido a su abundancia [12], es la primera modificación presente en el proceso de desmetilación de la 5mC [1]. Ésta ocurre debido a una oxidación de la 5mC mediada por una proteína perteneciente a la familia de proteínas ten-eleven translocation (TET) dioxygenasas [13]. Se ha encontrado que esta modificación representa alrededor del 1% del total de citosinas canónicas presentes en células humanas del tejido de la corteza cerebral [14]. En ésta, el grupo metil ($-CH_3$) es cambiado por un grupo hidroximetil ($-CH_2OH$), como se observa en la Figura 3.12.c.

La 5fC, considerada la séptima base del código genético [15], ocurre debido a una oxidación de 5hmC, mediada también por una enzima de la familia TET [16] que cambia el grupo hidroximetil ($-CH_2OH$) por un grupo formil ($-CHO$), como se puede observar en la Figura 3.12.d. En células madre de ratones se ha encontrado que los niveles de esta modificación son de alrededor de 20 modificaciones de 5fC en cada 10^6 C [17].

Finalmente, tenemos la 5caC la cual es obtenida por una oxidación de 5fC, y al igual que las dos modificaciones anteriores, es mediada por una enzima de la familia TET [16] al cambiar el grupo formil ($-CHO$) por un grupo carboxil ($-COOH$), como se observa en la Figura 3.12. Igualmente, se ha encontrado en células madre de ratones que, 3 de cada 10^6 C son 5caC [17].

Tanto 5fC como 5caC pueden ser removidas por una molécula llamada timina ADN glicosilasa (TDC) [18] en un proceso de reparación celular llamado reparación por escisión de bases (BER por sus siglas en inglés: *Base Excision Repair*).

Además de estar presentes en el ADN como parte del proceso de metilación y desmetilación de la citosina, también se pueden dar como errores debido a la oxidación de 5mC provocada por agentes externos, tales como radiación UV [19, 20] o rayos gamma [21].

METODOLOGÍA

En este capítulo se describen los métodos que se han empleado en este trabajo para realizar los cálculos de optimización geométrica. Por un lado, se emplean métodos de mecánica molecular, aproximación basada en mecánica clásica; así mismo, se usan métodos de mecánica cuántica, en particular el método de dispersión de segundo orden de Moller-Plesset (MP2) y la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT por sus siglas en inglés: *Density Functional Theory*).

4.1. Mecánica Molecular

Este método es una aproximación que está basada en mecánica clásica. En ésta, cada átomo es considerado como una esfera, a la cual se les asigna un radio (radio de Van der Waals) y una carga. La dinámica de la molécula es tratada con la segunda ley de Newton, en la cual calculamos la energía potencial dada una geometría molecular. Al emplear esta metodología se quiere encontrar las geometrías estables de la molécula, con lo cual el problema se reduce a un problema de minimización de la energía potencial.

De esta forma, la energía potencial se puede escribir como una suma de varios términos, cada uno de los cuales describe la energía para modificar a la molécula en distintas formas, donde 3 de ellos corresponden a energía de interacciones enlazantes, y los demás corresponden a energía de interacciones no-enlazantes:

$$E = \sum_{i,j}^N E_{bond} + \sum_{i,j,k}^N E_{bend} + \sum_{i,j,k,l}^N E_{tor} + \sum_{i,j}^N (E_{vdw} + E_{el}) \quad (4.1)$$

donde E_{bond} es la energía de enlace (*bonding*) entre par de átomos, E_{bend} corresponde a la energía de los ángulos de valencia (*bending*) entre terna de átomos, E_{tor} es la energía para los ángulos de torsión entre 4 átomos y E_{vdw} y E_{el} representan la interacción entre átomos no enlazantes, donde se suelen agregar términos de Van der Waals y de energía electrostática. En la Figura 4.1 se puede ver una representación esquemática de las interacciones usadas en mecánica molecular.

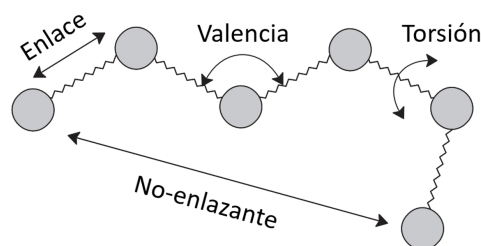


Figura 4.1: Términos de energía usados en mecánica molecular.

4.1.1. Términos que se consideran en la ecuación de la energía potencial.

4.1.1.1. Energía de enlace

Este término representa la energía de enlace entre dos átomos i y j . Para obtener la expresión de este término se considera una expansión de Taylor alrededor de una distancia de equilibrio r^0 :

$$E_{nb} = E(0) + \frac{dE}{dr}(r_{ij} - r_{ij}^0) + \frac{d^2E}{2dr^2}(r_{ij} - r_{ij}^0)^2 + \dots \quad (4.2)$$

El primer término $E(0)$ se suele considerar como 0 ya que es una constante asociada al origen en la escala de la energía potencial. El segundo término es cero ya que estamos alrededor del punto de equilibrio, con lo cual la primera derivada evaluada en el punto de equilibrio es cero, al ser un mínimo. Si solo nos quedamos a segundo orden en la expansión, el término para la energía de enlace quedaría como:

$$E_{nb} = K_r (r_{ij} - r_{ij}^0)^2 \quad (4.3)$$

donde K_r es una constante de fuerza del enlace.

4.1.1.2. Energía de los ángulos de valencia

Este término se usa para describir la energía necesaria para modificar el ángulo de valencia entre tres átomos i, j y k , donde los pares de átomos (i, j) y (j, k) están enlazados de forma covalente. Al igual que con la energía de enlace, con la energía de valencia se considera un desarrollo en serie de Taylor alrededor de un ángulo de equilibrio θ^0 , con lo cual, llegamos a una expresión similar a la energía de enlace:

$$E_{bend} = K_\theta (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (4.4)$$

donde K_θ es una constante de fuerza del ángulo de valencia.

4.1.1.3. Energía de los ángulos de torsión

Si tomamos una secuencia de 4 átomos i, j, k y l , donde los pares de átomos (i,j) , (j,k) y (k,l) están enlazados de forma covalente, se puede definir el ángulo de torsión como el ángulo que forman los planos formados por las tercias de átomos (i,j,k) y (j,k,l) . Otra forma de verlo es cómo el ángulo alrededor del enlace formado por los átomos (i,j) .

Este término describe la energía necesaria para deformar el ángulo de torsión de una secuencia de 4 átomos. Con este término es importante tomar en cuenta la periodicidad en el ángulo, si el enlace rota 360° , la energía debe ser la misma. De esta forma, la energía de torsión se escribe:

$$E_{tor} = K_\phi [\cos(n\phi) + 1] \quad (4.5)$$

donde ϕ es el ángulo que forma alrededor del enlace que forman (i,j) , n es la multiplicidad y K_ϕ es una constante de fuerza del ángulo de torsión.

4.1.1.4. Energía electrostática

Como se mencionó anteriormente, cada átomo se describe como una esfera, en donde se encuentran dentro los protones y electrones, de esta forma, se tiene que la carga neta es cero. Por ello, a cada uno de los átomos se les asigna una carga mediante el uso de distintos métodos, ya sean métodos empíricos para que se adapten a los resultados experimentales, o ya sea por métodos más exactos, como por ejemplo métodos de mecánica cuántica. La expresión para la energía potencial entre dos átomos con cargas Q_i y Q_j separados una distancia r_{ij} , está dada por el potencial de Coulomb:

$$E_{el} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Q_i Q_j}{r_{ij}} \quad (4.6)$$

4.1.1.5. Energía de Van der Waals

Este término describe la repulsión o atracción de dos átomos que no están enlazados. Este término es cero a largas distancias y presenta una interacción muy repulsiva a cortas distancias. Aquí se incluyen: interacciones debido a dipolos permanentes, interacciones por un dipolo permanente y un dipolo inducido debido al movimiento de los electrones en la molécula, o interacciones debidas a dos dipolos inducidos.

La función más usada para este término es el potencial de Lennard-Jones (L-J):

$$E_{vdw} = \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \quad (4.7)$$

que consta de dos partes, una parte repulsiva (la que tiene el término $1/r^{12}$), y una parte atractiva (que corresponde al término $1/r^6$); A_{ij} y B_{ij} son constantes que se puede relacionar con la profundidad del mínimo del potencial ϵ y la distancia de equilibrio r_0 :

$$A_{ij} = \epsilon r_0^{12} \quad (4.8)$$

$$B_{ij} = 2\epsilon r_0^6 \quad (4.9)$$

4.1.1.6. Términos 1-4

Los términos para la energía potencial antes mencionados son los más comunes, sin embargo, más términos pueden ser agregados, como términos cruzados donde, por ejemplo, se pueden combinar fuerzas de enlace con fuerzas de valencia, o pueden ser agregadas potencias a la serie de Taylor, como algunos ejemplos. Uno de los términos utilizados son los términos 1-4.

En estos términos se considera un par de átomos que están separados por 3 enlaces, en los cuales ya se tiene el término de energía de torsión, sin embargo, en algunos casos no se considera que éste sea suficiente para describir todas las fuerzas actuando sobre este par de átomos, por lo cual, agregan términos de energía de interacciones no-enlazantes como los que se han mencionado anteriormente, pero con un factor de escalado que reduce su influencia:

$$E_{el(1-4)} = f \left(\frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Q_i Q_j}{r_{ij}} \right) \quad (4.10)$$

$$E_{vdw(1-4)} = g \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \quad (4.11)$$

donde f y g son los factores de escala, y $f, g < 1$.

4.1.2. Campos de Fuerzas

Un campo de fuerzas comprende la expresión de la energía potencial, así como el conjunto de parámetros de equilibrio involucrados en las expresiones de energía, obtenidos ya sea de forma experimental o con métodos más precisos, así como las constantes de fuerzas antes descritas. Existen varios campos de fuerzas enfocados en distintos sistemas de estudio.

Una consideración muy importante en el método de mecánica molecular es la de diferenciar cada átomo dependiendo del tipo de enlace que forma con otros átomos, así como de los átomos con los que está enlazado. Por ejemplo, en el campo de fuerzas AMBER, se consideran 13 tipos diferentes de carbonos, como ejemplo se denota como *CT* a un carbono sp^3 , *CK* a un carbono en un anillo aromático de 5 miembros o *CQ* es un carbono en un anillo aromático de 6 miembros, entre otros.

4.1.2.1. Campo de Fuerzas AMBER

Este campo de fuerzas, así como el software computacional del mismo nombre con el campo de fuerzas implementado en él [22], fue diseñado para el estudio de ácidos nucleicos y proteínas principalmente. Sus constantes de fuerzas, así como los parámetros de equilibrio fueron ajustados con métodos de mecánica cuántica. Las cargas de los tipos de átomos fueron obtenidas usando el potencial electrostático restringido (RESP por sus siglas en inglés: *Restrained ElectroStatic Potential*). Finalmente, este campo de fuerzas utiliza términos 1-4, siendo el factor de escala para el potencial electrostático de 1/1.2, mientras que el factor de escala de Van der Waals es de 1/2.0 [22].

4.1.2.2. Campo de Fuerzas POLTEV

Este campo de fuerzas fue desarrollado por el Dr. Valeri Poltev [23] para el estudio de bases nitrogenadas presentes en los ácidos nucleicos. Sus parámetros fueron ajustados de tal forma que reproduzcan los resultados experimentales. En particular, para las cargas dependientes de los tipos de átomos y los parámetros de Van der Waals, en los cuales, para los hidrógenos que pueden formar enlace por puente de hidrógeno con O o N se utilizó un potencial 10-12:

$$E_{vdw}^{(10)} = -\frac{A_{ij}^{(10)}}{r_{ij}^{10}} + \frac{B_{ij}^{(10)}}{r_{ij}^{12}} \quad (4.12)$$

mientras que para los demás átomos se utilizó un potencial L-J:

$$E_{vdw} = -\frac{A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}} \quad (4.13)$$

4.2. Mecánica Cuántica

A menos que se especifique lo contrario, en esta sección las unidades consideradas son las atómicas ($\hbar = 1$, $m_e = 1$). Los métodos de mecánica cuántica consisten en resolver la ecuación de Schrödinger. Si se considera un sistema cuántico compuesto por N electrones, la ecuación de Schrödinger para este sistema se escribe como:

$$H\Psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = (T + V + U)\Psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \left[\sum_i^N \left(-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v(\mathbf{r}_i) \right) + \sum_{i < j} U(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j) \right] \Psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = E\Psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) \quad (4.14)$$

donde se ha hecho la suposición de que los núcleos están fijos (aproximación de Born-Oppenheimer); T es la energía cinética del sistema, $v(\mathbf{r}_i)$ es un potencial externo en el cual se puede incluir la interacción sobre los electrones debida al núcleo y $U(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j)$ es la

interacción electrón-electrón. A partir del conocimiento del potencial v y del número de electrones N se puede calcular la función de onda $\Psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$, con la cual obtendríamos los observables de nuestro sistema.

4.2.1. Método de perturbación de Moller-Plesset

Una de las aproximaciones que se usan para resolver la ecuación (4.14) son los métodos de perturbación. En los métodos de perturbaciones, en general, se considera un problema ya resuelto, ya sea de forma exacta o aproximada, y se agrega una pequeña perturbación a ese problema resuelto. Introduciendo una perturbación al hamiltoniano se tiene:

$$H = H_0 + \lambda H' \quad (4.15)$$

donde H_0 es el hamiltoniano del estado base y que sus soluciones en principio se conocen, y $\lambda H'$ es la perturbación.

De esta forma, la ecuación por resolver es:

$$H\Psi_n = (H_0 + \lambda H')\Psi_n = E_n\Psi_n \quad (4.16)$$

se puede desarrollar en serie de potencias tanto la función de onda como la energía como sigue:

$$\begin{aligned} E_n &= \lambda^0 E_n + \lambda^1 \frac{\delta E_n}{\delta \lambda} + \frac{\lambda^2}{2!} \frac{\delta^2 E_n}{\delta \lambda^2} + \dots \\ \Psi_n &= \lambda^0 \Psi_n + \lambda^1 \frac{\delta \Psi_n}{\delta \lambda} + \frac{\lambda^2}{2!} \frac{\delta^2 \Psi_n}{\delta \lambda^2} + \dots \end{aligned} \quad (4.17)$$

con lo cual, la ecuación (4.16) quedaría como:

$$\begin{aligned} &(H_0 + \lambda H') \left(\lambda^0 \Psi_n + \lambda^1 \frac{\delta \Psi_n}{\delta \lambda} + \frac{\lambda^2}{2!} \frac{\delta^2 \Psi_n}{\delta \lambda^2} + \dots \right) = \\ &\left(\lambda^0 E_n + \lambda^1 \frac{\delta E_n}{\delta \lambda} + \frac{\lambda^2}{2!} \frac{\delta^2 E_n}{\delta \lambda^2} + \dots \right) \left(\lambda^0 \Psi_n + \lambda^1 \frac{\delta \Psi_n}{\delta \lambda} + \frac{\lambda^2}{2!} \frac{\delta^2 \Psi_n}{\delta \lambda^2} + \dots \right) \end{aligned} \quad (4.18)$$

Reescribiendo:

$$\begin{aligned} \Psi_n^{(k)} &= \frac{1}{k!} \frac{\delta^k \Psi_n}{\delta \lambda^k}; \\ E_n^{(k)} &= \frac{1}{k!} \frac{\delta^k E_n}{\delta \lambda^k}; \end{aligned} \quad (4.19)$$

y agrupando por potencias de λ tenemos:

$$(H_0 \Psi_n^{(0)} - E_n^{(0)} \Psi_n^{(0)}) + \lambda (H_0 \Psi_n^{(1)} + H' \Psi_n^{(0)} - \Psi_n^{(0)} E_n^{(1)} - \Psi_n^{(1)} E_n^{(0)}) + \lambda^2 (H_0 \Psi_n^{(2)} + H' \Psi_n^{(1)} - E_n^{(0)} \Psi_n^{(2)} - E_n^{(1)} \Psi_n^{(1)} - E_n^{(2)} \Psi_n^{(0)}) + \dots = 0 \quad (4.20)$$

λ es un parámetro arbitrario, por lo que los coeficientes de cada potencia de λ deben anularse por separado, con lo que nos queda:

$$\begin{aligned} H_0 \Psi_n^{(0)} &= E_n^{(0)} \Psi_n^{(0)} \\ (H_0 - E_n^{(0)}) \Psi_n^{(1)} &= (E_n^{(1)} - H') \Psi_n^{(0)} \\ (H_0 - E_n^{(0)}) \Psi_n^{(2)} &= E_n^{(2)} \Psi_n^{(0)} + (E_n^{(1)} - H') \Psi_n^{(1)} \\ &\dots \end{aligned} \quad (4.21)$$

La primera ecuación corresponde al sistema sin perturbar, de la cual ya conocemos su solución. A partir del segundo término, ya aparecen correcciones a la función de onda y la energía, y la corrección de la energía a segundo orden es:

$$E_n^{(2)} = \sum_{k \neq n} \frac{H'^2}{E_k^{(0)} - E_n^{(0)}} \quad (4.22)$$

4.2.2. Teoría del Funcional de la Densidad

4.2.2.1. Teoremas de Hohenberg y Kohn

Otra de las aproximaciones para resolver la ecuación de Schrödinger (4.14) es mediante la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT por sus siglas en inglés). La DFT permite resolver la ecuación (4.14) recurriendo a la densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$. Hohenberg y Kohn establecen las bases de la DFT demostrando dos teoremas [24]. El primero de los teoremas establece: *el potencial externo $v(\mathbf{r})$ es determinado únicamente por la densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$, salvo por una constante.*

Dado que ρ determina el número de electrones mediante:

$$N = \int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (4.23)$$

se tiene que únicamente con la densidad ρ se puede determinar el estado base, así como la energía del sistema E , la energía cinética T , la energía potencial V y la interacción electrón-electrón U :

$$E[\rho] = T[\rho] + V[\rho] + U[\rho] \quad (4.24)$$

A la densidad del estado base se le denota como ρ_0 . Con esta notación se puede escribir la energía del estado base como $E_0 \equiv E[\rho_0]$.

El segundo teorema [24] nos da el principio variacional de la energía, es decir, si $\tilde{\rho}(\mathbf{r})$ es una densidad diferente de ρ_0 entonces:

$$E[\rho_0] \leq E[\tilde{\rho}] \quad (4.25)$$

La ecuación (4.24) la se puede reescribir como:

$$E[\rho] = V[\rho] + T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (4.26)$$

donde $T_s[\rho]$ es la energía cinética de electrones no-interactuantes con densidad ρ , $J[\rho]$ es el potencial clásico de Coulomb y $E_{xc}[\rho]$ se define como la energía de *intercambio y correlación* del sistema interactuante con densidad ρ :

$$E_{xc}[\rho] \equiv T[\rho] - T_s[\rho] + U[\rho] - J[\rho] \quad (4.27)$$

4.2.2.2. Ecuaciones de Kohn y Sham

A pesar de que Hohenberg y Kohn demostraron que la densidad determina la energía del sistema, no proporcionaron un método para calcularla. Un año después del trabajo de Hohenberg y Kohn, Kohn y Sham [25] establecen un método para resolver el problema de forma autoconsistente a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N |\phi_i(\mathbf{r})|^2 \quad (4.28)$$

$$v_{\text{eff}}(\mathbf{r}) = v(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{xc}(\mathbf{r}) \quad (4.29)$$

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{\text{eff}} \right] \phi_i = \epsilon_i \phi_i \quad (4.30)$$

Este conjunto de ecuaciones son las ecuaciones de Kohn y Sham, las cuales se resuelven de forma autoconsistente, que se basa en proponer una densidad electrónica de prueba $\tilde{\rho}(\mathbf{r})$ con la que se obtiene v_{eff} de la ecuación (4.29), con este potencial se obtienen las funciones $\phi_i(\mathbf{r})$ de la ecuación (4.30) que permiten calcular una nueva densidad electrónica de la primera expresión. Este proceso se repite hasta alcanzar un criterio de convergencia para la energía entre los pasos obtenidos [26].

4.2.2.3. Funcionales

Debido a que no se ha encontrado un funcional de intercambio y correlación exacto (4.27) se emplean aproximaciones para éste. En particular, existen 3 formas de aproximación: funcionales locales, semilocales o dependiente del gradiente y no locales.

En la primera aproximación se supone que el funcional depende localmente de la densidad, es decir, $E_{xc} = E_{xc}[\rho]$; a este método se le llama LDA (del inglés Local-Density Approximation), donde se introduce una aproximación a la energía de intercambio y correlación como:

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) \epsilon_{xc}(\rho) d\mathbf{r} \quad (4.31)$$

donde se puede escribir:

$$\epsilon_{xc} = \epsilon_x + \epsilon_c \quad (4.32)$$

Aunque esta aproximación ha probado ser buena, sobre todo en sistemas homogéneos, en un sistema en donde la densidad varía en cada punto del espacio, una mejor aproximación incluiría términos extras al funcional. Este tipo de aproximación es llamada semilocal en la cual, al funcional de intercambio y correlación, se agregan correcciones del gradiente de la densidad: $|\nabla\rho(\mathbf{r})|$, $|\nabla\rho(\mathbf{r})|^2$, etc.

En particular, si se usa una función que dependa de $\rho(\mathbf{r})$ y $\nabla\rho(\mathbf{r})$, la energía de intercambio y correlación se expresa:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int \epsilon_{xc}(\rho(\mathbf{r}), \nabla\rho(\mathbf{r})) \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (4.33)$$

A esta aproximación se le llama GGA (del inglés generalized-gradient approximation).

Por último, en los funcionales híbridos se hacen combinaciones lineales de los métodos arriba mencionados, así como de términos de Hartree-Fock.

4.2.2.4. Funcional PW91

Este funcional es del tipo GGA, y surge como corrección con gradiente de la densidad a los funcionales locales [27]. La expresión de este funcional es:

$$E_x^{PW91} = \frac{1}{2} \sum_{\sigma} E_x^{PW91}[\rho_{\sigma}] \quad (4.34)$$

donde

$$E_x^{PW91} = \int d\mathbf{r} \rho \epsilon_x(r_s, 0) F(s)$$

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

$$s = \frac{|\nabla\rho|}{2k_F\rho}$$

$$k_F = (3\pi^2\rho)^{1/3}$$

$$F(s) = \frac{1 + 0.19645s \cdot \sinh^{-1}(7.7956s) + (0.2743 - 0.1508e^{-100s^2})s^2}{1 + 0.19645s \cdot \sinh^{-1}(7.7956s) + 0.004s^4} \quad (4.35)$$

4.2.2.5. Funcional PBE

Este funcional del tipo GGA es una mejora al funcional PW91 [28]. Este funcional es muy usado debido a su bajo costo computacional y los buenos resultados obtenidos. La expresión es:

$$E_{xc}^{PBE}[\rho] = \int d\mathbf{r} \rho(\mathbf{r}) \epsilon_x^{unif}(\rho(\mathbf{r})) F(s) \quad (4.36)$$

donde

$$\begin{aligned} F(s) &= 1 + \kappa - \frac{\kappa}{1 + \frac{\mu s^2}{\kappa}} \\ s &= \frac{|\nabla \rho|}{2k_f \rho} \\ \epsilon_x^{unif} &= -\frac{3e^2 k_f}{4\pi} \\ k_f^3 &= 3\pi^2 \rho \end{aligned} \quad (4.37)$$

con $\kappa = 0.804$ y $\mu = 0.21951$.

4.2.2.6. Funcional M05-2X

Este funcional pertenece a la familia de los funcionales de Minnesota. El funcional híbrido M05-2X es un funcional meta-GGA (además de incluir gradiente en la densidad electrónica, incluye término de densidad en la energía cinética) de alta no localidad y con la doble cantidad de intercambio no local (2X) parametrizado para no metales [29].

La expresión de la energía está dada por:

$$E_{xc} = \frac{X}{100} E_{xc}^{HF} + \left(1 - \frac{X}{100}\right) E_x^{DFT} + E_c^{DFT} \quad (4.38)$$

donde E_x^{HF} es la energía de intercambio no local de Hartree-Fock, X es el porcentaje de intercambio de Hartree-Fock, E_x^{DFT} es la energía de intercambio local DFT y E_c^{DFT} es la energía de correlación local DFT.

4.2.3. Funciones base

Las funciones de onda moleculares ϕ_i se construyen como una combinación lineal de orbitales atómicos:

$$\phi_i = \sum_{\mu}^M C_{\mu i} \chi_{\mu} \quad (4.39)$$

donde χ_{μ} son los orbitales atómicos a usar (funciones base), M es el número de orbitales atómicos y $C_{\mu i}$ son coeficientes. Aunque existen distintas formas de modelar estas funciones base, en este trabajo solo se emplearon las funciones tipo Gaussianas (GTO, del inglés Gaussian Type Orbital), las cuales son de la forma:

$$\chi(r) = N_g e^{-\zeta r^2} \quad (4.40)$$

donde N_g es una constante de normalización, r la distancia radial desde el núcleo y ζ es una constante.

Para aproximar de mejor manera estos orbitales atómicos, se pueden usar distintos valores para la constante ζ en un mismo orbital atómico. Las más comunes son:

- **Bases mínimas (SZ):** a cada orbital atómico se les asigna una función gaussiana con un valor único de ζ .
- **Doble Zeta (DZ):** a cada orbital atómico se les asigna dos funciones gaussianas, cada una con un valor diferente de ζ .
- **Triple Zeta (TZ):** a cada orbital atómico se les asigna tres funciones gaussianas, cada una con un valor diferente de ζ .
- **Valencia desdoblada (SV):** en este caso, a los electrones de capas internas se les asigna una función, por lo regular una base mínima, y a los electrones de valencia se les asigna una base más grande (doble zeta o triple zeta).

4.2.3.1. Bases de Pople

Este conjunto base es del tipo valencia desdoblada, diseñado por Pople y coautores [30]. Este tipo de conjuntos base tiene la notación $k-lmnG$ donde k representa cuántas GTO's se utilizan para los orbitales de capa interna. Si se usan dos números después del guión (lm) representa una valencia desdoblada, mientras que tres números (lmn) indican una triple valencia desdoblada para los orbitales de valencia.

En este trabajo se empleó la base 6-31G, es decir, se le asignan a los orbitales de capas internas 6 GTO's, a la parte interna de los orbitales de valencia se les asignan 3 GTO's y a la parte externa de orbitales de valencia se le asigna una GTO.

4.2.3.2. Polarización

Además de usar distintos valores para ζ , también se puede mejorar la aproximación de la base incluyendo términos de polarización, los cuales consisten en aumentar en 1 el valor del momento angular de la función que se quiere trabajar.

En el conjunto base de Pople, se puede agregar un * después de la G para indicar que se polarizan los átomos de la segunda fila, mientras que, si se agregan **, también se polariza el átomo H. En este trabajo se emplearon las bases con polarización 6-31G* y 6-31G** para los métodos DFT y MP2 respectivamente.

4.3. Modelos de solvente implícito

Una parte importante de las optimizaciones geométricas moleculares consiste en considerar los efectos del medio en el que se encuentra la molécula, como el solvente. Existen dos enfoques principales en los cuales se pueden considerar estos efectos: el primero consiste en describir explícitamente las moléculas individuales del solvente, mientras que el segundo trata al solvente como un medio continuo. Este último método considera al solvente como un medio uniforme caracterizado por una constante dieléctrica ϵ , en el cual la molécula se sitúa en un cavidad en dicho solvente. Esta aproximación es conocida como modelos de solvente implícito.

4.3.1. Modelo de Born Generalizado (GB)

Este modelo se basa en el modelo de Born [31], en el cual, se considera la energía de solvatación de una partícula cargada en un solvente, en donde la molécula está en una cavidad esférica. Para una carga neta q , en una cavidad de radio a , en un medio continuo con constante dieléctrica ϵ , la energía de solvatación se expresa como:

$$G = - \left(1 - \frac{1}{\epsilon} \right) \frac{q^2}{2a} \quad (4.41)$$

La ecuación 4.41 se utiliza para los métodos de mecánica molecular, la cual se incorpora a la ecuación de energía potencial del campo de fuerzas (ecuación 4.1).

4.3.2. Modelo del continuo polarizable (PCM)

En este modelo se emplean cavidades de van der Waals formadas por la unión de radios atómicos de van der Waals escalados por un factor empírico. Si la distribución de carga superficial en la frontera entre el soluto y el solvente es $\sigma(\mathbf{s})$, la energía de solvatación se escribe como:

$$G = \frac{1}{2} \int \sigma(\mathbf{s}) \left(\int \frac{\rho_M(\mathbf{r})}{|\mathbf{r} - \mathbf{s}|} d^3 r \right) d^2 s \quad (4.42)$$

donde ρ_M es la distribución de carga del soluto [32].

Método computacional

En este trabajo, con objeto de estudiar las características conformacionales de las moléculas consideradas, se recurrió a cálculos de optimización de las mismas empleando métodos de mecánica molecular y mecánica cuántica.

Para realizar los cálculos con los métodos de mecánica molecular, se empleó el software AMBER24 [33, 34], que usa campos de fuerzas del mismo nombre [22], en específico, se empleó el campo de fuerzas BSC1 [35] el cual está optimizado para el estudio del ADN; de igual forma, se modificaron librerías del campo de fuerzas BSC1 para incluir parámetros del campo de fuerzas POLTEV [23], y así realizar cálculos de optimización con el mismo.

Por otro lado, se utilizó el software GAUSSIAN09 [36] para realizar los cálculos de mecánica cuántica. En éste, para aproximar el funcional de intercambio y correlación de DFT, se usaron los funcionales GGA de Perdew-Burke-Ernzerhof PBEPBE [28], Perdew-Wang-91 PW91PW91 [27] y el funcional híbrido meta-GGA M05-2X [29]; mientras que, para las funciones base se implementó el conjunto de bases 6-31G* [30]. De igual forma, en este programa se realizaron los cálculos de MP2 [37] con el conjunto de funciones base 6-31G** [30]. Para considerar la influencia del solvente, se consideraron los métodos de solvente implícito PCM (del inglés: Polarizable Continuum Model) para los métodos de mecánica cuántica, y el modelo GB (del inglés: Generalized Born) para los métodos de mecánica molecular.

Para hacer las modificaciones de citosina se utilizó el software GaussView6 [38], estos cambios se realizaron a partir de una citosina canónica cambiando en la posición 5 el hidrógeno original por un grupo metil ($-CH_3$), un grupo hidroximetil ($-CH_2OH$), un grupo formil ($-CHO$) o un grupo carboxil ($-COOH$), según fuese el caso. Para el caso de los pares de bases, se construyeron a partir de un par de bases canónico G-C, cambiando en la posición 5 de la citosina el grupo funcional a considerar. Finalmente, para el estudio de los nucleósidos se tomaron estructuras experimentales con la clase conformacional BB00 o AA00 que contuviesen a la citosina canónica, e igual que con las estructuras anteriores, se cambió el grupo funcional en la citosina en posición 5.

Los dDMPs se obtuvieron de estructuras experimentales obtenidas de las bases de datos PDB (*Protein Data Bank*) [39] y NAKB (*Nucleic Acid KnowledgeBase*) [40]. En estos bancos de datos se buscaron dúplex de ADN que contuviesen las modificaciones de citosina consideradas en esta investigación, encontrando diversas estructuras experimentales que las contenían, para posteriormente, cortar los dDMPs de interés.

Como ejemplo, se tiene la estructura con el ID 4PAR (Figura 4.2) en la cual se puede observar un fragmento de ADN rodeado por una proteína.

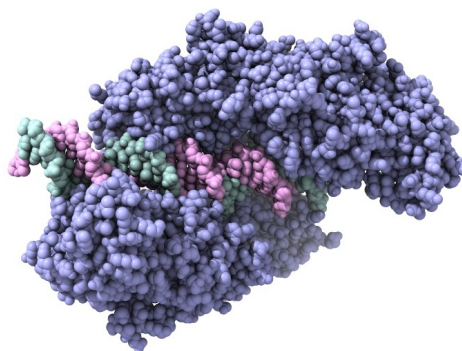


Figura 4.2: Complejo de ADN-Proteína. ID 4PAR. Doble hélice de ADN (colores verde y rosa), rodeada por la proteína AbaSI (en color morado).

El software ChimeraX nos permite quitar la proteína y quedarnos solo con la doble hélice del ADN, como se puede ver en la Figura 4.3, en la que además resaltamos las posiciones de la modificación buscada, en este caso 5hmC.

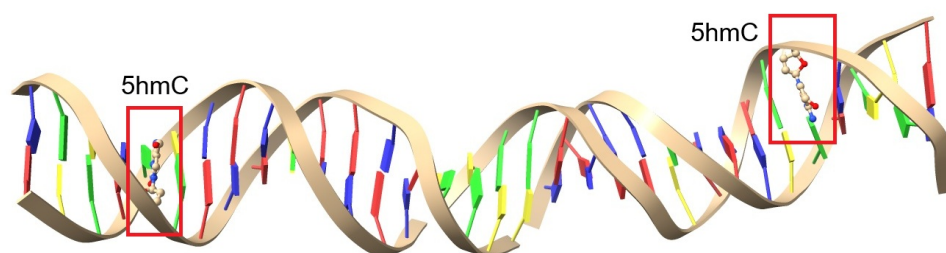


Figura 4.3: Doble hélice del ADN de la estructura ID 4PAR. Se señala en cuadros rojos la modificación 5hmC.

Finalmente, al tener ya identificada la posición de la modificación, con un editor de textos se puede solo quedarnos con la estructura que nos interesa, en este caso un desoxitri-nucleósido difosfato (dTDP), como vemos en la Figura 4.4, con la modificación de citosina en medio de la cadena.

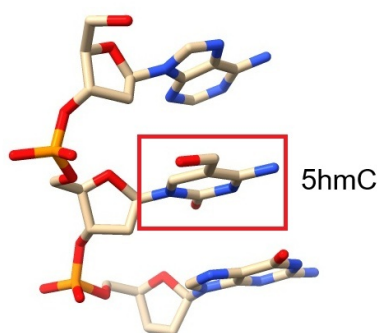


Figura 4.4: Desoxitri-nucleósido difosfato, en donde la modificación 5hmC se encuentra en medio de la cadena.

Una vez obtenidos los dTDPs, empleando el software ChimeraX [41] se pueden obtener los

dDMPs de esta última cadena. Igualmente, en Chimera se puede agregar los hidrógenos faltantes, pues las estructuras experimentales no los contienen. Estas estructuras están cargadas negativamente, ya que el grupo fosfato presente en los dDMPs es un ión negativo, como se vio en el Capítulo 3.1.3. Para realizar los cálculos de optimización, las estructuras deben estar neutralizadas, por lo que se agregan iones de sodio (Na^+) con el software GaussView16, a una distancia aproximada de 2.3 Å de los átomos de oxígeno en el grupo fosfato y en el mismo plano que forman el fósforo y estos oxígenos. De esta manera se obtiene la estructura final, la cual ya se puede optimizar con los softwares antes mencionados (Figura 4.5).

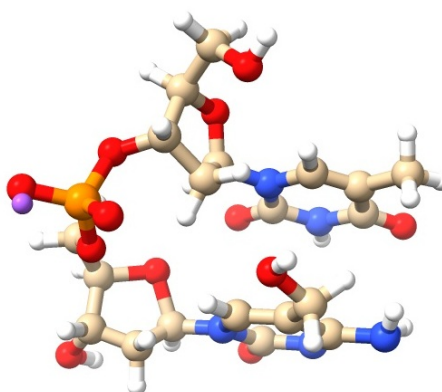


Figura 4.5: Desoxidinucléósido Monofosfato obtenido de la estructura ID *4PAR*.

Para obtener los parámetros estructurales de las estructuras estudiadas se usó el software ChimeraX y el programa en línea web3DNA [9, 42]. Para la clasificación de las clases conformacionales de cada dDMP considerado y estudiado se usó el programa en línea DNATCO [43].

ANTECEDENTES

Una parte fundamental para comprender las funciones biológicas del ADN es el estudio de su estructura tridimensional, ya que se puede comprender su interacción con proteínas y demás biomoléculas. Desde su descubrimiento, se han realizado diversos estudios experimentales mediante técnicas como la difracción de rayos X y métodos de resonancia magnética nuclear (NMR por sus siglas en inglés: *Nuclear Magnetic Resonance*) de fragmentos de ADN, cuyas estructuras resultantes han sido depositadas en los bancos de datos NAKB [40] y PDB [39].

Mediante el análisis de los ángulos de torsión sobre el SPB, como se describió en el Capítulo 3.1.5, ha sido posible caracterizar a las distintas familias conformacionales del ADN (A, B y Z), así como sus subdivisiones. En estudios recientes, al analizar cerca de 120,000 dinucleótidos provenientes de estructuras experimentales de ADN y ARN almacenadas en los bancos de datos NAKB y PDB, mediante algoritmos de machine learning, se han identificado hasta 96 clases conformacionales, dentro de las cuales se agrupan tanto las familias principales como sus variantes estructurales, así como híbridos entre ellas [6].

En esta clasificación, la familia conformacional BI corresponde a las clases conformacionales BB00 y BB01, mientras que la familia conformacional BII se asocia a las clases BB07. Por otro lado, la familia conformacional AI se relaciona con las clases conformacionales AA00, AA02, AA08 y AA09, mientras que la variación AII corresponde a las clases AA05 y AA06. En nuestro trabajo, se estudiarán nucleósidos pertenecientes a las clases conformacionales BB00 y AA00.

Por otro lado, con el objetivo de estudiar no solo las conformaciones del SPB, sino también las posibles interacciones que se forman entre las bases o entre bases y el SPB, se han realizado estudios computacionales enfocados en la estructura del ADN, usando métodos de mecánica cuántica como DFT y métodos *ab-initio*. En particular, el Dr. Poltev y su grupo identificaron que los fragmentos mínimos capaces de proporcionar información relevante sobre la estructura del ADN son los dDMPs [44, 45], ya que en el SPB se encuentra la mayor contribución a la estabilidad de la cadena única.

En este trabajo se estudian modificaciones de citosina en posición 5, manteniendo sin alteración el resto de los átomos del anillo de la citosina y sus grupos funcionales. En particular, estas modificaciones tienen un grupo oxo (=O) en el carbono 2, y el nitrógeno 3 tiene un doble enlace. En la referencia [46] se presenta un estudio teórico sobre nucleósidos de bases naturales y bases modificadas, en conformaciones BB00 y AA00. En dicho trabajo se contemplan pirimidinas con las mismas características estructurales que se estudian en este trabajo, particularmente en el carbono 2 y el nitrógeno 3. Los resultados obtenidos indican que que los nucleósidos con la conformación AA00 es más favorable en vacío para este tipo de estructuras.

Finalmente, las modificaciones de citosina en posición 5 de citosina presentes en el ciclo de metilación y desmetilación de la citosina, desempeñan un papel importante, sobre todo en la regulación epigenética del ADN. Estudiar sus efectos estructurales resulta fundamental para comprender su relevancia funcional. En ese sentido, se han realizado estudios de las modificaciones de citosina en posición 5 presentes en el ciclo de metilación y desmetilación de citosina. En la referencia [47], mediante difracción de rayos X, los autores hacen una comparación de los cambios estructurales del dodecámero de Dickerson d(CGCGAATTCGCG) [48, 49], al agregar las modificaciones 5mC y 5hmC en lugar de citosinas canónicas en las posiciones del tercer y noveno nucleótido, encontrando que estas modificaciones no afectan a la forma B de la estructura general del dodecámero. En el más reciente artículo del grupo del Dr. Poltev «Computational Study of the Changes in the Conformations and Interactions of DNA Subunits Due to the Base Damage Induced by Ionizing Radiation» (por publicar), después de un análisis de varias estructuras que contienen la modificación 5fC, con métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, se llega a la conclusión de que la modificación 5fC no altera la estructura del dúplex del ADN.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos de los cálculos computacionales realizados para el estudio de los sistemas moleculares de interés, los cuales contienen citosinas modificadas en posición 5. En la sección 6.1 se muestra el cambio de parámetros realizado en el software AMBER para incluir los parámetros del potencial Poltev para ácidos nucleicos, y así utilizar este campo en el estudio de diferentes tipos de subunidades del ADN. En las secciones 6.2, 6.3, 6.4 y 6.5 se muestran los resultados obtenidos de los estudios realizados a las bases aisladas, pares de bases y nucleósidos de las bases modificadas 5mC, 5hmC, 5fC y 5caC, respectivamente, así como de sus posibles isómeros, en caso de que existan. En la sección 6.6 se realiza una comparación de la citosina canónica con las modificaciones estudiadas, para determinar si existen cambios estructurales significativos en las subunidades de ADN analizadas al cambiar el grupo funcional en posición 5 de la citosina. Finalmente, en la sección 6.7 se muestran los cálculos realizados de dDMPs conteniendo en su secuencia una base 5hmC.

6.1. Potencial POLTEV en AMBER

Como se mencionó en la sección 5, en el estudio de nucleósidos de bases canónicas, se ha observado una dependencia de la metodología empleada, en particular para el nucleósido de citosina. Usando métodos de mecánica cuántica en vacío, la conformación AA00 es más favorable que la conformación BB00. Sin embargo, utilizando métodos de mecánica molecular, empleando el software AMBER con el campo de fuerzas BSC1, la conformación BB00 es la más favorable [46]. Para determinar si esta discrepancia es dependiente del campo de fuerzas empleado, se realizaron cambios en el software AMBER para incorporar el potencial Poltev.

El campo de fuerzas Poltev incluye parámetros que se ajustan a resultados experimentales de ácidos nucleicos, reproduciendo bien las interacciones presentes en los sistemas estudiados con dicho campo de fuerzas. A pesar de que se desarrolló un software para la optimización geométrica de pares de bases, y que reproducen bien las interacciones presentes en estos, este software solo permite la optimización de dos moléculas, compuestas por anillos aromáticos, ya sea de purinas y/o pirimidinas, que están interactuando como dímeros. Sin embargo, si se quiere estudiar una sola molécula empleando el campo de fuerzas Poltev y que sea una subunidad distinta, tales como nucleósidos, es necesario evaluar si se puede recurrir a otros softwares, como el software AMBER, y cambiar parte de sus parámetros con los parámetros del potencial Poltev. Para integrar los parámetros del potencial Poltev en el software AMBER, se modificaron las bases de datos correspondientes, en particular los coeficientes A y B presentes en los términos que consideran la interacción

de Van der Waals, así como las cargas de los átomos presentes en los ácidos nucleicos.

En la Tabla 6.1 se muestran los tipos de átomos considerados en el campo de fuerzas Poltev, una descripción de los tipos de átomos y los valores de r_0 y ϵ , con los cuales se pueden calcular los coeficientes A y B (con las ecuaciones ya mostradas en la sección 4.1.1.5). Tales coeficientes necesitan ser calculado pues son con lo que trabaja el software AMBER y serán modificados para considerar las interacciones como lo hace el campo de fuerzas Poltev. Por otro lado, se utilizó un software diseñado para obtener las cargas de los átomos. Una vez obtenidas las cargas con este software, se modificaron librerías del software AMBER para agregar dichas cargas. Las modificaciones ya mencionadas, realizadas en el software AMBER, se realizaron tomando como base librerías empleadas para el campo de fuerzas BSC1.

Tabla 6.1: Tipos de átomos considerados en el campo de fuerzas Poltev. Se muestra r_0 y ϵ de cada átomo.

Tipo de átomo	Descripción	r_0	ϵ
H1	Hidrógeno enlazado a carbono sp3	1.3498	0.0517
H2	Hidrógeno enlazado a carbono sp2	1.3498	0.0517
H3	Hidrógeno que puede hacer enlace por puente de hidrógeno	1.3196	0.0518
C1	Carbono sp3	2.0000	0.0305
C2	Carbono sp2	1.9501	0.0568
N1	Nitrógeno en grupo amino	1.8996	0.0466
N2	Nitrógeno con triple enlace sencillo, no grupo amino	1.8799	0.0708
N3	Nitrógeno con enlace doble	1.8498	0.1073
O1	Oxígeno con 2 enlaces sencillos	1.6497	0.0775
O2	Oxígeno con 1 enlace doble	1.6299	0.1667

Una vez implementadas estas modificaciones en las bases de datos del software AMBER, se realizaron cálculos de pares de bases canónicos para comparar los resultados y ver si la implementación de los parámetros da una buena reproducción de las interacciones presentes o si se alejan demasiado de los resultados obtenidos con el campo de fuerzas BSC1 y con el campo de fuerzas Poltev utilizando su propio programa ya antes desarrollado. A la reparametrización en el software AMBER, utilizando como base el campo de fuerzas BSC1, para utilizar el campo de fuerzas Poltev en dicho programa, le llamamos BSC1-POLTEV.

En la Tabla 6.2 se muestran las energías de interacción obtenidas para los pares de bases canónicos de Watson y Crick A:T y G:C, calculados con el campo de fuerzas AMBER BSC1, la reparametrización realizada en el software AMBER BSC1-POLTEV, y con el software especialmente diseñado para utilizar el potencial POLTEV.

Tabla 6.2: Energía de interacción de los pares de bases canónicos de Watson y Crick calculados con el campo de fuerzas BSC1 y el potencial Poltev en el software AMBER. Se incluyen los resultados obtenidos con el programa específicamente desarrollado para calcular energía de interacción entre pares de bases, empleando el potencial POLTEV. Se muestran las distancias de los enlaces de hidrógeno presentes en los pares de bases.

Pares	Energía de Interacción [kcal/mol]			H-Bonds	Enlaces de hidrógeno [Å]		
	BSC1	BSC1-POLTEV	POLTEV		BSC1	BSC1-POLTEV	POLTEV
A:T	-13.3	-11.9	-11.9	N6-H...O4	1.87	1.88	1.91
				N1...H-N3	1.88	1.92	1.88
G:C	-28.0	-27.1	-24.4	O6...H-N4	1.82	1.85	1.86
				N1-H...N3	1.91	1.91	1.96
				N2-H...O2	1.81	1.84	1.86

Para el par A:T no se obtuvo diferencia entre las energías de interacción calculadas con el programa especialmente diseñado para utilizar el potencial POLTEV y el cambio de parámetros en AMBER BSC1-POLTEV, mientras que se puede observar una diferencia de 1.4 kcal/mol entre estos últimos y BSC1. En cambio, para el par G:C se observa una diferencia de energía de 2.7 kcal/mol entre los cálculos realizados con BSC1-POLTEV y los realizados con el programa especialmente diseñado para utilizar el potencial Poltev, en adición, se observa una diferencia de 0.9 kcal/mol entre los cálculos realizados con BSC1 y BSC1-POLTEV.

Se puede observar que no existen cambios significativos en las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno entre los pares optimizados con las tres metodologías.

Es importante notar que, aunque la energía de interacción para el par G:C obtenida con la reparametrización BSC1-POLTEV no se ajusta al resultado obtenido con el software diseñado para pares de bases con el funcional POLTEV, las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno sí se ajustan bien. Sin embargo, para el par A:T sí se tiene una reproducción entre las energías de interacción obtenidas con el campo de fuerzas Poltev implementado en dos softwares diferentes. Por ellos, se procedió a considerar esta reparametrización para hacer cálculos con los nucleósidos y evaluar si hay una correcta reproducción de las interacciones presentes en dichas subunidades del ADN.

En la Tabla 6.3 se presentan los resultados obtenidos de la optimización geométrica realizada a los nucleósidos de bases canónicas A, G, C y T, considerando para cada base nitrogenada nucleósidos en conformación de la familia BB00 y de la familia AA00. Se muestra la energía obtenida de la optimización realizada con las dos metodologías empleadas para cada nucleósido en las dos conformaciones posibles. Además, se incluye la diferencia de energías entre las dos conformaciones de un mismo nucleósido, dependiente de la metodología empleada (E(AA00)-E(BB00)), para conocer cuál conformación es más favorable en cada caso.

Se puede observar que, con ambas metodologías implementadas, la conformación más favorable es la conformación BB00 para todos los nucleósidos. Asimismo, se observa que las diferencias de energía entre ambas conformaciones obtenidas con el método BSC1-POLTEV se ajustan bien a los resultados del método BSC1.

Tabla 6.3: Diferencias de energías entre los nucleósidos de bases canónicas en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos BSC1 y la reparametrización del mismo para la consideración del campo de fuerzas Poltev (BSC1-POLTEV). Se incluyen los ángulos de torsión sobre SPB y el empaquetamiento del azúcar (puckering).

BASE	Familia	Método	$E_{[kcal/mol]}$	$\Delta E_{[kcal/mol]}$	$\chi[^\circ]$	$\beta[^\circ]$	$\gamma[^\circ]$	$\delta[^\circ]$	$\epsilon[^\circ]$	Puckering
	BB00*				258	180	44	138	183	
	AA00*				200	173	55	82	206	
Adenosina	BB00	BSC1	-41.5	0.0	220	174	55	145	170	C2'-endo
		BSC1-POLTEV	-4.1	0.0	205	180	54	148	184	C2'-endo
	AA00	BSC1	-40.1	1.4	205	178	56	84	183	C3'-endo
		BSC1-POLTEV	-2.9	1.2	190	181	55	86	185	C3'-endo
Guanosina	BB00	BSC1	-81.2	0.0	224	171	54	145	175	C2'-endo
		BSC1-POLTEV	-39.0	0.0	235	175	52	146	180	C2'-endo
	AA00	BSC1	-79.7	1.5	205	177	55	85	189	C3'-endo
		BSC1-POLTEV	-37.5	1.5	217	177	55	85	189	C3'-endo
Citidina	BB00	BSC1	-120.6	0.0	215	180	56	143	157	C2'-endo
		BSC1-POLTEV	-57.9	0.0	202	184	56	146	180	C2'-endo
	AA00	BSC1	-118.8	1.8	205	181	56	83	175	C3'-endo
		BSC1-POLTEV	-56.8	1.1	196	183	56	83	182	C3'-endo
Timidina	BB00	BSC1	-1.4	0.0	221	179	55	144	171	C2'-endo
		BSC1-POLTEV	-13.1	0.0	212	179	53	144	184	C2'-endo
	AA00	BSC1	0.9	2.3	211	179	56	86	182	C3'-endo
		BSC1-POLTEV	-11.6	1.5	211	179	55	83	186	C3'-endo

* Valores promedio para las torsiones de las familias conformacionales BB00 y AA00.

También se observan los valores del ángulo glucosídico (χ), y de los ángulos de torsión en el SPB ($\beta, \gamma, \delta, \epsilon$), así como el empaquetamiento del azúcar (puckering). Los ángulos de torsión relevantes para el análisis de los nucleósidos son los ángulos γ, δ y el ángulo glucosídico χ , ya que los ángulos sobre el SPB β y ϵ incluyen la orientación de los átomos de hidrógeno unidos a O5' y O3', respectivamente, los cuales no se encuentran en realidad en dichas posiciones, pues se tiene una continuidad de nucleótidos para formar la estructura primaria del ADN. En el ADN natural, estos hidrógenos son reemplazados por átomos de fósforo pertenecientes al grupo fosfato. Por esta razón, el análisis de los ángulos de torsión se centrará en los ángulos γ, δ y χ .

Se puede observar en la Tabla 6.3 que los ángulos de torsión γ y δ no cambian significativamente respecto al valor promedio de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, se encuentran diferencias grandes en los ángulos glucosídicos χ al comparar con los valores promedio de las conformaciones BB00 y AA00, siendo la mayor diferencia en la citidina, con un valor de 56° , pero siguen considerándose dentro de la región permitida para dicha torsión en estas familias. Asimismo, se puede observar que no existen cambios en el empaquetamiento del azúcar, siendo el mismo en todos los nucleósidos, dependiendo de la familia conformacional de los mismos: C3'-endo para los que se encuentran en

conformación AA00 y C2'-endo para los que se encuentran en conformación BB00.

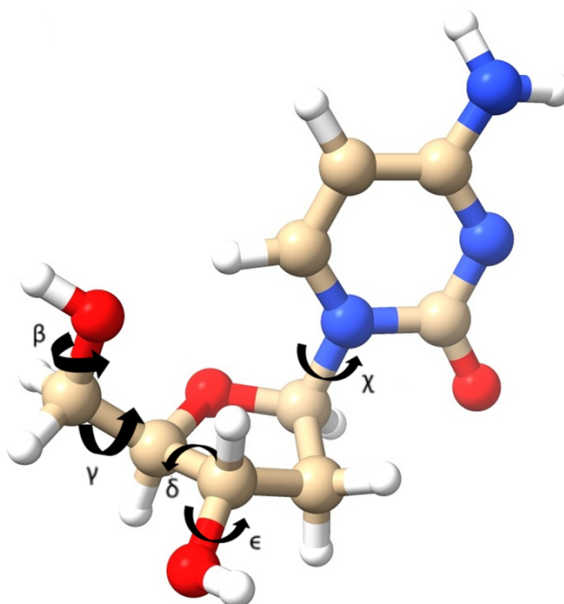


Figura 6.1: Ángulos de torsión en el esqueleto azúcar-fosfato (β , γ , δ y ϵ) y ángulo glucosídico (χ), en el nucleósido citidina.

Los resultados obtenidos muestran que la implementación de los parámetros para la consideración del potencial Poltev en el software AMBER, al utilizar como base el campo de fuerzas BSC1, ha resultado satisfactoria. Esto ha permitido poder utilizar el potencial Poltev, con el uso del software AMBER, para el estudio de diferentes subunidades del ADN. Así, en las siguientes secciones también se usa el cambio de parámetros para el estudio de las modificaciones de citosina y sus isómeros, para observar la influencia del campo de fuerzas modificado en los resultados obtenidos.

En los cálculos sucesivos, para los pares de bases se usa el programa específicamente diseñado para ácidos nucleicos con el potencial Poltev implementado, y para los cálculos de los nucleósidos se usa la reparametrización BSC1-POLTEV (llamada de la misma manera).

6.2. 5-metilcitosina

Esta modificación (*1,5-dimetil-citosina*) es la más sencilla que se considera en este estudio, ya que solo hay un cambio en el hidrógeno en la posición 5 por un grupo metil, y dicha modificación no puede tener isómeros, pues el grupo metil es muy simple -es un átomo de carbono enlazado a tres hidrógenos, los cuales son indistinguibles entre sí y se colocan de forma simétrica alrededor del carbono. En la Figura 6.2 se muestra la optimización realizada con PBE a esta base modificada, donde se puede observar la forma del grupo metil. En la Tabla 6.4 se presentan las energías totales calculadas con los métodos de mecánica cuántica de la base aislada modificada.

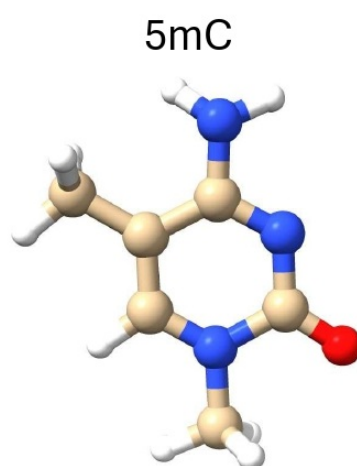


Figura 6.2: Base 5mC. Optimización realizada con PBE.

Tabla 6.4: Energía total de la base aislada 5mC obtenida con los métodos de mecánica cuántica.

Energía total [kcal/mol]			
PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM
-296807.3	-296291.9	-296818.4	-296303.2

En la Tabla 6.4 se observa que con los métodos de mecánica cuántica en vacío y con solvente implícito, la energías más favorables para las bases aisladas se obtienen al utilizar el funcional PBE. Asimismo, notamos un aumento (alrededor de 10 kcal/mol) en las energías totales obtenidas con los métodos de mecánica cuántica usando solvente implícito. De esta forma, la metodología PBE-PCM proporciona la base con la energía más favorable.

Por otro lado, se realizaron cálculos de optimización de pares de bases formados entre 5mC y guanina canónica (base complementaria de citosina canónica), empleando métodos de mecánica molecular y mecánica cuántica. En la Figura 6.3 se muestra la estructura optimizada del par de bases G:5hmC obtenida con el funcional PBE. Se puede observar la formación de tres enlaces por puente de hidrógeno, mismos presentes en el par canónico G:C, de esta forma se observa que la metilación en posición 5 no interfiere en el apareamiento de las bases.

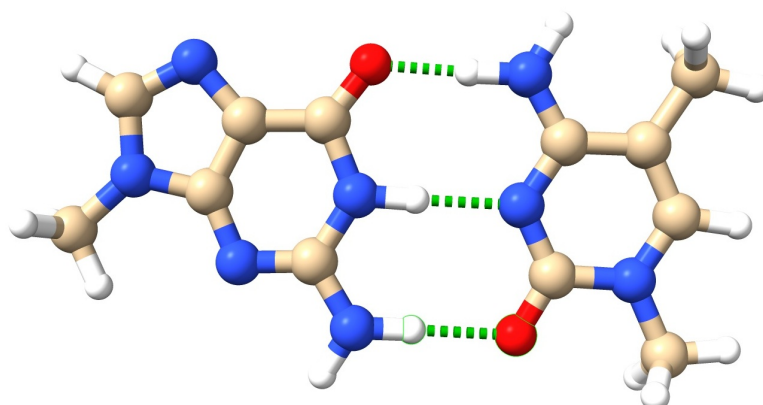


Figura 6.3: Par de bases G:5mC. Optimización realizada con PBE.

En la Tabla 6.5 se muestra la energía de interacción obtenida para este par con cada método. Para los métodos de mecánica cuántica en vacío la energía de interacción es de hasta -32.3 kcal/mol, mientras que con agua como solvente implícito este valor es de hasta -22 kcal/mol, lo que indica una disminución en la energía de interacción al considerar solvente implícito. Por otro lado, con los métodos de mecánica molecular en vacío, el valor de la energía de interacción es de hasta -27.8 kcal/mol, y con BSC1-GB (cálculo que considera solvente implícito) es de -15.1 kcal/mol. Al igual que con la metodología de mecánica cuántica, se observa una disminución a la energía de interacción al introducir agua como solvente implícito en todas las metodologías empleadas.

Tabla 6.5: Energías de interacción de los pares de bases G:5hmC obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular.

Energía de interacción [kcal/mol]						
PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
-32.3	-30.8	-22.0	-21.1	-27.8	-15.1	-25.4

En la tabla 6.6 se observan las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno en el par de bases, así como las distancias $C1' \cdots C1'$ obtenidos con las distintas metodologías, en los cuales se puede observar que, estructuralmente, no hay diferencias significativas en dichas distancias.

Tabla 6.6: Distancias de los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases de 5mC y la base canónica G obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se muestra la distancia C1'...C1'.

Enlace de hidrógeno[Å]							
H-Bond	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
O6...H-N4	1.73	1.79	1.81	1.88	1.82	1.88	1.87
N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.93	1.98	1.98
N2-H...O2	1.86	1.91	1.81	1.87	1.80	1.83	1.86
C1'...C1'	10.75	10.69	10.74	10.67	10.72	10.78	10.81

Para comprender la influencia de esta modificación en la conformación de los nucleósidos, se realizaron cálculos de optimización a nucleósidos de la modificación 5mC, en conformación de las familias BB00 y AA00, empleando métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular.

En la Tabla 6.7 se muestran las diferencias de energías de los nucleósidos de 5mC entre las conformaciones BB00 y AA00 obtenidas de los cálculos realizados con los distintos métodos de mecánica cuántica, tanto en vacío como con solvente implícito (PCM). Se puede observar que tanto para los cálculos realizados en vacío con PBE como para los de MP2, la conformación más favorable es AA00, con una diferencia de 0.5 kcal/mol respecto a la conformación BB00, para ambos casos. Mientras que, al considerar en los cálculos PCM el nucleósido más favorable es el que se encuentra en conformación BB00, con una diferencia de energías entre conformaciones de hasta 0.7 kcal/mol.

Tabla 6.7: Energías de nucleósidos de la base 5mC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica cuántica. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

PBE			MP2			PBE-PCM			MP2-PCM		
E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE
BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]
-536042.6	-536043.1	-0.5	-535143.9	-535144.4	-0.5	-536058.3	-536057.8	0.5	-535160.1	-535159.4	0.7

De igual forma, en la Tabla 6.8 se presentan las diferencias entre energías de las dos conformaciones obtenidas con los métodos de mecánica molecular en vacío y con GB(solvente implícito). Se encuentra que la conformación BB00 es la más favorable, tanto en los cálculos realizados en vacío como en los que se consideró solvente implícito, con una diferencia de energía entre las conformaciones BB00 y AA00 de hasta 1.2 kcal/mol en cálculos realizados en vacío y de 0.7 kcal/mol con los cálculos realizados con solvente implícito.

Tabla 6.8: Energías de nucleósidos de la base 5mC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica molecular. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

BSC1			BSC1-POLTEV			BSC1-GB		
E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE
BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]
-60.5	-59.3	1.2	-36.1	-35.1	1.0	-97.0	-96.3	0.7

Por otra parte, para un análisis más detallado de los parámetros estructurales de los nucleósidos de 5mC obtenidos con distintas metodologías, para las dos conformaciones estudiadas, en la Tabla 6.9 se muestran los valores de los ángulos de torsión en el SPB de los nucleósidos (β , γ , δ , y ϵ), así como el ángulo de pseudorrotación (P) y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , tanto con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, en vacío y con solvente implícito, no se presentan cambios significativos respecto a los valores promedio correspondientes a las familias AA00 y BB00. En contraste, el ángulo glucosídico χ de la conformación BB00 es el que mayor diferencia presenta respecto al valor promedio, siendo el método BSC1-POLTEV el de mayor diferencia con una variación de 56° . En los métodos con solvente implícito las diferencias en este ángulo, para los nucleósidos de esta conformación, son a lo más 30° , variación que está dentro de las regiones consideradas para las torsiones de las respectivas familias conformacionales. Asimismo, para la conformación AA00, las diferencias en el ángulo glucosídico se mantienen por debajo de los 30° con todas las metodologías empleadas.

Se observa que no se presentan cambios en el empaquetamiento del azúcar de los nucleósidos de 5mC obtenidos con todas las metodologías, siendo C2'-endo para los que se encuentran en conformación BB00 y C3'-endo para los que se encuentran en conformación AA00.

En la Figura 6.4 se muestran los nucleósidos de 5mC en ambas conformaciones, obtenidos con el funcional PBE. Solo se muestran los resultados obtenidos para ambas conformaciones con esta metodología, pues se han obtenido resultados muy semejantes, estructuralmente hablando, con cada una de las metodologías empleadas.

Tabla 6.9: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de 5mC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio*	258	180	44	138	183		
	BSC1	223	188	52	141	69	161	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	202	183	55	145	180	165	C2'-endo
	BSC1-GB	228	180	54	133	182	147	C2'-endo
	PBE	220	178	53	143	169	165	C2'-endo
	MP2	211	180	53	146	168	163	C2'-endo
	PBE-PCM	234	174	51	146	175	173	C2'-endo
	MP2-PCM	230	175	50	148	175	168	C2'-endo
AA00	Promedio*	200	173	55	82	206		
	BSC1	209	183	53	84	172	19	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	197	183	56	83	182	18	C3'-endo
	BSC1-GB	223	179	56	85	182	28	C3'-endo
	PBE	197	178	54	83	187	10	C3'-endo
	MP2	197	179	53	80	186	11	C3'-endo
	PBE-PCM	201	170	52	84	192	10	C3'-endo
	MP2-PCM	198	172	52	81	190	12	C3'-endo

* Valores promedio para las torsiones de las familias conformacionales BB00 y AA00.

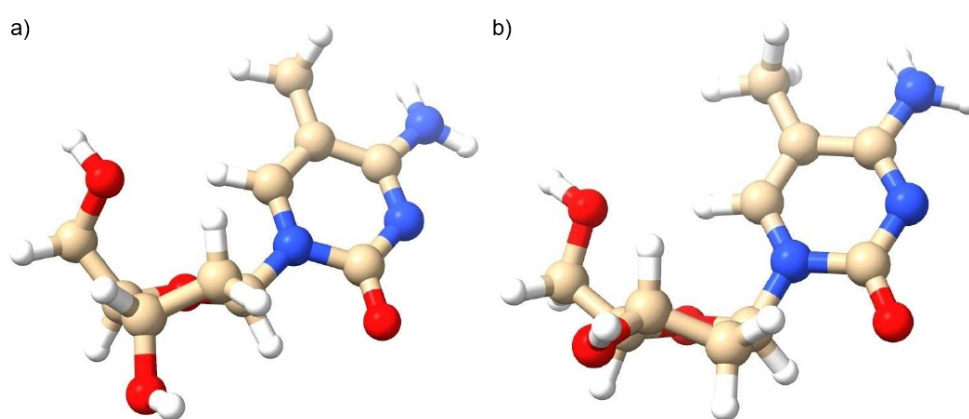


Figura 6.4: Nucleósidos de la base 5mC obtenidos con PBE. a) Nucleósido en conformación de la familia BB00. b) Nucleósido en conformación de la familia AA00.

En resumen, de los cálculos realizados a las bases aisladas de 5mC con los métodos de mecánica cuántica, se obtuvo una energía más favorable con el funcional PBE con solvente implícito (PCM).

En el caso de los pares de bases, con la metodología de mecánica cuántica, se tiene que la energía de interacción más favorable entre 5mC y G se observa con el método PBE en vacío. Por otro lado, con los métodos de mecánica molecular, la energía de interacción más favorable se da con el método BSC1 en vacío, mostrándose así que, para este par su energía de interacción es más favorable cuando no se considera solvente implícito en los cálculos. Asimismo, se observan los mismos enlaces por puente de hidrógeno presentes en el par G:C, indicando que la metilación en posición 5 no afecta el apareamiento de las bases.

Finalmente, para los nucleósidos de dicha modificación, en dos conformaciones diferentes, se obtuvo que la conformación más favorable con los métodos de mecánica cuántica en vacío corresponde a la conformación de la familia AA00. En cambio, al considerar solvente implícito, la conformación más favorable corresponde a la conformación BB00. Con la metodología de mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente implícito, la conformación más favorable corresponde a la conformación BB00. Por otro lado, no se observan cambios significativos en los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ respecto a los valores promedios de las conformaciones de las familias BB00 y AA00, con todas las metodologías empleadas.

Estos resultados serán comparados en la sección 6.6 con los obtenidos para la citosina canónica, para comprender la influencia de esta modificación en las subunidades estudiadas.

6.3. 5-hidroximetilcitosina

Al realizar los cálculos computacionales para la 5hmC (*1-metil-5-hidroximetil-citosina*) se encontraron varios isómeros estables de la base aislada utilizando los métodos de mecánica cuántica, los cuales se muestran en la Figura 6.5. Estos isómeros se pueden separar en dos grupos: en el primer grupo se observa la formación de un enlace por puente de hidrógeno entre el oxígeno del grupo hidroximetil y unos de los hidrógenos del grupo amino presente en la citosina canónica (isómeros del 1 al 4); mientras que en el segundo grupo dicho enlace por puente de hidrógeno no está presente (isómeros del 5 al 7).

Cabe destacar que se intentó la búsqueda de más estructuras, modificando la posición del grupo hidroximetil, como, por ejemplo, facilitar un enlace por puente de hidrógeno entre el nitrógeno del grupo amino y el hidrógeno del grupo -OH, sin embargo, todas las estructuras convergieron a una de las siete estructuras que se pueden observar en la Figura 6.5.

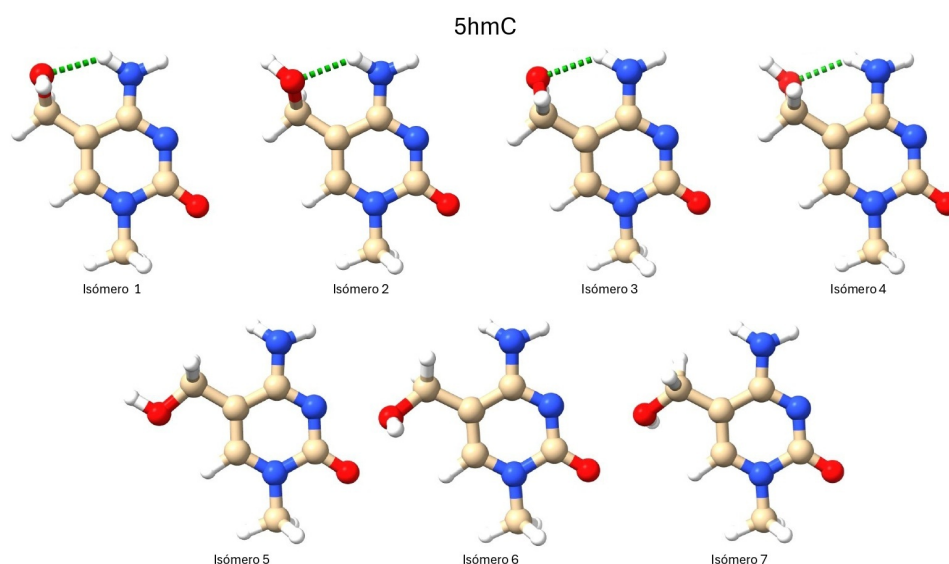


Figura 6.5: Isómeros de 5hmC. Optimización realizada con PBE.

En la Tabla 6.10 se presentan las energías totales de los isómeros de 5hmC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica, así como las diferencias de energía respecto al isómero más favorable, identificado como isómero 1.

Además, en la Tabla 6.11 se muestran parámetros estructurales de los isómeros, tales como la distancia del enlace por puente de hidrógeno (d) entre el grupo hidroximetil y el grupo amino, y ángulos de torsión para observar la orientación del oxígeno y del hidrógeno del grupo hidroximetil (τ_O y τ_H). De esta manera, se puede ver que, aunque la diferencia de energía entre el isómero 1 y el isómero 3 es nula con la metodología de mecánica cuántica, la orientación del grupo -OH es diferente. Este mismo comportamiento se observa en los isómeros 2 y 4.

Para los isómeros del primer grupo, la diferencia de energía entre el isómero 1 y los isómeros 2 y 4 es de hasta 2.0 kcal/mol en vacío y se reduce a 1.3 kcal/mol cuando se usa solvente implícito. Por otro lado, el isómero con la mayor diferencia de energía respecto al isómero 1 es el isómero 5, con valores de hasta 6.0 kcal/mol en vacío y hasta 4.9 kcal/mol con PCM, observando de nuevo una reducción en la diferencia de energía con solvente implícito. En la Tabla 6.11 y la Figura 6.5, el grupo -OH del isómero 5 está casi en el mismo plano que el anillo de la citosina modificada.

En cuanto a los isómeros del segundo grupo, el isómero más favorable es el isómero 6. En la Tabla 6.11 se observa que los parámetros estructurales de los isómeros 6 y 7 son muy cercanos en valor absoluto, teniendo diferencias en su energía total de hasta 0.4 kcal/mol en vacío y de hasta 0.2 kcal/mol con PCM. Además, la diferencia de energía del isómero 6 con el isómero 5, el cual es el menos favorable de todos los isómeros, es de hasta 1.3 kcal/mol en vacío y de hasta 1.2 kcal/mol con solvente implícito.

Tabla 6.10: Energías totales de los isómeros de 5hmC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica. Se muestra la diferencia de energía respecto al isómero más favorable, denominado como isómero 1.

5hmC	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM	
	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]
Isómero 1	-343957.4	0.0	-343374.4	0.0	-343969.0	0.0	-343386.7	0.0
Isómero 2	-343955.4	2.0	-343373.1	1.4	-343967.7	1.3	-343385.9	0.8
Isómero 3	-343957.4	0.0	-343374.4	0.0	-343969.0	0.0	-343386.7	0.0
Isómero 4	-343955.4	2.0	-343373.1	1.4	-343967.7	1.3	-343385.9	0.8
Isómero 5	-343951.4	6.0	-343369.2	5.2	-343964.1	4.9	-343382.3	4.4
Isómero 6	-343952.7	4.7	-343370.2	4.3	-343965.3	3.7	-343383.3	3.4
Isómero 7	-343952.5	4.9	-343369.7	4.7	-343965.3	3.7	-343383.1	3.6

Tabla 6.11: Parámetros estructurales de los mínimos de 5hmC: distancia entre O5 y HN4 (d), ángulo de torsión entre los átomos C4-C5-CC5-O (τ_O), ángulo de torsión entre los átomos C5-CC5-O-H (τ_H).

5hmC	PBE			MP2			PBE-PCM			MP2-PCM		
	d[Å]	τ_O [°]	τ_H [°]	d[Å]	τ_O [°]	τ_H [°]	d[Å]	τ_O [°]	τ_H [°]	d[Å]	τ_O [°]	τ_H [°]
Isómero 1	2.09	128.96	-54.83	2.15	125.28	-56.70	2.06	131.05	-58.37	2.12	126.94	-59.70
Isómero 2	2.09	125.70	168.71	2.15	121.85	172.82	2.05	127.71	165.43	2.13	122.80	169.88
Isómero 3	2.09	-128.96	54.83	2.15	-125.28	56.70	2.06	-131.05	58.37	2.12	-126.94	59.70
Isómero 4	2.09	-125.87	-168.75	2.15	-121.85	-172.90	2.05	-127.69	-165.52	2.13	-122.85	-169.94
Isómero 5	-	-3.93	173.19	-	-0.10	176.59	-	0.37	-179.85	-	4.90	-175.96
Isómero 6	-	18.58	63.43	-	17.35	67.00	-	9.45	70.00	-	9.63	71.88
Isómero 7	-	-18.49	-61.75	-	-15.61	-66.63	-	-9.39	-70.09	-	-7.75	-73.14

Por otro lado, se realizaron cálculos de los pares de bases de todos los isómeros de 5hmC con la base canónica G empleando todas las metodologías. En la Figura 6.6 se presentan las estructuras del par de bases formado con el isómero más favorable en base aislada de 5hmC con G, así como los pares de bases correspondientes a los isómeros 5 y 7, ya que estos últimos, como se analizará más adelante, presentan las energías de interacción más favorables entre todos los isómeros analizados. Al igual que con 5mC, se observa la formación de tres enlaces por puente de hidrógeno, al igual que en el par canónico G:C, con lo cual se observa que el grupo hidroximetil no interfiere en el apareamiento de las bases.

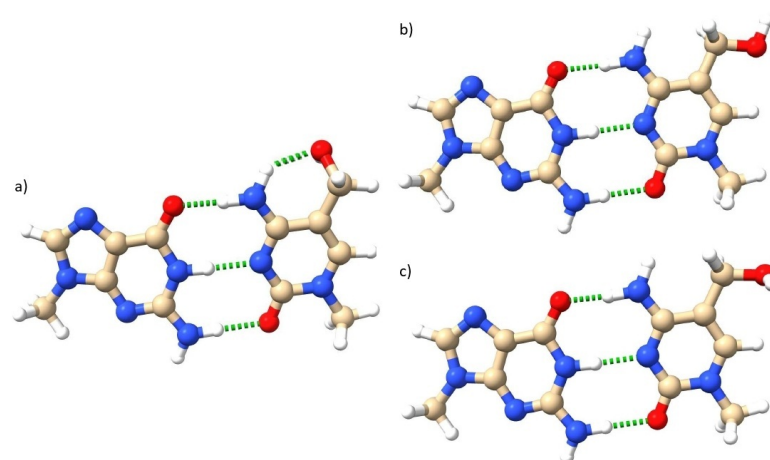


Figura 6.6: Par de bases G:5hmC. Optimización realizada con PBE. a) Par de bases G:5hmC isómero 1, el cual es el mínimo más favorable en base aislada. b) Par de bases G:5hmC isómero 5. c) Par de bases G:5hmC isómero 7. Estos últimos son los pares más favorables entre todos los isómeros.

En la Tabla 6.12 se presentan las energías de interacción de los pares de bases de los diferentes isómeros de 5hmC y guanina, obtenidas con todas las metodologías utilizadas. Las energías más favorables obtenidas con cada método se indican en negritas.

A diferencia de lo observado en las bases aisladas, donde el mínimo de energía más profundo se da cuando hay un enlace por puente de hidrógeno entre el grupo hidroximetil y el grupo amino, en los pares de bases G:5hmC se encuentra que la interacción más favorable se encuentran con isómeros del segundo grupo de isómeros en bases aisladas (no presentan enlace por puente de hidrógeno), ya sea con el isómero 5, observado con los métodos PBE en vacío y el potencial Poltev, o con el isómero 7, observado con el método MP2-PCM, o incluso con ambos, observado en los métodos MP2 en vacío, PBE-PCM y BSC1. Con el método BSC1-GB las interacciones más favorables se dan con los isómeros 6 y 7.

Con los métodos de mecánica cuántica en vacío se observa que la diferencia de energía entre el mínimo más favorable y el menos favorable es de hasta 1.8 kcal/mol, mientras que usando solvente implícito, esta diferencia se reduce a 0.9 kcal/mol. Por otro lado, con los métodos de mecánica molecular, usando el campo de fuerzas BSC1 en vacío, la diferencia de energía entre los pares más y menos favorables es de 1.5 kcal/mol, mientras que, usando el modelo PCM, la diferencia se reduce a solo 0.1 kcal/mol. Finalmente, con el potencial Poltev, se puede observar una diferencia de energía entre el par de bases más favorable y el menos favorable de 0.7 kcal/mol.

Tabla 6.12: Energías de interacción de los pares de bases de los diferentes isómeros de 5hmC con la base canónica G obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. En negritas se indican los pares de bases más favorables con cada método.

G:5hmC	Energía de interacción [kcal/mol]						
	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
Isómero 1	-30.6	-29.4	-21.3	-20.5	-26.4	-14.9	-26.1
Isómero 2	-30.7	-29.5	-21.3	-20.5	-26.6	-14.9	-26.3
Isómero 3	-30.6	-29.3	-21.3	-20.1	-26.4	-14.9	-26.1
Isómero 4	-30.7	-29.2	-21.3	-20.5	-26.6	-14.9	-26.4
Isómero 5	-32.4	-30.8	-21.9	-20.9	-27.9	-14.9*	-26.8
Isómero 6	-31.9	-30.3	-21.8	-20.8	-27.6	-15.0	-26.5
Isómero 7	-32.2	-30.8	-21.9	-21.0	-27.6	-15.0	-26.4

* Este isómero en base aislada se optimiza como el isómero 1.

En la Tabla 6.13 se muestran las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno de los pares de bases, además de las distancias C1'...C1' obtenidos con las diferentes metodologías. Se puede observar que no existen diferencias significativas en tales distancias.

Tabla 6.13: Distancias de los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases de los diferentes isómeros de 5hmC y la base canónica guanina obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se muestra la distancia C1'...C1'.

G:5hmC	Enlace de hidrógeno[Å]							
	H-Bond	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
Isómero 1	O6...H-N4	1.75	1.81	1.83	1.90	1.83	1.89	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.93	1.98	1.89
	N2-H...O2	1.88	1.93	1.82	1.88	1.81	1.83	1.87
	C1'...C1'	10.74	10.69	10.73	10.67	10.73	10.79	10.69
Isómero 2	O6...H-N4	1.76	1.82	1.84	1.90	1.83	1.89	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.93	1.98	1.89
	N2-H...O2	1.88	1.93	1.82	1.87	1.81	1.83	1.87
	C1'...C1'	10.73	10.68	10.73	10.67	10.73	10.78	10.69
Isómero 3	O6...H-N4	1.75	1.81	1.84	1.87	1.83	1.89	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.92	1.87	1.91	1.93	1.98	1.89
	N2-H...O2	1.88	1.92	1.82	1.85	1.81	1.83	1.87
	C1'...C1'	10.74	10.71	10.73	10.72	10.73	10.79	10.70
Isómero 4	O6...H-N4	1.76	1.81	1.84	1.90	1.83	1.89	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.92	1.87	1.89	1.93	1.98	1.89
	N2-H...O2	1.88	1.89	1.82	1.87	1.81	1.83	1.87
	C1'...C1'	10.73	10.73	10.73	10.67	10.73	10.78	10.70
Isómero 5	O6...H-N4	1.73	1.79	1.81	1.88	1.82	1.89	1.86
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.94	1.98	1.93
	N2-H...O2	1.86	1.91	1.81	1.87	1.80	1.83	1.85
	C1'...C1'	10.74	10.68	10.73	10.67	10.73	10.78	10.75
Isómero 6	O6...H-N4	1.72	1.78	1.81	1.87	1.82	1.89	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.92	1.87	1.89	1.94	1.98	1.91
	N2-H...O2	1.87	1.91	1.81	1.86	1.80	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.75	10.70	10.74	10.67	10.72	10.78	10.72
Isómero 7	O6...H-N4	1.72	1.79	1.81	1.88	1.82	1.89	1.86
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.94	1.98	1.94
	N2-H...O2	1.87	1.92	1.82	1.87	1.80	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.74	10.68	10.73	10.67	10.72	10.78	10.74

Asimismo, se realizaron cálculos de optimización de nucleósidos de todos los isómeros de 5hmC, en las conformaciones de las familias BB00 y AA00, empleando métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, para evaluar la influencia de la modificación y sus isómeros en la conformación de los nucleósidos.

En la Tabla 6.14 se muestran las diferencias de energías entre las familias conformacionales BB00 y AA00 obtenidas de los cálculos realizados con las metodologías de mecánica cuántica, tanto en vacío como con solvente implícito. Algunas de las estructuras son consideradas artificiales, ya que presentan un enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base nitrogenada. Estas estructuras artificiales se indican en negritas.

Con los métodos de mecánica cuántica en vacío, se observa que la conformación AA00 es la más favorable, con diferencias de energía de hasta 2.1 kcal/mol respecto a la conformación BB00. La única excepción es con el método MP2 en vacío, la conformación BB00 es más favorable, sin embargo, ambas estructuras resultan ser estructuras artificiales, por lo que no se consideran viables.

Por otro lado, al utilizar solvente implícito se observa que el nucleósido más favorable es el que se encuentra en conformación BB00, con diferencias de energía con respecto a la conformación AA00 de hasta 2.4 kcal/mol. De igual forma, observamos 2 excepciones en donde el nucleósido con la conformación más favorable es AA00, con el método PBE-PCM, para los nucleósidos con los isómero 5 y 7 de 5hmC. Cabe destacar que en el nucleósido con el isómero 7 de 5hmC con el método PBE-PCM, se observa que la conformación AA00 es una estructura artificial.

Tabla 6.14: Energías de nucleósidos de los diferentes isómeros de la base 5hmC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica cuántica. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica cuántica.

5hmC	PBE			MP2			PBE-PCM			MP2-PCM		
	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]
	BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00	
Isómero 1	-583192.8	-583193.4	-0.6	-582226.6	-582227.3	-0.7	-583209.0	-583208.6	0.4	-582243.5	-582243.0	0.5
Isómero 2	-583190.6	-583191.2	-0.6	-582225.0	-582225.7	-0.7	-583207.7	-583207.3	0.4	-582242.7	-582242.2	0.6
Isómero 3	-583193.0	-583193.6	-0.5	-582227.0	-582227.5	-0.5	-583209.0	-583208.6	0.4	-582243.6	-582243.1	0.5
Isómero 4	-583190.7	-583191.2	-0.5	-582225.2	-582225.7	-0.6	-583207.7	-583207.3	0.4	-582242.7	-582242.2	0.5
Isómero 5	-583187.1	-583188.9	-1.8	-582223.4	-582222.9	0.5	-583204.1	-583204.4	-0.2	-582239.2	-582238.9	0.3
Isómero 6	-583188.7	-583190.9	-2.1	-582222.9	-582224.9	-2.0	-583205.4	-583203.0	2.4	-582240.3	-582240.1	0.2
Isómero 7	-583188.3	-583189.3	-1.0	-582222.4	-582223.0	-0.6	-583203.6	-583205.4	-1.8	-582240.1	-582239.2	0.9

Por otro lado, en la Tabla 6.15 se muestran las diferencias de energía de los nucleósidos de los isómeros de 5hmC respecto al nucleósido del isómero 1, empleando la metodología de mecánica cuántica.

Se observa que el nucleósido con el isómero 1 es más favorable que los demás nucleósidos, excepto por el nucleósido con el isómero 3. De los resultados de base aislada, estos isómeros presentan la misma energía, el único cambio se observa en la orientación del grupo -OH. Para los nucleósidos, el -OH del grupo hidroximetil del isómero 1 de 5hmC se orienta hacia 3', mientras que en el nucleósido del isómero 3 de 5hmC, el -OH se orienta hacia 5', como se ilustra en la Figura 6.7. De esta forma, el nucleósido con isómero en el que el grupo -OH se orienta hacia 5' es más favorable. Con los métodos de mecánica cuántica en vacío, en ambas conformaciones, se observa una diferencia entre estos dos isómeros de hasta 0.3 kcal/mol, mientras que, con solvente implícito, para la conformación BB00 ambos isómeros tienen la misma energía, y para la conformación AA00, es más favorable cuando el -OH se orienta hacia 5', con una diferencia respecto al nucleósido del isómero 1 de 0.1 kcal/mol.

Cabe destacar que, aunque existen estructuras con enlaces por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, el nucleósido con el isómero 1 (o isómero 3), son más favorables.

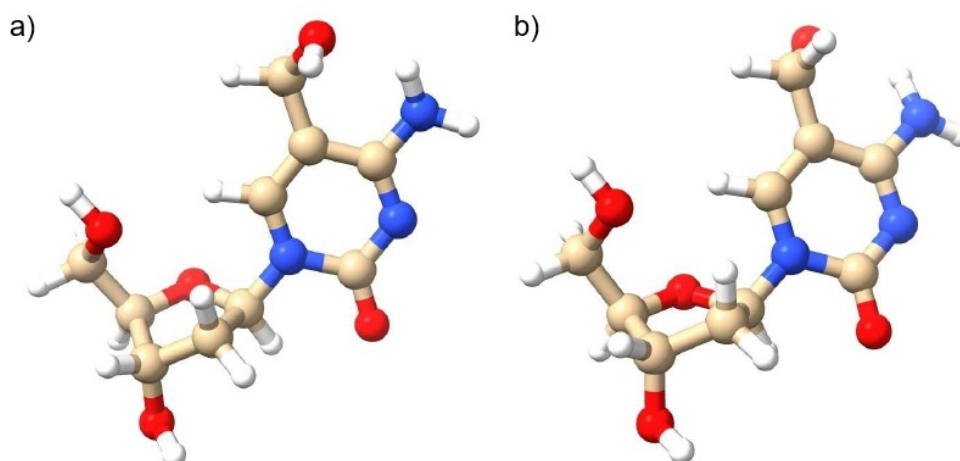


Figura 6.7: Nucleósidos de dos isómeros de 5hmC que en base aislada tienen la misma energía, pero grupo hidroximetil apunta en direcciones contrarias. a) Isómero 1. Grupo hidroximetil apunta en dirección 3'. b) Isómero 3. Grupo hidroximetil apunta en dirección 5'.

Tabla 6.15: Diferencias de energía de los nucleósidos con los isómeros de 5hmC respecto al nucleósido con el isómero 1 de 5hmC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica.

5hmC	ΔE [kcal/mol]							
	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Isómero 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Isómero 2	2.1	2.2	1.6	1.6	1.3	1.3	0.8	0.8
Isómero 3	-0.3	-0.2	-0.4	-0.2	0.0	-0.1	0.0	-0.1
Isómero 4	2.1	2.2	1.4	1.6	1.3	1.2	0.8	0.8
Isómero 5	5.7	4.5	3.2	4.4	4.8	4.2	4.4	4.1
Isómero 6	4.0	2.5	3.7	2.4	3.6	5.6	3.2	2.8
Isómero 7	4.4	4.1	4.2	4.3	5.4	3.2	3.4	3.8

En la Tabla 6.16 se presentan las diferencias de energía de las dos conformaciones de las familias BB00 y AA00 obtenidas con la metodología de mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente implícito.

Para el campo de fuerzas BSC1, se observa que los nucleósidos correspondientes a isómeros del segundo grupo tienden a optimizarse nucleósidos con isómeros del primer grupo. Para los nucleósidos del primer grupo con este campo de fuerzas, la conformación más favorable es la que corresponde a la familia conformacional BB00, con una diferencia de hasta 1.0 kcal/mol respecto a la conformación AA00.

Asimismo, con el potencial Poltev, se observa que los nucleósidos más favorables son los que corresponden a la conformación BB00, con diferencias en la energía de hasta 1.5 kcal/mol. Existe una excepción con el nucleósido del isómero 6 de 5hmC, en el cual, la conformación AA00 es más favorable, sin embargo, es una estructura artificial.

Finalmente, con el método BSC1-GB, se observa que, en todos los casos analizados, la conformación BB00 es la más favorable, con una diferencia de 1.6 kcal/mol respecto a la conformación AA00.

Tabla 6.16: Energías de nucleósidos de los diferentes isómeros de la base 5hmC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica molecular. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

5hmC	BSC1			BSC1-POLTEV			BSC1-GB		
	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]
	BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00	
Isómero 1	-144.2	-143.3	1.0	-45.9	-44.9	0.9	-186.5	-184.9	1.6
Isómero 2	-142.2	-141.4	0.8	-46.5	-45.6	0.9	-186.6	-185.1	1.6
Isómero 3	-144.4	-143.4	1.0	-46.0	-45.0	1.0	-186.5	-184.8	1.6
Isómero 4	-142.1	-141.2	0.9	-46.5	-45.6	0.9	-186.6	-185.0	1.6
Isómero 5	-144.2*	-143.4*	0.8	-42.9	-41.3	1.5	-186.6*	-185.0*	1.6
Isómero 6	-144.2*	-142.8	1.4	-42.2	-43.5	-1.2	-185.5	-183.9	1.6
Isómero 7	-144.4*	-143.4*	1.0	-42.2	-40.8	1.4	-185.4	-183.6	1.8

* Estos nucleósidos que son del grupo 2, se optimizan a un nucleósido del grupo 1.

Así mismo, en la Tabla 6.17 se muestran las diferencias de energía de los nucleósidos de los isómeros de 5hmC respecto al nucleósido del isómero 1 de 5hmC, con los métodos de mecánica molecular.

Se pueden observar resultados variados. Con BSC1, el nucleósido con el isómero 3, el que orienta el -OH hacia 5' es más favorable, con el potencial Poltev los nucleósidos con los isómeros 2 y 4 son más favorables, mientras que con BSC1-GB, en la conformación BB00, los isómeros 2 y 4 son más favorables, y con la conformación AA00, todos los nucleósidos, con todos los isómeros comparten su valor de energía.

Tabla 6.17: Diferencias de energía de los nucleósidos con los isómeros de 5hmC respecto al nucleósido con el isómero 1 de 5hmC obtenidas con los métodos de mecánica molecular.

5hmC	ΔE [kcal/mol]					
	BSC1		BSC1-POLTEV		BSC1-GB	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Isómero 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Isómero 2	2.1	1.9	-0.6	-0.6	-0.1	0.0
Isómero 3	-0.1	-0.1	-0.1	0.0	0.0	0.0
Isómero 4	2.1	2.1	-0.6	-0.6	-0.1	0.0
Isómero 5	-	-	3.0	3.6	-	-
Isómero 6	-	0.5	3.6	1.5	1.0	0.0
Isómero 7	-	-	3.7	4.1	1.1	0.0

En la Tabla 6.18 se muestra las diferencias de energía entre los nucleósidos de los isómeros de 5hmC con la misma energía total de bases aisladas, pero con ángulos de torsión τ_O diferentes para los pares de isómeros (2 y 4) y (6 y 7) obtenidas con todas las metodologías. No se incluyen los nucleósidos de los isómeros 1 y 3 pues ya fueron discutidos anteriormente. En los nucleósidos de los isómeros 2 y 6 de 5hmC, el grupo -OH se orienta hacia 3' del azúcar fosfato, mientras que en nucleósidos de los isómeros 4 y 7 de 5hmC el grupo -OH se orienta hacia 5'.

Para los nucleósidos de los isómeros 2 y 4 de 5hmC, se observa que, en la mayoría de los casos, con los métodos de mecánica cuántica, ambas orientaciones del grupo hidroximetil tienen la misma energía, exceptuando PBE-PCM, en donde la orientación 3' es la más favorable, en conformación AA00, con una diferencia de 0.2 kcal/mol respecto a la orientación 5'. De igual forma, con MP2, la orientación más favorable, con una diferencia de 0.1 kcal/mol, en conformación BB00, es la orientación 5'. Por otro lado, con los métodos de mecánica molecular, los nucleósidos con familia conformacional BB00 presentan la misma energía en ambos isómero; mientras que en la conformación AA00, con los métodos en vacío, la orientación hacia 5' es más favorable, con una diferencia de 0.1 kcal/mol respecto a la orientación 3', y con el método BSC1-GB, la orientación más favorable es 3', con una diferencia de 0.1 kcal/mol respecto a la orientación 5'.

Finalmente, para los nucleósidos de los isómeros 6 y 7, en la mayoría de los métodos de mecánica cuántica, la orientación más favorable es 3', con una diferencia de hasta 1.9 kcal/mol en vacío y de 2.7 kcal/mol con PCM respecto a la orientación 5', únicamente con el método PBE-PCM, la orientación más favorable es 5', con una diferencia de 0.6 kcal/mol respecto a la orientación 3'. Cabe destacar que las bases de los nucleósidos correspondientes a los isómeros 6 y 7 con BSC1, se optimizan a un isómero del primer grupo, por lo cual no se incluyen en la Tabla 6.18. Con el método BSC1-POLTEV, la orientación más favorable es 3' con una diferencia de hasta 0.9 kcal/mol respecto a la orientación 5', mientras que con BSC1-GB, la conformación BB00, ambas orientaciones tienen la misma energía, y la conformación AA00, la orientación más favorable es 3', con una diferencia de 0.3 kcal/mol respecto a la orientación 5'.

Tabla 6.18: Diferencias de energías con los isómeros de misma energía en base aislada, pero ángulos de torsión del grupo -OH diferentes.

5hmC	ΔE [kcal/mol]													
	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM		BSC1		BSC1-POLTEV		BSC1-GB	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Iso4-Iso2	0.0	0.0	-0.1	0.0	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.0	-0.1	0.0	0.1
Iso7-Iso6	0.4	1.5	0.5	1.9	-0.1	-0.6	0.0	2.7	-	-	0.2	0.9	0.0	0.3

En la Tabla 6.19, 6.20, 6.21 y 6.22 se muestran los valores de los ángulos de torsión en el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías de los nucleósidos con los isómeros 1, 2, 3, y 4 respectivamente de 5hmC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

En todos estos nucleósidos, se observa que no hay cambios significativos en los ángulos γ y δ , con diferencias en los valores de los ángulos respecto a los valores promedio de las conformaciones BB00 y AA00 por debajo de los 30°. Al igual que con 5mC, el ángulo glucosídico χ de la conformación BB00 presenta una diferencia en sus valores respecto al valor promedio por encima de los 30°, con los métodos en vacío, las mayores diferencias se dan con el método BSC1-POLTEV en los cuatro nucleósidos. Al contrario, con solvente implícito, las diferencias de este ángulo con el valor promedio se mantienen por debajo de los 30°. Por otro lado, para la conformación AA00, las diferencias en el ángulo χ respecto al valor promedio de la conformación AA00 se mantienen por debajo de los 30°.

De igual manera, no se observan cambios en el empaquetamiento del azúcar de los nucleósidos de los cuatro isómeros de 5hmC, siendo C2'-endo para la conformación BB00 y C3'-endo para la conformación AA00.

En las Figuras 6.8, 6.9, 6.10 y 6.11 se muestran los nucleósidos de los isómeros 1, 2, 3 y 4 respectivamente, en sus conformaciones BB00 y AA00, con el método PBE en vacío. Solo se muestran los resultados obtenidos con esta metodología pues con las demás metodologías se obtienen resultados muy semejantes.

Tabla 6.19: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 1 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P [°]	Puckering
BB00	Promedio*	258	180	44	138	183		
	BSC1	219	188	56	143	95	163	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	202	184	56	145	180	166	C2'-endo
	BSC1-GB	229	180	56	140	177	158	C2'-endo
	PBE	221	178	53	143	169	165	C2'-endo
	MP2	210	181	53	146	169	163	C2'-endo
	PBE-PCM	234	173	52	146	175	173	C2'-endo
	MP2-PCM	231	175	51	148	175	168	C2'-endo
AA00	Promedio*	200	173	55	82	206		
	BSC1	200	186	55	82	159	12	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	194	183	55	84	181	14	C3'-endo
	BSC1-GB	220	179	57	82	175	23	C3'-endo
	PBE	197	177	54	83	187	10	C3'-endo
	MP2	194	179	54	81	185	10	C3'-endo
	PBE-PCM	201	171	53	84	192	9	C3'-endo
	MP2-PCM	198	173	53	82	190	11	C3'-endo

* Valores promedio para las torsiones de las familias conformacionales BB00 y AA00.

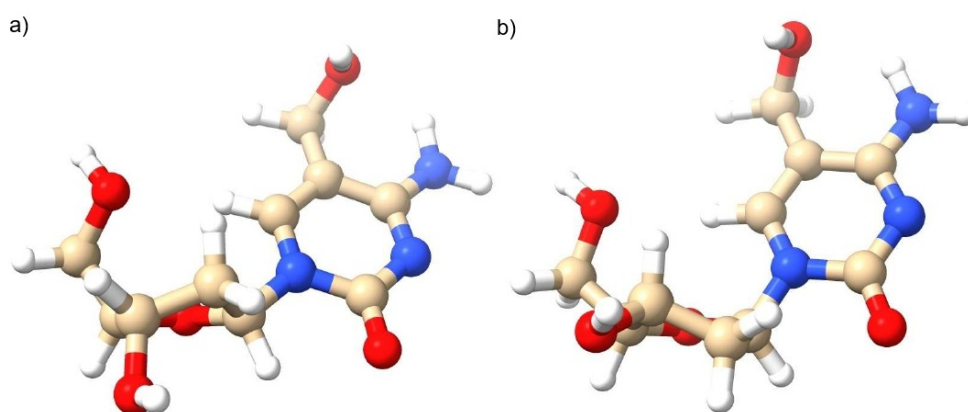


Figura 6.8: Optimización de nucleósidos del isómero 1 5hmC con PBE. a) Conformación BB00. b) Conformación AA00.

Tabla 6.20: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 2 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio*	258	180	44	138	183		
	BSC1	220	189	56	143	96	161	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	202	185	56	145	179	165	C2'-endo
	BSC1-GB	229	180	56	140	177	158	C2'-endo
	PBE	222	178	53	143	169	164	C2'-endo
	MP2	211	180	53	146	168	163	C2'-endo
	PBE-PCM	234	173	52	146	175	173	C2'-endo
	MP2-PCM	231	175	51	148	175	168	C2'-endo
AA00	Promedio*	200	173	55	82	206		
	BSC1	206	186	56	81	161	16	C3-endo
	BSC1-POLTEV	196	184	56	83	181	16	C3'-endo
	BSC1-GB	220	179	57	82	176	23	C3-endo
	PBE	197	181	55	83	188	10	C3-endo
	MP2	195	182	54	80	186	11	C3-endo
	PBE-PCM	201	171	53	84	192	9	C3-endo
	MP2-PCM	198	173	53	81	190	11	C3-endo

* Valores promedio para las torsiones de las familias conformacionales BB00 y AA00.

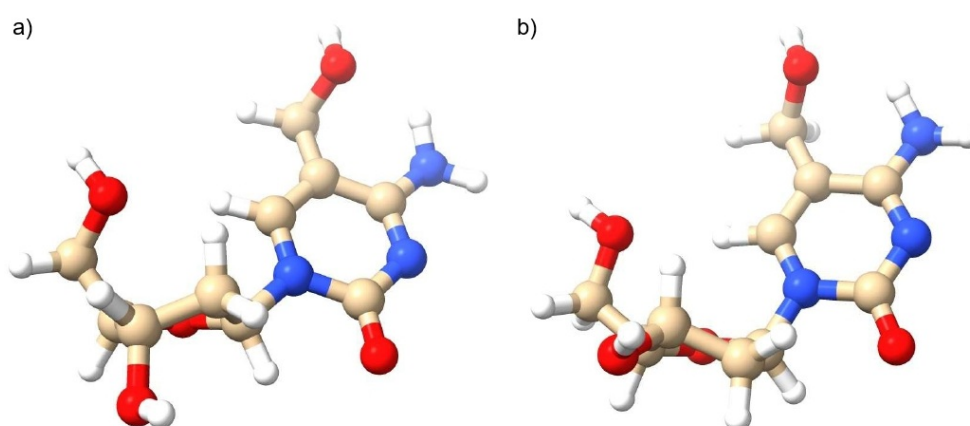


Figura 6.9: Optimización de nucleósidos del isómero 2 de 5hmC con PBE. a) Conformación BB00. b) Conformación AA00.

Tabla 6.21: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 3 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	219	189	56	144	96	162	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	202	185	56	146	180	166	C2'-endo
	BSC1-GB	227	180	56	140	177	158	C2'-endo
	PBE	216	179	54	143	169	165	C2'-endo
	MP2	209	181	54	146	169	164	C2'-endo
	PBE-PCM	231	174	52	146	176	173	C2'-endo
	MP2-PCM	227	175	51	148	176	169	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	204	186	56	81	161	15	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	197	184	56	83	182	17	C3'-endo
	BSC1-GB	217	179	57	82	176	20	C3'-endo
	PBE	197	179	54	83	187	10	C3'-endo
	MP2	195	181	54	81	186	11	C3'-endo
	PBE-PCM	201	171	53	84	192	10	C3'-endo
	MP2-PCM	198	173	52	82	190	12	C3'-endo

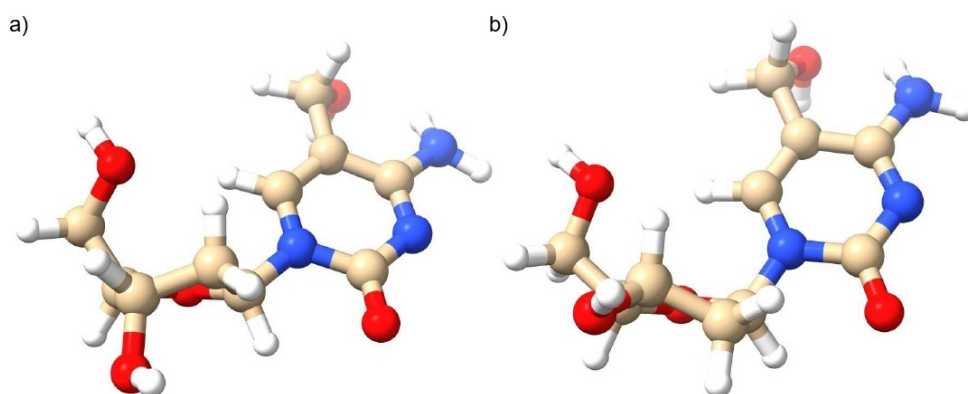


Figura 6.10: Optimización de nucleósidos del isómero 3 de 5hmC con PBE. a) Conformación BB00. b) Conformación AA00.

Tabla 6.22: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 4 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	217	189	56	143	96	161	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	202	185	56	145	179	165	C2'-endo
	BSC1-GB	227	180	56	141	177	158	C2'-endo
	PBE	216	178	53	143	168	165	C2'-endo
	MP2	208	181	53	146	168	163	C2'-endo
	PBE-PCM	231	174	52	146	176	173	C2'-endo
	MP2-PCM	227	175	51	148	176	168	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	202	186	55	81	160	14	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	196	184	56	83	181	16	C3'-endo
	BSC1-GB	217	179	57	82	176	23	C3'-endo
	PBE	197	177	53	83	187	10	C3'-endo
	MP2	195	178	53	81	186	12	C3'-endo
	PBE-PCM	201	171	52	84	192	10	C3'-endo
	MP2-PCM	198	172	52	81	190	12	C3'-endo

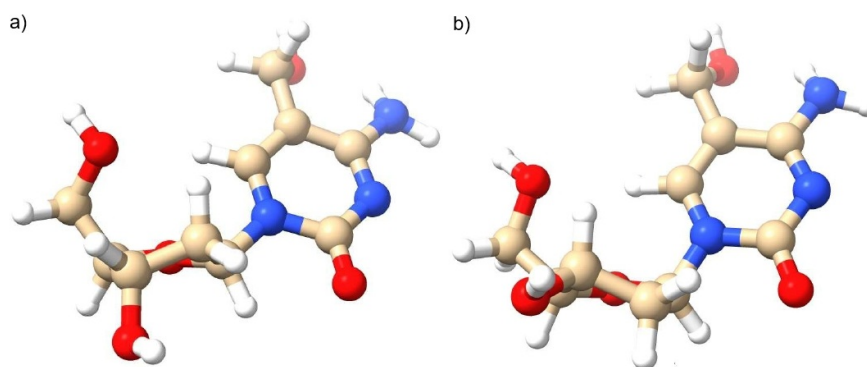


Figura 6.11: Optimización de nucleósidos del isómero 4 de 5hmC con PBE. a) Conformación BB00. b) Conformación AA00.

Para los nucleósidos del isómero 5, se encuentran algunos cambios significativos. En la Tabla 6.23 se muestran los valores de los ángulos de torsión en el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías del nucleósido con el isómero 5 de 5hmC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que existe cambio en el empaquetamiento del azúcar cuando hay una estructura artificial, en los métodos en vacío MP2, con ambas familias conformacionales BB00 y AA00, cambiando a C2'-exo en la conformación AA00 y a C3'-exo en la conformación BB00, así como con el método PBE en conformación AA00, cambiando a C2'-exo su empaquetamiento.

Tabla 6.23: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 5 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1 ¹	219	188	56	144	95	163	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	202	174	53	148	180	176	C2'-endo
	BSC1-GB ¹	227	180	56	141	177	158	C2'-endo
	PBE	233	105	51	142	172	168	C2'-endo
	MP2 ²	184	126	48	152	170	205	C3'-exo
	PBE-PCM	239	120	49	145	175	179	C2'-endo
MP2-MP2	230	160	49	149	175	171	C2'-endo	
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1 ¹	204	186	56	81	161	15	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	195	176	54	84	182	15	C3'-endo
	BSC1-GB ¹	217	179	57	82	176	23	C3'-endo
	PBE ²	181	94	41	90	195	349	C2'-exo
	MP2 ²	181	98	42	88	194	351	C2'-exo
	PBE-PCM	211	91	48	84	193	11	C3'-endo
MP2-PCM	200	97	49	81	191	13	C3'-endo	

¹ Estos nucleósidos se optimizan a un nucleósido del grupo 1.

² Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.12 se observan los nucleósidos del isómero 5 que no cambian empaquetamiento, así como unas estructuras en la que hay cambio del empaquetamiento.

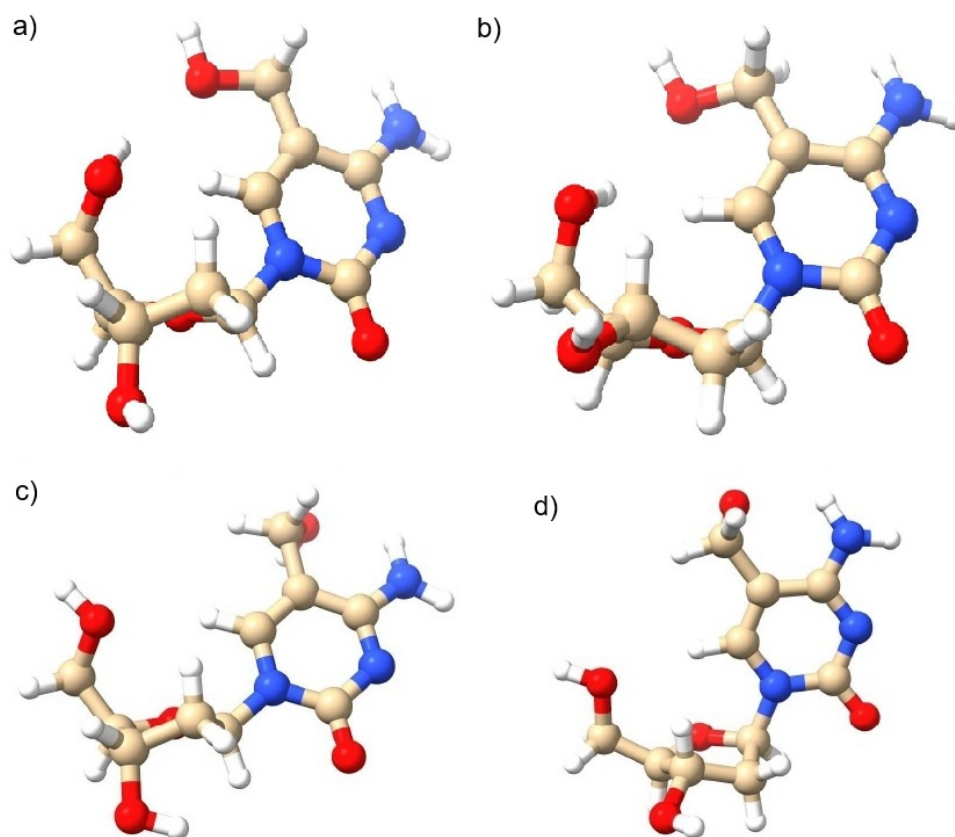


Figura 6.12: Optimización de nucleósidos del isómero 5 de 5hmC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE-PCM. b) Conformación AA00 PBE-PCM. c) Conformación BB00, BSC1, d) Conformación AA00, BSC1. En estos últimos, la base se optimiza al isómero 3.

En la Tabla 6.24 se muestran los valores de los parámetros estructurales de los nucleósidos: ángulos de torsión en el SPB (β , γ , δ y ϵ), el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudo-rotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías del nucleósido con el isómero 6 de 5hmC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Al igual que con el nucleósido del isómero 5, existe un cambio en el empaquetamiento del azúcar cuando hay una estructura artificial. Con los métodos BSC1 y BSC1-POLTEV se dan estas estructuras artificiales, lo que cambia el empaquetamiento del azúcar a C2'-exo.

Tabla 6.24: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 6 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1 ¹	219	188	56	144	95	163	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	203	176	54	147	180	174	C2'-endo
	BSC1-GB	230	180	56	139	177	156	C2'-endo
	PBE	224	134	50	144	171	176	C2'-endo
	MP2	220	148	50	147	171	170	C2'-endo
	PBE-PCM	232	163	50	146	175	176	C2'-endo
	MP2-PCM	228	168	50	148	175	170	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1 ²	180	198	53	86	160	351	C2'-exo
	BSC1-POLTEV ²	183	180	50	86	181	354	C2'-exo
	BSC1-GB	222	179	57	82	176	25	C3'-endo
	PBE	195	98	54	82	189	6	C3'-endo
	MP2	193	105	53	81	188	8	C3'-endo
	PBE-PCM	198	161	52	84	192	8	C3'-endo
	MP2-PCM	195	166	52	81	190	10	C3'-endo

¹ Este nucleósido se optimiza a un nucleósido del grupo 1.

² Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.13 se observan estructuras con empaquetamiento normal, C2'-endo para la conformación BB00 y C3'-endo para la conformación AA00, así como estructuras con cambio en el empaquetamiento

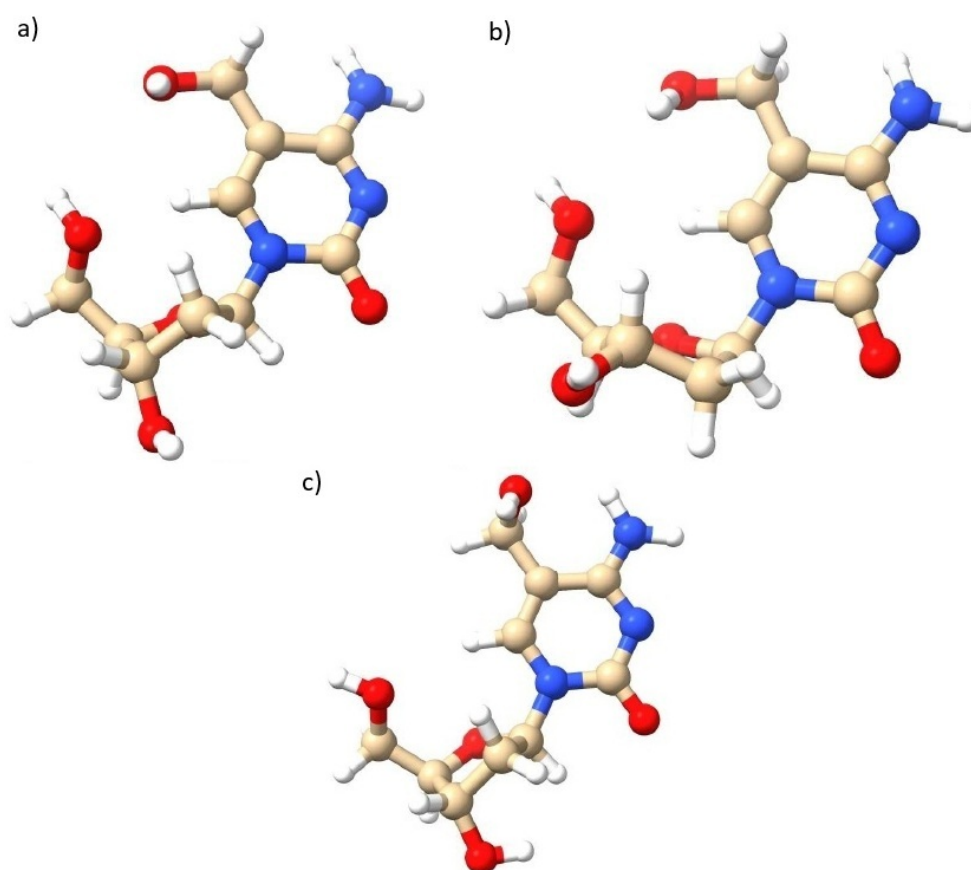


Figura 6.13: Optimización de nucleósidos del isómero 6 de 5hmC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE-PCM. b) Conformación AA00 PBE-PCM. c) Conformación BB00, BSC1. La base se optimiza al isómero 3.

Finalmente, en la Tabla 6.25 se muestran los valores de los parámetros estructurales de los nucleósidos: ángulos de torsión en el SPB (β , γ , δ y ϵ), el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías del nucleósido con el isómero 7 de 5hmC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Así como en los isómeros 5 y 6, cuando existe una estructura artificial, hay un cambio en el empaquetamiento del azúcar. Con los métodos MP2 y PBE-PCM encontramos un cambio en el empaquetamiento al tener estructuras artificiales, siendo C2'-exo el nuevo empaquetamiento.

Tabla 6.25: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 7 de 5hmC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1 ¹	219	189	56	144	96	162	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	203	178	54	147	180	171	C2'-endo
	BSC1-GB	227	180	56	140	177	157	C2'-endo
	PBE	227	147	50	145	170	175	C2'-endo
	MP2	215	161	51	148	169	169	C2'-endo
	PBE-PCM	234	164	50	146	175	175	C2'-endo
	MP2-PCM	231	168	50	148	175	170	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1 ¹	205	186	56	82	161	15	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	196	178	55	84	183	15	C3'-endo
	BSC1-GB	217	179	57	81	176	24	C3'-endo
	PBE	197	101	47	85	193	5	C3'-endo
	MP2 ²	185	109	44	86	194	355	C2'-exo
	PBE-PCM ²	185	99	41	88	194	351	C2'-exo
	MP2-PCM	200	166	52	82	190	12	C3'-endo

¹ Estos nucleósidos se optimizan a un nucleósido del grupo 1.

² Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.14 se muestran estructuras con el empaquetamiento normal, C2'-endo para conformación BB00 y C3'-endo para conformación AA00. Se muestran algunos nucleósidos en donde cambia el empaquetamiento, o que la optimización de la base no coincide con el isómero que se está analizando.

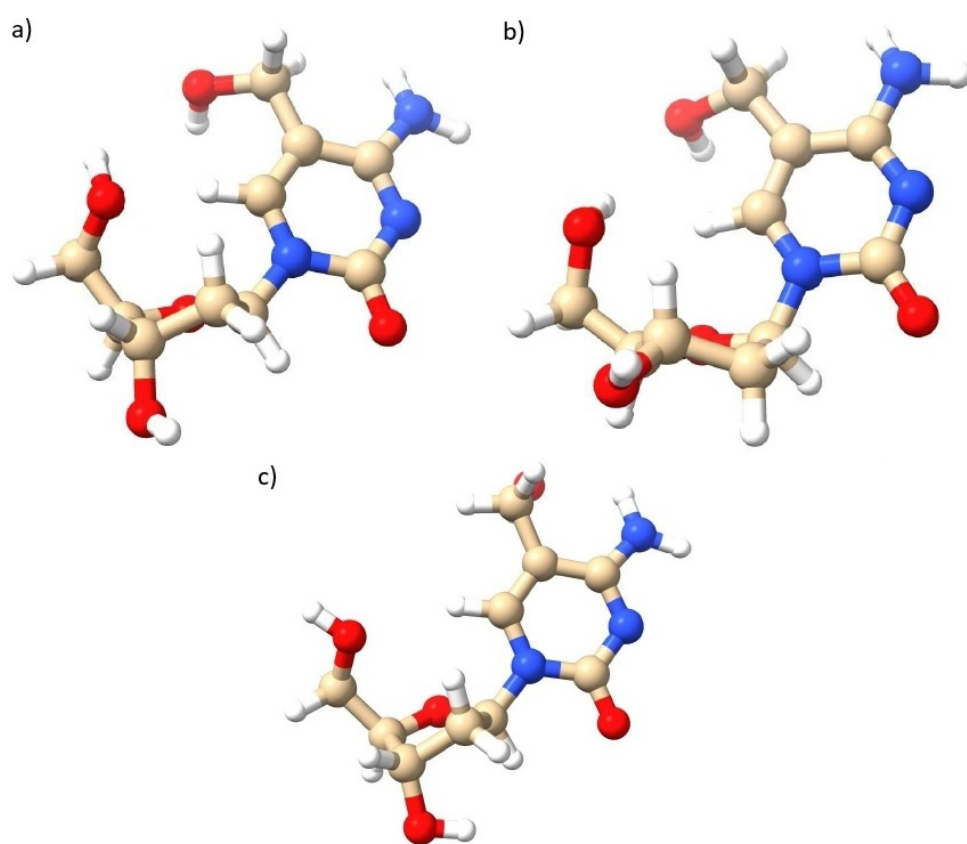


Figura 6.14: Optimización de nucleósidos del isómero 7 de 5hmC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE. b) Conformación AA00 PBE. c) Conformación BB00, BSC1. La base se optimiza en isómero 3.

Recapitulando, se realizaron cálculos de optimización geométrica de isómeros de 5hmC de base aislada con métodos de mecánica cuántica, encontrando 7 isómeros, cuatro de los cuales forman un enlace por puente de hidrógeno entre el grupo hidroximetil y el grupo amino de la base, y tres en los cuales no existe este enlace. Se encuentra que el isómero más favorable pertenece al grupo 1. Además, se encuentra que existen isómeros con la misma energía, en los cuales solo cambia la dirección del grupo hidroximetil.

Así mismo, se realizaron cálculos con todas las metodologías de los pares de bases de estos isómeros de 5hmC con la base complementaria G, encontrando que el par más favorable se da con isómeros en donde no se forma enlace por puente de hidrógeno entre el grupo hidroximetil y el grupo amino. Estructuralmente, no se encuentran cambios en estos pares de bases. Así mismo, vemos que el grupo hidroximetil no altera el apareamiento del par de bases, manteniendo los tres enlaces por puente de hidrógeno presentes en el par canónico G:C.

Para los nucleósidos, se observa que la orientación del grupo hidroximetil es importante, ya que cuando el grupo hidroximetil está orientado hacia 5', el nucleósido es más favorable que cuando está orientado hacia 3'. Para los demás nucleósidos de isómeros de 5hmC que comparten energía en base aislada (isómeros 2 y 4 e isómeros 6 y 7) se encuentran discrepancias entre la metodología utilizada.

En los ángulos de torsión, no existen cambios significativos entre los ángulos γ y δ respecto a los valores promedio de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, encontramos que el ángulo glucosídico χ en la conformación BB00 es más cercano al valor promedio de la familia conformacional BB00 con los métodos en los que se usa solvente implícito, por otro lado, con los métodos en vacío, la diferencia del valor del ángulo χ respecto al valor promedio de la conformación BB00 es mayor a 30° .

Asimismo, se encuentra que la conformación AA00 en vacío es más favorable con los métodos de mecánica cuántica, mientras que la conformación BB00 es más favorable con solvente implícito y los métodos de mecánica molecular.

Por último, se encuentra que existen cambios estructurales en los nucleósidos de isómeros de 5hmC cuando existen estructuras artificiales, cambios que se pueden ver en el empaquetamiento del azúcar. Cuando hay una estructura artificial de conformación BB00, el empaquetamiento cambia a C3'-exo; mientras que, si la estructura artificial es de conformación AA00, el empaquetamiento del azúcar es C2'-exo.

Parte de estos resultados se usarán en la sección 6.6 para la comparación con C canónica.

6.4. 5-formilcitosina

Para la modificación 5fC (*1-metil-5-formil-citosina*) se encontraron dos isómeros estables con los métodos de mecánica cuántica, los cuales se muestran en la Figura 6.15, en uno de ellos existe un enlace por puente de hidrógeno entre el oxígeno del grupo formil y un hidrógeno del grupo amino presente en la citosina canónica; mientras que en el segundo isómero no está presente este enlace.

También con 5fC se buscó la existencia de otros isómeros al modificar la posición del grupo formil, como, por ejemplo, colocar el oxígeno fuera del plano de la base, sin embargo, todos terminaban por optimizar a uno de los 2 isómeros que se ven en la Figura 6.15.

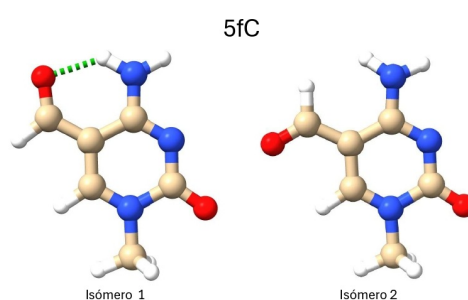


Figura 6.15: Isómeros de 5fC calculados con el funcional PBE.

En la Tabla 6.26 se muestran las energías de las bases aisladas de 5fC obtenidas con los cálculos de mecánica cuántica, así como las diferencias de energía respecto al isómero más favorable, identificado como isómero 1.

Se observa que la diferencia de energía entre ambos isómeros es de hasta 7.1 kcal/mol con los métodos de mecánica cuántica en vacío, y con solvente implícito esta diferencia se reduce hasta 6.1 kcal/mol.

Tabla 6.26: Energías totales de los isómeros de 5fC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica. Se muestra la diferencia de energía respecto al isómero más favorable, denominado como isómero 1.

5fC	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM	
	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]
Isómero 1	-343218.7	0.0	-342633.0	0.0	-343228.8	0.0	-342643.5	0.0
Isómero 2	-343211.6	7.1	-342627.0	6.0	-343222.7	6.1	-342638.1	5.3

Asimismo, se realizaron cálculos de los pares de bases de los dos isómeros de 5fC con la base canónica G utilizando todas las metodologías. En la Figura 6.16 se muestran las estructuras de los pares de bases de ambos isómeros. Al igual que con las modificaciones anteriores, se observa la formación de 3 enlaces por puente de hidrógeno, al igual que el par canónico G:C, por lo que el grupo formil no interfiere en el apareamiento de las bases.

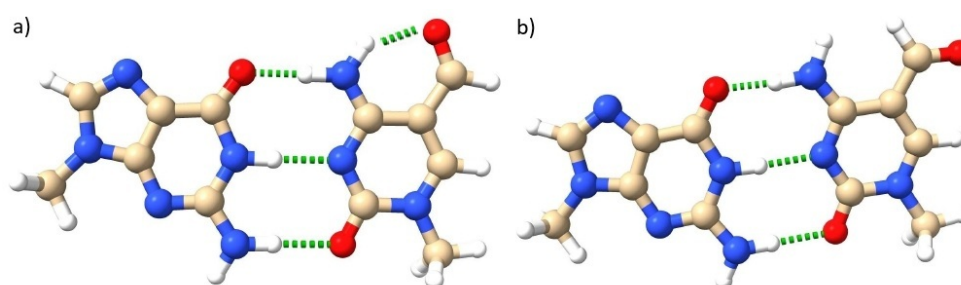


Figura 6.16: Par de bases de los isómeros de 5fC y guanina canónica obtenidos con el funcional PBE. a) G:5fC isómero 1. b) G:5fC isómero 2.

En la Tabla 6.27 se muestran las energías de interacción de los pares de bases de los dos isómeros de 5fC y guanina canónica, obtenidas con todas las metodologías. Las energías más favorables con cada método se indican en negritas.

Al igual que con 5hmC, el par más favorable no se da con el isómero más favorable, sino que con el que no forma enlace por puente de hidrógeno entre el grupo formil y el grupo amino. Con los métodos de mecánica cuántica en vacío, la diferencia de energía entre el par más favorable y el menos favorable es de hasta 1.7 kcal/mol, mientras que con solvente implícito la diferencia de energía disminuye a 0.4 kcal/mol con el método PBE-PCM; por otro lado, con MP2-PCM ambos pares tienen la misma energía de interacción. Así mismo, con los métodos de mecánica molecular, la diferencia de energía entre el par más favorable y el menos favorable en vacío es de hasta 2.2 kcal/mol, mientras que, con solvente implícito, ambos pares tienen la misma energía.

Tabla 6.27: Energías de interacción de los pares de bases de los dos isómeros de 5fC con la base canónica G obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. En negritas se indican los pares de bases más favorables con cada método.

G:5fC	Energía de interacción [kcal/mol]						
	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
Isómero 1	-28.6	-28.4	-20.1	-19.9	-25.8	-15.3	-23.0
Isómero 2	-30.3	-29.1	-20.5	-19.9	-28.0	-15.3	-23.4

En la Tabla 6.28 se presentan las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno presentes en los pares de bases, así como las distancias C1'...C1' obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se observa que no existen diferencias significativas en dichas distancias.

Tabla 6.28: Distancias de los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases de los diferentes isómeros de 5fC y la base canónica guanina obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se muestra la distancia C1'...C1'.

G:5fC	Enlace de hidrógeno[Å]							
	H-Bond	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
Isómero 1	O6...H-N4	1.74	1.79	1.81	1.86	1.81	1.87	1.88
	N1-H...N3	1.89	1.92	1.88	1.91	1.94	1.98	1.99
	N2-H...O2	1.92	1.96	1.87	1.90	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.79	10.73	10.78	10.72	10.73	10.78	10.77
Isómero 2	O6...H-N4	1.70	1.76	1.78	1.85	1.79	1.86	1.87
	N1-H...N3	1.90	1.93	1.89	1.92	1.95	2.00	2.01
	N2-H...O2	1.91	1.95	1.85	1.90	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.78	10.72	10.77	10.70	10.72	10.76	10.75

En la Tabla 6.29 se muestran las diferencias de energía de los nucleósidos de los isómeros de 5fC calculados con los métodos de mecánica cuántica en vacío y con solvente implícito, en las familias conformacionales BB00 y AA00. En nucleósido del isómero 2 se encuentran dos estructuras artificiales, marcadas en negritas.

Con los métodos de mecánica cuántica en vacío, se observa que la conformación AA00 es más favorable, con una diferencia de hasta 1.4 kcal/mol respecto a la conformación BB00. Por otro lado, con solvente implícito, obtienen resultados distintos, con el método PBE-PCM la conformación más favorable es la AA00, con una diferencia de 0.4 kcal/mol respecto a la conformación BB00, mientras que con el método MP2-PCM, para el nucleósido del isómero 1 de 5fC ambas conformaciones comparten energía, y para el nucleósido del isómero 2, la conformación más favorable es la BB00, con una diferencia de energía respecto a la conformación AA00 de 0.2 kcal/mol.

Tabla 6.29: Energías de nucleósidos de los dos isómeros de la base 5fC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica cuántica. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

5fC	PBE			MP2			PBE-PCM			MP2-PCM		
	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]
	BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00	
Isómero 1	-582454.7	-582455.6	-0.9	-581485.8	-581486.7	-0.8	-582468.6	-582468.9	-0.3	-581500.2	-581500.2	0.0
Isómero 2	-582448.1	-582449.5	-1.4	-581480.0	-581480.5	-0.6	-582462.3	-582462.7	-0.4	-581494.6	-581494.4	0.2

Por otro lado, en la Tabla 6.30 se muestran las diferencias de energías de los nucleósidos del isómero 2 respecto al nucleósido del isómero 1, empleando los métodos de mecánica cuántica.

Se observa que el nucleósido del isómero 1 es más favorable, con una diferencia de hasta 6.6 kcal/mol respecto al nucleósido del isómero 2, con todos los métodos de mecánica cuántica. De igual forma que con 5hmC, se observa que, aunque existen estructuras artificiales del nucleósido del isómero 2 de 5fC, el nucleósido con el isómero 1 es más favorable.

Tabla 6.30: Diferencias de energía de los nucleósidos con los isómeros de 5fC respecto al nucleósido con el isómero 1 de 5fC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica.

5fC	ΔE [kcal/mol]							
	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Isómero 1	0	0	0	0	0	0	0	0
Isómero 2	6.6	6.1	5.9	6.1	6.3	6.2	5.6	5.8

Asimismo, en la Tabla 6.31 se muestran las diferencias en las energías de los nucleósidos de los isómeros de 5fC entre las diferentes familias conformacionales BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica molecular, en los cuales se encuentra que, en vacío, la conformación más favorable corresponde a la familia BB00, con una diferencia de energía respecto a la conformación AA00 de hasta 2.5 kcal/mol, mientras que con GB, la diferencia de energía respecto a la conformación AA00 es de hasta 1.6 kcal/mol, siendo igualmente la conformación BB00 la más favorable.

Tabla 6.31: Energías de nucleósidos de los diferentes isómeros de la base 5fC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica molecular. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

5fC	BSC1			BSC1-GB			BSC1-POLTEV		
	E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE	E[kcal/mol]		ΔE
	BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]	BB00	AA00	[kcal/mol]
Isómero 1	-138.5	-137.6	1.0	-54.1	-52.9	1.2	-176.9	-176.2	0.7
Isómero 2	-130.5	-128.1	2.5	-50.4	-48.7	1.6	-174.8	-173.9	0.8

En la Tabla 6.32 se presentan las diferencias de energía de los nucleósidos del isómero 2 respecto al nucleósido del isómero 1 obtenidos con los métodos de mecánica molecular.

Se observa que el nucleósido del isómero 1 de 5fC es el más favorable, con una diferencia de hasta 9.5 con respecto al nucleósido del isómero 2, con los métodos en vacío. Con solvente implícito, se observa una diferencia de hasta 4.2 kcal/mol con respecto al nucleósido del isómero 2 de 5fC.

Tabla 6.32: Diferencias de energía de los nucleósidos con los isómeros de 5fC respecto al nucleósido con el isómero 1 de 5fC obtenidas con los métodos de mecánica molecular.

5fC	ΔE [kcal/mol]					
	BSC1		BSC1-POLTEV		BSC1-GB	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Isómero 1	0	0	0	0	0	0
Isómero 2	8.0	9.5	1.5	3.7	4.2	0.5

En la Tabla 6.33 se muestran los valores de los ángulos de torsión en el SPB de los nucleósidos (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías del nucleósido del isómero 1 de 5fC. Asimismo, se muestran los valores promedio de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , con todos los métodos empleados, no presentan cambios significativos respecto a los valores promedio correspondientes a las conformaciones BB00 y AA00. Para el ángulo glucosídico χ de la conformación BB00 en vacío, al igual que con las modificaciones anteriores, presenta mayor diferencia respecto a los valores promedio, con un valor de 59° para los métodos BSC1-POLTEV y MP2. De igual forma, con solvente implícito, los valores del ángulo χ son más cercanos al promedio, aunque aún por encima de las regiones consideradas para la familia BB00 con diferencias de hasta 31°.

De igual forma, para este nucleósido no se encuentran diferencias en el empaquetamiento del azúcar obtenido con todas las metodologías, siendo C2'-endo para la conformación BB00 y C3'-endo para la conformación AA00.

Tabla 6.33: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 1 de 5fC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	222	194	53	142	67	164	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	199	187	57	148	181	175	C2'-endo
	BSC1-GB	228	180	54	135	182	152	C2'-endo
	PBE	207	179	56	144	169	169	C2'-endo
	MP2	199	181	55	148	169	172	C2'-endo
	PBE-PCM	228	175	53	146	176	175	C2'-endo
	MP2-PCM	226	176	52	148	176	170	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	209	187	54	84	171	17	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	194	185	56	84	182	13	C3'-endo
	BSC1-GB	223	180	56	86	181	27	C3'-endo
	PBE	197	178	54	84	189	9	C3'-endo
	MP2	194	181	54	81	188	10	C3'-endo
	PBE-PCM	200	171	54	85	193	8	C3'-endo
	MP2-PCM	197	173	53	82	191	11	C3'-endo

Por otro lado, en la Figura 6.17 se muestran los nucleósidos del isómero 1 de 5fC en ambas

conformaciones obtenidos con el funcional PBE en vacío; con las demás metodologías se encuentra estructuras similares.

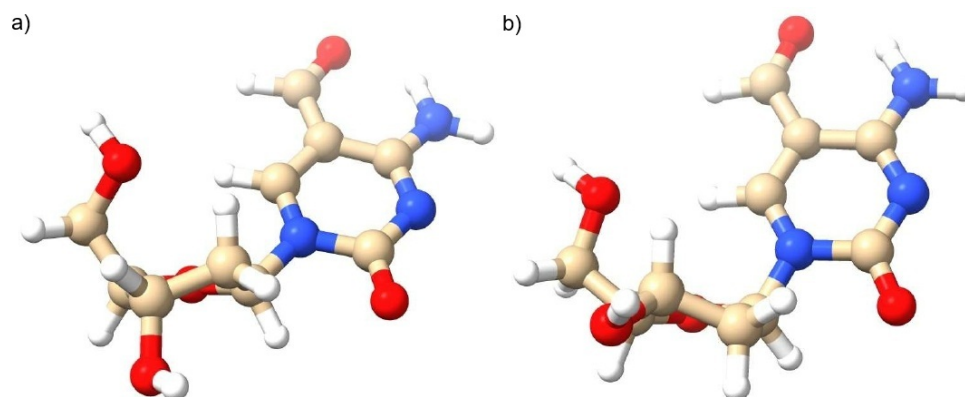


Figura 6.17: Optimización de nucleósidos del isómero 1 de 5fC PBE. a) Conformación BB00. b) Conformación AA00.

En la Tabla 6.34 se muestran los valores de los ángulos de torsión en el SPB de los nucleósidos (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con todas las metodologías del nucleósido del isómero 2 de 5fC. Asimismo, se muestran los valores promedio de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Al igual que todos los nucleósidos analizados hasta ahora los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , con todos los métodos empleados, no presentan cambios significativos respecto a los valores promedio correspondientes a las conformaciones BB00 y AA00. También se observan cambios significativos en el ángulo glucosídico χ de la conformación BB00 en vacío, con una diferencia respecto a los valores promedio de 59° para el método BSC1-POLTEV. De igual forma, con solvente implícito, los valores del ángulo χ son más cercanos al promedio, aunque aún por encima de las regiones consideradas para la familia BB00 con diferencias de hasta 31° .

También encontramos diferencias en el empaquetamiento del azúcar. Cuando se presenta una estructura artificial, en la conformación AA00, el empaquetamiento cambia a C2'-exo con los métodos de mecánica cuántica en vacío y el método de mecánica molecular BSC1-POLTEV, y en la conformación BB00, el empaquetamiento cambia a C3'-exo con el método PBE en vacío y BSC1-POLTEV, y a C1'-exo con el método BSC1.

Tabla 6.34: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 2 de 5fC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	223	173	48	145	65	170	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	199	178	55	149	181	182	C3'-exo
	BSC1-GB	227	179	53	130	182	141	C1'-exo
	PBE	226	140	49	146	173	181	C3'-exo
	MP2	212	154	51	148	171	173	C2'-endo
	PBE-PCM	230	163	51	147	176	177	C2'-endo
	MP2-PCM	228	171	51	149	176	170	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	214	173	53	86	178	22	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	187	176	53	89	183	358	C2'-exo
	BSC1-GB	227	179	56	85	182	35	C3'-endo
	PBE ¹	186	12	43	91	197	348	C2'-exo
	MP2 ¹	188	120	45	88	195	356	C2'-exo
	PBE-PCM	200	105	48	85	194	6	C3'-endo
	MP2-PCM	198	116	50	83	192	11	C3'-endo

¹ Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.18 se muestran algunos nucleósidos del isómero 2 de 5fC, en los cuales se tiene algunos cambios estructurales, sobre todo con el empaquetamiento del azúcar.

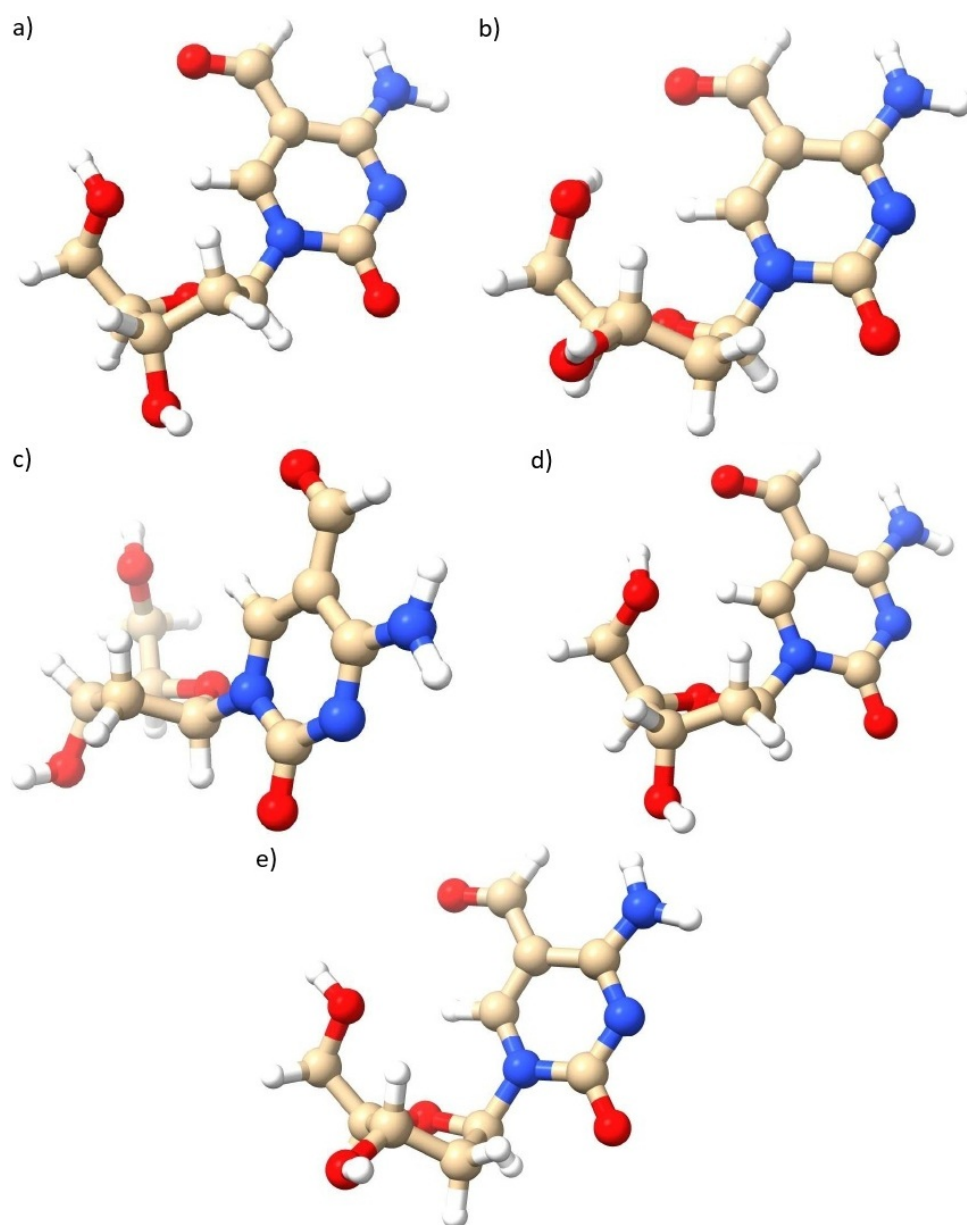


Figura 6.18: Optimización de nucleósidos del isómero 2 de 5fC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE-PCM. b) Conformación AA00 PBE-PCM. c) Conformación BB00, BSC1-GB. El empaquetamiento del azúcar es C1'-exo. d) Conformación BB00, PBE. Conformación del azúcar es C3'-exo. e) Conformación AA00, BSC1-POLTEV. Empaquetamiento del azúcar es C2'-exo.

En resumen, con los métodos de mecánica cuántica se encontraron 2 isómeros estables para la base aislada 5fC, el primero en donde hay un enlace por puente de hidrógeno entre el grupo formil y el grupo amino de la base, y que resulta ser más favorable que el segundo, en el cual no existe este enlace.

Para los pares de bases de los isómeros de 5fC con la base canónica guanina, se encuentra que, en la mayoría de los métodos, la interacción con el isómero 2 es el más favorable, excepto con los métodos MP2-PCM y BSC1-GB, en los cuales ambos pares de bases tienen la misma energía. Estructuralmente, no se encuentran cambios significativos en estos pares relacionados con los enlaces por puente de hidrógeno y las distancias C1'...C1'. De igual manera, vemos que el grupo formil no modifica el apareamiento de las bases.

Por otro lado, se observa que en los nucleósidos de los isómeros de 5fC, el nucleósido más favorable es el nucleósido del isómero 1, al igual que con las bases aisladas. Asimismo, se encuentra que en vacío la conformación más favorable es la conformación AA00 con los métodos de mecánica cuántica. Con PCM, se encuentra que con PBE-PCM la conformación más favorable es AA00, mientras que con MP2-PCM se encuentra que con el nucleósido con el isómero 2 de 5fC, la conformación BB00 es más favorable, y para el nucleósido del isómero 1 de 5fC, ambas conformaciones comparten sus valores de energía. Con los métodos de mecánica molecular se encuentra que la conformación más favorable, en vacío y con GB es la conformación BB00.

Por último, para el nucleósido con el isómero 1 no se encuentra muchas diferencias en cuanto a estructura en los ángulos de torsión y el empaquetamiento del azúcar, mientras que para el isómero 2, se encuentran cambios en el empaquetamiento del azúcar, aún y cuando no hay enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, encontrando empaquetamientos C1'-exo, C2'-exo y C3'-exo.

Estos resultados serán comparados en la sección 6.6 con los obtenidos para citosina canónica.

6.5. 5-carboxilcitosina

La última de las modificaciones que se estudiaron fue 5caC (*1-metil-5-carboxil-citosina*). De los cálculos realizados para la base aislada de esta modificación, se encontraron seis isómeros estables, con los métodos de mecánica cuántica, los cuales se muestran en la Figura 6.19. En todos los isómeros se observa la formación de un enlace por puente de hidrógeno entre el grupo carboxil y el grupo amino ya presente en la citosina canónica.

Los isómeros pueden clasificarse de acuerdo con la orientación del grupo =O del grupo carboxil. En el primer grupo de isómeros, el =O del grupo carboxil es el que forma el enlace por puente de hidrógeno con el grupo amino. En este grupo se encuentra el isómero más favorable, en el cual, el grupo carboxil se encuentra en el mismo plano de la base. Se observan otros dos isómeros en este grupo, en los cuales el grupo carboxil está fuera del plano de la base.

Para el segundo grupo de isómeros, el -OH del grupo carboxil es el que forma el enlace por puente de hidrógeno con el grupo amino. El isómero 4 mantiene el grupo carboxil en el plano de la base, mientras que con los isómeros 5 y 6, el grupo carboxil está fuera del plano de la base. Cabe destacar que, en estos dos últimos isómeros el enlace por puente de hidrógeno se forma entre el hidrógeno del grupo carboxil y el nitrógeno del grupo amino a diferencia de los isómeros anteriores, donde el enlace por puente de hidrógeno se forma entre el oxígeno del grupo carboxil y un hidrógeno del grupo amino. Al igual que con 5hmC y 5fC, se intentó optimizar otros posibles isómeros, pero todos terminaban en alguno de estos seis.

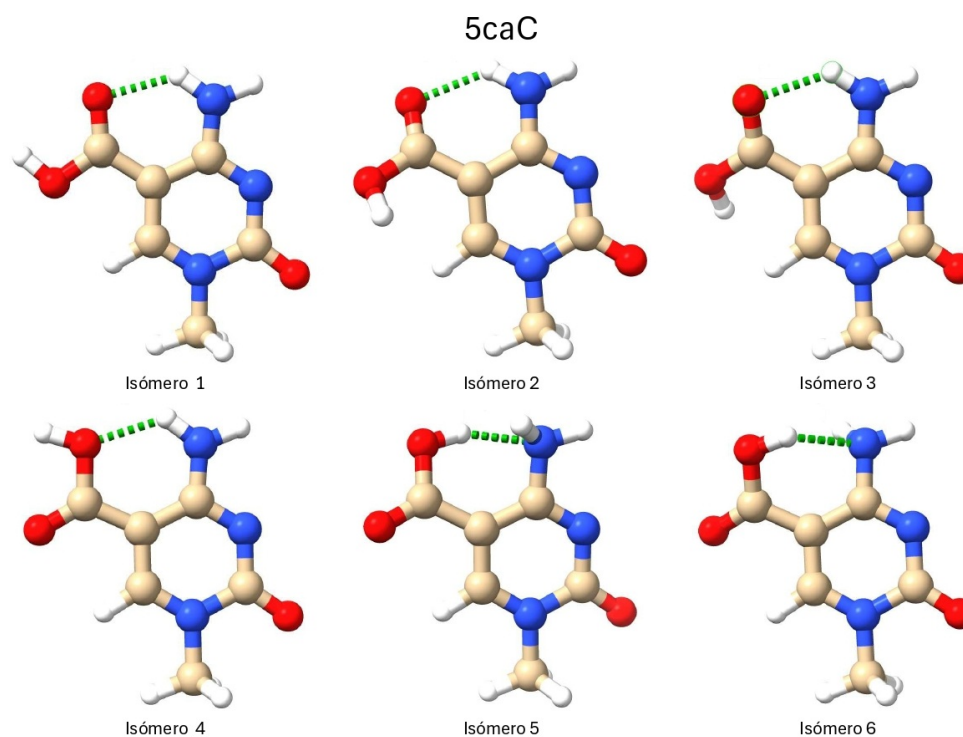


Figura 6.19: Isómeros de 5caC.

En la tabla 6.35 se muestran los resultados de la energía de estos isómeros obtenida con los

métodos de mecánica cuántica, tanto en vacío como con solvente implícito. Se muestra la diferencia de energía respecto al isómero más favorable, denominado isómero 1.

Para los isómeros del primer grupo, se observan diferencias de energías significativas, con valores de hasta 9.0 kcal/mol entre el isómero 1 y los isómeros 2 y 3 en vacío, mientras que, con solvente implícito, estas diferencias se reducen hasta 6.2 kcal/mol. Además, la diferencia más grande en energías entre el isómero más favorable (isómero 1) y los menos favorables (isómeros 5 y 6), es de hasta 9.6 kcal/mol en vacío y de hasta 7.7 kcal/mol con solvente implícito. Así mismo, la diferencia de energía entre los isómeros más favorables de ambos grupos, isómero 1 e isómero 4, es de hasta 2.6 kcal/mol en vacío y se reduce hasta 2.0 kcal/mol con PCM.

Tabla 6.35: Energías totales de los isómeros encontrados para 5caC y su diferencia respecto al isómero más favorable, denominado como isómero 1, obtenidas con la metodología de mecánica cuántica.

5caC	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM	
	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]
Isómero 1	-390392.3	0.0	-389739.9	0.0	-390402.7	0.0	-389750.5	0.0
Isómero 2	-390383.6	8.7	-389730.8	9.0	-390396.9	5.8	-389744.4	6.2
Isómero 3	-390383.6	8.7	-389730.8	9.0	-390396.9	5.8	-389744.4	6.2
Isómero 4	-390389.7	2.6	-389737.5	2.3	-390400.7	2.0	-389748.8	1.8
Isómero 5	-390382.7	9.6	-389731.0	8.8	-390395.0	7.7	-389743.4	7.1
Isómero 6	-390382.7	9.6	-389731.0	8.8	-390395.0	7.7	-389743.4	7.1

Asimismo, en la Tabla 6.36 se observan algunos parámetros estructurales relevantes para estos isómeros: distancia del enlace por puente de hidrógeno entre el oxígeno del grupo carboxil y un hidrógeno del grupo amino (d_{OH}), distancia del enlace por puente de hidrógeno entre el hidrógeno del grupo carboxil y el nitrógeno del grupo amino (d_{NH}), para los dos últimos isómeros, y el ángulo de torsión que indica la orientación del grupo -OH del carboxil (τ) respecto al plano de la base. En el caso de los isómeros 5 y 6, también se muestra la distancia d_{OH} para determinar si se forma enlace por puente de hidrógeno entre estos átomos.

Al igual de lo observado para 5hmC, se obtienen isómeros que comparten la energía, como los isómeros 2 y 3, y los isómeros 5 y 6, pero la orientación del -OH del grupo carboxil es diferente en estos isómeros.

Por otro lado, se observa en la Tabla 6.36 que no se forman enlaces por puente de hidrógeno entre el oxígeno del grupo carboxil y uno de los hidrógenos del grupo amino, obteniendo distancias mayores a 2.5 Å, lo cual excede los valores para este tipo de enlace.

Tabla 6.36: Parámetros estructurales de los mínimos de 5caC: distancia entre O5 y HN4 (d_{OH}), distancia entre HO5 y N4 (d_{NH}) y ángulo de torsión entre los átomos C4-C5-CC5-O5 (τ).

5caC	PBE			MP2			PBE-PCM			MP2-PCM		
	d_{OH} [Å]	d_{NH} [Å]	τ [°]	d_{OH} [Å]	d_{NH} [Å]	τ [°]	d_{OH} [Å]	d_{NH} [Å]	τ [°]	d_{OH} [Å]	d_{NH} [Å]	τ [°]
Isómero 1	1.94	-	0.0	2.00	-	0.0	1.94	-	0.0	1.99	-	0.0
Isómero 2	1.92	-	17.8	2.02	-	26.5	1.92	-	14.8	2.01	-	24.9
Isómero 3	1.92	-	-17.8	2.02	-	-26.5	1.92	-	-14.8	2.01	-	-24.9
Isómero 4	1.99	-	180.0	2.01	-	177.7	1.99	-	-180.0	1.99	-	180.0
Isómero 5	2.56	1.98	-161.5	2.56	2.01	-159.0	2.59	1.96	-160.1	2.58	2.00	-156.9
Isómero 6	2.56	1.98	161.5	2.56	2.01	159.0	2.59	1.96	160.1	2.58	2.00	156.9

Por otro lado, se realizaron optimizaciones de los pares de bases de los seis isómeros de 5caC con la guanina canónica, empleando todas las metodologías. En la Figura 6.20 se observan los pares de bases de guanina canónica con los isómeros 1 de 5caC, el cual es el más favorable y el isómero 4 de 5caC, el cual presenta las energías de interacción más favorables entre todos los isómeros de 5caC analizados. Al igual que con todas las modificaciones analizadas previamente, se observa la formación de tres enlaces por puente de hidrógeno entre las bases, al igual que el par canónico G:C, por lo que se observa que el grupo carboxil tampoco interfiere en el apareamiento de las bases.

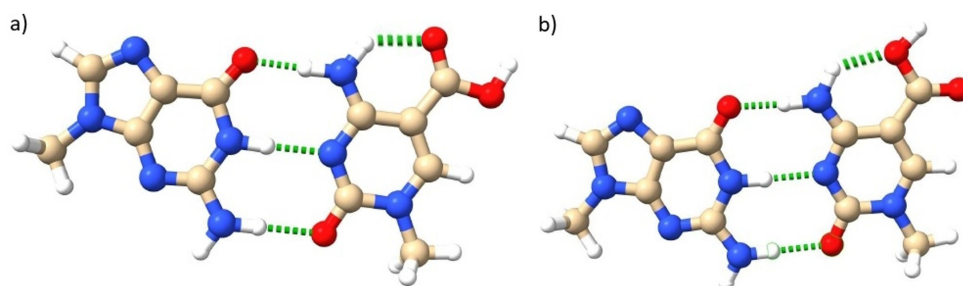


Figura 6.20: Par de bases G:5caC. Optimización realizada con PBE. a) Par de bases G:5hmC isómero 1, el cual es el mínimo más favorable en base aislada. b) Par de bases G:5caC isómero 4. Este últimos el par más favorable.

En la Tabla 6.37 se presentan las energías de interacción correspondiente a los pares de bases formados con todos los isómeros de 5caC y guanina, calculadas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. En negritas se indican las energías más favorables con cada método implementado.

Se observa que el par más favorable, con los métodos de mecánica cuántica, se da con el isómero 4, con una diferencia de energía con el menos favorable de hasta 1.6 kcal/mol en vacío y de 1.2 kcal/mol con el método PBE-PCM; con el método MP2-PCM tanto el par formado por el isómero 1 de 5caC y guanina como el par formado por el isómero 4 de 5caC y guanina son los más favorables.

Por otro lado, con los métodos de mecánica molecular presentan más cambios dependiendo de la metodología empleada. Con el método BSC1, los pares de bases con los isómeros 5 y 6 de 5caC son los más favorables, con una diferencia de 2.7 kcal/mol respecto al isómero menos favorable, con POLTEV el par más favorable es el isómero 6, con una diferencia de 1.2 kcal/mol con el menos favorable y con el método BSC1-GB, se tiene 2 pares más favorables, con los isómeros 1 y 4, y aquí la diferencia de energía se reduce bastante, con 0.1 kcal/mol de diferencia respecto a los menos favorables.

Tabla 6.37: Energías de interacción de los pares de bases de los diferentes isómeros de 5caC con la base canónica guanina obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. En negritas se indican los pares de bases más favorables con cada método.

G:5caC	Energía de interacción [kcal/mol]						
	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
Isómero 1	-29.2	-28.8	-20.4	-20.1	-26.1	-15.3	-24.2
Isómero 2	-28.6	-28.0	-20.2	-19.9	-25.1	-15.2	-23.6
Isómero 3	-28.6	-28.1	-20.2	-19.9	-25.1	-13.6*	-23.6
Isómero 4	-30.0	-29.2	-20.5	-20.1	-26.7	-15.3	-24.1
Isómero 5	-28.8	-27.6	-19.3	-18.8	-27.8	-15.2	-24.5
Isómero 6	-28.8	-27.6	-19.3	-18.8	-27.8	-15.2	-24.8

* La base aislada 5caC se optimiza al isómero 1.

En la Tabla 6.38 se presentan las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno de estos pares de bases calculados con todos los métodos, además de las distancias C1'...C1'. Se observa que no existen cambios significativos en estas distancias.

Tabla 6.38: Distancias de los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases de los distintos isómeros de 5caC y la base canónica G obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se muestra la distancia C1'...C1'.

G:5caC	Enlace de hidrógeno[Å]							
	H-Bond	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
Isómero 1	O6...H-N4	1.74	1.79	1.81	1.86	1.81	1.86	1.87
	N1-H...N3	1.90	1.93	1.89	1.91	1.94	1.99	1.99
	N2-H...O2	1.90	1.94	1.85	1.90	1.81	1.93	1.86
	C1'...C1'	10.77	10.72	10.77	10.71	10.73	10.77	10.81
Isómero 2	O6...H-N4	1.74	1.78	1.81	1.86	1.81	1.86	1.87
	N1-H...N3	1.90	1.94	1.89	1.91	1.95	2.00	2.00
	N2-H...O2	1.91	1.95	1.86	1.91	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.76	10.73	10.76	10.70	10.72	10.76	10.80
Isómero 3	O6...H-N4	1.74	1.79	1.81	1.86	1.81	1.86	1.86
	N1-H...N3	1.90	1.93	1.89	1.91	1.95	2.00	1.99
	N2-H...O2	1.92	1.96	1.86	1.91	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.76	10.71	10.76	10.70	10.72	10.76	10.81
Isómero 4	O6...H-N4	1.73	1.78	1.80	1.86	1.80	1.86	1.86
	N1-H...N3	1.90	1.94	1.90	1.92	1.95	2.00	2.00
	N2-H...O2	1.89	1.94	1.84	1.89	1.81	1.83	1.85
	C1'...C1'	10.76	10.71	10.76	10.70	10.72	10.76	10.80
Isómero 5	O6...H-N4	1.71	1.78	1.80	1.86	1.78	1.86	1.86
	N1-H...N3	1.91	1.94	1.90	1.93	1.96	2.00	2.00
	N2-H...O2	1.92	1.97	1.87	1.92	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.74	10.70	10.74	10.70	10.69	10.75	10.79
Isómero 6	O6...H-N4	1.72	1.78	1.80	1.86	1.78	1.86	1.86
	N1-H...N3	1.91	1.94	1.90	1.93	1.96	2.00	2.00
	N2-H...O2	1.92	1.97	1.87	1.92	1.81	1.83	1.85
	C1'...C1'	10.74	10.71	10.74	10.70	10.69	10.75	10.80

Por otro lado, se realizaron cálculos de los nucleósidos de todos los isómeros de 5caC en las conformaciones de las familias BB00 y AA00, empleando métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular.

En la Tabla 6.39 se muestran las diferencias en las energías entre las familias conformacionales BB00 y AA00 con los métodos de mecánica cuántica tanto en vacío como con solvente implícito. Algunas de las estructuras son artificiales. Estas estructuras se indican en negritas.

Se observa que, con los métodos de mecánica cuántica en vacío, los nucleósidos con la conformación AA00 son más favorables. Cuando no hay estructuras artificiales involucradas en ambas conformaciones, la diferencia de energía es de hasta 1.1 kcal/mol. Al igual que con 5fC, se encuentra que con PBE-PCM, sin estructuras artificiales, los nucleósidos más favorables corresponden a la familia conformacional es AA00, con una diferencia de

energía de hasta 0.3 kcal/mol. Por otro lado, con MP2-PCM, sin estructuras artificiales, los nucleósidos con la familia conformacional BB00 son los más favorables, con una diferencia de hasta 0.3 kcal/mol.

Tabla 6.39: Energías de nucleósidos de los diferentes isómeros de la base 5caC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica cuántica. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

5caC	PBE			MP2			PBE-PCM			MP2-PCM		
	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]
	BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00	
Isómero 1	-629627.9	-629629.0	-1.1	-628592.3	-628592.9	-0.5	-629642.5	-629642.5	0.0	-628607.4	-628607.1	0.3
Isómero 2	-629621.9	-629624.9	-3.0	-628586.3	-628589.1	-2.8	-629638.4	-629641.6	-3.2	-628604.2	-628605.7	-1.4
Isómero 3	-629621.9	-629624.9	-3.0	-628584.8	-628589.1	-4.3	-629638.4	-629641.6	-3.2	-628604.2	-628605.7	-1.4
Isómero 4	-629626.1	-629627.3	-1.3	-628590.4	-628591.4	-0.9	-629640.4	-629640.7	-0.3	-628605.5	-628605.3	0.2
Isómero 5	-629619.3	-629621.1	-1.8	-628584.1	-628585.5	-1.4	-629634.6	-629634.8	-0.2	-628599.9	-628599.6	0.2
Isómero 6	-629619.7	-629620.3	-0.7	-628584.5	-628584.8	-0.3	-629634.8	-629634.9	-0.2	-628600.1	-628599.9	0.3

Asimismo, en la Tabla 6.40 se muestran las diferencias de energías de todos los nucleósidos de isómeros de 5caC con respecto al nucleósido del isómero 1, empleando los métodos de mecánica cuántica.

Se observa que el nucleósido con el isómero 1 es el más favorable con todos los métodos de mecánica cuántica. Al igual que con las modificaciones 5hmC y 5fC, a pesar de que existen estructuras artificiales de los nucleósidos de los demás isómeros, el nucleósido con el isómero 1 es el más favorable.

Tabla 6.40: Diferencias de energía de los nucleósidos con los isómeros de 5caC respecto al nucleósido con el isómero 1 de 5caC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica.

5caC	ΔE [kcal/mol]								
	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM		
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	
Isómero 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Isómero 2	6.1	4.1	6.0	3.7	4.1	0.9	3.1	1.4	
Isómero 3	6.1	4.1	7.5	3.7	4.1	0.9	3.1	1.4	
Isómero 4	1.8	1.7	1.9	1.5	2.2	1.8	1.9	1.8	
Isómero 5	8.6	7.9	8.2	7.4	8.0	7.7	7.5	7.4	
Isómero 6	8.3	8.7	7.8	8.0	7.8	7.6	7.2	7.2	

Por otro lado, en la Tabla 6.41 se muestran las diferencias en las energías de los nucleósidos de los isómeros de 5caC entre las familias conformacionales BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente implícito.

Se observa con todos los métodos empleados, el nucleósido con la conformación BB00 es la más favorable, con una diferencia de hasta 2.5 kcal/mol, sin considerar estructuras artificiales. Con BSC1-POLTEV se reduce esta diferencia de energías, con valores de hasta 1.5 kcal/mol. Mientras que con el método BSC1-GB se reducen aún más estas diferencias, con valores de hasta 0.9 kcal/mol.

Tabla 6.41: Energías de nucleósidos de los diferentes isómeros de la base 5hmC, en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidas con los métodos de mecánica molecular. Se muestra la diferencia de energías entre los nucleósidos en conformación BB00 y AA00.

5caC	BSC1			BSC1-POLTEV			BSC1-GB		
	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]		ΔE [kcal/mol]
	BB00	AA00		BB00	AA00		BB00	AA00	
Isómero 1	-240.5	-238.8	1.7	-88.1	-86.7	1.4	-285.4	-284.6	0.8
Isómero 2	-233.1	-227.0 ¹	6.1	-81.4	-84.3	-2.9	-283.1	-282.5	0.6
Isómero 3	-233.1	-234.1	-1.0	-81.4 ²	-84.3 ²	-2.9	-283.1	-282.5	0.6
Isómero 4	-236.2	-234.0	2.2	-88.4	-87.0	1.4	-283.2	-282.3	0.9
Isómero 5	-222.3	-219.9	2.5	-78.4	-77.1	1.3	-278.2	-277.4	0.8
Isómero 6	-222.4	-220.0	2.4	-78.3	-76.7	1.5	-278.1	-277.2	0.9

¹ La base, que corresponde al isómero 2, se optimiza al isómero 3.

² La base, que corresponde al isómero 3, se optimiza al isómero 2.

De igual forma, en la Tabla 6.42 se presentan las diferencias de energías de todos los nucleósidos de isómeros de 5caC con respecto al nucleósido del isómero 1, obtenidas con la metodología de mecánica molecular.

Se observa que el nucleósido con el isómero 1 es el más favorable con los métodos con BSC1, tanto en vacío como en solvente implícito. Mientras que con el método BSC1-POLTEV el nucleósido con el isómero 4 es el más favorable, con diferencias de energía respecto al nucleósido del isómero 1 de 5caC de 0.3 kcal/mol. También observamos que, aunque haya estructuras artificiales, el nucleósido con el isómero 1 (o isómero 4 con el método BSC1-POLTEV), es más favorable.

Tabla 6.42: Diferencias de energía de los nucleósidos con los isómeros de 5caC respecto al nucleósido con el isómero 1 de 5caC obtenidas con los métodos de mecánica molecular.

5hmC	ΔE [kcal/mol]					
	BSC1		BSC1-POLTEV		BSC1-GB	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Isómero 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Isómero 2	7.4	11.8	6.7	2.4	2.3	2.1
Isómero 3	7.4	4.7	6.7	2.4	2.3	2.1
Isómero 4	4.3	4.9	-0.3	-0.3	2.2	2.2
Isómero 5	18.2	19.0	9.7	9.6	7.2	7.2
Isómero 6	18.2	18.9	9.9	9.9	7.3	7.3

En la tabla 6.43 se muestran las diferencias de energía entre los nucleósidos con los isómeros de 5caC, que en la estructura de base aislada presentan la misma energía, pero con ángulos de torsión diferentes del -OH del grupo carboxil. Los nucleósidos con los isómeros 2 y 6, el -OH se orienta hacia 3', mientras que en los isómeros 3 y 5, el -OH se orienta hacia 5'.

Para los nucleósidos con los isómeros 2 y 3, se observa con mecánica cuántica que, en la mayoría de los casos, no existen diferencias en las energías cuando el -OH se orienta en direcciones diferentes, una excepción a esto se observa que en la conformación BB00 con MP2 en vacío, cuando el -OH se orienta hacia 5' es más favorable, con una diferencia de 1.5 kcal/mol.

Asimismo, con los métodos de mecánica molecular se observa que en todos los métodos no existen cambios en la energía cuando el -OH se orienta en direcciones diferentes. Con los métodos BSC1 conformación AA00 y BSC1-POLTEV, las bases de los nucleósidos se optimizan a estructuras diferentes, por lo que no fueron agregados.

Por otro lado, para los isómeros 5 y 6, se puede observar resultados variados. Con mecánica cuántica en vacío, conformación BB00, es más favorable cuando el -OH se orienta hacia 5', con una diferencia de energías de hasta 0.4 kcal/mol, mientras que para la conformación AA00 es más favorable cuando se orienta hacia 3', con una diferencia de energías de 0.7 kcal/mol. Con solvente implícito, se encuentra que, en todos los casos, la orientación más favorable es cuando se orienta hacia 5', con una diferencia de hasta 0.3 kcal/mol.

De igual forma, con mecánica molecular se encuentra que con BSC1, conformación BB00 ambas direcciones tienen la misma energía, y en conformación AA00 es más favorable cuando se orienta hacia 5', mientras que con BSC1-POLTEV, en ambas conformaciones es más favorable cuando se orienta hacia 3', con diferencias de energía de hasta 0.4 kcal/mol. Finalmente, con BSC1-GB se observa que en la conformación BB00 ambas direcciones tienen la misma energía, mientras que en la conformación AA00 es más favorable cuando se orienta hacia 3', con una diferencia de 0.1 kcal/mol.

Tabla 6.43: Diferencias de energías con los isómeros de misma energía en base aislada, pero ángulos de torsión del grupo -OH diferentes.

5caC	ΔE [kcal/mol]													
	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM		BSC1		BSC1-POLTEV		BSC1-GB	
	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00	BB00	AA00
Iso3-Iso2	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-	0.0	0.0
Iso5-Iso6	0.3	-0.7	0.4	-0.7	0.2	0.2	0.3	0.2	0.0	0.1	-0.2	-0.4	0.0	-0.1

Asimismo, en la Tabla 6.44 se muestran los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, tanto en vacío como son solvente nucleósidos del isómero 1 de 5caC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , respecto a los valores promedios de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, con los métodos en vacío, para los nucleósidos del isómero 1 de 5caC, el valor del ángulo glucosídico difiere del valor promedio con valores mayores a 30°. Con solvente implícito, estas diferencias respecto al valor promedio disminuyen a valores de hasta 31°.

Así mismo, se observa un cambio en el empaquetamiento del azúcar con el método MP2 en vacío, con el nucleósido del isómero 1 de 5caC en conformación BB00, el empaquetamiento resulta C3'-exo. Para los demás métodos, el empaquetamiento no cambia, quedando C2'-endo para la conformación BB00 y C3'-endo para la conformación AA00.

Tabla 6.44: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 1 de 5caC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	222	185	52	142	67	165	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	200	181	56	149	181	171	C2'-endo
	BSC1-GB	227	179	54	133	182	146	C2'-endo
	PBE	219	161	53	145	170	173	C2'-endo
	MP2	193	165	53	151	168	189	C3'-exo
	MP2-PCM	227	170	51	149	176	171	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	211	180	54	85	173	21	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	192	180	55	85	182	10	C3'-endo
	BSC1-GB	226	179	56	85	181	34	C3'-endo
	PBE	200	91	54	83	192	15	C3'-endo
	MP2	197	99	53	81	191	14	C3'-endo
	MP2-PCM	197	159	51	83	191	10	C3'-endo

En la Figura 6.21 se observa el nucleósido correspondiente al isómero 1 optimizado con PBE los que tienen un empaquetamiento C2'-endo C3'-endo para las conformaciones BB00 y AA00 respectivamente. Por otro lado, se muestra el nucleósido con cambio en el empaquetamiento a C3'-exo.

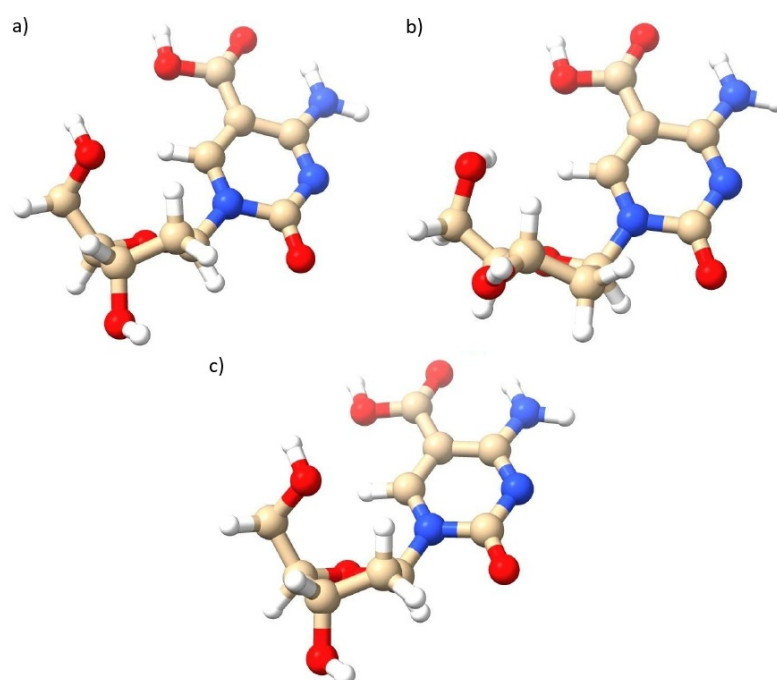


Figura 6.21: Optimización de nucleósidos del isómero 1 de 5caC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE. b) Conformación AA00, PBE. c) Conformación BB00, MP2. El empaquetamiento del azúcar es C3'-exo.

Por otro lado, en la Tabla 6.45 se muestran los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente de los nucleósidos del isómero 2 de 5caC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Para el ángulo de torsión γ no existen cambios significativos respecto a los valores promedio de las conformaciones BB00 y AA00. Sin embargo, se observan algunos cambios significativos en el ángulo de torsión δ , con los métodos de mecánica molecular BSC1 y BSC1-GB, en los nucleósidos con conformación AA00. Se observan diferencias con respecto al valor promedio del ángulo glucosídico mayores a 30° (45° con BSC1 y 32° con bSC1-GB). En estos el empaquetamiento del azúcar cambia a C1'-exo. Para los ángulos glucosídicos, se observa lo mismo que en los nucleósidos anteriores, en vacío difieren más de 30° respecto al valor promedio de la conformación BB00, mientras que, con solvente implícito, el valor de χ se acerca al valor promedio de la conformación BB00.

Asimismo, se observa un cambio en el empaquetamiento del azúcar con estructuras artificiales, para los nucleósidos en conformación BB00, las estructuras artificiales tienen un empaquetamiento C3'-exo, mientras que para los nucleósidos en conformación AA00, el empaquetamiento de las estructuras artificiales cambia a C2'-exo. Para los demás métodos, si no hay enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, el empaquetamiento no cambia, quedando C2'-endo para la conformación BB00.

Tabla 6.45: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 2 de 5caC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1 ¹	197	286	50	148	65	201	C3'-exo
	BSC1-POLTEV	201	195	58	148	181	177	C2'-endo
	BSC1-GB	227	181	55	136	182	154	C2'-endo
	PBE	201	201	58	144	169	179	C2'-endo
	MP2 ¹	190	219	56	149	168	190	C3'-exo
	PBE-PCM ¹	222	200	55	145	176	179	C2'-endo
MP2-PCM ¹	190	256	56	152	174	199	C3'-exo	
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1 ¹	191	34	60	127	161	130	C1'-exo
	BSC1-POLTEV ²	182	213	51	88	180	350	C2'-exo
	BSC1-GB	225	64	58	115	183	120	C1'-exo
	PBE ¹	189	202	51	85	188	367	C2'-exo
	MP2 ¹	187	204	50	83	187	359	C2'-exo
	PBE-PCM ¹	191	281	51	87	192	365	C2'-exo
MP2-PCM ¹	186	272	48	86	190	355	C2'-exo	

¹ Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

² Isómero 2 que se optimiza al isómero 3.

En la Figura 6.22 se observan varias estructuras notables con el cambio del empaquetamiento del azúcar, para los nucleósidos del isómero 2 de 5caC.

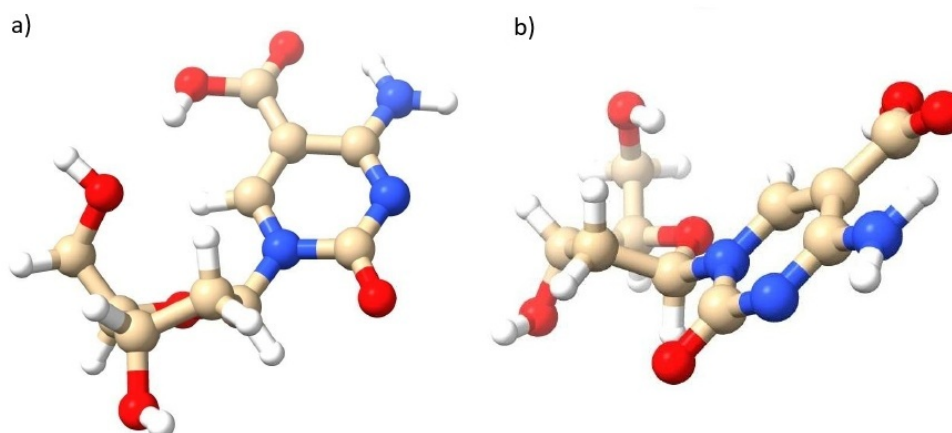


Figura 6.22: Optimización de nucleósidos del isómero 2 de 5caC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE. b) Conformación AA00, BSC1. El empaquetamiento del azúcar es C1'-exo.

De igual forma, en la Tabla 6.46 se muestran los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente de los nucleósidos del isómero 3 de 5caC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , respecto a los valores promedios de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, con los métodos en vacío, para los nucleósidos del isómero 3 de 5caC, el valor del ángulo glucosídico difiere del valor promedio con valores mayores a 30° . Con solvente implícito, estas diferencias respecto al valor promedio disminuyen a valores de hasta 31° .

Asimismo, se observa un cambio en el empaquetamiento del azúcar con estructuras artificiales, para los nucleósidos en conformación BB00, las estructuras artificiales tienen un empaquetamiento C3'-exo, mientras que para los nucleósidos en conformación AA00, el empaquetamiento de las estructuras artificiales cambia a C2'-exo. Para los demás métodos, si no hay enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, el empaquetamiento no cambia, quedando C2'-endo para la conformación BB00.

Tabla 6.46: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 3 de 5caC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1 ¹	197	286	50	148	65	201	C3'-exo
	BSC1-POLTEV ²	201	195	58	148	181	177	C2'-endo
	BSC1-GB	227	181	55	136	182	154	C2'-endo
	PBE	200	201	57	144	169	179	C2'-endo
	MP2	229	194	56	145	172	165	C2'-endo
	PBE-PCM	222	200	55	145	176	179	C2'-endo
	MP2-PCM ¹	190	256	56	152	174	199	C3'-exo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1 ²	183	270	41	90	159	344	C2'-exo
	BSC1-POLTEV ¹	182	213	51	88	180	350	C2'-exo
	BSC1-GB	222	180	56	87	181	24	C3'-endo
	PBE ¹	189	202	51	85	188	357	C2'-exo
	MP2 ¹	187	204	50	83	187	359	C2'-exo
	PBE-PCM ¹	191	281	51	87	191	355	C2'-exo
	MP2-PCM ¹	186	272	48	86	190	355	C2'-exo

¹ Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

² Isómero 3 que se optimiza al isómero 2.

En la Figura 6.23 se observan varias estructuras notables con el cambio del empaquetamiento del azúcar, para los nucleósidos del isómero 3 de 5caC.

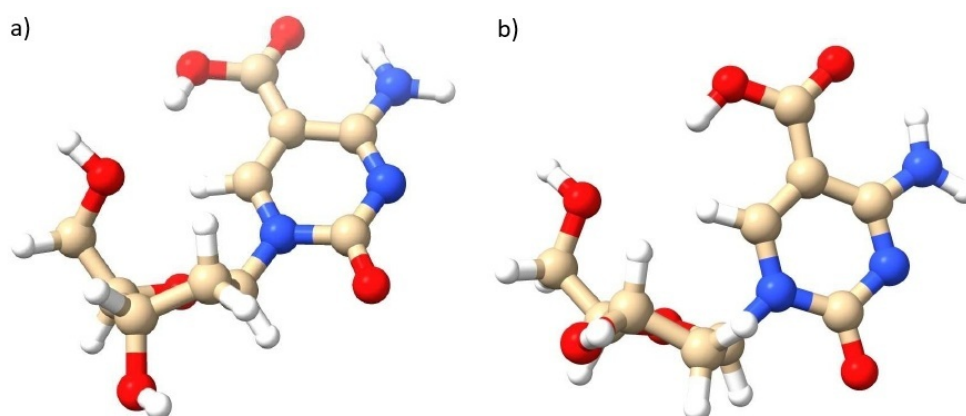


Figura 6.23: Optimización de nucleósidos del isómero 3 de 5caC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE. b) Conformación AA00, BSC1.

De igual forma, en la Tabla 6.47 se muestran los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente de los nucleósidos del isómero 4 de 5caC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , respecto a los valores promedios de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, con los métodos en vacío, para los nucleósidos del isómero 4 de 5caC, el valor del ángulo glucosídico difiere del valor promedio con valores mayores a 30°. Con solvente implícito, estas diferencias respecto al valor promedio disminuyen a valores de hasta 31°.

Asimismo, se observa un cambio en el empaquetamiento del azúcar con estructuras artificiales, para los nucleósidos en conformación AA00, las estructuras artificiales tienen un empaquetamiento C2'-exo. Para los demás métodos, si no hay enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, el empaquetamiento no cambia, quedando C2'-endo para la conformación BB00.

Tabla 6.47: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 4 de 5caC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	222	177	50	144	66	169	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	200	180	55	149	181	178	C2'-endo
	BSC1-GB	227	179	54	133	182	146	C2'-endo
	PBE	224	139	50	146	172	180	C2'-endo
	MP2	216	149	50	148	171	173	C2'-endo
	PBE-PCM	230	161	51	147	175	179	C2'-endo
	MP2-PCM	227	168	51	149	176	171	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	209	175	53	86	175	19	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	189	178	54	87	182	4	C3'-endo
	BSC1	226	179	56	85	181	35	C3'-endo
	PBE ¹	189	109	44	90	196	352	C2'-exo
	MP2 ¹	186	116	45	88	194	353	C2'-exo
	PBE-PCM	201	103	49	85	194	9	C3'-endo
MP2-PCM	198	12	50	82	192	11	C3'-endo	

¹ Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.24 se observan varias estructuras notables con el cambio del empaquetamiento del azúcar, para los nucleósidos del isómero 4 de 5caC.

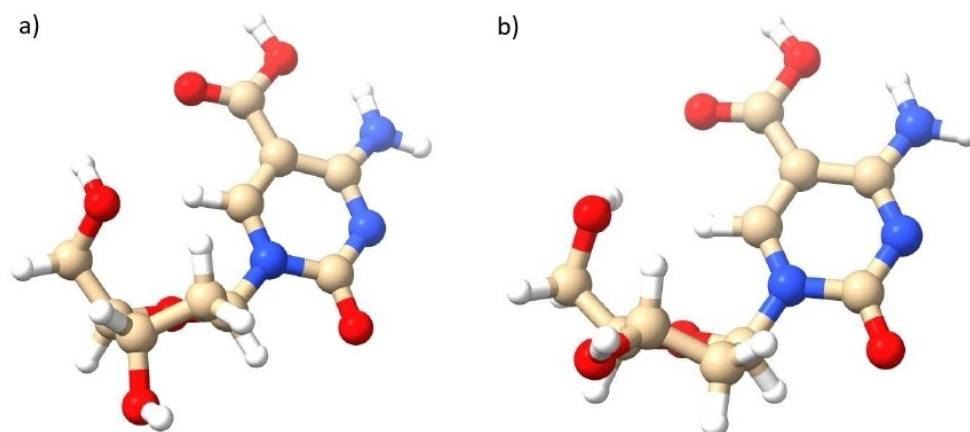


Figura 6.24: Optimización de nucleósidos del isómero 4 de 5caC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE-PCM. b) Conformación AA00, PBE-PCM.

De igual forma, en la Tabla 6.48 se muestran los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, tanto en vacío como son solvente de los nucleósidos del isómero 5 de 5caC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Se observa que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , respecto a los valores promedios de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, con los métodos en vacío, para los nucleósidos del isómero 5 de 5caC, el valor del ángulo glucosídico difiere del valor promedio con valores mayores a 30° . Con solvente implícito, estas diferencias respecto al valor promedio disminuyen a valores de hasta 31° .

Asimismo, se observa un cambio en el empaquetamiento del azúcar con estructuras artificiales, para los nucleósidos en conformación AA00, las estructuras artificiales tienen un empaquetamiento C2'-exo. Por otro lado, hay cambios en el empaquetamiento para nucleósidos del isómero 5 de 5caC aun sin ser estructuras artificiales, con los métodos BSC1-POLTEV y PBE en los nucleósidos en conformación BB00, el empaquetamiento es C3'-exo. Para los demás métodos, si no hay enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, el empaquetamiento no cambia, quedando C2'-endo para la conformación BB00.

Tabla 6.48: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 5 de 5caC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	222	175	49	145	65	172	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	198	179	55	150	182	188	C3'-exo
	BSC1-GB	229	179	54	133	182	146	C2'-endo
	PBE	228	145	49	146	174	181	C3'-exo
	MP2	224	152	49	148	173	173	C2'-endo
	PBE-PCM	233	168	52	147	176	177	C2'-endo
	MP2-PCM	232	171	51	149	177	171	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	218	178	54	86	178	24	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	181	171	52	94	184	6	C3'-endo
	BSC1-GB	227	179	56	85	182	33	C3'-endo
	PBE ¹	184	116	43	95	196	341	C2'-exo
	MP2 ¹	182	121	44	92	195	346	C2'-exo
	PBE-PCM	201	113	50	86	194	5	C3'-endo
	MP2-PCM	197	164	52	83	192	10	C3'-endo

¹ Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.25 se observan varias estructuras notables con el cambio del empaquetamiento del azúcar, para los nucleósidos del isómero 5 de 5caC.

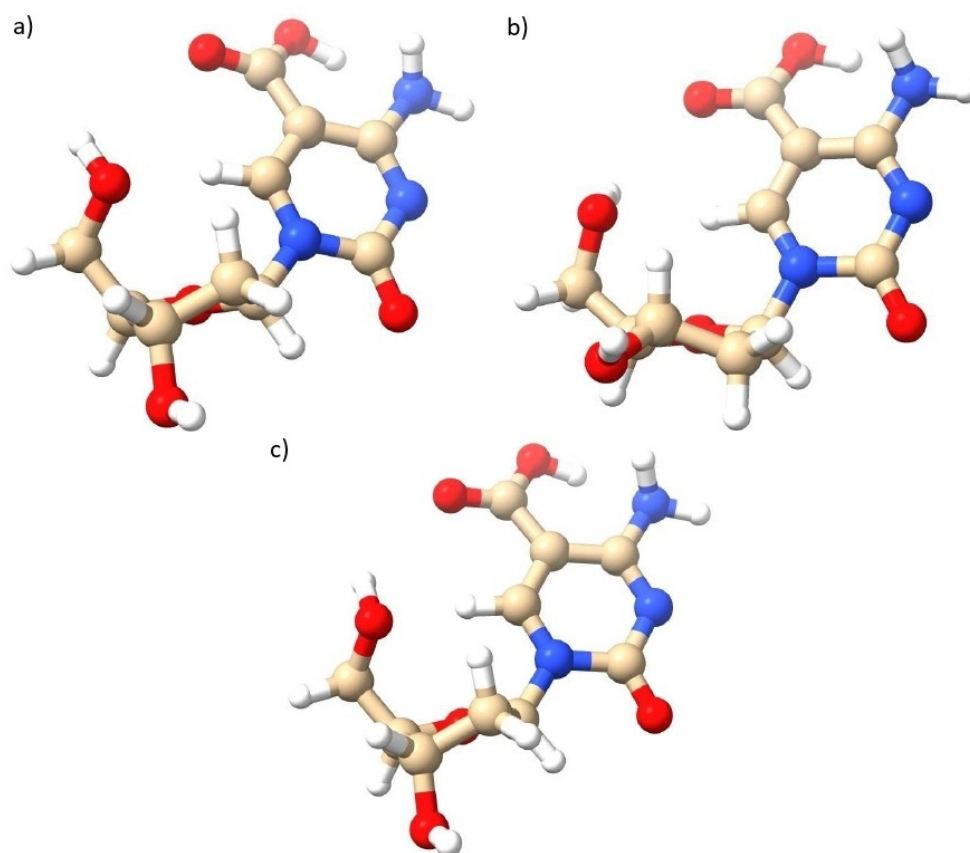


Figura 6.25: Optimización de nucleósidos del isómero 5 de 5caC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE-PCM. b) Conformación AA00, PBE-PCM. c) Conformación BB00, PBE. El empaquetamiento del azúcar es C3'-exo.

Finalmente, en la Tabla 6.49 se muestran los valores de los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), así como el ángulo glucosídico χ , el ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar obtenidas con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular, tanto en vacío como con solvente de los nucleósidos del isómero 6 de 5caC. Asimismo, se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

Por otro lado, se observa que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , respecto a los valores promedios de las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otro lado, con los métodos en vacío, para los nucleósidos del isómero 6 de 5caC, el valor del ángulo glucosídico difiere del valor promedio con valores mayores a 30° . Con solvente implícito, estas diferencias respecto al valor promedio disminuyen a valores de hasta 31° .

Se observan cambios en el empaquetamiento para nucleósidos del isómero 6 de 5caC sin ser estructuras artificiales, con el método PBE en el nucleósido en conformación BB00, el empaquetamiento es C3'-exo. Para los demás métodos, si no hay enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base, el empaquetamiento no cambia, quedando C2'-endo para la conformación BB00.

Tabla 6.49: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos del isómero 6 de 5caC en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con los métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Método	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	Puckering
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	BSC1	221	175	48	145	65	171	C2'-endo
	BSC1-POLTEV	201	180	55	148	182	175	C2'-endo
	BSC1-GB	225	179	54	133	182	147	C2'-endo
	PBE	221	147	50	146	173	180	C3'-exo
	MP2	216	154	50	148	173	173	C2'-endo
	PBE-PCM	220	170	53	146	175	177	C2'-endo
	MP2-PCM	218	173	52	149	176	171	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	BSC1	205	171	52	87	176	6	C3'-endo
	BSC1-POLTEV	191	177	54	86	183	8	C3'-endo
	BSC1-GB	223	179	56	85	182	34	C3'-endo
	PBE ¹	198	119	45	88	197	1	C3'-endo
	MP2	195	132	47	85	195	6	C3'-endo
	PBE-PCM	201	107	52	85	194	11	C3'-endo
	MP2-PCM	197	159	51	83	191	11	C3'-endo

¹ Enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

En la Figura 6.26 se observan varias estructuras notables con el cambio del empaquetamiento del azúcar, para los nucleósidos del isómero 5 de 5caC.

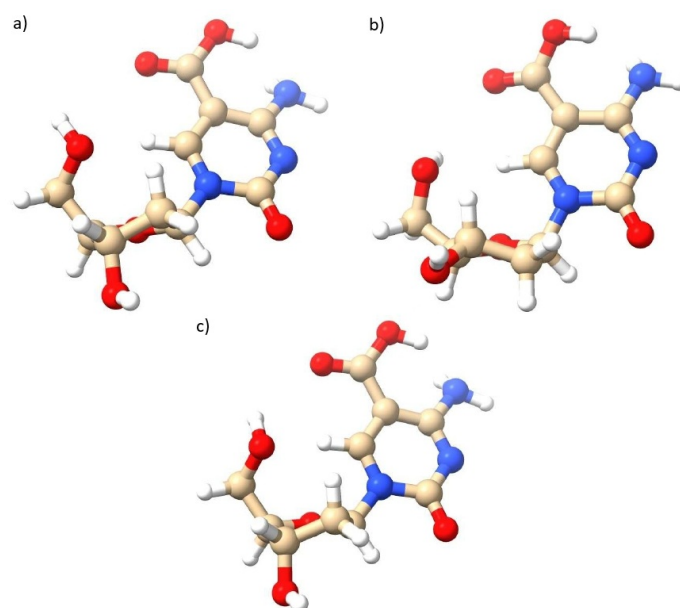


Figura 6.26: Optimización de nucleósidos del isómero 6 de 5caC con varios métodos. a) Conformación BB00, PBE-PCM. b) Conformación AA00, PBE-PCM. c) Conformación BB00, PBE. El empaquetamiento del azúcar es C3'-exo.

En resumen, se realizaron cálculos de optimización geométrica de 5caC, encontrando 6 isómeros estables. La diferencia más notable, estructuralmente, es la dirección del grupo =O, en los primeros 3 isómeros éste está más cerca del grupo amino y es donde se tiene al isómero más favorable, mientras que en los otros 3 isómeros, el grupo =O está más alejado del grupo amino. Se encuentran también isómeros con la misma energía, pero diferencias en la orientación del grupo carboxil.

También se realizaron cálculos de los pares de bases con guanina canónica, encontrando que el par más favorable, con los métodos de mecánica cuántica PBE, MP2 y PBE-PCM, es el par que forman el isómero 4 (donde el grupo =O no está cerca del grupo amino) con la guanina. Por otro lado, con el método MP2-PCM, existen 2 pares de bases con la misma energía de interacción, y que es el mínimo más profundo, los cuales son los pares que forman los isómeros 1 y 4 con guanina. Con el método de mecánica molecular BSC1, hay dos mínimos en la energía de interacción de los pares de bases: los pares que forman los isómeros 5 y 6 con guanina; con el método BSC1-GB los pares de bases más favorables son los pares que forman los isómeros 1 y 4 con guanina, finalmente, con el método BSC1-POLTEV, el par de bases más favorable es el que forma el isómero 6 con guanina. Estructuralmente, no se encuentran grandes diferencias en las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno, así como en las distancias $C1' \cdots C1'$, con lo cual, se observa que el grupo carboxil no modifica el apareamiento de las bases.

Para los nucleósidos, se encuentra que la conformación AA00 es más favorable en vacío con los métodos de mecánica cuántica, mientras que con PBE-PCM, la conformación AA00 es la más favorable y con MP2-PCM, la conformación más favorable es la BB00. Con los métodos de mecánica molecular se encuentra que la conformación BB00 es la más favorable.

De igual forma, se observa que el nucleósido con el isómero 1 es el más favorable, incluso cuando existen estructuras con enlace por puente de hidrógeno entre el SPB y la base.

Por otra parte, se encuentran resultados variados para la orientación del -OH del grupo carboxil. Para los isómeros 2 y 3, ambas direcciones tienen la misma energía, solo en el caso de MP2 el nucleósido en conformación BB00, la orientación más favorable es hacia 5'. Para los isómeros 5 y 6 se encuentra que, con los métodos de mecánica cuántica, la orientación más favorable es hacia 5', excepto en dos casos, PBE y MP2 en vacío con el nucleósido en conformación AA00, donde la orientación más favorable es hacia 3'. Finalmente, con los métodos de mecánica molecular se tiene con BSC1-POLTEV los nucleósidos con ambas conformaciones y BSC1-GB el nucleósido en conformación AA00 que la orientación más favorable es hacia 3', mientras que con BSC1 conformación AA00 la orientación más favorable es 5'.

Por último, se encuentran cambios en el empaquetamiento del azúcar, sobre todo cuando existen estructuras artificiales, cambiando a C2'-exo en las conformaciones AA00 y a C3'-exo en las conformaciones BB00. Cuando no existen estructuras artificiales, el empaquetamiento de los nucleósidos en conformación BB00 es C2'-endo y en conformación AA00 es C3'-endo.

Los resultados del isómero más favorable se usarán para la comparación con C.

6.6. Comparación de las Modificaciones con Citosina Canónica

En esta sección se realiza una comparación entre los resultados obtenidos para las modificaciones de citosina en posición 5 y aquellos realizados para la citosina canónica, utilizando métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. el propósito de esta comparación es estudiar si dichas modificaciones afectan a la estructura de las subunidades de ADN. Esta comparación solo se realiza con los isómeros de menor energía, ya que se espera que estos sean los encontrados en las estructuras experimentales.

En la Figura 6.27 se muestra la base canónica citosina y sus modificaciones en posición 5: 5mC, 5hmC, 5fC y 5caC. En la Tabla 6.50 se observa las energías totales y las diferencias de energía de cada modificación respecto a la citosina. Se observa que la modificación con el mínimo de energía más profundo corresponde a la 5caC.

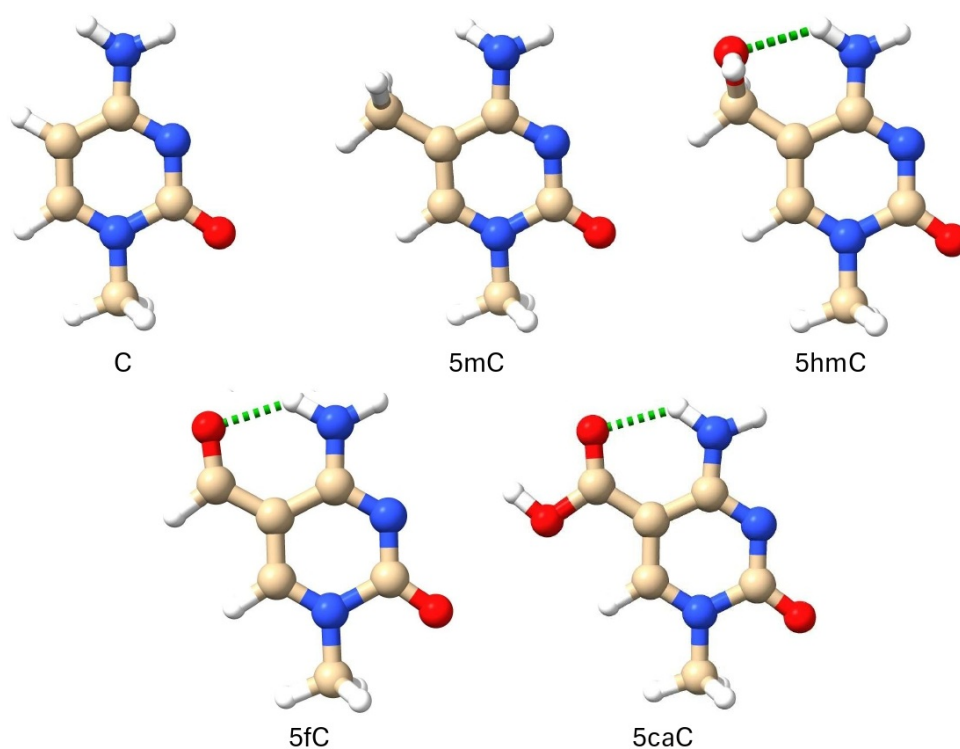


Figura 6.27: Base canónica citosina y las modificaciones en posición 5 presentes en el ciclo de metilación y desmetilación de C: 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, 5-formilcitosina y 5-carboxilcitosina. Estructuras optimizadas con PBE.

Tabla 6.50: Energías de las bases aisladas de C, 5mC, 5hmC, 5fC y 5caC obtenidas con los métodos de mecánica cuántica.

Base	PBE		MP2		PBE-PCM		MP2-PCM	
	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]	E[kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]
C	-272170.7	0.0	-271701.6	0.0	-272181.8	0.0	-271712.9	0.0
5mC	-296807.3	-24636.6	-296291.9	-24590.3	-296818.4	-24636.5	-296303.2	-24590.3
5hmC	-343957.4	-71786.6	-343374.4	-71672.9	-343969.0	-71787.2	-343386.7	-71673.7
5fC	-343218.7	-71048.0	-342633.0	-70931.4	-343228.8	-71047.0	-342643.5	-70930.5
5caC	-390392.3	-118221.6	-389739.9	-118038.3	-390402.7	-118220.8	-389750.5	-118037.6

En la Figura 6.28 se observan los pares de bases de citosina canónica y sus modificaciones con guanina canónica optimizados con el método PBE.

Como ya se mencionó previamente, los pares de bases con modificaciones de citosina conservan los tres enlaces por puente de hidrógeno presentes en el par canónica G:C. De esta forma vemos que los grupos funcionales en posición 5 de citosina no afectan en el apareamiento de las bases.

En la Tabla 6.51 presentan las energías de interacción de los pares de bases obtenidas con los métodos de mecánica molecular y mecánica cuántica.

Se observa que el par de bases más favorable con los métodos de mecánica cuántica, tanto en vacío como con solvente implícito, es el par G:5mC, con una diferencia de energía respecto al par canónico G:C de hasta 0.4 kcal/mol en vacío y de hasta 0.3 kcal/mol con PCM. El par menos favorable es el par G:5fC, con una diferencia de energía de hasta 2.0 kcal/mol respecto al par G:C y de hasta 1.2 kcal/mol con PCM.

Por otro lado, con el campo de fuerzas BSC1 el par más favorable es el par canónico G:C, con una diferencia de 0.2 kcal/mol respecto al siguiente par que es 5mC, mientras que el par menos favorable es el par G:5fC con una diferencia de 2.2 kcal/mol respecto al par G:C. Así mismo, con POLTEV el par más favorable es el par G:5hmC, con una diferencia de 1.7 kcal/mol respecto al par G:C, de igual forma el par menos favorable es el par G:5fC, con una diferencia de energía con respecto a G:C de 1.4 kcal/mol. Por último, con BSC1-GB, el par más favorable es el par G:C, mientras que el par menos favorable es el par G:5hmC, con una diferencia de 0.5 kcal/mol.

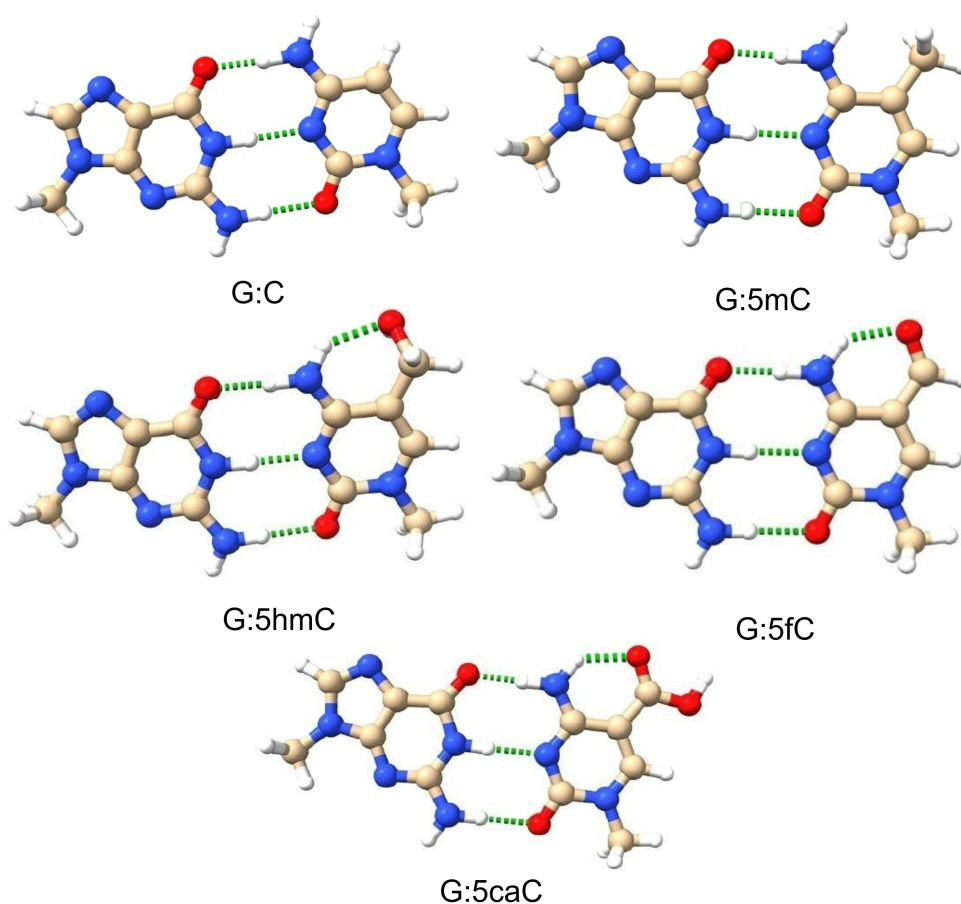


Figura 6.28: Pares de bases de G canónica con C, 5mC, 5hmC, 5fC y 5caC. Optimizaciones realizadas con PBE.

Tabla 6.51: Energías de interacción de los pares de bases de citosina y las bases modificadas con la base canónica guanina obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. En negritas se indican los pares de bases más favorables con cada método.

Par de bases	Energía de interacción [kcal/mol]						
	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
G:C	-32.0	-30.4	-21.8	-20.8	-28.0	-15.4	-24.4
G:5mC	-32.3	-30.8	-22.0	-21.1	-27.8	-15.1	-25.4
G:5hmC	-30.6	-29.4	-21.3	-20.5	-26.4	-14.9	-26.1
G:5fC	-28.6	-28.4	-20.1	-19.9	-25.8	-15.3	-23.0
G:5caC	-29.2	-28.8	-20.4	-20.1	-26.1	-15.3	-24.2

En la tabla 6.52 se muestran las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno de los pares de bases con citosina y sus modificaciones con guanina, así como las distancias $C1' \cdots C1'$. Se observa que no existen cambios significativos en dichas distancias. Así, las modificaciones no afectan la geometría del apareamiento de las bases.

Tabla 6.52: Distancias de los enlaces de hidrógeno entre los pares de bases de citosina y las bases modificadas con la base canónica guanina obtenidas con los diferentes métodos de mecánica cuántica y mecánica molecular. Se muestra la distancia C1'...C1'.

Par de bases	Enlace de hidrógeno[Å]							
	H-Bond	PBE	MP2	PBE-PCM	MP2-PCM	BSC1	BSC1-GB	POLTEV
G:C	O6...H-N4	1.73	1.79	1.82	1.88	1.82	1.88	1.88
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.87	1.91	1.95	1.95
	N2-H...O2	1.87	1.92	1.82	1.87	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.75	10.70	10.74	10.68	10.73	10.79	10.77
G:5mC	O6...H-N4	1.73	1.79	1.81	1.88	1.82	1.88	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.93	1.98	1.98
	N2-H...O2	1.86	1.91	1.81	1.87	1.80	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.75	10.69	10.74	10.67	10.72	10.78	10.81
G:5hmC	O6...H-N4	1.75	1.81	1.83	1.90	1.83	1.89	1.87
	N1-H...N3	1.88	1.91	1.87	1.89	1.93	1.98	1.89
	N2-H...O2	1.88	1.93	1.82	1.88	1.81	1.83	1.87
	C1'...C1'	10.74	10.69	10.73	10.67	10.73	10.79	10.69
G:5fC	O6...H-N4	1.74	1.79	1.81	1.86	1.81	1.87	1.88
	N1-H...N3	1.89	1.92	1.88	1.91	1.94	1.98	1.99
	N2-H...O2	1.92	1.96	1.87	1.90	1.81	1.83	1.86
	C1'...C1'	10.79	10.73	10.78	10.72	10.73	10.78	10.77
G:5caC	O6...H-N4	1.74	1.79	1.81	1.86	1.81	1.86	1.87
	N1-H...N3	1.90	1.93	1.89	1.91	1.94	1.99	1.99
	N2-H...O2	1.90	1.94	1.85	1.90	1.81	1.93	1.86
	C1'...C1'	10.77	10.72	10.77	10.71	10.73	10.77	10.81

Para los nucleósidos, en la Figura 6.29 se presentan los nucleósidos de C, 5mC, 5hmC, 5fC y 5caC en dos familias conformacionales BB00 y AA00, calculados con el método PBE. Solo se muestran los resultados con este funcional pues las estructuras con los otros métodos son muy semejantes.

En las Tablas 6.53, 6.54, 6.55, 6.56, 6.57, 6.58 y 6.59 se muestran los ángulos de torsión sobre el SPB (β , γ , δ y ϵ), el ángulo glucosídico χ y ángulo de pseudorrotación P y el empaquetamiento del azúcar de los nucleósidos de citosina y sus modificaciones, en las familias conformacionales BB00 y AA00, con los métodos PBE, MP2, PBE-PCM, MP2-PCM, BSC1, BSC1-POLTEV y BSC1-GB respectivamente. Se muestran los valores promedios de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00.

En general, con todos los métodos analizados no se observan cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , teniendo sus valores muy cercanos a los valores promedio de las torsiones correspondientes a las familias conformacionales BB00 y AA00. Se observan cambios significativos en el ángulo glucosídico χ de los nucleósidos en conformación BB00, teniendo diferencias mayores a 30° usando la metodología en vacío. Asimismo, con solvente implícito, las diferencias en los ángulos glucosídicos son menores a 30°.

Igualmente, no se observan cambios en el empaquetamiento del azúcar, siendo C2'-endo para los nucleósidos que se encuentran en conformación BB00 y C3'-endo para los nucleósidos que se encuentran en conformación AA00.

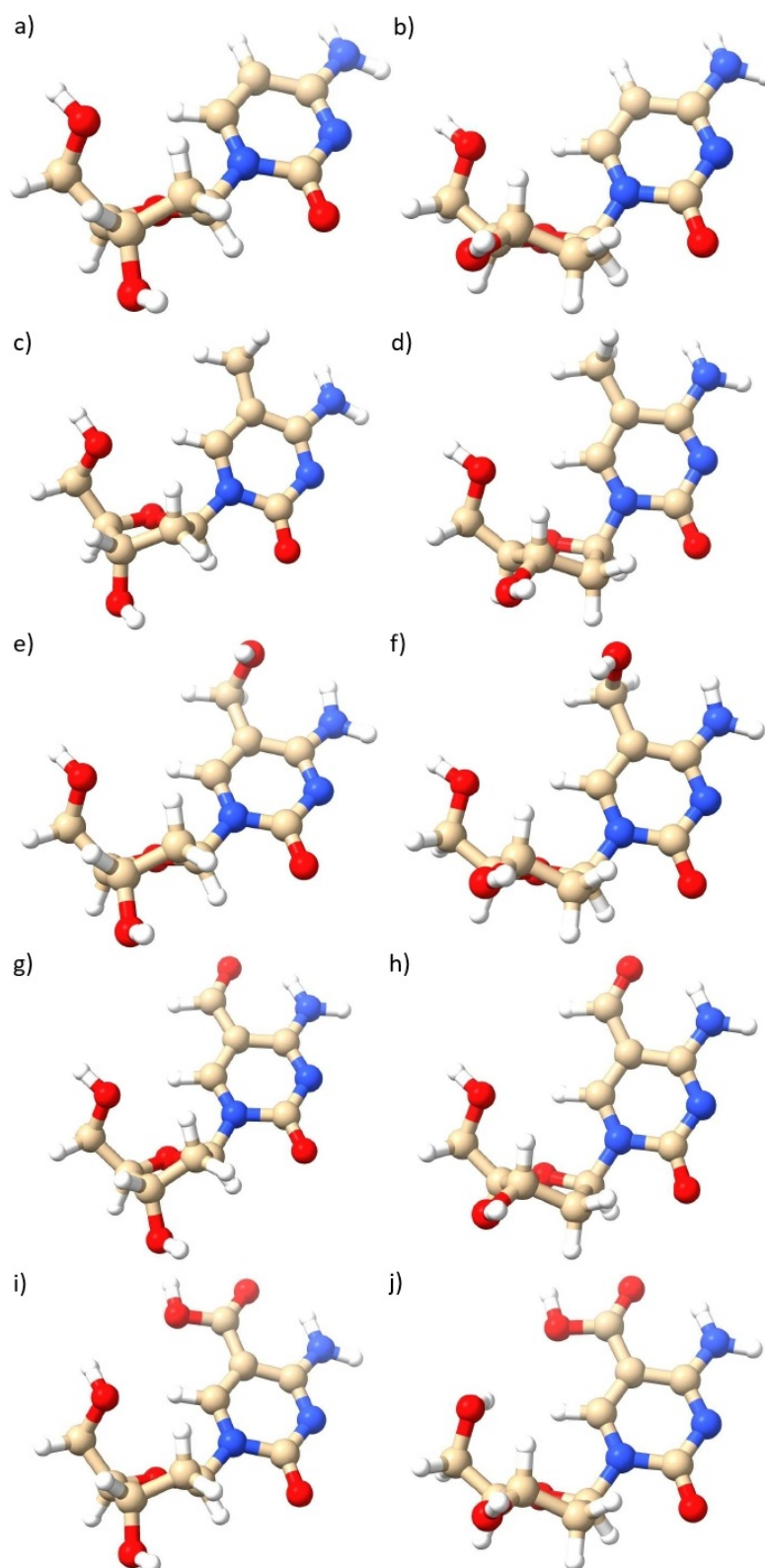


Figura 6.29: Nucleósidos de C y las modificaciones en sus dos conformaciones. a) C, BB00. b) C, AA00. c) 5mC, BB00. d) 5mC, AA00. e) 5hmC, BB00. f) 5hmC, AA00. g) 5fC, BB00. h) 5fC, AA00. i) 5caC, BB00. j) 5caC, AA00.

Tabla 6.53: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método PBE. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	217	178	54	143	168	165	C2'-endo
	5mC	220	178	53	143	168	165	C2'-endo
	5hmC	234	173	52	146	175	173	C2'-endo
	5fC	207	179	56	144	169	169	C2'-endo
	5caC	219	161	53	145	170	173	C2'-endo
AA00	Promedio	200	173	55	82	206		
	C	198	176	53	83	187	11	C3'-endo
	5mC	197	178	54	83	187	10	C3'-endo
	5hmC	197	177	54	83	187	10	C3'-endo
	5fC	197	178	55	84	189	9	C3'-endo
	5caC	200	91	54	83	192	15	C3'-endo

Tabla 6.54: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método MP2. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	208	179	53	146	168	164	C2'-endo
	5mC	211	180	53	146	168	163	C2'-endo
	5hmC	210	181	53	146	169	163	C2'-endo
	5fC	199	181	55	148	169	172	C2'-endo
	5caC	193	165	53	151	168	189	C3'-exo
AA00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	195	178	53	81	187	12	C3'-endo
	5mC	197	179	53	80	186	11	C3'-endo
	5hmC	194	179	54	81	185	10	C3'-endo
	5fC	194	181	54	81	188	10	C3'-endo
	5caC	197	99	53	81	191	14	C3'-endo

Tabla 6.55: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método PBE-PCM. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	233	173	52	146	175	173	C2'-endo
	5mC	234	174	51	146	175	173	C2'-endo
	5hmC	234	173	52	146	175	173	C2'-endo
	5fC	228	175	53	146	176	175	C2'-endo
	5caC	228	168	52	147	175	177	C2'-endo
AA00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	202	170	53	84	192	10	C3'-endo
	5mC	201	170	52	84	192	10	C3'-endo
	5hmC	201	171	53	84	192	9	C3'-endo
	5fC	200	171	54	85	193	8	C3'-endo
	5caC	200	152	51	86	193	7	C3'-endo

Tabla 6.56: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método MP2-PCM. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	230	175	51	148	176	167	C2'-endo
	5mC	230	175	51	148	175	168	C2'-endo
	5hmC	231	175	51	148	175	168	C2'-endo
	5fC	226	176	52	148	176	170	C2'-endo
	5caC	227	170	51	149	176	171	C2'-endo
AA00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	198	173	52	81	190	12	C3'-endo
	5mC	198	172	52	81	190	12	C3'-endo
	5hmC	198	173	53	82	190	11	C3'-endo
	5fC	197	173	53	82	191	10	C3'-endo
	5caC	197	159	51	83	191	10	C3'-endo

Tabla 6.57: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método BSC1. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	215	180	56	143	157	159	C2'-endo
	5mC	223	188	52	141	69	161	C2'-endo
	5hmC	219	188	56	143	95	163	C2'-endo
	5fC	222	194	53	142	67	164	C2'-endo
	5caC	222	185	52	142	67	165	C2'-endo
AA00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	205	181	56	83	175	15	C3'-endo
	5mC	209	183	53	84	172	19	C3'-endo
	5hmC	200	186	55	82	159	12	C3'-endo
	5fC	209	187	54	84	171	17	C3'-endo
	5caC	211	180	54	85	173	21	C3'-endo

Tabla 6.58: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método BSC1-POLTEV. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	202	184	56	146	180	166	C2'-endo
	5mC	203	183	55	145	180	165	C2'-endo
	5hmC	202	184	56	145	180	166	C2'-endo
	5fC	199	187	57	148	181	175	C2'-endo
	5caC	200	181	56	149	181	171	C2'-endo
AA00	Promedio	258	180	44	138	183		
	C	196	183	56	83	182	17	C3'-endo
	5mC	197	183	56	83	182	18	C3'-endo
	5hmC	194	183	55	84	181	14	C3'-endo
	5fC	194	185	56	84	182	13	C3'-endo
	5caC	192	180	55	85	182	10	C3'-endo

Tabla 6.59: Ángulos de torsión del SPB de nucleósidos de citosina de las modificaciones en conformación de las familias BB00 y AA00, obtenidos con el método BSC1-GB. Se incluyen parámetros estructurales del azúcar (ángulo de pseudorrotación (P) y empaquetamiento del azúcar (Puckering)).

Familia	Base	χ [°]	β [°]	γ [°]	δ [°]	ϵ [°]	P[°]	<i>Puckering</i>
BB00	C	228	180	57	143	182	159	C2'-endo
	5mC	228	180	54	133	182	147	C2'-endo
	5hmC	229	180	56	140	177	158	C2'-endo
	5fC	228	180	54	135	182	152	C2'-endo
	5caC	227	179	54	133	182	146	C2'-endo
AA00	C	218	179	57	82	177	23	C3'-endo
	5mC	223	179	56	85	182	28	C3'-endo
	5hmC	220	179	57	82	175	23	C3'-endo
	5fC	223	180	56	86	181	27	C3'-endo
	5caC	226	179	56	85	181	34	C3'-endo

En resumen, de la comparación de las modificaciones con citosina, se puede observar que la base con el mínimo de energías más profundo es la base 5caC.

Para los pares de base, se encuentra con los métodos de mecánica cuántica que el par más favorable es el par G:5mC, seguido del par canónico G:C. El par menos favorable con estos métodos es el par G:5fC. Así mismo, observa que con los métodos BSC1 y BSC1-GB el par más favorable es el canónico G:C, mientras que el menos favorable es el par G:5fC en vacío con solvente implícito. Por último, con POLTEV se puede observar que el par más favorable es el par G:5hmC, mientras que el menos favorable es el par G:5fC. Estructuralmente no se observa cambios en las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno y también se mantienen los tres enlaces de hidrógeno en los pares de modificaciones con guanina.

Además, se observa que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión γ y δ , con valores cercanos a los valores promedio para las familias conformacionales BB00 y AA00. Por otra parte, se observan cambios significativos en los ángulos de torsión con los métodos en vacío, con diferencias en sus valores respecto a los valores promedio de la familia conformacional BB00 mayores de 30° . Al incluir métodos con solvente implícito (PCM para los métodos de cuántica y GB para los métodos de mecánica molecular), el valor del ángulo glucosídico se acerca más al valor promedio de los ángulos de torsión de la familia conformacional BB00.

Finalmente, se observa que el empaquetamiento del azúcar no sufre cambios en estos nucleósidos con bases modificadas, siendo C2'-endo para la conformación BB00 y C3'-endo para la conformación AA00.

De esta forma, los resultados indican que con las modificaciones de citosina en posición 5, 5mC, 5hmC, 5fC y 5caC, no existen cambios significativos en la estructura de las subunidades del ADN estudiadas.

6.7. Desoxidinucleósidos Monofosfatos de 5-hidroximetilcitosina

Se seleccionaron diez estructuras experimentales para realizar los cálculos de dDMPs con la modificación 5hmC, de tal forma que en las secuencias se abarcaran varias bases nitrogenadas. En la Figura 6.30 se muestra, a modo de ejemplo, el dDMP que corresponde a la estructura experimental con ID 5DSB, en la cual se observa la designación de los ángulos de torsión.

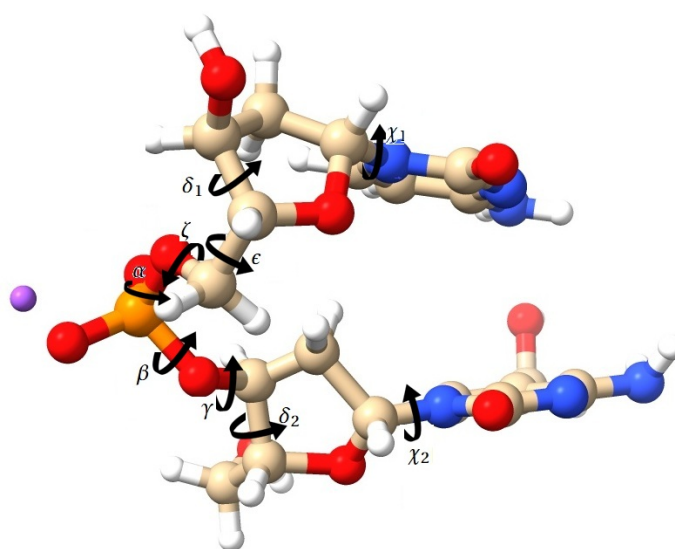


Figura 6.30: Estructura experimental final obtenida ID 5DSB. Se observan los ángulos de torsión sobre el SPB y los ángulos glucosídicos.

En la Tabla 6.60 se presentan los ID de cada estructura, junto con las secuencias analizadas. Además, se muestran las clases conformacionales (CC) y los ángulos de torsión correspondientes a las estructuras seleccionadas.

Tabla 6.60: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras experimentales. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
5DSB	d5hmCpdC	AB03	100	214	257	328	168	20	149	226	283
4GLC	d5hmCpdG	AB01	92	199	271	309	173	55	139	215	256
3YVB	d5hmCpdG	BB00	120	164	277	299	198	54	153	225	254
4R2P	dApd5hmC	AB01	80	202	277	311	175	42	136	206	245
4R2C	dApd5hmC	BB00	138	196	268	294	176	42	127	231	253
3YVB	dCpd5hmC	NANT	80	191	276	287	174	75	120	196	225
4GLC	dGpd5hmC	AA00	91	202	295	288	169	65	92	203	215
4R2C	dGpd5hmC	BA05	128	182	263	302	159	56	98	250	229
4GLH	dTpd5hmC	BA05	131	191	265	306	165	39	97	249	241
4PAR	dTpd5hmC	BB00	139	180	259	308	167	45	131	250	252

De igual forma, en la Tabla 6.61 se muestra el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas. El valor ϕ corresponde al ángulo que forman los anillos de las bases, sin considerar a los grupos funcionales. Para determinar si una estructura optimizada es viable, el valor de ϕ deber ser menor de 30°.

Tabla 6.61: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras experimentales. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h</i> -Twist[°]	<i>h</i> -Rise[Å]	Tilt[°]	Roll[°]	ϕ [°]
5DSB	d5hmCpdC	89.2	166.3	O4'-endo	C2'-endo	0.2	38.9	3.5	12.3	9.9	15.8
4GLC	d5hmCpdG	40.5	169.6	C4'-exo	C2'-endo	0.0	29.8	2.0	14.6	9.2	17.3
3YVB	d5hmCpdG	120.1	177.1	C1'-exo	C2'-endo	0.0	42.0	3.1	6.5	-14.5	15.8
4R2P	dApd5hmC	23.3	149.2	C3'-endo	C2'-endo	2.2	29.1	2.2	11.1	11.3	15.8
4R2C	dApd5hmC	164.5	141.2	C2'-endo	C1'-exo	2.4	28.4	3.4	4.2	0.1	4.2
3YVB	dCpd5hmC	45.2	120.1	C4'-exo	C1'-exo	0.0	28.9	2.2	13.6	-0.9	13.6
4GLC	dGpd5hmC	34.2	40.5	C3'-endo	C4'-exo	3.7	46.5	3.4	6.6	1.9	6.8
4R2C	dGpd5hmC	138.3	89.8	C1'-exo	O4'-endo	4.3	33.6	3.4	3.6	-1.6	4.0
4GLH	dTpd5hmC	147.1	94.9	C2'-endo	O4'-endo	2.3	40.5	3.5	3.8	-0.4	3.9
4PAR	dTpd5hmC	158.0	145.2	C2'-endo	C2'-endo	2.3	39.5	3.3	7.8	-4.3	8.9

En la Tabla 6.62 se presentan los resultados de las clases conformacionales y los ángulos de torsión sobre el SPB obtenidas con el funcional PW91. Se observa que, con este funcional, la mayoría de las estructuras optimizadas presentan la clase conformacional NANT, cuya descripción es conformación no asignada. De esta forma, las geometrías obtenidas no se ajustan a ninguna de las clases conformacionales. Una excepción es la optimización geométrica de la estructura ID 4PAR la cual presenta una clase conformacional BA05, cambiando de la conformación BB00 que era su conformación inicial.

Tabla 6.62: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras optimizadas con el funcional PW91. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
5DSB	d5hmCpdC	NANT	93	243	279	294	191	55	142	233	222
4GLC	d5hmCpdG	NANT	74	254	195	339	122	73	149	190	305
3YVB	d5hmCpdG	NANT	104	255	281	315	149	60	146	189	266
4R2P	dApd5hmC	NANT	72	262	214	323	161	51	139	221	239
4R2C	dApd5hmC	NANT	142	202	286	280	175	46	98	232	241
3YVB	dCpd5hmC	NANT	73	264	208	308	157	54	141	221	235
4R2C	dGpd5hmC	NANT	138	250	293	288	152	43	79	178	253
4GLH	dTpd5hmC	BA05	137	189	270	288	173	55	76	226	241
4PAR	dTpd5hmC	BA05	138	200	282	285	176	51	98	223	235

En la Tabla 6.63 se observa el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación con el funcional PW91. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas, en las cual se observan tres estructuras viables, ID 3YVB ($\phi = 27.5$), ID 4R2C ($\phi = 19.6$) y ID 4PAR ($\phi = 7.9$).

Tabla 6.63: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras optimizadas con el funcional PW91. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h</i> -Twist[°]	<i>h</i> -Rise[Å]	Tilt[°]	Roll[°]	ϕ [°]
5DSB	d5hmCpdC	26.0	162.5	C3'-endo	C2'-endo	0.0	98.4	2.3	-59.1	73.2	94.1
4GLC	d5hmCpdG	5.9	180.5	C3'-endo	C3'-exo	1.4	-63.4	0.5	62.8	5.6	63.1
3YVB	d5hmCpdG	349.6	174.4	C2'-exo	C2'-endo	4.3	68.1	4.4	18.2	20.4	27.5
4R2P	dApd5hmC	21.7	164.3	C3'-endo	C2'-endo	0.0	-91.5	-0.7	-40.8	81.8	88.5
4R2C	dApd5hmC	174.9	108.9	C2'-endo	C1'-exo	2.2	20.7	-1.0	2.6	19.5	19.6
3YVB	dCpd5hmC	33.0	162.3	C3'-endo	C2'-endo	0.0	-68.1	-1.1	-32.9	58.4	67.0
4R2C	dGpd5hmC	173.9	60.4	C2'-endo	C4'-exo	2.2	48.9	1.7	33.6	8.9	34.8
4GLH	dTpd5hmC	162.8	45.8	C2'-endo	C4'-exo	0.6	54.1	1.9	31.3	-11.9	33.5
4PAR	dTpd5hmC	163.3	107.1	C2'-endo	O4'-endo	0.0	27.5	1.1	11.8	13.6	17.9

De igual forma, en la Tabla 6.64 se muestran las clases conformacionales y los ángulos de torsión sobre el SPB obtenidas con el funcional PBE. Al igual que con PW91, se observa que la mayoría de las estructuras optimizadas presentan la clase conformacional NANT. Sin embargo, las posibles estructuras viables adoptan clases conformaciones válidas. La optimización de ID 4GLC presenta la clase conformacional AA09, siendo la inicial AA00, mientras que la optimización de la estructura ID 4PAR presenta una conformación BB00.

Tabla 6.64: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras optimizadas con el funcional PBE. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
5DSB	d5hmCpdC	NANT	93	242	280	294	190	54	142	234	222
4GLC	d5hmCpdG	NANT	81	261	204	28	87	45	123	180	247
3YVB	d5hmCpdG	NANT	141	279	289	294	181	53	147	229	263
4R2P	dApd5hmC	NANT	93	244	294	264	247	57	142	235	201
4R2C	dApd5hmC	NANT	80	249	276	278	201	57	85	207	256
3YVB	dCpd5hmC	NANT	74	263	208	305	162	54	142	244	233
4GLC	dGpd5hmC	AA09	84	212	285	295	176	58	85	195	236
4R2C	dGpd5hmC	NANT	138	248	293	287	153	43	79	180	253
4PAR	dTpd5hmC	BB00	137	202	283	283	178	49	108	223	241

En la Tabla 6.65 se muestra el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación con el funcional PBE. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas, en las cual se observa una estructura viable, ID 4R2C ($\phi = 19.6$) y una estructura con un valor marginal en el ángulo entre las bases ($\phi = 30.5$).

Tabla 6.65: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras optimizadas con el funcional PBE. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h</i> -Twist[°]	<i>h</i> -Rise[Å]	Tilt[°]	Roll[°]	ϕ [°]
5DSB	d5hmCpdC	27.2	162.4	C3'-endo	C2'-endo	0.0	97.7	2.3	-58.9	72.6	93.5
4GLC	d5hmCpdG	3.8	131.5	C3'-endo	C1'-exo	0.0	44.6	-0.9	29.6	30.5	42.5
3YVB	d5hmCpdG	171.0	179.1	C2'-endo	C2'-endo	0.0	114.2	5.6	-83.6	63.1	75.2
4R2P	dApd5hmC	5.2	176.1	C3'-endo	C2'-endo	-	-	-	-106.1	91.9	39.7
4R2C	dApd5hmC	4.7	9.4	C3'-endo	C3'-endo	1.6	67.1	1.9	14.1	61.6	63.2
3YVB	dCpd5hmC	37.6	163.1	C4'-exo	C2'-endo	0.0	-88.8	-2.1	-56.3	65.6	86.5
4GLC	dGpd5hmC	8.3	16.6	C3'-endo	C3'-endo	3.3	43.0	1.7	29.6	6.8	30.5
4R2C	dGpd5hmC	173.9	60.2	C2'-endo	C4'-exo	2.2	48.5	1.7	32.6	9.2	34.0
4PAR	dTpdp5hmC	161.0	117.6	C2'-endo	C1'-exo	0.0	29.2	1.1	8.3	18.6	20.3

Después de realizar los cálculos de optimización con los funcionales GGA, PW91 y PBE, se obtuvieron muy pocas estructuras viables (3 con PW91 y 2 con PBE). Debido a esto, se decidió utilizar el funcional híbrido meta-GGA M052X, el cual ha demostrado un buen desempeño al considerar el apilamiento de las bases nitrogenadas [50, 51].

Con el objetivo de evaluar la efectividad de este funcional, se seleccionaron las estructuras ID 4R2P (secuencia dApd5hmC) y ID 3YVB (secuencia dCpd5hmC) las cuales tienen valores en el ángulo ϕ alejados del valor de 30°, obtenidos con las optimizaciones PBE y PW91.

En la Tabla 6.66 se presentan las clases conformacionales y los ángulos de torsión sobre el SPB obtenidas con el funcional M052X de las estructuras antes mencionadas. A diferencia de lo observado con PW91 y PBE, con el funcional M052X se puede observar que las estructuras optimizadas resultan en clases conformacionales válidas, AB05 para ambas, aunque ambas cambian respecto a la estructura experimental: para la estructura ID 4R2P la clase es AB01 y para la estructura ID 3YVB, la clase es NANT.

Tabla 6.66: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras ID 4R2P y ID 3YVB optimizadas con el funcional M052X.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
4R2P	dApd5hmC	AB05	82	200	275	309	169	63	142	201	247
3YVB	dCpd5hmC	AB05	81	193	264	311	168	62	143	196	242

En la Tabla 6.67 se muestra el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación de las estructuras antes mencionadas con el funcional M052X. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas. Se observa que los valores del ángulo ϕ son menores a 30° lo que es una mejora sustancial para este funcional.

Tabla 6.67: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras optimizadas con el funcional M052X. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h</i> -Twist[°]	<i>h</i> -Rise[Å]	Tilt[°]	Roll[°]	ϕ [°]
4R2P	dApd5hmC	10.0	164.2	C3'-endo	C2'-endo	0.6	25.7	0.3	18.8	4.9	19.5
3YVB	dCpd5hmC	16.1	162.0	C3'-endo	C2'-endo	0.0	26.6	-3.2	25.4	6.0	26.0

En la Figura 6.31 se muestran las optimizaciones con los funcionales PW91, PBE y M052X de la estructura ID 4R2P, en la cual se observan los valores del ángulo ϕ para cada estructura.

Con el funcional PW91 las bases están casi perpendiculares entre sí, mientras que con PBE las bases están demasiado desviadas entre sí. Con M052X observamos una estructura viable, con bases casi paralelas entre sí.

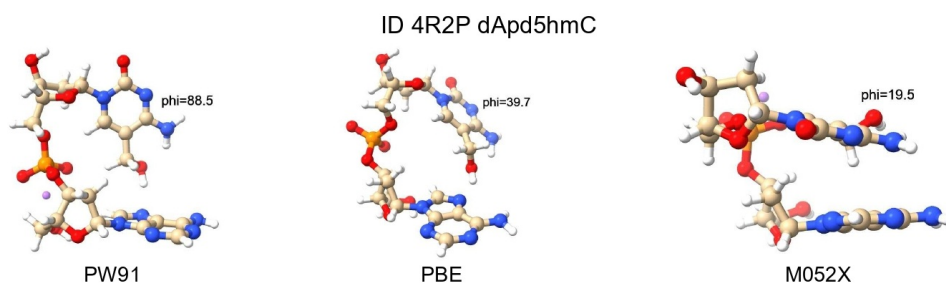


Figura 6.31: Optimizaciones de las estructuras ID 4R2P con los funcionales PW91, PBE y M052X. Se muestra el ángulo ϕ .

En la Figura 6.32 se muestran las optimizaciones con los funcionales PW91, PBE y M052X de la estructura ID 3YVB, en la cual se observan los valores del ángulo ϕ para cada estructura.

Al igual que con la estructura anterior, se observa que con los funcionales PW91 y PBE no se obtienen estructuras viables, en donde, con ambos funcionales, las bases están casi perpendiculares entre ellas. Por otro lado, con M052X se obtienen estructuras viables, con las bases casi paralelas entre sí.

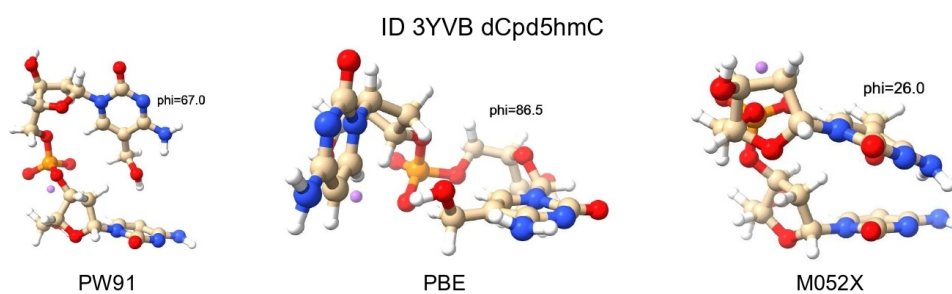


Figura 6.32: Optimizaciones de las estructuras ID 3YVB con los funcionales PW91, PBE y M052X. Se muestra el ángulo ϕ .

Así, dado el buen desempeño del funcional M052X en la optimización de las secuencias anteriores, se decidió usar este funcional para el resto de las estructuras seleccionadas.

En las Tabla 6.68 se presentan las clases conformacionales y los ángulos de torsión sobre el SPB obtenidas con el funcional M052X de todas las estructuras. Se observa que en todas las estructuras las optimizaciones conducen a clases conformacionales válidas. Aunque se obtuvieron clases conformacionales válidas, se observan cambios en éstas respecto a las estructuras experimentales.

Tabla 6.68: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras ID 4R2P y ID 3YVB optimizadas con el funcional M052X.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
5DSB	d5hmCpdC	AB01	86	218	279	304	177	60	143	228	229
4GLC	d5hmCpdG	AB01	89	192	265	308	162	64	152	233	278
3YVB	d5hmCpdG	BB16	147	264	287	302	145	55	138	183	292
4R2P	dApd5hmC	AB01	82	200	275	309	169	63	142	201	247
3YVB	dCpd5hmC	AB01	81	193	264	311	168	62	143	196	242
4GLC	dGpd5hmC	AA00	82	202	283	294	171	59	83	199	220
4R2C	dGpd5hmC	BA05	144	202	283	285	168	39	79	228	242
4GLH	dTpd5hmC	BA05	138	178	259	292	169	59	77	233	222
4PAR	dTpd5hmC	BA05	139	188	276	295	164	60	76	237	202

En la Tabla 6.69 se muestra el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación de todas las estructuras con el funcional M052X. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas.

Se pueden identificar seis estructuras viables usando este funcional. Cabe destacar que las estructuras que no resultaron viables corresponden a secuencias con la modificación en posición 5'.

En las estructuras viables, se mantiene lo esperado para el stacking, para las secuencias Pur-Pyr el stacking es mayor a 1 \AA^2 , teniendo una excepción, para la estructura ID 4R2P, con una secuencia dApd5hmC, donde el stacking es menor de 1 \AA^2 . Por otro lado, se observa para las secuencias Pyr-Pyr que el stacking es menor a 1 \AA^2 .

Estos resultados respaldan el uso del funcional M052X como una buena alternativa para el estudio estructural de los dDMPs, tanto por su capacidad para generar estructuras conformacionalmente válidas como por la obtención de estructuras con un buen apilamiento entre las bases, con una disposición casi paralela de las bases nitrogenadas.

Tabla 6.69: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras optimizadas con el funcional M052X. Se muestra el PDB ID y la secuencia.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h</i> -Twist[°]	<i>h</i> -Rise[Å]	Tilt[°]	Roll[°]	ϕ [°]
5DSB	d5hmCpdC	21.0	158.6	C3'-endo	C2'-endo	0.7	57.1	2.2	-22.6	47.5	52.6
4GLC	d5hmCpdG	34.4	185.5	C3'-endo	C3'-exo	0.4	35.7	0.5	31.6	0.8	31.8
3YVB	d5hmCpdG	195.3	144.3	C3'-exo	C2'-endo	1.2	54.6	3.2	33.9	10.3	35.6
4R2P	dApd5hmC	10.0	164.2	C3'-endo	C2'-endo	0.6	25.7	0.3	18.8	4.9	19.5
3YVB	dCpd5hmC	16.1	162.0	C3'-endo	C2'-endo	0.0	26.6	-3.2	25.4	6.0	26.0
4GLC	dGpd5hmC	11.2	16.8	C3'-endo	C3'-endo	1.8	31.6	1.2	21.1	1.4	21.2
4R2C	dGpd5hmC	168.0	58.4	C2'-endo	C4'-exo	3.6	42.5	2.4	18.0	7.3	19.5
4GLH	dTpd5hmC	156.3	24.2	C2'-endo	C3'-endo	0.4	52.3	2.2	22.1	-17.8	28.3
4PAR	dTpd5hmC	160.1	75.1	C2'-endo	O4'-endo	0.5	27.4	3.1	2.9	-1.1	3.0

Para determinar la influencia de la modificación en los cálculos, se escogieron dos estructura, con los mejores valores en el ángulo ϕ tras la optimización con el funcional M052X, y se sustituyó la base modificada 5hmC por una citosina canónica, mantenido el resto de la estructura sin cambios. Las estructuras seleccionadas fueron ID 4PAR (secuencia dTpd5hmC, $\phi = 3.0$) y ID 4R2C (secuencia dGpd5hmC, $\phi = 19.5$).

En la Tabla 6.70 se presentan los resultados de las clases conformacionales y los ángulos de torsión sobre el SPB obtenidas con el funcional M052X de las estructuras con citosina canónica.

Se observan cambios en las clases conformacionales de las estructuras con citosina canónica con respecto a las estructuras con 5hmC, para la estructura ID 4GLC la clase conformacional resulta AA07, mientras que con 5hmC había sido AA00. En el caso de la estructura ID 4PAR, la clase conformacional resulta BB00, mientras que con 5hmC, la clase conformacional había sido BA05.

Tabla 6.70: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras ID 4GLC y ID 4PAR optimizadas con con el funcional M052X, sustituyendo la modificación 5hmC por una citosina canónica.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
4GLC	dGpdC	AA07	70	263	237	323	117	59	79	183	207
4PAR	dTpdC	BB00	142	178	258	299	179	59	135	232	248

En la Tabla 6.71 se muestra el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación de las estructuras con citosina canónica con el funcional M052X. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas.

Para ambas estructuras se observa un valor normal de stacking, mayor de 1 Å² para la secuencia dApd5hmC y menor de 1 Å² para la secuencia dTpd5hmC. Asimismo, se observa que ambas estructuras resultan en estructuras viables, con sus valores del ángulo ϕ menores a 30°.

Tabla 6.71: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras optimizadas con el funcional M052X, sustituyendo la modificación 5hmC por una citosina canónica.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h-Twist</i> [°]	<i>h-Rise</i> [Å]	Tilt[°]	Roll[°]	ϕ [°]
4GLC	dGpdC	13.0	20.0	C3'-endo	C3'-endo	3.3	42.6	2.1	24.4	8.7	26.1
4PAR	dTpdC	161.5	151.7	C2'-endo	C2'-endo	0.2	45.9	2.2	17.4	-9.5	19.8

En la Figura 6.33 se muestran las optimizaciones de la estructura ID 4GLC obtenida con el funcional MM052X, con la modificación 5hmC y con citosina canónica. Se observa una estructura viable con 5hmC, mientras que, con citosina canónica, se observan dos enlaces por puente de hidrógeno en la estructura, uno formado entre el grupo fosfato y O5' y otro se da entre las bases del dDMP. Esta es una estructura artificial, ya que estos enlaces no existen en el ADN natural.

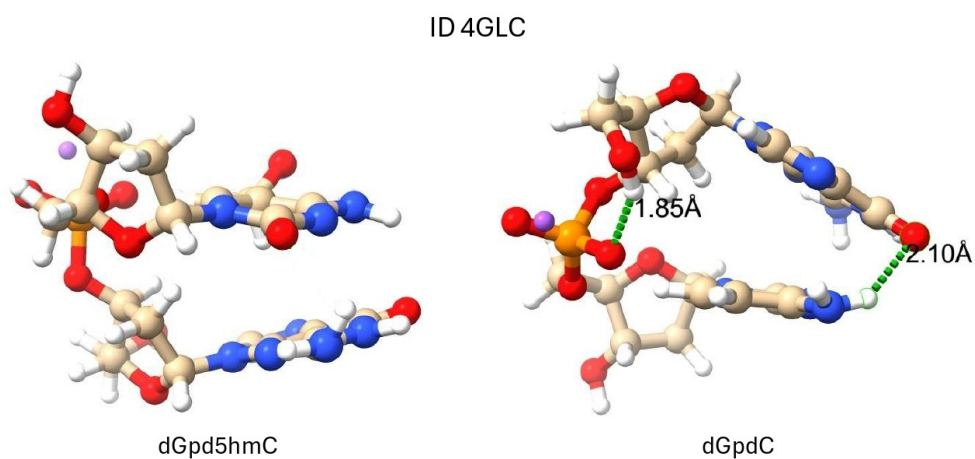


Figura 6.33: Optimizaciones de las estructuras ID 4GLC con el funcional M052X de las secuencias con 5hmC y con citosina canónica.

En la Figura 6.34 se muestran las optimizaciones de la estructura ID 4PAR obtenida con el funcional M052X, con la modificación 5hmC y con citosina canónica. Se observa ambas estructuras viables con este funcional.

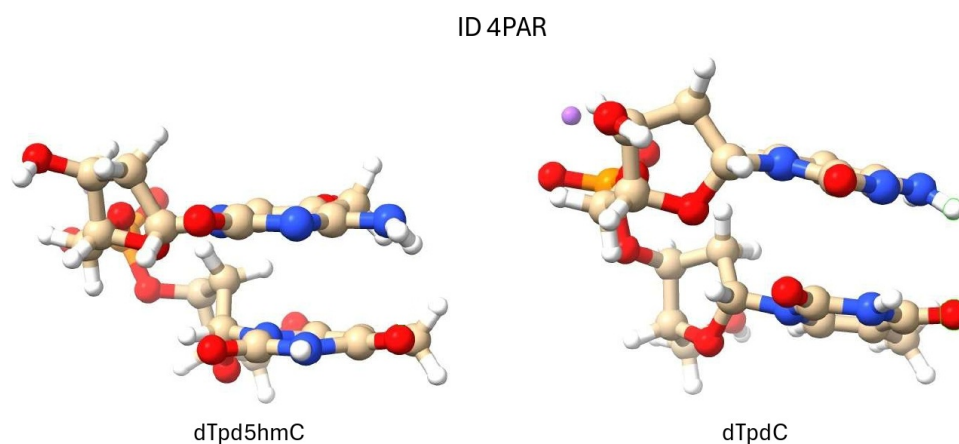


Figura 6.34: Optimizaciones de las estructuras ID 4PAR con el funcional M052X de las secuencias con 5hmC y con citosina canónica.

Finalmente, se agrega el método de solvente implícito PCM a los cálculos de las secuencias anteriores con el funcional M052X. Las estructuras calculadas incluyeron tanto las secuencias con la base modificada 5hmC como con citosina canónica.

En la Tabla 6.72 se presentan los resultados de las clases conformacionales y los ángulos de torsión sobre el SPB obtenidas con el método M052X con solvente implícito de las estructuras con la modificación 5hmC y con citosina canónica.

Para las estructuras con ID 4GLC, no se observan cambios en la clase conformacional, siendo AA00 en ambas. Esta misma conformación se observa en la estructura experimental.

Por otro lado, se observan cambios en las clases conformacionales de las estructuras ID 4PAR, siendo BA05 para la estructura con la base modificada 5hmC, y BB00 para la estructura con la citosina canónica.

Tabla 6.72: Clases conformacionales (CC) y ángulos de torsión sobre el SPB de las estructuras ID 4GLC y ID 4PAR optimizadas con con el funcional M052X incluyendo solvente implícito de las secuencias con 5hmC y citosina canónica.

PDB ID	dDMP	CC	δ_1 [°]	ϵ [°]	ζ [°]	α [°]	β [°]	γ [°]	δ_2 [°]	χ_1 [°]	χ_2 [°]
4GLC	dGpd5hmC	AA00	85	223	293	293	169	58	82	189	203
	dGpdC	AA00	85	223	289	294	166	56	83	192	209
4PAR	dTpd5hmC	BA05	143	193	277	288	166	52	77	240	236
	dTpdC	BB00	146	181	258	295	182	57	134	236	252

En la Tabla 6.71 se presenta el empaquetamiento de los azúcares en cada estructura junto con sus respectivos valores del ángulo de pseudorrotación de las estructuras con la modificación 5hmC y con citosina canónica obtenidas con el funcional M052X incluyendo solvente implícito. Asimismo, se incluyen los parámetros estructurales relacionados con la posición mutua de las bases nitrogenadas.

Se puede observar que todas las estructuras son viables. Para el stacking se aprecia que para las secuencias dGpd5hmC y dGpdC el stacking es el esperado, con valores mayores de

1 Å², así como para la secuencia dTpdC con un valor menor de 1 Å², pero para la secuencia dTpd5hmC, el valor del stacking es mayor de 1 Å².

Tabla 6.73: Pseudorrotación (P) y su correspondiente empaquetamiento del azúcar (Puckering); parámetros estructurales respecto a la posición mutua de las bases apiladas de las estructuras optimizadas con el funcional M052X incluyendo solvente implícito de las secuencias con 5hmC y citosina canónica.

PDB ID	dDMP	P1[°]	P2[°]	Puckering(5')	Puckering(3')	Stacking[Å ²]	<i>h</i> -Twist[°]	<i>h</i> -Rise[Å]	Tilt[°]	Roll[°]	φ[°]
4GLC	dGpd5hmC	4.9	14.7	C3'-endo	C3'-endo	4.4	45.0	3.2	12.5	-2.4	12.8
	dGpdC	7.3	14.2	C3'-endo	C3'-endo	4.1	46.2	2.7	16.2	5.9	17.4
4PAR	dTpd5hmC	166.4	59.7	C2'-endo	C4'-exo	2.9	49.9	3.0	17.3	-1.1	17.3
	dTpdC	167.9	152.5	C2'-endo	C2'-endo	0.1	43.6	2.4	13.5	-7.9	15.9

En la Figura 6.35 se muestran las optimizaciones de las estructuras ID 4GLC obtenidas con el funcional M052X incluyendo solvente implícito, con la modificación 5hmC y con citosina canónica. Se observan ambas estructuras viables con este método.

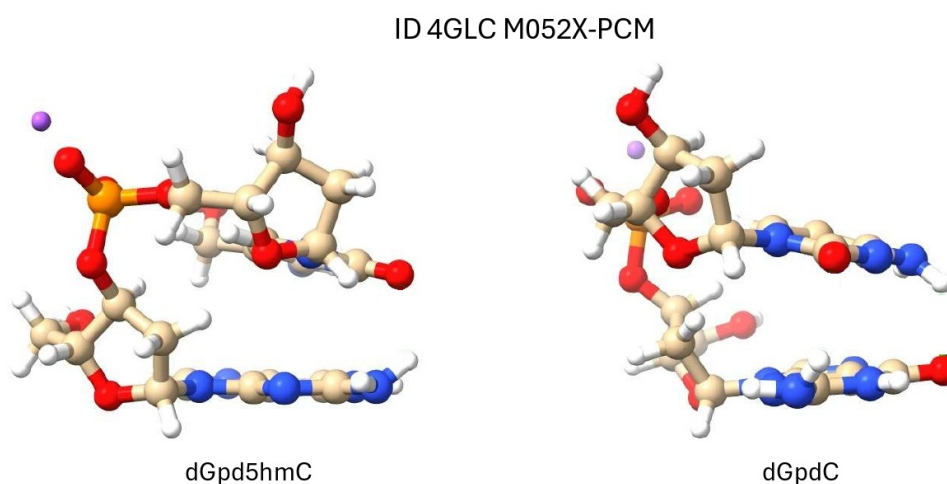


Figura 6.35: Optimizaciones de las estructuras ID 4GLC con el funcional M052X incluyendo solvente implícito de las secuencias con 5hmC y con citosina canónica.

Así mismo, en la Figura 6.36 se presentan las optimizaciones de las estructuras ID 4PAR obtenidas con el la metodología M052X-PCM, con la modificación 5hmC y con citosina canónica. Se observan ambas estructuras viables con este método.

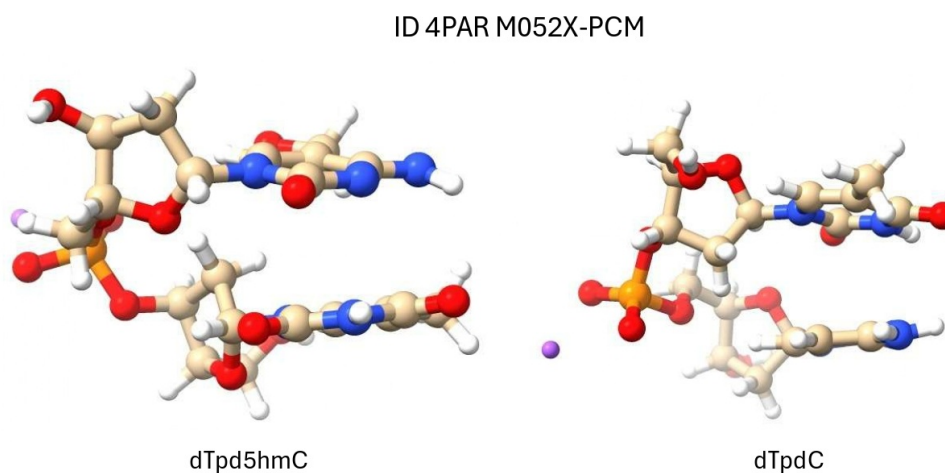


Figura 6.36: Optimizaciones de las estructuras ID 4PAR con el funcional M052X incluyendo solvente implícito de las secuencias con 5hmC y con citosina canónica.

En resumen, se realizaron cálculos de dDMPS con los funcionales GGA, PW91 y PBE, encontrando que estos funcionales no resultan con optimizaciones viables, por lo que se recurrió al uso del funcional híbrido meta-GGA, M052X. De los cálculos realizados con este funcional, se obtienen más estructuras viables para los dDMPS con 5hmC. Las estructuras que no fueron viables, tienen la modificación en la posición 5'.

Por otro lado, para observar la posible influencia de la modificación 5hmC en la estructura de los dDMPS, se realizaron cálculos de algunas estructuras (las que tuvieron un mejor valor de ϕ) sustituyendo la 5hmC por citosinas canónicas. Se encuentra que con la citosina canónica en lugar de la base modificada 5hmC, las estructuras optimizadas también son viables, excepto por una que presenta enlaces por puente de hidrógeno no presentes en el ADN natural. Asimismo, se observan cambios en la clase conformacional de dichas estructuras, sin embargo, no existen cambios en las familias conformacionales.

De estos resultados analizados, se observan cambios sutiles en la estructura de los dDMPS, sin embargo, no se encontraron cambios significativos en las clases conformacionales.

Finalmente, al considerar solvente implícito, también se observan estructuras viables manteniendo valores de ϕ menores de 30° . De igual forma, se presentan cambios en las clases conformacionales del valor experimental, pero no existen cambios de familias conformacionales.

Estos resultados respaldan el uso del funcional M052X como un método viable para estudiar las estructuras de los dDMPS.

CONCLUSIONES

El presente estudio tuvo como objetivo explorar, mediante cálculos de mecánica cuántica (MC) y mecánica molecular (MM), el comportamiento estructural y electrónico de diversas subunidades del ADN que contienen modificaciones en la citosina en posición 5. Estas modificaciones (5-metilcitosina (5mC), 5-hidroximetilcitosina (5hmC), 5-formilcitosina (5fC) y 5-carboxilcitosina (5caC)), relevantes en los procesos de metilación y desmetilación del ADN, fueron analizadas tanto en vacío como en condiciones de solvente implícito, abarcando desde bases aisladas hasta pares de bases y nucleósidos.

Los resultados obtenidos para las bases aisladas revelaron la existencia de varios isómeros estables de estas modificaciones. En particular, se encontraron siete isómeros para 5hmC, dos isómeros para 5fC y seis isómeros para 5caC, mientras que 5mC tiene solo un isómero. De los siete isómeros identificados para 5hmC, dos presentan la energía mínima más favorable, seguidos de otros dos que, aunque tienen el grupo hidroximetil en distintas posiciones mutuales, comparten la misma energía. Del estudio realizado a bases separadas, se ha observado para las distintas modificaciones estudiadas que existen isómeros con energías muy cercanas. Para 5hmC, 5fC y 5caC se observó que el isómero más estable, en las tres modificaciones, presenta un enlace intramolecular (H-bond) entre el grupo funcional en la posición 5 y el grupo amino en posición 4 (fungiendo como donador en todos los casos). En el caso de 5caC, el isómero más estable es aquél que, además, presenta el grupo carboxil en el mismo plano del anillo de la base nitrogenada.

Se encontró que, para bases aisladas, la modificación 5caC es la más favorable, seguida de 5hmC, 5fC y 5mC. Siendo estas más estables al considerar solvente implícito.

Los resultados obtenidos para los pares de bases de los isómeros de las diversas modificaciones de citosina en posición 5 y la base guanina canónica, indican que las modificaciones de citosina en la posición 5 no alteran de forma significativa la geometría de los pares de bases con guanina, ya que las distancias de los enlaces por puente de hidrógeno y la separación entre C1'...C1' se mantienen prácticamente inalteradas, comparando con lo que muestra el par canónico G:C.

A pesar de que las modificaciones de citosina no son más abundantes que la citosina canónica en los distintos genomas (como fue mencionado en el Capítulo 3.2.2), para pares de bases se encontró, con los cálculos realizados con MC (tanto en vacío como en solvente), que los pares G:5mC y G:5hmC tienen una energía de interacción más favorable que la del par canónico G:C. Sin embargo, la diferencia de la energía de interacción respecto a la del par canónico G:C está por debajo de 0.4 kcal/mol, dependiendo de la metodología empleada, por lo que no se puede considerar que la presencia de estos pares sea más favorable que la del par canónico. Estos resultados no se reproducen con los métodos de MM.

Del estudio realizado a los nucleósidos de los isómeros de la modificación 5hmC y del isómero único de 5mC, se encontraron resultados semejantes a los obtenidos para el nucleósido de la base canónica citosina. Los cálculos con MC en vacío muestran que la conformación más favorable es la familia AA00, mientras que, al considerar solvente implícito resulta ser la familia conformacional BB00 la más favorable (lo cual es congruente con la abundancia de dicha conformación en condiciones fisiológicas). En cuanto a los cálculos con MM, no se tiene una reproducción de dichos resultados, pues tanto en cálculos en vacío, como en los que se consideró solvente implícito, se tiene que la conformación BB00 es la más favorable.

Por otro lado, el estudio realizado a los nucleósidos de los isómeros de las modificaciones 5fC y 5caC muestran discrepancia con lo que se tiene para el nucleósido de citosina sin modificar. Dependiendo de la metodología empleada, se tienen excepciones importantes. Para la modificación 5fC, en el caso de los cálculos realizados con solvente implícito, los cálculos empleando el funcional PBE mostraron que la conformación AA00 es la más favorable, mientras que con la metodología MP2 se tiene que ambas conformaciones (BB00 y AA00) tienen las mismas energías. Por el caso de la modificación 5caC se obtuvo algo semejante al considerar solvente implícito en los cálculos de optimización. Estos resultados sugieren que dichas modificaciones podrían desempeñar un papel importante en la estabilidad del dúplex de ADN, prefiriendo la conformación AA00 sobre BB00.

Asimismo, en todos los cálculos realizados a los nucleósidos considerados, tanto con la citosina canónica como con las modificaciones y sus isómeros, se encontró que no existen cambios significativos en los ángulos de torsión sobre el SPB γ y δ , respecto al valor promedio de sus respectivas familias conformacionales BB00 y AA00. Mientras que, para el ángulo χ de aquéllos nucleósidos experimentales en conformación de la familia BB00, dependiendo del cálculo realizado, se encontraron diferentes resultados. Para el caso de los cálculos realizados con MC en vacío, dicha torsión tuvo variaciones por encima de los 30° con respecto de su valor promedio; al utilizar solvente implícito estas variaciones fueron menores.

Los cálculos de optimización realizados con los funcionales GGA (PW91 y PBE) a diversos fragmentos de dDMPs, conteniendo en su secuencia una base 5hmC, arrojaron resultados semejantes, siendo estos de estructuras cuya posición mutua de las bases apiladas no los hace posibles de encontrar en el ADN natural. Por ello, se recurrió al uso del funcional híbrido meta-GGA M05-2X, con el cual se obtuvo una mejora significativa en las estructuras optimizadas. De estos resultados se observa que el funcional M05-2X es un método viable para el estudio de los dDMPs que contengan al menos una base modificada en su secuencia.

Bibliografía

- [1] R. Murin, M. Abdalla, N. Murínová, and J. Hatok. The metabolism of 5-methylcytosine residues in DNA. *Physiol. Res.*, 67:383–389, 2018.
- [2] G. P. Pfeifer, S. Kadam, and S.G. Jin. 5-hydroxymethylcytosine and its potential roles in development and cancer. *Epigenetics & Chromatin*, 6:10, 2013.
- [3] A. D. Bates and A. Maxwell. *DNA Topology*. Oxford University Press, 1993.
- [4] J. D. Watson and F. H. C. Crick. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171:737–738, 1953.
- [5] B. Maddox. The double helix and the 'wronged heroine'. *Nature*, 421:407–408, 2003.
- [6] J. Cerny, P. Bozikova, J. Svoboda, and B. Schneider. A unified dinucleotide alphabet describing both rna and dna structures. *Nucleic Acids Res.*, 48:6367–6381, 2020.
- [7] V. Poltev, V. M. Anisimov, V. Dominguez, A. Ruiz, A. Deriabina, E. Gonzalez, D. Garcia, and F. Rivas. Understanding the origin of structural diversity of dna double helix. *Computation*, 9:98, 2021.
- [8] D. Svozil, J. Kalina, M. Omelka, and B. Schneider. Dna conformations and their sequence preferences. *Nucleic Acids Res.*, 36:3690–3706, 2008.
- [9] X. J. Lu and W. K. Olson. 3dna: a software package for the analysis, rebuilding and visualization of three-dimensional nucleic acid structures. *Nucleic Acids Res.*, 31:5108–5121, 2003.
- [10] A. Breiling and F. Lyko. Epigenetic regulatory functions of dna modifications: 5-methylcytosine and beyond. *Epigenet. Chromatin*, 8:24, 2015.
- [11] T. H. Bestor. Activation of mammalian dna methyltransferase by cleavage of a zn binding regulatory domain. *The EMBO Journal*, 11:2611–2617, 1992.
- [12] M. Munzel, D. Globisch, and T. Carell. 5-hydroxymethylcytosine, the sixth base of the genome. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50:6460–6468, 2011.
- [13] S. Ito, A. C. D'Alessio, O. V. Taranova, K. Hong, L. C. Sowers, and Y. Zhang. Role of tet proteins in 5mc to 5hmc conversion, es-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature*, 466:1129–1133, 2010.
- [14] SG. Jin, Y. Jiang, R. Qiu, TA. Rauch, Y. Wang, G. Schackert, D. Krex, Q. Lu, and GP. Pfeifer. 5-hydroxymethylcytosine is strongly depleted in human cancers but its levels do not correlate with idh1 mutations. *Cancer Res.*, 71:360–365, 2011.
- [15] E. A. Raiber, P. Murat, D. Y. Chirgadze, D. Beraldi, B. F. Luis, and S. Balasubramanian. 5-formylcytosine alters the structure of the dna double helix. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 22:44–49, 2015.

- [16] J. Cadet and J. R. Wagner. Tet enzymatic oxidation of 5-methylcytosine, 5-hydroxymethylcytosine and 5-formylcytosine. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 764-765:18–35, 2014.
- [17] T. Pfaffeneder, B. Hackner, M. Trub, M. Munzel, M. Muller, C. A. Deiml, C. Hagemeyer, and T. Carell. The discovery of 5-formylcytosine in embryonic stem cell DNA. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50:7008–7012, 2011.
- [18] A. Maiti and A. C. Drohat. Thymine dna glycosylase can rapidly excise 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Journal of Biological Chemistry*, 286:35334–35338, 2011.
- [19] C. Bienvenu, J. R. Wagner, and J. Cadet. Photosensitized oxidation of 5-methyl-2'-deoxycytidine by 2-methyl-1,4-naphthoquinone: Characterization of 5-(hydroperoxymethyl)-2'-deoxycytidine and stable methyl group oxidation products. *J. Am. Chem. Soc.*, 118:11406–11411, 1996.
- [20] e.Privat and L. C. Sowers. Photochemical deamination and demethylation of 5-methylcytosine. *Chem. Res. Toxicol.*, 9:745–750, 1992.
- [21] N. Murata-Kamiya, H. Kamiya, N. Karino, Y. Ueno, H. Kaji, A. Matsuda, and H. Kasai. Formation of s-formyl-2'-deoxycytidine from 5-methyl-2'-deoxycytidine in duplex dna by fenton-type reactions and γ -irradiation. *Nucleic Acids Res.*, 27:4385–4390, 1999.
- [22] W.D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox and J. W. Caldwell, and P. A. Kollman. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, 117:5179–5197, 1195.
- [23] V. I. Poltev and N. V. Shulyupina. Simulation of interactions between nucleic acid bases by refined atom-atom potential functions. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 3:739–765, 1986.
- [24] P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev.*, 136:B864, 1964.
- [25] W. Kohn and L. J. Sham. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.*, 140:A1133, 1965.
- [26] R. G. Parr and W. Yang. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. Oxford University Press, 1989.
- [27] J. P. Perdew, J. A. Chevary, S. H. Vosko, K. A. Jackson, M. R. Pederson, D. J. Singh, and C. Fiolhais. Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. *Phys. Rev.*, 46:6671–6687, 1992.
- [28] J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof. Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.*, 77:3865, 1996.
- [29] Y. Zhao, N. E. Schultz, and D. G. Truhlar. Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *Journal of Chemical theory and Computation*, 2:364–382, 2006.
- [30] R. Ditchfield, W. J. Hehrf, and J. A. Pople. Self-consistent molecular-orbital methods. ix. an extended gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules. *J. Chem. Phys.*, 54:724–728, 1971.
- [31] A. V. Onufriev and D. A. Case. Generalized born implicit solvent models for biomolecules. *Annual review of biophysics*, 48:275–296, 2019.
- [32] B. Mennucci. Polarizable continuum model. *WIREs Comput. Mol. Sci.*, 2:386–404, 2012.

- [33] D.A. Cas, H.M. Aktulga, K. Belfon, I.Y. Ben-Shalom, J.T. Berryman, S.R. Brozell, F.S. Carvahol, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham III, G.A. Cisneros, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, N. Forouzes, M. Ghazimirsaeed, G. Giambaşu, T. Giese, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, J. Harris, Z. Huang, S. Izadi, S.A. Izmailov, K. Kasavajhala, M.C. Kaymak, I. Kolossváry, A. Kovalenko, T. Kurtzman, T.S. Lee, P. Li, Z. Li, C. Lin, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, M. Machado, M. Manathunga, K.M. Merz, Y. Miao, O. Mikhailovskii, G. Monard, H. Nguyen, K.A. O’Hearn, A. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, A. Rahnamoun, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugo, A. Shajan, J. Shen, C.L. Simmerling, N.R. Skrynnikov, J. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, J. Wang, X. Wu, Y. Wu, Y. Xiong, Y. Xue, D.M. York, C. Zhao, Q. Zhu, and P.A. Kollman. Amber 2024, 2024. University of California, San Francisco.
- [34] D. A. Case, H. M. Aktulga, K. Belfon, D. S. Cerutti, G. A. Cisneros, V. W. D. Cruzeiro, N. Forouzes, T. J. Giese, A. W. Gotz, H. Gohlke, S. Izadi, K. Kasavajhala, M. C. Kaymak, E. King, T. Kurtzman, T. S. Lee, P. Li, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, M. Manathunga, M.R. Machado, H.M. Nguyen, K.A. O’Hearn, A.V. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, A. Rahnamoun, A. Rishah, S. Schott-Verdugo, A. Shajan, J. Swails, J. Wang, H. Wei, X. Wu, Y. Wu, S. Zhang, S. Zhao, Q. Zhu, T.E. Cheatham III, D.R. Roe, , A. Roitberg, C. Simmerling, D.M. York, M.C. Nagan, , and K.M. Merz Jr. AmberTools, 2023.
- [35] I. Ivani, P. D. Dans, A. Noy, A. Pérez, I. Faustino, A. Hospital, J. Walther, p. Andrio, R. Goñi, A. Balaceanu, G. Portella, F. Battistini, J. L. Gelpi, C. González, M. Vendruscolo, C. A. Loughton, S. A. Harris, D. A. Case, and M. Orozco. Parmbsc1: A refined force-field for dna simulations. *Nat. Methods*, 13:55–58, 2016.
- [36] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox. Gaussian~16 Revision B.01, 2016. Gaussian Inc. Wallingford CT.
- [37] M. J. Frisch, M. Head-Gordon, and J. A. Pople. A direct mp2 gradient method. *Chem. Phys. Lett.*, 166:275–280, 1990.
- [38] Roy Dennington, Todd A. Keith, and John M. Millam. GaussView Version 6, 2016. Semichem Inc. Shawnee Mission KS.
- [39] H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov, and P. E. Bourne. The protein data bank. *Nucleic Acids Res.*, 28:235–242, 2000.
- [40] C. L. Lawson, H. M. Berman, B. Vallat, L. Chen, and C. Zirbel. The nucleic acid knowledgebase: a new portal for 3d structural information about nucleic acids. *Nucleic Acids Res.*, 52:D245–D254, 2024.
- [41] E. C. Meng, T. D. Goddard, E. F. Pettersen, G. S. Couch, Z. J. Pearson, and J. H. Morris. UCSF ChimeraX: Tools for structure building and analysis. *Protein Sci.*, 32:e4792, 2023.
- [42] S. Li, W. K. Olson, and X. J. Lu. Web 3DNA 2.0 for the analysis, visualization, and modeling of 3D nucleic acid structures. *Nucleic Acids Research*, 47:W26–W34, 2019.

- [43] J. Cerny, P. Bozikova, and B. Schneider. Dnatco: assignment of dna conformers at dnatco.org. *Nucleic Acids Res.*, 44:W284–W287, 2016.
- [44] V. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, D. Garcia, C. Sanchez, A. Deriabina, E. González, F. Rivas, and N. Polteva. The role of molecular structure of sugar-phosphate backbone and nucleic acid bases in the formation of single-stranded and double-stranded dna structures. *Biopolymers*, 101:640–650, 2014.
- [45] V. I. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, D. Garcia, A. Deriabina, E. González, R. Salazar, F. Rivas, and N. Polteva. Dft study of dna sequence dependence at the level of dinucleoside monophosphates. *Computational and theoretical Chemistry*, 975:69–75, 2011.
- [46] J. Antonio Piceno Martínez. *Estudio Computacional de la Contribución de las Subunidades del ADN a la Estructura Espacial de la Hélice Doble*. Facultad de Ciencias Físico Matemáticas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 2024.
- [47] D. Renciuik, O. Blacque, M. Vorlickova, and B. Spingler. Crystal structures of b-dna dodecamer containing the epigenetic modifications 5-hydroxymethylcytosine or 5-methylcytosine. *Nucleic Acids Res.*, 41:9891–9900, 41.
- [48] R. Wing, H. Drew, T. Takano, T. Broka, C. Tanaka, S. Itakura, and R. E. Dickerson. Crystal structure analysis of a complete turn of b-dna. *Nature*, 287:755–758, 1980.
- [49] H. Drew, R. Wing, T. Takano, T. Broka, C. Tanaka, S. Itakura, and R. E. Dickerson. Structure of a b-dna dodecamer: conformation and dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 78:2179–2183, 1981.
- [50] J. Gu, J. Wang, and J. Leszczynski. Stacking and h-bonding patterns of dgpdg and dgpdcpdg: Performance of the m05-2x and m06-2x minnesota density functionals for the single strand dna. *Chem. Phys. Lett.*, 512:108–112, 2011.
- [51] Verónica Domínguez Benítez. *Estudio de las regularidades de diferentes estructuras espaciales del ADN por métodos de Mecánica Cuántica y Mecánica Molecular*. Facultad de Ciencias Físico Matemáticas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 2022.