



**BUAP**

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

*Facultad de Ciencias Físico Matemáticas*

---

**Estudio de las regularidades de diferentes estructuras  
espaciales del ADN por métodos de Mecánica  
Cuántica y Mecánica Molecular**

Tesis presentada al

**Posgrado en Ciencias Física Aplicada**

como requisito parcial para la obtención del grado de

**DOCTORA EN CIENCIAS  
(Física Aplicada)**

por

**Verónica Domínguez Benítez**

bajo la dirección de

**Dr. Valeri Poltev (FCFM-BUAP)**  
**Dra. Alexandra Deriabina (FCFM-BUAP)**

Puebla, México  
Enero 2022



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA

*Facultad de Ciencias Físico Matemáticas*

**Estudio de las regularidades de diferentes estructuras  
espaciales del ADN por métodos de Mecánica  
Cuántica y Mecánica Molecular**

Tesis presentada al

**Posgrado en Ciencias Física Aplicada**

como requisito parcial para la obtención del grado de

**DOCTORA EN CIENCIAS  
(Física Aplicada)**

por

**Verónica Domínguez Benítez**

bajo la dirección de

**Dr. Valeri Poltev (FCFM-BUAP)**  
**Dra. Alexandra Deriabina (FCFM-BUAP)**

Puebla, México  
Enero 2022

Copyright © 2022 Verónica Domínguez Benítez  
Derechos reservados

**Título:** Estudio de las regularidades de diferentes estructuras espaciales del ADN por métodos de Mecánica Cuántica y Mecánica Molecular

**Estudiante:** Verónica Domínguez Benítez

## COMITÉ

---

Dra. Olga Leticia Fuchs Gómez  
PRESIDENTE

---

Dr. Eduardo González Jiménez  
SECRETARIO

---

Dr. Miller Toledo Solano  
VOCAL

---

Dra. Dolores García Toral  
VOCAL EXTERNO

---

Dr. Juan Francisco Rivas Silva  
VOCAL EXTERNO

---

Dr. Roberto Ramírez Sánchez  
SUPLENTE

---

Dr. Valeri Poltev  
ASESOR

---

Dra. Alexandra Deriabina  
ASESORA



*Al ser que más amo en la vida,  
quien me recuerda día a día que  
hay alguien siguiendo mis pasos  
y por ello debo cuidarlos.*

*A quien le da sentido a todo,  
quien me ha alentado con sus palabras,  
pero sobre todo con su sonrisa,  
con su mirada, con su amor.*

*A ese lucero luminoso que,  
aún siendo tan pequeño en edad,  
me ha apoyado y ha entendido que  
había momentos en los que  
el tiempo de los dos tenía que esperar.*

*A tí, mi pichito hermoso,  
que me haces sentir invencible,  
a mi Mateo.*



# Agradecimientos

*One looks back with appreciation to  
the brilliant teachers, but with gratitude  
to those who touched our human feelings.*

CARL G. JUNG

Agradezco todas esas coincidencias que me hicieron terminar conociendo a mis mentores, esas que hicieron que llegase al cuerpo académico de Biofísica y Mec. Estad., donde he aprendido, crecido y vivido maravillosas experiencias tanto académicas como personales durante los últimos 7 años y medio de mi vida, las cuales han dejado una huella imborrable en mí.

Estoy profundamente agradecida con la Dra. Sasha por su apoyo inquebrantable y por su guía en los momentos que no encontraba la respuesta, por su aliento y calidez que siempre mostró, por estar pendiente siempre de sus estudiantes y hacernos sentir en un lugar cálido y no sólo un grupo de exclusivo trabajo, sino como una pequeña familia con la que quisiera seguir trabajando.

Mi especial agradecimiento con el Dr. Poltev, quien ha sido un mentor para todos los de nuestro grupo, quien ha marcado un camino que de verdad quisiera yo seguir. A quien le debo el amor que he tomado por el estudio de los ácidos nucleicos, y me ha guiado durante todo este tiempo. Mi gratitud no sólo se limita al ámbito académico en el que siempre hay algo que aprender de él, sino también por mostrarme su lado más humano, por mostrar empatía hacia mi persona, y por permitirme experimentar junto a él y su esposa, Nina Alexandrovna, gratos e inolvidables momentos en nuestro viaje a Sudáfrica, y en esas tardes mientras platicábamos de ciencia y comíamos algo preparado por ella.

Encaminada en esto, quiero agradecer a la señora Nina por todo su cariño y calidez, por sus atenciones y gestos amables, por todas esas pláticas y consejos, por su apoyo para que al ir a Moscú no estuviese como una niña perdida, dándome seguridad y las herramientas necesarias para poder «defenderme». Todo lo vivido al lado de ellos dos han hecho que no sean sólo mi asesor y su esposa, sino personas también muy queridas para mí.

Agradezco a la Dra. Dolores y al Dr. Rivas por todas esas pláticas que tuve con ambos, o cada uno de ellos, en las que discutimos y me compartieron sus conocimientos, abriendo más mi panorama y mostrando un sinfín de posibilidades que yo desconocía. Sus pláticas siempre abrieron mi curiosidad y sed de conocimiento. Pero, también me mostraron su lado no académico, haciendo que la admiración y cariño se hiciera presente por ellos.

A mi comité académico, la Dra. Fuchs, el Dr. Eduardo y la Dra. Dolores, porque en todos mis avances me alentaron, me mostraron dónde necesitaba y podía mejorar, pero también aplaudieron mis aciertos e hicieron crecer mi seguridad.

Doy las gracias a los doctores y amigas que conocí en Moscú, por compartir conmigo sus conocimientos, por hacerme sentir parte de su grupo académico, por todas las tardes de caminatas mostrándome su cultura, por hacer mucho más llevaderos los días que duraron mi estancia haciendo querer que esta se prolongara.

Agradezco a todos mis amigos, compañeros, y profesores que la vida puso en mi camino, por estar en los buenos y malos momentos, por las pláticas y risas que compartimos juntos, por aquellas charlas también sobre ciencia y conocimientos, por hacerme crecer junto a ellos, porque descubrí que el camino siempre es mejor cuando lo recorres con la compañía de amigos y seres apreciados.

Y de manera muy especial a mis padres, por todo su apoyo que me han dado en los años que he vivido, pero sobre todo en los momentos en los que la preocupación no me dejaba seguir adelante. A mi mamá por ser mi guía, por mostrarme lo que es la fortaleza, por no dejarme caer, y ayudarme a levantarme cuando mi mundo se sacudía, a ella porque siempre, sin importar nada, ha estado para mí y ahora también para mi bebé. A ella porque siempre que me siento perdida su amor me cobija. A mi papá porque, a pesar de las circunstancias, me ha mostrado su apoyo en los momentos que no lo pedí pero él sabía que lo necesitaba. A mis hermanas porque su complicidad y cariño han hecho que mi vida sea mejor y bendecida, porque aún con nuestras diferencias sé que tengo su apoyo y amor, y cuando no he pedido su ayuda, pero la necesitaba, su amor las ha traído hasta mí.

A mi lucero, a esa estrella que ha llegado a iluminar cada parte de mi vida, quien ha sacudido todo en mí para motivarme a mejorar día a día. Quien no repara en decirme con las palabras más honestas y hermosas lo orgulloso que se siente, y en demostrarme todo su apoyo que uno no creería un niño pequeño podría. Agradezco que me permitiese ser su mamá y con ello querer superarme y ser quien se merece de verdad.

No puede faltar mi gratitud hacia mi familia, pues me han apoyado también en la realización de mis sueños y metas, me han demostrado su cariño incondicional en los momentos que mi vida más lo necesitó; su aliento, motivación, preocupación, apoyo y amor me mostró que cuando tienes seres amados que te quieren también no hay pruebas que no puedas superar.

Finalmente, al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México, perteneciente a la red de laboratorios nacionales CONACYT, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica, de los cuales este proyecto de investigación se benefició ampliamente.

Esta tesis ha sido posible gracias al apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT) para realizar mis estudios de Doctorado en Ciencias (Física Aplicada) en la FCFM-BUAP, y a la beca de CONACyT (Becas de Movilidad) para realizar una estancia de investigación en la Cátedra de Biofísica de la Facultad de Física, Universidad Estatal de Moscú, Rusia.

# Resumen

*We must believe that we are gifted for something  
and that this thing must be attained.*

MARIE CURIE

La estructura del modelo de ADN de doble hélice de cadenas complementarias antiparalelas ha sido ampliamente estudiada en los últimos años obteniéndose regularidades de formación de ésta para el entendimiento de su funcionamiento. Sin embargo, la mayoría de estudios realizados ha sido a conformaciones de las familias canónicas BI y AI, así como BII y AII; es poco lo que se conoce sobre otras estructuras espaciales del ADN cuya existencia en procesos biológicos ya se ha comprobado, las cuales arrojan evidencia de tener distintas conformaciones y regularidades de formación.

A lo largo de este proyecto se estudiaron computacionalmente conformaciones de la familia estructural Z conteniendo no sólo pares Gua(*syn*):Cyt(*anti*), sino también Ade(*syn*):Thy(*anti*) y Gua(*syn*):Thy(*anti*), dúplex con las bases modificadas 5mC, 5-hmC, 8-oxoG y 2AP, y estructuras con cadenas complementarias de distintas clases conformacionales, incluyendo aquéllas clases que son intermedias entre las familias canónicas BI, AI, BII y AII. En adición, se ha realizado un análisis a optimizaciones de geometría realizadas a fragmentos de SPBs extraídos de dDMPs de distintas clases conformacionales, NtCs, abarcando también clases correspondientes a dDMPs de ADN-Z.

Este estudio nos ha permitido obtener regularidades de formación para este tipo de conformaciones, las cuales son notablemente diferentes a las reglas que se tienen para dúplex de las familias BI y AI. Las reglas encontradas están intrínsecamente relacionadas a los resultados obtenidos del estudio realizado a SPBs separados de las distintas NtCs consideradas.

En adición, se propone el uso de una metodología y ruta de cálculos para estudiar este tipo de conformaciones. Del análisis realizado a distintas metodologías, se ha encontrado cuál describe cuantitativamente la mayoría de datos experimentales de interacciones no-enlazantes en el ADN, y con ello reproduce la mayoría de características geométricas de las estructuras experimentales, reproduciendo estructuras viables que resultan en las reglas de superposición propuestas y encontradas en este trabajo.

Del estudio llevado a cabo durante la realización de esta tesis doctoral, se han publicado y presentado varios de los resultados obtenidos. Estos incluyen regularidades de formación de algunas conformaciones de dúplex estudiados con cadenas de distintas clases NtCs; así como la determinación de cuáles clases conformacionales tienen correspondencia con mínimos de energía para SPBs separados, resultado importante ya que el esqueleto azúcar-fosfato juega un papel crucial en la dependencia que muestra la formación 3D de la hélice doble de ADN en la secuencia de nucleósidos.

Además del análisis realizado a la aplicación de distintas metodologías para el estudio de regularidades de formación de la estructura espacial del ADN, el cual ha mostrado que no existe un método que describa cuantitativamente todos los datos experimentales sobre interacciones no-enlazantes en el ADN, requiriendo un uso combinado de varios métodos.

## Publicaciones

### Artículos

- Poltev, V., Anisimov, V.M., **Dominguez, V.**, Ruiz, A., Deriabina, A., Gonzalez, E., Garcia, D., Rivas, F. (2021). Understanding the Origin of Structural Diversity of DNA Double Helix. *Computation*, 9, 98.
- Poltev, V., Deriabina, A., **Dominguez, V.**, Sanchez, C., Gonzalez, E., Polteva, N.A. (2019) Some Problems of Computer Simulation of Non-Bonded Interactions in DNA. *Biophysics*, 64, 170-181.
- Poltev, V., Anisimov, V.M., **Dominguez, V.**, Gonzalez, E., Deriabina, A., Garcia, D., Rivas, F., Polteva, N.A. (2018) Biologically important conformational features of DNA as interpreted by quantum mechanics and molecular mechanics computations of its simple fragments. *Journal of molecular modeling*, 24, 46.

### Capítulos

- Poltev, V., Anisimov, V.M., **Dominguez, V.**, Deriabina, A., Gonzalez, E., Garcia, D., Vázquez-Báez, V., Rivas, F. (2020) Current Problems in Computer Simulation of Variability of Three-Dimensional Structure of DNA. In: Mammino L., Ceresoli D., Maruani J., Brändas E. (eds) *Advances in Quantum Systems in Chemistry, Physics, and Biology. QSCP 2018*. Progress in Theoretical Chemistry and Physics, vol 32. Springer, Cham.

## Workshops y Estancias de Investigación

- Estancia de Investigación realizada en la Cátedra de Biofísica de la Facultad de Física de la Universidad Estatal Lomonósov de Moscú, Rusia. Proyecto: *Extending study of diversity sources and of formation principles of nucleic acid structures taking into account chirality role in the organization of biopolymers*. (2019)

- XXIII International Workshop on Quantum Systems in Chemistry, Physics and Biology (QSCP-XXIII). Phalaborwa, Sudáfrica. *Regularities of Three-Dimensional Structure Formation of DNA Fragments with Different Conformations of Two Chains*. **V. Domínguez Benítez**, A. Deriabina, E. González, D. García, F. Rivas, V. Poltev (2018).

## Conferencias

- XIV International Scientific Conference. MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY BPPC-2019. Moscú, Rusia. *Study of regularities of DNA three-dimensional structure formation via quantum mechanics methods*. **Domínguez V.**, Deriabina A., González E., García D., Rivas F., Anisimov V.M., Poltev V.I. (2019).
- LXI Congreso Nacional de Física. Puebla, México. *Análisis estructural de fragmentos mínimos de ADN, con conformaciones diferentes de los esqueletos azúcar-fosfato de ambas cadenas, por distintos métodos de Mecánica Cuántica*. **V. Domínguez Benítez**, D. García, A. Deriabina, E. González, V. Poltev (2018)
- XVI Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica. Puebla, México. *Estudio mecánico cuántico de las características estructurales de fragmentos mínimos de ADN con 5-metilcitosina y de ADN-Z*. **V. Domínguez Benítez**, A. Deriabina, D. García, J. Martagón-Domínguez, E. González, V. Poltev (2017)



# Índice

<b>Agradecimientos</b>	<b>IX</b>
<b>Resumen</b>	<b>XI</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Importancia biológica de diferentes conformaciones espaciales de ADN . . . . .	2
1.1.1. Conformaciones de dúplex de Watson-Crick con ángulos de torsión en regiones de distintas clases conformacionales . . . . .	4
1.1.2. Estructuras de la Familia Conformacional Z . . . . .	6
1.1.3. Conformaciones de dúplex con las bases modificadas 5-metilCitosina, 5- hidroximetilcitosina, 8-oxoguanina y 2-Aminopurina . . . . .	7
<b>2. Estudio Teórico-Computacional del ADN</b>	<b>11</b>
2.1. Mecánica Cuántica . . . . .	13
2.1.1. Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) . . . . .	18
2.2. Metodología empleada para estudiar las diferentes estructuras espaciales de ADN	23
2.2.1. Optimización de la geometría de los fragmentos estudiados . . . . .	25
2.2.2. Medición de los parámetros geométricos . . . . .	28
<b>3. Resultados</b>	<b>29</b>
3.1. Estudio de esqueletos azúcar-fosfato de dDMPs con diferentes clases conforma- cionales . . . . .	31
3.1.1. Grandes familias conformacionales más conocidas de ADN . . . . .	35
3.1.2. Clases conformacionales con esqueletos azúcar-fosfato correspondientes a mínimos de energía para SPBs separados . . . . .	43
3.1.3. NtC BB10 y Subclase X . . . . .	50
3.1.4. Clases conformacionales con esqueletos azúcar-fosfato desviados de los mínimos de energía para SPBs separados . . . . .	53
3.1.5. Clases conformacionales estudiadas de ADN-Z . . . . .	60
3.2. Fragmentos mínimos de dúplex de ADN con cadenas de distintas clases NtCs .	64
3.2.1. Estudio de fragmento de dúplex con cadenas complementarias en confor- mación AI:AI . . . . .	65
3.2.2. Fragmentos mínimos de dúplex con una cadena tipo-BI y su complemen- taria del tipo-BII . . . . .	68
	XV

3.2.3.	Fragmentos mínimos de dúplex con una o ambas cadenas en conformación de la NtC BB12 . . . . .	89
3.2.4.	Fragmentos mínimos de dúplex con sólo una de sus cadenas de la NtC BA09 . . . . .	97
3.2.5.	Fragmentos mínimos de dúplex con sólo una de sus cadenas en conformación de la <i>Subclase X</i> . . . . .	106
3.3.	Estudio de dúplex de ADN conteniendo una base nitrogenada modificada . . .	114
3.3.1.	Conformación de dúplex con la base 5-metilcitosina . . . . .	115
3.3.2.	Conformación de dúplex con la base 5-hidroximetilcitosina . . . . .	120
3.3.3.	Conformación de dúplex con la base 8-oxoguanina . . . . .	124
3.3.4.	Conformación de dúplex con la base 2-Aminopurina . . . . .	125
3.4.	Conformaciones de ADN-Z . . . . .	128
3.4.1.	Fragmentos mínimos de dúplex de ADN-Z conteniendo las bases Adenina - Timina . . . . .	129
3.4.2.	Fragmentos mínimos de dúplex de ADN-Z con el par Gua:Thy . . . . .	132
<b>4.</b>	<b>Discusión</b>	<b>135</b>
4.1.	Análisis de esqueletos azúcar-fosfato cuyas diferentes clases conformacionales tienen o no mínimos de energía para SPBs separados . . . . .	135
4.2.	Estudio de fragmentos de ADN-Z de distintas clases conformacionales . . . . .	141
4.3.	Regularidades de formación de dúplex con dDMPs de distintas clases NtCs . .	142
4.3.1.	Problemas suscitados en la reproducción de estructuras viables con la metodología empleada . . . . .	149
4.4.	Implicaciones del estudio realizado a cdDMPs con bases modificadas . . . . .	151
<b>5.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>155</b>
<b>A.</b>	<b>Primeras pruebas realizadas: problemas en la reproducción de todas las interacciones estabilizadoras de la doble hélice de ADN</b>	<b>159</b>
A.1.	Dúplex de ADN-B con la base 5-Metilcitosina . . . . .	160
A.2.	Rutas de cálculos empleados con distintas metodologías en la estructura (dCpdG) <sub>2</sub> con conformación BA01:BB07 . . . . .	161
A.3.	Análisis de funcionales y rutas de cálculos a emplear en el estudio de cdDMPs .	163
<b>B.</b>	<b>Tablas de empaquetamiento de los anillos de los azúcares en algunas de las estructuras estudiadas</b>	<b>169</b>
	<b>Bibliografía</b>	<b>175</b>

# Índice de figuras

1.1.	<i>Pirimidinas y Purinas, clasificación de las cuatro bases nitrogenadas del ADN y los enlaces de hidrógeno que forman en los pares canónicos de Watson-Crick.</i>	2
1.2.	<i>Estructura atómica del fragmento de ADN de secuencia dApdTdGpdC [2].</i>	3
1.3.	<i>Reglas de superposición para los WCD de las familias AI y BI, dependientes en la secuencia de los nucleótidos. En verde se muestra el área de traslape entre los anillos de las bases apiladas.</i>	4
1.4.	<i>Conformación de dGpdA:dTpdC, con designación de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de la cadena dGpdA, así como de los ángulos glucosídicos <math>\chi</math> [2].</i>	4
1.5.	<i>Clasificaciones CANA en las cuales se han agrupado las clases conformacionales NtCs de los dDMPs.</i>	5
1.6.	<i>Estructura general del complejo de un fragmento de ADN y la proteína CENP-B, NDB ID PDB0192.</i>	6
1.7.	<i>Inmunofluorescencia de ZBP1 en el tejido de un intestino delgado humano con el anticuerpo-ZBP1 a 20 ug/ml.</i>	6
1.8.	<i>La activación microglial causada por la acumulación de 8-oxoG nuclear es responsable de la neurodegeneración en los cerebros.</i>	7
1.9.	<i>Par de nucleósidos 5mC:Gua.</i>	8
1.10.	<i>Patrón de tinción anti-5meC en embriones en estadio temprano de preimplantación. Las imágenes muestran cromosomas condensados (B1), 2 células (B2), 4 células (B3) y 8 células (B4). El desenmascaramiento antigénico de 5meC (verde) fue por una breve exposición a ácido. El ADN se tiñó con yoduro de propidio (PI, rojo). Las imágenes de estos dos canales se fusionaron para mostrar la colocación (fusión o merge).</i>	8
1.11.	<i>Secciones sagitales de embriones de ratón de 10.5, 12.5 y 15.5 días después del coito, teñidos con anti-5-hmC</i>	9
2.1.	<i>Diagrama del estudio de la estructura de sistemas moleculares.</i>	12
2.2.	<i>Desoxidinucleósidos monofosfatos complementarios, unidad mínima de la hélice doble del ADN, extraídos de un fragmento experimental depositado en el NDB.</i>	24
2.3.	<i>IZQ: Parámetros de posición mutua de las bases y pares de bases nitrogenadas. Figura adaptada de [40]. DER: Área de traslape entre los anillos de las bases apiladas (stacking).</i>	25
2.4.	<i>Superficie de energía potencial (PES) de un sistema molecular.</i>	27

3.1.	<i>Conformaciones experimentales de SPBs de diferentes clases NtC de dDMPs. Los ángulos de torsión marcados indican aquéllos en donde difieren dichas clases con la familia BB00. Las estructuras presentan una misma posición mutua de los ángulos glucosídicos. Extracción: BB00, del fragmento dCpdC NDB ID PDT058; AA00, del fragmento dCpdA NDB ID PD0426; BB02, del fragmento dApdA NDB ID PD0311; BB04, del fragmento dCpdG NDB ID 5ET9. Figura publicada en [1]</i>	32
3.2.	<i>Esqueletos azúcar-fosfato experimentales correspondientes a todas las clases conformacionales (NtCs) estudiadas, Tabla 3.1, presentando la misma posición mutua de los enlaces glucosídicos y superpuestos entre sí para mostrar la diferencia entre las NtCs mencionadas.</i>	33
3.3.	<i>SPBs seleccionados de dDMPs en las conformaciones BI y BII (NDB ID PD0192 y 5ET9, respectivamente). La posición de 5'-desoxirribosa es la misma para ambas conformaciones. Se encuentra marcado con amarillo el hidrógeno que ha sustituido al nitrógeno de la base correspondiente. Figura publicada en [2]</i>	35
3.4.	<i>Mínimos obtenidos para SPBs optimizados de dDMPs de las clases conformacionales BA01 y BA05. Se muestra una misma posición mutua de los enlaces glucosídicos. En verde: mínimo obtenido con PBEPBE para SPB-BA05. En azul: mínimo obtenido con PBEPBE para SPB-BA01.</i>	44
3.5.	<i>Conformaciones de SPB experimental (izquierda) y optimizado con PBEPBE (derecha) de las clases NtCs BB00 y BB12, las cuales tienen ángulos de torsión correspondientes a mínimos de energía para SPBs separados. La optimización de las respectivas geometrías produce un cambio mínimo en la posición mutua de los enlaces glucosídicos entre estructuras optimizadas y experimentales. Los nitrógenos de las bases han sido sustituidos por hidrógenos en los cálculos de optimización. Figura publicada en [1].</i>	49
3.6.	<i>Cambios en las conformaciones de esqueletos azúcar-fosfato después de optimizaciones realizadas con PBEPBE a estructuras de NtCs que no tienen correspondencia con mínimos de energía para SPBs separados. Izquierda: SPB experimental, derecha: SPB optimizado con PBEPBE. Se muestra un cambio drástico en la posición mutua de los enlaces glucosídicos debido a las optimizaciones. Los ángulos de torsión marcados indican aquéllos en los que se han obtenido cambios de más de 30°. Figura publicada en [1].</i>	53
3.7.	<i>Mínimos obtenidos para SPBs optimizados con PBEPBE de dDMPs de las clases conformacionales BB13 y BB12. Se muestra una misma posición mutua de los enlaces glucosídicos. En verde: mínimo obtenido para SPB-BB12. En azul: mínimo obtenido para SPB-BB13.</i>	57
3.8.	<i>Esqueletos azúcar-fosfato de dDMPs de diferentes clases conformacionales de ADN-Z. ZZ1S: NtC de dDMPs con la secuencia Pyr(anti)-Pur(syn). ZZS1 y ZZS2: NtCs de dDMPs de secuencia Pur(syn)-Pyr(anti). ZZ1S NDB ID 6A1Q, ZZS1 NDB ID NA0804, ZZS2 NDB ID NA0804.</i>	61
3.9.	<i>Diferentes vistas de dúplex de ADN-A (NDB ID AD0067), con una cadena en conformación AA00 y la otra cercana a AA01, optimizado con DFT empleando el funcional PBEPBE. Arriba: se muestra la superposición entre los anillos de las bases apiladas. Abajo: se puede observar la posición mutua de los pares de bases apilados. Figura publicada en [3]</i>	67

3.10. Estructura experimental y optimizada de $(dCpdG)_2$ con una cadena de la clase NtC BA01 (derecha) y la otra de la clase BB07 (izquierda). Proyección para mostrar el área de superposición entre las bases apiladas de ambas cadenas. (a) Estructura experimental, NDB ID 5EZF. (b) Estructura optimizada empleando el funcional M05-2X. . . . .	71
3.11. Estructura optimizada de $dCpdG$ correspondiente a la NtC BA01, empleando el funcional PW91PW91 en el programa ADF. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de las bases apiladas y la notable superposición entre los anillos de estas. . . . .	72
3.12. Estructuras de $dCpdG$ correspondiente a la NtC BA01 optimizadas con PBEPBE. Derecha: resultado de cálculos realizados a la estructura experimental. Izquierda: resultado de cálculos realizados al dDMP con stacking grande extraído del dúplex optimizado con PBE. Se encuentran indicados los enlaces de hidrógeno formados. . . . .	73
3.13. Estructura optimizada con el funcional PBEPBE del fragmento $(dGpdC)_2$ con cadenas complementarias de las clases BA01:BB07. Se encuentra indicado con verde el enlace de hidrógeno artificial formado. Se pueden observar los pares de bases apilados en una posición con un Roll de $-44^\circ$ . . . . .	75
3.14. Cadena única $dGpdC$ -BB07 inicial (izquierda) y optimizada con el funcional PBEPBE (derecha). Se muestra la superposición de los anillos de las bases del dDMP inicial y la posición mutual de las bases del dDMP optimizado con PBE para cada caso respectivamente. Se encuentra indicado el enlace de hidrógeno artificial formado entre bases apiladas. (a) Resultado obtenido para conformación experimental. (b) Resultado obtenido para conformación obtenida de previa optimización con el campo de fuerzas ff99. . . . .	77
3.15. Conformación experimental y optimizada de $(dGpdC)_2$ , con cadenas de las clases NtCs BA05 (cadena izquierda) y BB07 (cadena derecha). Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases y la superposición de las bases apiladas. (a) Estructura experimental, NDB ID BDL078. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. . . . .	78
3.16. Estructura experimental de $(dGpdC)_2$ tomados de los fragmentos NDB ID BDL084 (fig. nítida) y BDL078 (fig. blanca). Se muestra una posición mutual de los pares de bases semejante en ambos dúplex. . . . .	81
3.17. Conformaciones de $(dGpdC)_2$ , con una cadena del tipo BI-to-A y la otra cadena de la clase BB07, optimizados con los funcionales M05-2X y M06-2X. Las estructuras iniciales han sido tomadas de los fragmentos experimentales NDB ID 5ET9, BDL078 y BDL084. Se muestra una proyección con las bases apiladas superpuestas, todos los dúplex presentan una posición y parámetros geométricos semejantes. . . . .	83
3.18. Conformación experimental y optimizada de $dTpdT:dApdA$ , con la cadena $dTpdT$ de la NtC BA05 y la cadena $dApdA$ de la NtC BB04. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases y la superposición de las bases apiladas. (a) Estructura experimental, NDB ID NA2122. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X, la cual presenta cambio de conformación en la cadena $dApdA$ (va a la subclase X). . . . .	84

3.19. Estructura general del complejo de ADN y la proteína CENP-B, NDB ID PDB0192. . . . .	86
3.20. Secuencia de los 21 nucleótidos de ADN del fragmento PD0192, con la CENP-B box. Los tres cuadros, marcados como sitio 1, 2 y 3, indican aquéllas bases esenciales para el enlace de la proteína CENP-B a la CENP-B box del ADN. Se han resaltado las bases nitrogenadas que conforman el cdDMP estudiado en este trabajo. Figura adaptada de [4]. . . . .	87
3.21. Estructura optimizada con el funcional PBEPBE del fragmento dApdC:dGpdT con la cadena dApdC de la NtC BB12 y la cadena dGpdT BB02. Se encuentran indicados con verde los enlaces de hidrógeno artificiales formados. Se puede observar los pares de bases apilados en una posición con un Roll de $-54.8^\circ$ . . . . .	89
3.22. Conformación experimental y optimizada de dApdC:dGpdT, con dApdC (cadena izquierda) de la NtC BB12 y dGpdT (cadena derecha) de la NtC BB02. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases y la superposición de las bases apiladas. (a) Estructura experimental, NDB ID 5GUN. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. . . . .	90
3.23. Conformaciones de dApdC:dGpdT optimizadas por distintas rutas con el funcional M05-2X, con dApdC (cadena izquierda) de la NtC BB15 y dGpdT (cadena derecha) de la NtC BB12. La proyección muestra la superposición de las bases apiladas. (a) Resultado obtenido de la estructura experimental, presenta cambio de conformación: dApdC-BA01. (b) Resultado obtenido de la estructura optimizada con el campo de fuerzas AMBER OL15, presenta cambio de conformación: dApdC-BB01. . . . .	93
3.24. Conformaciones experimental y optimizada de dGpdA:dTpdC. Ambas cadenas corresponden a la NtC BB12. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela entre los pares de bases apilados y la substancial superposición entre los anillos de las bases purinas. (a) Estructura experimental, NDB ID NA0318. (b) Estructura optimizada empleando el funcional M05-2X. Figura publicada en [1]. . . . .	95
3.25. Conformación de dApdG:dCpdT optimizada con el funcional M05-2X, con la cadena dApdG de la NtC BB12* y la cadena dCpdT de la clase AA00. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela entre los pares de bases apilados y la substancial superposición entre los anillos de las bases purinas. . . . .	97
3.26. Estructuras optimizadas de dTpdG:dCpdA, con dTpdG (cadena izquierda) de la NtC BB12* y dCpdA (cadena derecha) de la clase AA00. Se muestra la superposición entre los anillos de las bases apiladas, siendo diferente en la cadena dTpdG. (a) Estructura optimizada con el funcional PBEPBE. (b) Estructura optimizada mediante el funcional M05-2X. . . . .	100
3.27. Conformación experimental y optimizada de dTpdC:dGpdA con dTpdC (cadena izquierda) de la clase BA09 y dGpdA de BB00. La proyección muestra la superposición de los anillos de las bases apiladas. (a) Estructura experimental NDB ID NA0547. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. . . . .	103
3.28. Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dCpdC:dGpdG con dCpdC (cadena izquierda) de la clase BA09 y dGpdG de BB07. La proyección muestra la substancial superposición de los anillos de las Citosinas apiladas y la nula superposición entre los anillos de las Guaninas. . . . .	106

- 3.29. *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dTpdT:dApdA con la cadena dTpdT de la Subclase X y la cadena dApdA de la NtC BB00. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases apilados y la superposición normal entre estos. . . . .* 107
- 3.30. *Conformaciones experimental y optimizada de dGpdA:dTpdC con la cadena dGpdA de la Subclase X y la cadena dTpdC de la NtC BB00. La proyección muestra el cambio de superposición entre las bases apiladas después de los cálculos de optimización. (a) Estructura experimental, NDB ID 5KEO. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. . . . .* 109
- 3.31. *Conformaciones optimizadas con el funcional PBEPBE de dGpd5CM:dGpdC. Se encuentran indicados con verde los enlaces de hidrógeno artificiales formados, y se han marcado los grupos metil de la base 5mC. Se puede observar la inclinación de las bases hacia diferente surco en cada caso. (a) Estructura experimental optimizada. (b) Estructura optimizada iniciando de resultado del campo de fuerzas AMBER ff99. . . . .* 115
- 3.32. *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dGpd5CM:dGpdC. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases y la superposición en cada cadena. Se ha indicado el grupo metil de la base 5mC. . . . .* 117
- 3.33. *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de d5CmpdG:dCpdG. Se puede observar la desviación en la posición de la base 5mC, mientras que las otras tres bases tienen una posición casi paralela entre sí. Se ha indicado el grupo metil de 5mC. . . . .* 118
- 3.34. *Conformaciones optimizadas de dTpd5HC:dGpdA, donde las cadenas tienen las conformaciones BA05:BB07\*. La proyección muestra el cambio de superposición entre los anillos de las bases apiladas obtenida con cada metodología. Se ha indicado el grupo hidroximetil de 5-hmC. (a) Estructura optimizada con el funcional PBEPBE. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. . . . .* 121
- 3.35. *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dApd8OG:dCpdT, con ambas cadenas de la clase NtC BA01. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases y la superposición normal entre los anillos de las bases apiladas de ambos dDMPs. Se ha marcado el grupo oxo de la base 8-oxoG . . . . .* 124
- 3.36. *Conformaciones experimentales de fragmentos mínimos de dúplex con la base 2-Aminopurina. La proyección muestra la superposición normal entre los anillos de las bases apiladas de ambos dDMPs. (a) Estructura d2PRpdA:dTpdT. (b) Estructura dApd2PR:dTpdT. . . . .* 125
- 3.37. *Conformación experimental y optimizada del fragmento dCpdA:dTpdG de ADN-Z, con ambas cadenas de la clase NtC ZZ1S. Se puede observar la posición mutual de los pares de bases, antes y después de ser optimizada la estructura. Después de realizar cálculos de optimización a la geometría se tiene cambio en el arreglo mutual de las bases, encontrándose las purinas con inclinación y fuera de plano. (a) Estructura experimental, NDB ID 6A1Q. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. . . . .* 130

- 3.38. *Conformación del fragmento (dTpdG)<sub>2</sub> de ADN-Z optimizado con el funcional PBEPBE, con sólo una de sus cadenas de la clase ZZ1S. La dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela entre los pares de bases apilados y la superposición entre los anillos de las pirimidinas. Se puede observar que esta estructura presenta dos enlaces de hidrógeno en cada par de bases Gua(syn):Thy(anti), lo cual le brinda una mayor estabilidad, comparada con el cdDMP experimental que sólo tiene un enlace de hidrógeno en dichos pares. . . . .* 133
- 4.1. *Comparación de cinco ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para las clases NtCs BB00, BB07, BA16, BB12, BB04 y BB02. Las líneas continuas representan los valores promedios de las torsiones para las clases publicadas por Svozil et al. [5]; las líneas discontinuas indican las torsiones que presenta la estructura experimental seleccionada del NDB; las líneas punteadas muestran los valores obtenidos para la estructura optimizada con el funcional PBEPBE. Figura publicada en [2]. . . . .* 137
- A.1. *Conformaciones de fragmentos cdDMPs optimizados con DFT y con el campo de fuerzas AMBER. Se puede observar la posición mutual de los pares de bases con una gran inclinación entre los mismos, así como la formación de enlaces de hidrógeno entre las bases apiladas. (ARRIBA) Estructuras dGpd5CM:dGpdC optimizadas con el funcional PBEPBE, derecha: con la base 5mC, izquierda: previo a la optimización se ha eliminado el grupo metil de 5mC. (ABAJO) Estructura dCpdG:d5CMpdG optimizada con el campo de fuerzas ff99. . . . .* 160
- A.2. *Conformaciones de (dGpdC)<sub>2</sub> optimizadas con el funcional PBEPBE por distintas rutas de cálculos, con ambas cadenas en conformación BA05:BB07. Se puede observar una posición mutual de los pares de bases con un ángulo Roll grande entre los mismos, además de la formación de un enlace de hidrógeno entre las bases apiladas de cada cdDMP. (a) Resultado obtenido para la estructura experimental. (b) Resultado obtenido para el cdDMP previamente optimizado con el funcional M05-2X. . . . .* 164
- A.3. *Estructura (dGpdC)<sub>2</sub> optimizada con el funcional M05-2X, cuyas cadenas se encuentran en conformación BB07:BA05. Las dos proyecciones muestran una buena posición mutual de los pares de bases apilados y la superposición de las bases, siendo normal en la cadena dGpdC-BA05, mientras que en la cadena BB07 esta es despreciable. Se han marcado las distancias interatómicas cortas entre los átomos de los anillos de las bases. . . . .* 165
- A.4. *Conformaciones (dGpdC)<sub>2</sub> optimizadas, con ambas cadenas de las clases BB07:BA05. Se puede observar que ambas estructuras presentan las mismas torsiones y superposición entre las bases apiladas. (fig. nítida) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. (fig. blanca) Estructura obtenida con el funcional PW91-ulg del cdDMP previamente optimizado con M05-2X. . . . .* 167

A.5. Conformaciones  $(dApdT)_2$  optimizadas, con una cadena en conformación de la clase BA16 y la complementaria de BB00. Se muestra el cambio en la distancia  $h$ -Rise entre ambas optimizaciones. Se puede observar una reproducción de las torsiones y superposiciones de las bases apiladas por parte de PW91-ulg. (a) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. (b) Estructura obtenida con el funcional PW91-ulg del cdDMP previamente optimizado con M05-2X. (c) Conformaciones obtenidas con ambos funcionales, fig. nítida: resultado de M05-2X, fig. blanca: resultado de PW01-ulg. . . . . 168



# Índice de Tablas

3.1. Ángulos de torsión y ángulos glucosídicos de las clases conformacionales de fragmentos mínimos de las cadenas de ADN (NtCs, [6]) consideradas en este trabajo. . . . .	31
3.2. Ángulos de torsión y glucosídicos de las clases NtCs [6] no consideradas en este trabajo, pero cuyos mínimos de energía para SPB separado se han obtenido. . .	33
3.3. Ángulos de torsión y ángulos glucosídicos de las clases NtCs [6] de ADN-Z levógiro consideradas y estudiadas en este trabajo. . . . .	34
3.4. Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación BI (BB00, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos. . . . .	36
3.5. Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación AI (AA00, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos. . . . .	38
3.6. Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación AII (AA01, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos. . . . .	40
3.7. Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación BII (BB07, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos. . . . .	41
3.8. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB01, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	43
3.9. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA01, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	45
3.10. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA05, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	45
3.11. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB12, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	46
3.12. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA09, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	48
3.13. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional AB02, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	50
3.14. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la Subclase X, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	51

3.15. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB02, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . .	54
3.16. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB04, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . .	55
3.17. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB15, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . .	56
3.18. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB13, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . .	58
3.19. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA08, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . .	59
3.20. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA16, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . .	59
3.21. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional ZZ1S, Pyr(anti)-Pur(syn), correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	61
3.22. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para estructuras experimentales de la clase conformacional ZZS1, de dDMPs de secuencia Pur(syn)-Pyr(anti), y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados. . . . .	62
3.23. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional ZZS2, Pur(syn)-Pyr(anti), la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados. . . . .	63
3.24. Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para las cadenas de la estructura experimental y las optimizaciones del dúplex dGpdG:dCpdC con la cadena dGpdG en conformación AA00 y la cadena dCpdC cercana a AA01. . .	66
3.25. Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dCpdG (BA05):dCpdG(BB04) optimizado por distintos métodos. . . . .	66
3.26. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA01 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dCpdG(BA01):dCpdG(BB07). . . . .	69
3.27. Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dCpdG (BA01):dCpdG(BB07) optimizado por distintos métodos. . . . .	70
3.28. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA01 y BB04 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dCpdG(BA05):dCpdG(BB04). . . . .	74
3.29. Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dCpdG (BA05):dCpdG(BB04) optimizado por distintos métodos. . . . .	74
3.30. Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dGpdC (BA01):dGpdC(BB07) optimizado por distintos métodos. . . . .	75
3.31. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA01 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BA01):dGpdC(BB07). . . . .	76

3.32. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA05 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07). . . . .	79
3.33. Parámetros de posición mutua de las bases, y pares de bases, en el dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07) optimizado por distintos métodos. . . . .	80
3.34. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA05 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07). . . . .	82
3.35. Parámetros de posición mutua de las bases, y pares de bases, en el dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07) optimizado por distintos métodos. . . . .	82
3.36. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA05 y BB04 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdT(BA05):dApdA(BB04). . . . .	85
3.37. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB00 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdT(BB00):dApdA(BB07). . . . .	88
3.38. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB12 y BB02 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdC(BB12):dGpdT(BB02). . . . .	91
3.39. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB12 y BB15 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdT(BB12):dApdC(BB15). . . . .	92
3.40. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para ambas cadenas BB12 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdA(BB12):dTpdC(BB12). . . . .	96
3.41. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA09 y AA00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdG(BA09):dCpdT(AA00). . . . .	98
3.42. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA09 y AA00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdG(BA09):dCpdA(AA00). . . . .	99
3.43. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA09 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdG(BA09):dCpdC(BB00). . . . .	101

- 3.44. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA09 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dApdC(BA09):dGpdT(BB00)$ . . . . . 102
- 3.45. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA09 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dTpdC(BA09):dGpdA(BB00)$ . . . . . 104
- 3.46. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA09 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dCpdC(BA09):dGpdG(BB07)$ . . . . . 105
- 3.47. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB10 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dTpdT(BB10):dApdA(BB00)$ . . . . . 108
- 3.48. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB10 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dGpdA(BB10):dTpdC(BB00)$ . . . . . 110
- 3.49. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB10 y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dApdT(BB10):dApdT(BB02)$ . . . . . 111
- 3.50. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB10 y AB02 de los cdDMP y SPB optimizados del dúplex  $dGpdC(BB10):dGpdC(-)$ . . . . . 112
- 3.51. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BB10 y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex  $dGpdA(BB10):dTpdC(-)$ . . . . . 113
- 3.52. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA08 y BB07 del dúplex  $dGpd5CM(BA08):dGpdC(BB07)$  optimizado con distintas metodologías . . . . . 116
- 3.53. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para ambas cadenas BA08 del dúplex  $dGpd5CM(BA08):dGpdC(BA08)$  optimizado . . . . . 118
- 3.54. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena AB01 y BB00 del dúplex  $d5CMpdG(AB01):dCpdG(BB00)$  optimizado con distintas metodologías. . . . . 119

3.55. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena AB03 y AB01 del dúplex $d5CmpdG(AB03):dCpdG(AB01)$ optimizado.	119
3.56. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena BA05 y BB07 de los $cdDMP$ y $dDMP$ optimizados del dúplex $dTpd5HC(BA05):dGpdA(BB07)$ .	120
3.57. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena AB01 y BB00 de los $cdDMP$ y $dDMP$ optimizados del dúplex $d5HCpdG(AB01):dCpdG(BB00)$ .	122
3.58. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena AB01 y AB03 de los $cdDMP$ y $dDMP$ optimizados del dúplex $d5HCpdG(AB01):dCpdG(AB03)$ .	123
3.59. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, de los ángulos glucosídicos y del área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para ambas cadenas BB01 de los $cdDMP$ y $dDMP$ optimizados del dúplex $dApd8OG(BB01):dCpdT(BB01)$ .	125
3.60. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para ambas cadenas BB00 de los $cdDMP$ , $dDMP$ y $SPB$ optimizados del dúplex $d2PRpdA(BB00):dTpdT(BB00)$ .	126
3.61. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, de los ángulos glucosídicos y del área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para ambas cadenas BB00 de los $cdDMP$ y $dDMP$ optimizados del dúplex $dApd2PR(BB00):dTpdT(BB00)$ .	127
3.62. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para ambas cadenas ZZ1S de los $cdDMP$ , $dDMP$ y $SPB$ optimizados del dúplex $dTpdG(ZZ1S):dCpdA(ZZ1S)$ .	129
3.63. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena ZZS1 y la no clasificada de los $cdDMP$ , $dDMP$ y $SPB$ optimizados del dúplex $dApdC(ZZS1):dGpdT(-)$ .	131
3.64. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena ZZ1S y la no clasificada de los $cdDMP$ , $dDMP$ y $SPB$ optimizados del dúplex $dTpdG(ZZ1S):dTpdG(-)$ .	132
3.65. Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas, $S(\mathbb{A}^2)$ , para la cadena ZZS2 y la no clasificada de los $cdDMP$ , $dDMP$ y $SPB$ optimizados del dúplex $dGpdT(ZZS2):dGpdT(-)$ .	134

4.1.	<i>Valores de energía de los mínimos locales más favorables obtenidos para esqueletos azúcar-fosfato de las clases conformacionales estudiadas que presentan mínimos de energía para SPBs separados.</i>	140
4.2.	<i>Conjuntos de ángulos de torsión propuestos para las Subclases X, V y M encontradas en los estudios realizados, las cuales presentan mínimos de energía para SPBs separados.</i>	141
4.3.	<i>Comparación de las clases conformacionales y superposiciones en los dDMPs de los dúplex experimentales estudiados y en las estructuras obtenidas después de las optimizaciones realizadas con los funcionales PBEPBE y M05-2X, los cuales cumplen con las nuevas regularidades de formación encontradas.</i>	143
4.4.	<i>Comparación de clases NtCs y superposiciones en los dDMPs de los dúplex experimentales estudiados y en las estructuras obtenidas después de las optimizaciones realizadas con los funcionales PBEPBE y M05-2X, los cuales han resultado en dos mínimos con características geométricas muy diferentes.</i>	147
4.5.	<i>Comparación de clases NtCs y superposiciones en los dDMPs de los dúplex experimentales estudiados y en las estructuras obtenidas después de las optimizaciones realizadas con los funcionales PBEPBE y M05-2X, cuyos mínimos obtenidos no corresponden a ninguna de las regularidades de formación encontradas.</i>	148
4.6.	<i>Clases NtCs y superposiciones en los dúplex experimentales estudiados cuyas optimizaciones con el funcional M05-2X condujeron a estructuras no viables con continuación de nucleótidos.</i>	150
B.1.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA01 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dCpdG(BA01):dCpdG(BB07).</i>	169
B.2.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB04 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dCpdG(BA05):dCpdG(BB04).</i>	170
B.3.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA01 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dGpdC(BA01):dGpdC(BB07).</i>	170
B.4.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07).</i>	171
B.5.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07).</i>	172
B.6.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB04 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dTpdT(BA05):dApdA(BB04).</i>	172
B.7.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BB00 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dTpdT(BB00):dApdA(BB07).</i>	173
B.8.	<i>Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BB12 y BB02 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dApdC(BB12):dGpdT(BB02).</i>	174

# Capítulo 1

## Introducción

*Somewhere, something incredible is waiting  
to be known.*

CARL SAGAN

El ADN, una molécula cuya estructura espacial se suele presentar en una hélice doble de cadenas complementarias, es la biomolécula más importante en los seres vivos; por ello, durante las últimas décadas se han realizado múltiples estudios para poder comprender mejor su funcionamiento y sus mecanismos de regulación. En estudios anteriores, por métodos de la Mecánica Cuántica, se pudieron encontrar regularidades presentes en el modelo de doble hélice de ADN establecido por Watson y Crick (WC). Sin embargo, la estructura molecular del ADN provee la formación de una serie de otras estructuras espaciales necesarias para el funcionamiento de este, de importancia en los procesos hereditarios.

Durante la realización de la tesis de Maestría se pudo constatar la viabilidad de algunas estructuras diferentes al modelo de Watson-Crick (WC), obteniéndose regularidades en la formación de éstas [7]; como una extensión, en este trabajo se han estudiado y analizado diferentes tipos de subunidades de variadas clases conformacionales NtCs de dobles hélices de ADN con pares de nucleósidos de WC, A:T y G:C (todos en conformación *anti*), y con bases modificadas tales como 5- metilcitosina (5mC), 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), 8-oxoguanina (8-oxoG) y 2-Aminopurina (2AP), de importancia para entender los mecanismos que se dan durante las mutaciones en la replicación del ADN. Además, se ha extendido el estudio del ADN-Z considerando fragmentos de dúplex con la secuencia d(CACA):d(TGTG), con pares G:C y A:T, y de dúplex con la secuencia d(TGTG)<sub>2</sub>, con pares G:T, ambos casos teniendo a los nucleósidos de purinas en conformación *syn* y las pirimidinas en conformación *anti*.

Esta investigación ha incluido el estudio de esqueletos azúcar-fosfato de dDMPs de diferentes clases conformacionales, NtCs, cuya importancia radica en la posibilidad que otorgan a la doble hélice de interactuar con otras moléculas durante distintos procesos biológicos, sin perder estabilidad y por ende deformarse.

Algunas de las conformaciones seleccionadas para este estudio, cuyas bases son canónicas y forman pares normales de WC, se encuentran en complejos con distintas proteínas, o están

implicadas en regiones de doblamiento de la doble hélice de ADN. Estas nos han permitido comprender las regularidades de formación de las mismas y su implicación en dichas interacciones, así como las características geométricas que permiten a la estructura tridimensional del ADN doblarse y empaquetarse.

Para la realización de este estudio, se llevaron a cabo simulaciones computacionales de las conformaciones ya mencionadas, empleando los métodos de la Mecánica Cuántica (MC) y la Mecánica Molecular (MM). Para los cálculos con MC se utilizaron los paquetes computacionales GAUSSIAN 09 D.1 y ADF 2018 con el método de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT), con los diferentes funcionales viables para la molécula del ADN. Los cálculos con MM se realizaron con el programa AMBER 16, empleando varios campos de fuerzas de mismo nombre.

## 1.1. Importancia biológica de diferentes conformaciones espaciales de ADN

El ADN, un biopolímero cuya estructura molecular-química fue seleccionada por la evolución durante millones de años, es la molécula más importante para la vida. En esta se encuentran todas las instrucciones genéticas necesarias para realizar las funciones de cualquier ser vivo; en las últimas décadas se han estado estudiando las características estructurales de dicha molécula para comprender su funcionamiento y mecanismos de regulación.

A pesar de la gran importancia del ADN, su estructura molecular es relativamente sencilla: consta de una secuencia de monómeros llamados nucleótidos -donde cada uno se compone de una base nitrogenada, un azúcar desoxirribosa y un grupo fosfato- que pueden ser de cuatro tipos, la diferencia entre ellos es la base nitrogenada que los conforma (purinas: Adenina, A, y Guanina, G; pirimidinas: Timina, T, y Citosina, C), y con las cuales se puede escribir toda la información genética, véase las Figuras 1.1 y 1.2. Cada secuencia de tres nucleótidos constituye una palabra del código genético o codón, que especifica un aminoácido determinado.

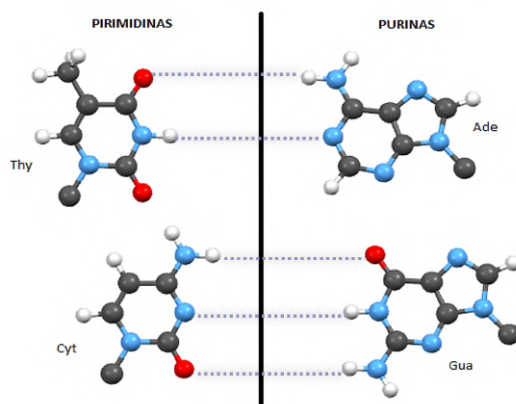


Figura 1.1: *Pirimidinas y Purinas, clasificación de las cuatro bases nitrogenadas del ADN y los enlaces de hidrógeno que forman en los pares canónicos de Watson-Crick.*

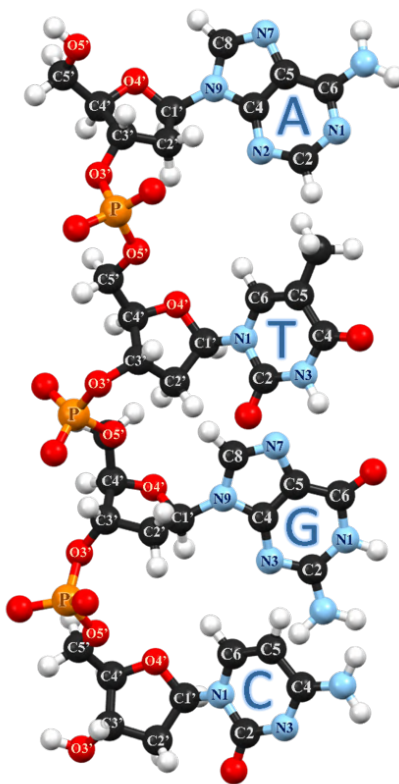


Figura 1.2: Estructura atómica del fragmento de ADN de secuencia *dApdTdGpdC* [2].

Aunque la estructura del ADN es conservativa la hélice no es regular, puede adoptar diferentes conformaciones espaciales de importancia en los procesos hereditarios y cuya existencia se ha comprobado en procesos biológicos. En el *Nucleic Acid Data Bank* [8] existen dúplex de ADN con cadenas que presentan características geométricas de distintas familias conformacionales, las cuales han sido estudiadas y clasificadas como NtCs por Cerný et al. [6].

Anteriormente, Poltev et al. [9, 10, 11, 12] mostraron que el esqueleto azúcar-fosfato juega un papel indispensable en la dependencia de la secuencia de los nucleótidos de la estructura 3D de los dúplex de WC, WCDs. Específicamente, aquellas conformaciones que tienen mínimos de energía para SPB separado presentan reglas de superposición parecidas a las que se tienen en las familias AI y BI, predeterminándose así las regularidades en la formación 3D. Dichas reglas de superposición establecen que esta es substancial entre las bases apiladas de los dDMPs cuya secuencia es Pur-Pur o Pur-Pyr (se tiene una purina en el extremo 5'), mientras que es despreciable o casi nula en el caso de tener las secuencias Pyr-Pyr o Pyr-Pur (se tiene una pirimidina en el extremo 5'), como se puede observar en la Figura 1.3.

Sin embargo, dada la existencia de más estructuras experimentales, con distintas conformaciones en ambas cadenas -y en complejos con variadas moléculas-, no podemos generalizar dichas reglas y es necesario evaluar si estas son aplicables a estas estructuras o si es necesario un ajuste en ellas.

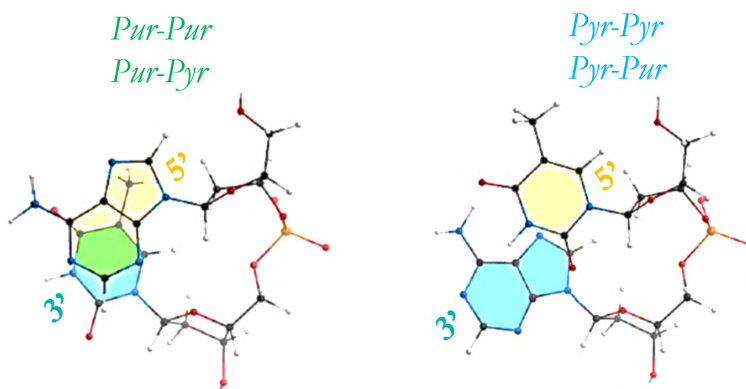


Figura 1.3: Reglas de superposición para los WCD de las familias AI y BI, dependientes en la secuencia de los nucleótidos. En verde se muestra el área de traslape entre los anillos de las bases apiladas.

De igual manera, es imprescindible estudiar y evaluar las regularidades de formación de estructuras con alguna base modificada, las cuales pueden coincidir con las de aquellas conformaciones de bases canónicas, o pueden resultar en algo muy distinto. En ambos casos, hay implicaciones biológicas en el reconocimiento de estas por las enzimas.

### 1.1.1. Conformaciones de dúplex de Watson-Crick con ángulos de torsión en regiones de distintas clases conformacionales

Se han estudiado ampliamente estructuras de ADN de las conformaciones AI, AII, BI y BII. Sin embargo, existe evidencia de más tipos de conformaciones con distintos conjuntos de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, cuya designación se puede observar en la Figura 1.4. Muchas de las cuales se presentan para estabilizar la hélice doble que ha sufrido cambios debido a la interacción con proteínas en distintos complejos, evitando así la deformación de la estructura tridimensional del ADN; o en regiones de Holliday junctions, cuando se forman los cromosomas, por citar algunos ejemplos .

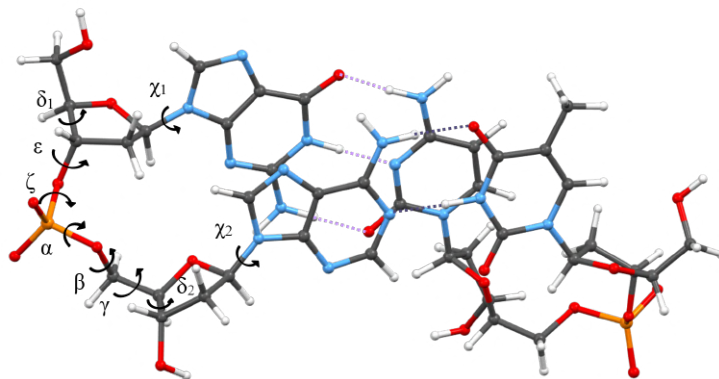


Figura 1.4: Conformación de *dGpdA:dTpdC*, con designación de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de la cadena *dGpdA*, así como de los ángulos glucosídicos  $\chi$  [2].

Recientemente, Cerný et al. [6] realizaron un estudio de todos los fragmentos experimentales de ADN y ARN depositados en el Nucleic Acid Database, NDB, y en el Protein Data Bank, PDB; su estudio les permitió redefinir las clasificaciones que habían realizado anteriormente, estableciendo 96 diferentes clases conformacionales de dDMPs, NtCs, cada una con distintos conjuntos de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato y ángulos glucosídicos.

Estas clases NtCs se han agrupado a su vez de acorde al empaquetamiento de ambos azúcares presentes en el dDMP, y a otros parámetros de los mismos, además de la consideración del hecho de ser conformaciones intermedias entre las familias A y B, así como la conformación de los nucleósidos. Dichas clasificaciones, llamadas CANA, son: AAA, AAw, AAu, A-B, B-A, BBB, BBw, B12, BB2, miB, ICL, OPN, SYN y ZZZ. Un diagrama de estas clasificaciones se muestra en la Figura 1.5.

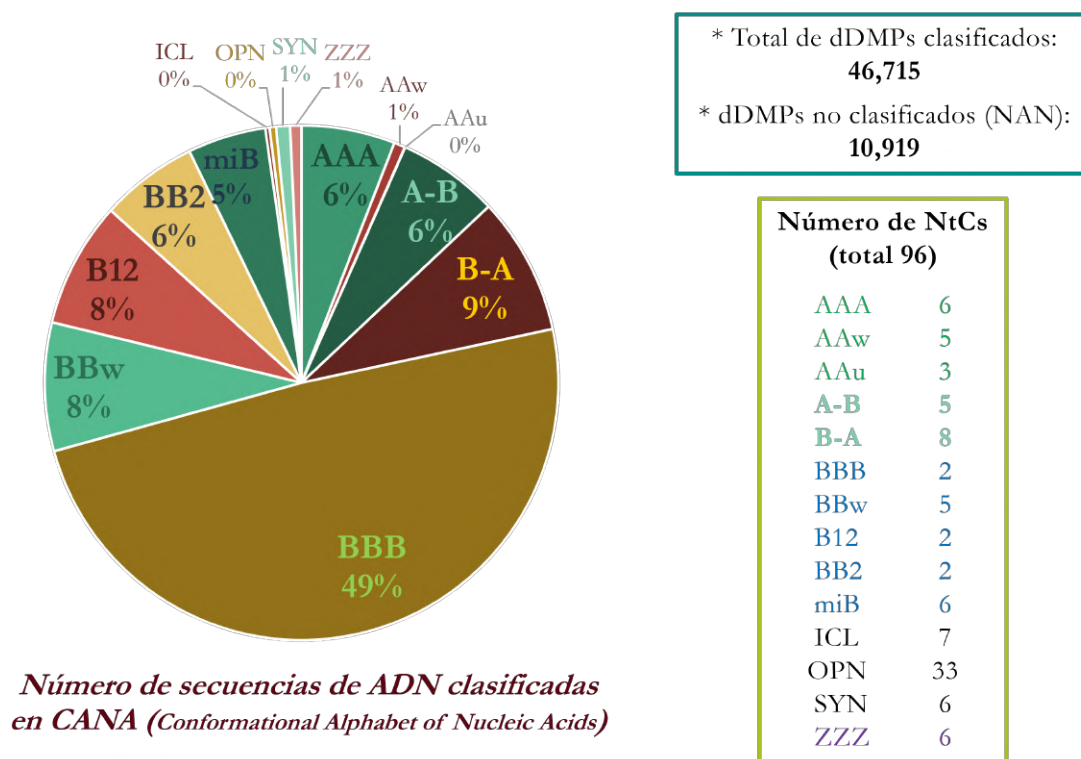


Figura 1.5: Clasificaciones CANA en las cuales se han agrupado las clases conformacionales NtCs de los dDMPs.

Dada la ya mencionada importancia de este tipo de clases conformacionales en distintos procesos biológicos, se han estudiado estructuras de las clasificaciones CANA AAA, AAw, A-B, B-A, BBB, BBw, B12, BB2, y miB, cuyos nucleósidos se encuentran en conformación *anti* y forman pares canónicos de WC. Algunas de las estructuras seleccionadas se encuentran en complejos con proteínas, como el fragmento NDB ID PDB0192 (ver Figura 1.6), cuya proteína CENP-B está implicada en la formación del centrómero, región angosta de un cromosoma que lo separa en dos brazos.



Figura 1.6: Estructura general del complejo de un fragmento de ADN y la proteína CENP-B, NDB ID PDB0192.

### 1.1.2. Estructuras de la Familia Conformacional Z

Otra de las familias importantes del ADN son las hélices dobles levóginas llamadas ADN-Z, el cual sólo se da para la secuencia *Pur-Pyr-Pur...*, donde los nucleósidos con purinas se encuentran en conformación *syn* y los que tienen pirimidinas se encuentran en conformación *anti*, esto le otorga una forma zigzagueada a la doble hélice, específicamente, al esqueleto.

A pesar de que no se han determinado aún hélices Z dentro de sistemas biológicos a nivel funcional, es importante considerarlas y estudiarlas pues se sabe de su presencia en procesos llevados a cabo en distintas enfermedades. Se ha reportado que el ADN-Z suele enlazarse a la proteína ZBP1, la cual juega un rol en la respuesta a tumores e infecciones microbianas. En la Figura 1.7 se muestran células de tejido del intestino delgado humano, el cual ha sido teñido con el anticuerpo-ZBP1, esto nos demuestra la presencia de la proteína ZBP1 en dichas células y por ende la probable participación de ADN-Z.

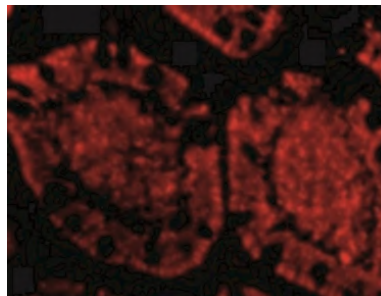


Figura 1.7: Inmunofluorescencia de ZBP1 en el tejido de un intestino delgado humano con el anticuerpo-ZBP1 a 20 ug/ml.

Por otro lado, la enzima de edición de ARN, ADAR1, contiene un dominio de alta afinidad ( $Z\alpha$ ) que se enlaza específicamente al ADN-Z [13], mientras que otra proteína asociada a tumores, DLM-1, contiene un dominio con similitudes de secuencia con el dominio  $Z\alpha$  de ADAR1 también unido al ADN-Z zurdo [14].

Se había propuesto que las bases nitrogenadas que preferentemente conforman estas mencionadas estructuras de la familia Z sólo eran Guaninas y Citosinas [15], sin embargo, existe evidencia de otras secuencias diferentes con las mismas características [16], con la inclusión de nucleósidos de Adenina(*syn*) y Timina(*anti*) formando pares normales de WC o con formación de pares incorrectos de bases, Gua(*syn*):Thy(*anti*).

En este trabajo se han considerado y estudiado conformaciones de ADN-Z conteniendo los pares de bases antes mencionados, en adición se ha realizado un estudio de las clases NtC ZZ1S, ZZS1 y ZZS2, donde la primera considera dDMPs de secuencia Pyr-Pur y las dos últimas consideran dDMPs de secuencia Pur-Pyr, con los nucleósidos de las purinas en conformación *syn* y los de las pirimidinas en conformación *anti*. Dicho análisis nos ha permitido encontrar cuáles clases conformacionales tienen mínimos de energía para SPBs separados, lo cual ha dado luz para entender los resultados obtenidos para los fragmentos de dúplex de estas hélices, y con ello la explicación a su inherente inestabilidad.

### 1.1.3. Conformaciones de dúplex con las bases modificadas 5-metilCitosina, 5-hidroximetilcitosina, 8-oxoguanina y 2-Aminopurina

Se tiene evidencia de la presencia de bases modificadas en la conformación de dúplex de ADN presente en distintos procesos genéticos. Un ejemplo de ellos es el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial, implicados en los trastornos neurodegenerativos relacionados con el envejecimiento; dicha oxidación permite la aparición de 8-oxoguanina, lesión común de base oxidada, acumulada a menudo en cerebros de pacientes con trastornos neurodegenerativos antioxidantes, Figura 1.8.

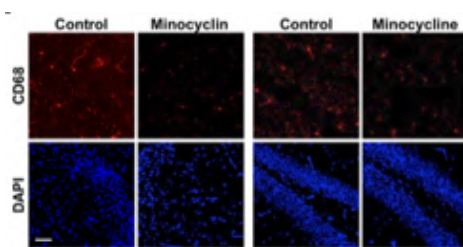


Figura 1.8: La activación microglial causada por la acumulación de 8-oxoG nuclear es responsable de la neurodegeneración en los cerebros.

Existen análogos químicos que pueden reemplazar a las bases nitrogenadas canónicas, un ejemplo de esto es la base 2-Aminopurina, la cual sustituye a la Adenina y forma par con Timina -con el mismo conjunto de enlaces de hidrógeno-, sin embargo, esta también tiene la posibilidad de emparejarse con la Citosina, lo cual presenta efectos mutagénicos.

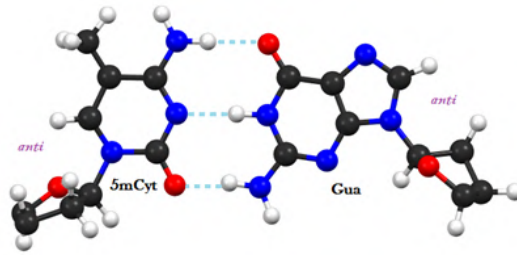


Figura 1.9: *Par de nucleósidos 5mC:Gua.*

La base nitrogenada Citosina puede sufrir metilación, presentándose así la 5-metilcitosina, cuya metilación no afecta el conjunto de enlaces de hidrógeno que suele presentar la base canónica con la Guanina, como se observa en la Figura 1.9. La metilación del ADN tiene una variedad importante de funciones en mamíferos, incluyendo el control de expresión de genes, diferenciación celular, marcación de regiones del ADN a reparar y desarrollo de cromosomas. Un ejemplo de esto se muestra en la Figura 1.10. En adición, alteraciones de los patrones de metilación contribuyen al desarrollo de cánceres.

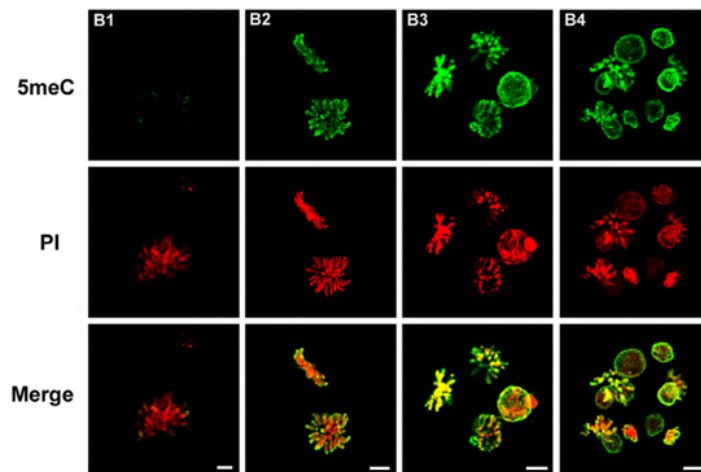


Figura 1.10: *Patrón de tinción anti-5meC en embriones en estadio temprano de preimplantación. Las imágenes muestran cromosomas condensados (B1), 2 células (B2), 4 células (B3) y 8 células (B4). El desenmascaramiento antigénico de 5meC (verde) fue por una breve exposición a ácido. El ADN se tiñó con yoduro de propidio (PI, rojo). Las imágenes de estos dos canales se fusionaron para mostrar la co-localización (fusión o merge).*

5-hidroximetilcitosina ha sido identificada como una base relativamente frecuente en genomas de eucariontes. Aunado a ello, esta muestra una distribución tisular desigual, es decir, una distribución desigual entre los diferentes tejidos, con ocurrencia preferencial en el cerebro, principalmente en regiones asociadas a funciones cerebrales superiores [17, 18]. La función fisiológica de 5-hmC aún no es clara, pero se supone sirve como intermediario en la desmetilación del ADN, y también se encuentra durante el desarrollo de embriones, ver Figura 1.11.

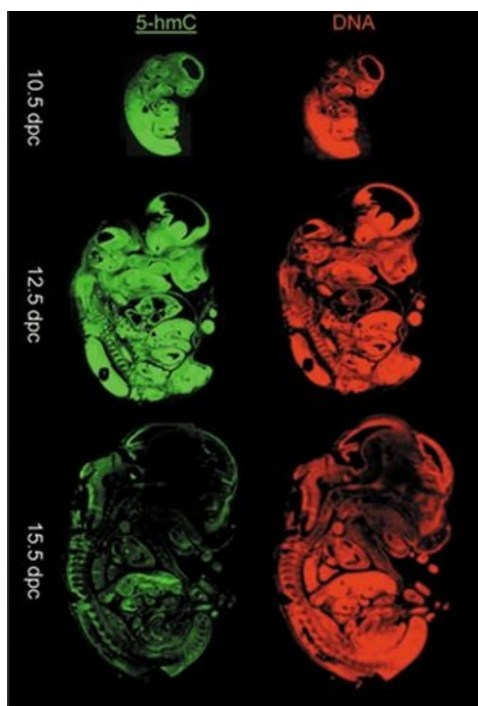


Figura 1.11: *Secciones sagitales de embriones de ratón de 10.5, 12.5 y 15.5 días después del coito, teñidos con anti-5-hmC*

Debido a la ya mencionada importancia biológica de estas diferentes estructuras espaciales de ADN, se sometieron a optimización fragmentos mínimos con estas conformaciones, utilizando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) empleando los funcionales PBE, PW91, M05-2X y PW91-ulg, con la base 6-31g\*, y con cálculos de Mecánica Molecular con los campos de fuerzas AMBER BSC1, OL15 y ff99. Con dichos cálculos, y el análisis de los resultados arrojados por los mismos, se han obtenido regularidades de formación de las conformaciones de ADN con gran importancia biológica ya mencionadas; además, con los diferentes métodos y rutas de cálculos empleados, se ha logrado hacer una propuesta sobre cuál metodología y ruta de cálculos emplear dependiendo del sistema molecular a estudiar.



## Capítulo 2

# Estudio Teórico-Computacional del ADN

*Nothing in life is to be feared,  
it is only to be understood.  
Now is the time to understand more,  
so that we may fear less.*

MARIE CURIE

El ADN, al contener toda la información genética, es la biomolécula más importante en los seres vivos, dando las instrucciones necesarias para el buen funcionamiento de los mismos. A pesar de la importancia de esta macromolécula, debido a las limitantes con que aún cuenta la ciencia y la tecnología, no se sabe aún cuáles son todos los factores que permiten su riqueza estructural; con este propósito, los científicos están empleando distintos métodos, tanto experimentales como teóricos, que les permitan conocer características de los distintos parámetros geométricos que le dan estabilidad al ADN.

Por un lado se tienen técnicas experimentales tales como difracción de rayos X en cristales de fragmentos de ADN y Resonancia Núcleo Magnética (NMR), las cuales son útiles para visualizar la estructura del ADN en ciertas condiciones pero no permiten conocer detalladamente las interacciones moleculares que existen entre las subunidades del mismo. Para ello, se realizan estudios computacionales, mediante los cuales es posible entender y conocer dichas interacciones, además de analizar las conformaciones más favorables de las moléculas.

Considerando esta última metodología, se han desarrollado dos tipos de modelos moleculares que son empleados en los cálculos computacionales: los modelos Mecánico Moleculares y los modelos Mecánico Cuánticos. El primero de ellos, al estar basado en la Mecánica Molecular, considerando a los átomos como puntos a los cuales se les asigna una carga y donde los enlaces se representan con resortes, permite trabajar con moléculas de gran tamaño de una manera sencilla con costos computacionales accesibles. Mientras que, en el caso del segundo método, que es basado en la Mecánica Cuántica, sólo puede ser empleado en fragmentos pequeños de moléculas, puesto que su costo computacional (en tiempo y dinero) es mucho más alto. En adición, dependiendo de la aproximación que se emplee en este último método será la accesibilidad que se tendrá para estudiar sistemas moleculares medianos o muy pequeños, siendo más alto el costo y el limitante en número de átomos cuando se utilizan aproximaciones más exactas.

Es importante mencionar que el empleo de métodos teóricos-computacionales para el estudio de sistemas moleculares va de la mano de las técnicas experimentales, pues es gracias a la difracción de rayos X de cristales de diferentes moléculas, así como a la NMR, que se han podido obtener las coordenadas de posición de todos los átomos que conforman las moléculas en cuestión y con ello la estructura de las mismas. Estas coordenadas se depositan por los investigadores en distintos bancos de datos, como lo son el *Nucleic Acid Database* (NDB) y el *Protein Data Bank* (PDB) que contienen estructuras tridimensionales de ácidos nucleicos y proteínas. De estos bancos se pueden seleccionar los fragmentos moleculares que se quieran analizar y estudiar con las distintas metodologías, lo cual permite entender la naturaleza física de sus interacciones, véase el diagrama en la Figura 2.1.

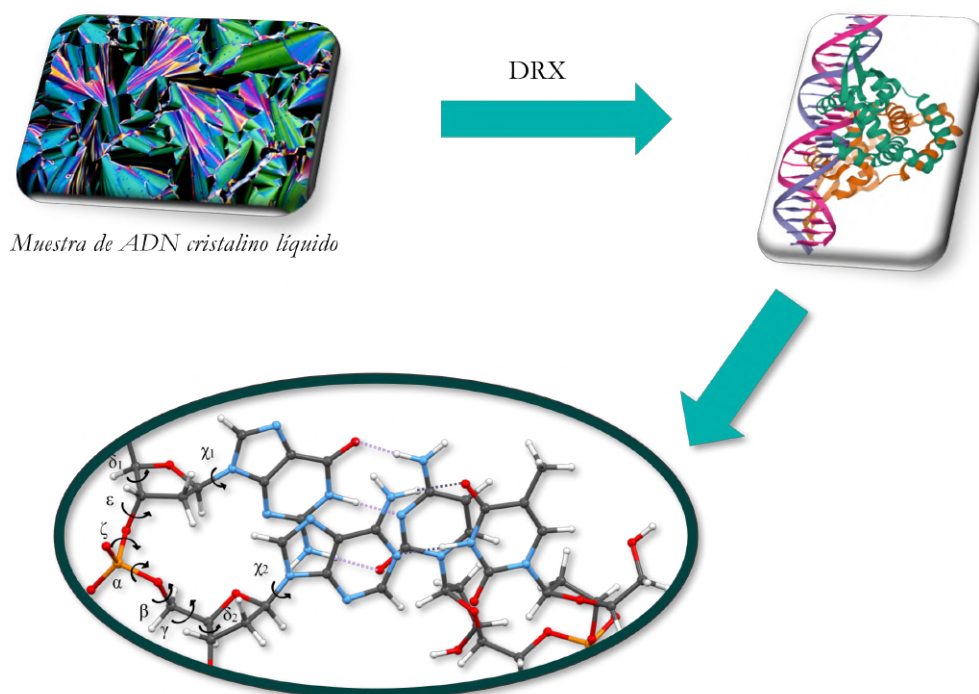


Figura 2.1: Diagrama del estudio de la estructura de sistemas moleculares.

Los fragmentos de ADN estudiados en este trabajo (SPBs, dDMPs y cdDMPs), considerados como unidades mínimas de las diferentes estructuras espaciales -y los cuales permiten entender las interacciones presentes entre las diferentes subunidades del mismo-, al estar formados de entre 38 a 129 átomos pueden considerarse como sistemas moleculares no tan complejos. La simplicidad e importancia de dichas moléculas ha permitido utilizar ambos tipos de cálculos, siendo la metodología basada en la Mecánica Cuántica la principal en este trabajo de investigación.

## 2.1. Mecánica Cuántica

El Método de Mecánica Cuántica (MC) se basa principalmente en resolver la ecuación de Schrödinger. Sin embargo, debido a que ésta sólo puede ser resuelta exactamente para el problema de dos cuerpos, como en el caso del átomo de hidrógeno donde sólo interactúan el núcleo y un electrón, han surgido algunos métodos para trabajar con problemas más complejos como lo son los sistemas de moléculas orgánicas que nosotros estudiamos.

Uno de los conjuntos de métodos más conocidos y utilizados son los métodos *ab initio* (de primeros principios), los cuales se derivan directamente de principios teóricos, sin incluir parámetros empíricos en sus ecuaciones, es decir, sin tomar en cuenta datos experimentales. Las aproximaciones en este caso son estrictamente matemáticas, buscan una forma más simple de las funciones empleadas, para obtener soluciones aproximadas a las ecuaciones diferenciales complicadas.

En los métodos *ab initio* se obtiene la estructura electrónica de la molécula resolviendo la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo para cada átomo o partícula:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (2.1)$$

donde  $\hat{H}$  es el Hamiltoniano del sistema, operador correspondiente a la observable energía (cinética y potencial), esto es, que representa la energía total del sistema (formalmente es definido como un operador autoadjunto que actúa sobre un dominio denso en el espacio de Hilbert del sistema);  $E$  es el valor propio de  $\hat{H}$  y  $\Psi$  es la función de onda que nos habla del comportamiento del sistema (representa a los orbitales atómicos).

En general, para simplificar los cálculos realizados con estos métodos, se utiliza como primera aproximación la representación de *Born-Oppenheimer*, la cual permite la separación de los movimientos de los electrones y los núcleos, y considera la geometría de las moléculas como un parámetro adiabático, es decir, que se da mediante cambios infinitamente lentos en el Hamiltoniano del sistema.

### 2.1.0.1. Ecuación de Schrödinger y la aproximación de Born-Oppenheimer

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

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{8\pi^2m} \nabla^2 + V \right] \psi(r, t) = \frac{i\hbar}{2\pi} \frac{\partial \psi(r, t)}{\partial t} \quad (2.2)$$

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

Cuando el potencial,  $V$ , no es una función del tiempo la ecuación de Schrödinger puede simplificarse. Empleando el método de separación de variables, es decir, escribiendo a la función

de onda como una multiplicación de dos funciones, una espacial y otra temporal.

$$\psi(r, t) = \psi(r)\tau(t) \quad (2.3)$$

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

$$H\psi(r) = E\psi(r) \quad (2.4)$$

donde  $E$  es la energía de la partícula, y  $H$  es el operador Hamiltoniano igual a:

$$H = -\frac{\hbar^2}{8\pi^2m}\nabla^2 + V \quad (2.5)$$

Las soluciones a la Ec. 2.4 corresponden a diferentes estados estacionarios de la partícula (o molécula). Aquella con la energía más baja es llamada el estado base.

Para sistemas moleculares o iónicos el cálculo de la función de onda y de la energía se vuelve una tarea tediosa. Para facilitar esta tarea comúnmente se emplea la *aproximación de Born-Oppenheimer* (B-O). En términos básicos esta aproximación nos permite dividir el problema molecular en dos partes: una electrónica y otra nuclear.

$$\psi_{total} = \psi_{ele}\psi_{nuc} \quad (2.6)$$

Esta separación es válida ya que los electrones son ligeros en comparación con los núcleos, por lo que la velocidad de estos últimos es correspondientemente pequeña. Por eso podemos considerar que los electrones se mueven alrededor de los núcleos, mientras estos últimos permanecen estáticos. De este modo podemos escribir un Hamiltoniano puramente electrónico,  $H^{elec}$ . Entonces la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo para describir el movimiento de electrones en el campo de núcleos fijos queda como:

$$H^{elec}\psi^{elec}(r, R) = E^{eff}\psi^{elec}(r, R) \quad (2.7)$$

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

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

$$H^{nucl} = T^{nucl}(R) + E^{eff}(R) \quad (2.8)$$

Sin embargo, a pesar de que estas consideraciones simplifican la Ec. 2.1, no son suficientes y es necesario hacer algunas otras aproximaciones. Una de ellas es considerar los orbitales moleculares como una combinación lineal de los orbitales atómicos. Esto es, que el conjunto base

sea construido como una combinación lineal de los orbitales atómicos del sistema (LCAO-Linear Combination of Atomic Orbitals).

Luego de aplicar estas dos simplificaciones se hace necesario adoptar algún otro método que permita resolver las ecuaciones necesarias. El método más común de los cálculos con *ab initio* para la estructura electrónica es el de Hartree-Fock (HF), que es un método iterativo. En ellos la repulsión electrón-electrón, correspondiente al efecto de *correlación*, no se toma en cuenta directamente, sólo se incluye su efecto como un promedio de todas las interacciones.

El primer paso en este método es la elección de un conjunto de orbitales iniciales aproximados que representen el movimiento de los electrones. En general, para los cálculos de un átomo, estos orbitales o funciones de onda de sus electrones son típicamente los orbitales del átomo de hidrógeno, pero, para cálculos de moléculas las funciones aproximadas iniciales de un electrón son una combinación lineal de los orbitales atómicos, que debido a su naturaleza fermiónica, deben ser anti-simétricos. Esto se logra con el determinante de Slater [19, 20], el cual se define para un sistema de  $N$  electrones de la siguiente manera:

$$\Psi(\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(x_1) & \phi_2(x_1) & \cdots & \phi_N(x_1) \\ \phi_1(x_2) & \phi_2(x_2) & \cdots & \phi_N(x_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(x_N) & \phi_2(x_N) & \cdots & \phi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad (2.9)$$

donde  $\Psi(\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_N)$  es la función de onda molecular;  $\phi_i$  son las funciones de onda de cada electrón en la molécula y son conocidas como espín-orbital;  $x_i$  indica la posición y el espín del orbital;  $1/\sqrt{N!}$  es un factor de normalización. Esta función de onda es asimétrica y no hace distinciones entre electrones. Además, se hace cero si dos funciones o dos electrones son iguales, lo que equivale a satisfacer el principio de exclusión de Pauli.

Sobre estas bases, se construye entonces un nuevo operador Hamiltoniano, llamado operador Fock, para el cual, sus primeros términos son la suma de la energía cinética para cada electrón, la energía de repulsión entre núcleos y una suma de los términos coulombianos de atracción electrón-núcleo. El último término modela la repulsión coulombiana entre cada uno de los electrones de la suma. La suma se compone de una energía de repulsión neta para cada electrón en el sistema, la cual se calcula tratando a todos los demás electrones de la molécula como una distribución suave de la carga negativa.

El operador de Fock, que se construye con la descripción anterior, se utiliza como el nuevo Hamiltoniano en la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, Ec. 2.1. Su solución lleva a un nuevo conjunto de orbitales aproximados para cada electrón, con los cuales se vuelve a construir otro operador de Fock y se sigue el ciclo hasta obtener una solución para la cual el cambio en la energía sea mínimo. En el proceso se calcula un conjunto de orbitales de un electrón llamados auto-consistentes. La función de onda electrónica de HF es igual al determinante de Slater de estas funciones de onda de un electrón aproximadas. El operador de Fock para un electrón se muestra en la Ec. 2.10.

$$\hat{F} = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{\|\vec{r}_{i\alpha}\|} + \sum_{j=1}^{N/2} [2\hat{J}_j(i) - \hat{K}_j(i)] \quad (2.10)$$

donde el primer término corresponde a la energía cinética del electrón  $i$ ; el segundo término es la energía potencial de la atracción entre el electrón  $i$  y los núcleos  $\alpha$ ;  $\hat{J}$  es el operador Coulombiano que define la energía de repulsión electrón-electrón que se debe al electrón  $j$ -ésimo y  $\hat{K}$  es el operador de *intercambio* que define la energía del intercambio electrónico. Estos dos últimos términos corresponden a un par de integrales que nos dan el promedio de los dos efectos mencionados. El factor de 2 que aparece con el término  $\hat{J}$  se debe a que existen 2 electrones en cada orbital espacial y la sumatoria se hace tomando en cuenta los  $N/2$  orbitales ocupados.

De este modo, las ecuaciones a resolver son de la forma:

$$\hat{F}\phi_i = E'\phi_i \quad (2.11)$$

donde  $\phi_i$  es un conjunto de funciones de onda de un electrón, llamado los Orbitales Moleculares de Hartree-Fock. Estos orbitales o funciones de onda en un principio tenían la forma de la Ec. 2.12 (tomada de las funciones para el átomo de hidrógeno):

$$s(r) = Ar^l e^{-\alpha|\vec{r}-\vec{a}|} \quad (2.12)$$

Estos orbitales son conocidos como Orbitales de Slater [21]. Sin embargo, con el tiempo se descubrió que estos orbitales pueden ser escritos como combinaciones lineales de funciones Gaussianas, que en un espacio cartesiano son de la forma:

$$g(x, y, z) = N_c x^l y^m z^n e^{-\alpha r^2} \quad (2.13)$$

donde  $l, m, n$  son enteros positivos;  $r^2 = x^2 + y^2 + z^2$  y  $N_c$  es una constante de normalización que puede ser calculada. Estas funciones son llamadas Orbitales Gaussianos y son usadas debido a que facilitan los cálculos de las integrales involucradas en la Ec. 2.10 y por sus propiedades. Una de ellas, que es la más importante, viene dada por el Teorema del Producto de Gaussianas, que garantiza que el producto de dos orbitales del tipo gaussiano (GTO-Gaussian-Type-Orbitals) centrados en dos diferentes átomos es una suma infinita de las Gaussianas centradas en un punto en el eje que los conecta. De esta manera, las integrales de cuatro centros se pueden reducir a una suma finita de las integrales de dos centros y estas en el siguiente paso se reducen a una suma finita de las integrales de un centro. Con lo que se logra la aceleración del cálculo 4-5 veces en comparación con los orbitales de Slater, aunque se genera una cola extra en los orbitales generados durante el cálculo.

Existen cientos de conjuntos base compuestos de orbitales tipo Gaussiano. Los más cortos de estos tienen el nombre de conjunto base mínimo y típicamente se componen del número mínimo de funciones base requeridas para representar a todos los electrones en cada átomo. Sin embargo, los conjuntos más grandes pueden contener docenas y hasta cientos de funciones base para cada átomo.

La adición más común a los conjuntos mínimos de base son las funciones de polarización, que se denotan por el asterisco (\*), o doble asterisco (\*\*), para indicar que las funciones de polarización se agregan también a los átomos ligeros (hidrógeno y helio). Esta adición en las funciones provee una flexibilidad adicional necesaria dentro del conjunto base, que permite a los orbitales moleculares envolver al átomo de hidrógeno de la manera más asimétrica alrededor del núcleo. Este es un resultado importante al considerar la representación exacta de la formación de enlaces entre los átomos, pues la sola presencia de los cambios de enlace en un átomo hace el entorno energético de los electrones esféricamente asimétrico. Existe también la adición de funciones tipo  $d$  que se agregan al conjunto de base con los orbitales de valencia  $p$ , y las funciones  $f$  que se agregan al conjunto con  $d$ -orbitales, etc. Existe una notación para indicar cuántas y cuáles de estas funciones son utilizadas como función base, pero de estas se hablará más adelante.

Otra adición usual al conjunto de funciones base es la adición de funciones difusas, denotadas por el signo más (+), o doble signo más (++) para indicar que estas funciones también se agregan a los átomos ligeros (hidrógeno y helio). Estas funciones Gaussianas representan con mayor precisión la porción de la «cola» de los orbitales atómicos que se encuentran distantes a los núcleos atómicos y pueden ser importantes cuando se consideran aniones y otros sistemas moleculares «suaves».

La convención común de nombres para los conjuntos de base mínimos es STO-XG, donde X es un entero y representa el número de Gaussianas primitivas que componen una función base. En estos conjuntos de base el mismo número de Gaussianas primitivas compone los orbitales cerrados de los electrones cubriendo el núcleo y los orbitales de valencia. Algunos ejemplos de estos conjuntos son: STO-2G, STO-3G, STO-6G y STO-3G\* (versión polarizada de STO-3G).

Sin embargo, este tipo de conjuntos mínimos de base no proveen resultados con un buen grado de aproximación, por lo que es necesario hacer uso de los conjuntos base con valencia dividida, de los cuales se hablará a continuación.

Dado que en la mayoría de los enlaces moleculares principalmente los electrones de valencia son los que forman parte del enlace, es común representar a los orbitales de valencia con más de una función base. Esto se hace al escribir a cada una de ellas como una combinación lineal fija de Gaussianas primitivas. A este tipo de conjuntos se les llama Conjuntos de Valencia Dividida y se denotan de la siguiente forma: X-YZg. Donde X representa el número de las Gaussianas primitivas que componen cada función base del orbital atómico del núcleo, Y y Z indican que los orbitales de valencia se componen de dos funciones base cada una, la primera compuesta de una combinación lineal de Y-gaussianas primitivas y la otra de Z-gaussianas primitivas. En este caso, la presencia de dos números después del guión indica que este conjunto base es de *valencia dividida doble-zeta*. Los conjuntos base de valencia dividida triple y cuádruple-zeta se denotan como X-YZWg y X-YZWWg. Algunos ejemplos de bases doble-zeta son: 3 - 21g, 3 - 21g\*, 3 - 21 + g, 3 - 21 + g\* y 6 - 31g \*\*.

Como el método HF no es tan exacto, en lo que respecta a los efectos de correlación, este puede ser complementado con otros métodos que ayudan a resolver este problema. Uno de ellos es el método proveniente de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT), del cual hablaremos a continuación.

### 2.1.1. Teoría del Funcional de la Densidad (DFT)

Los métodos de primeros principios, a diferencia de Mecánica Molecular, no utilizan parámetros experimentales en el cálculo, están basados únicamente en las leyes de la Mecánica Cuántica (MC), teoría que hasta ahora describe mejor los fenómenos que ocurren a escalas atómicas y moleculares, y utiliza los valores de las constantes físicas fundamentales, por ejemplo, velocidad de la luz, masas y cargas de electrones y núcleos, constante de Plank.

Son evidentes las ventajas de estos métodos, ya que emplean una teoría más general y por lo tanto podemos obtener resultados inaccesibles para otros modelos empíricos y semi-empíricos. Sin embargo, la desventaja más clara es la gran cantidad de recursos informáticos que son necesarios para poder utilizar satisfactoriamente este modelo.

Es por ello que, para trabajar con modelos *ab initio* debemos seleccionar un sistema simple que nos proporcione la mayor información posible. En este trabajo, dicho sistema son los desoxidinucléosidos monofosfatos complementarios, cdDMPs, unidad mínima de la doble hélice del ADN.

Para poder realizar todos los cálculos que se requieren al hacer uso de este modelo, nos vemos en la necesidad de utilizar aproximaciones adicionales. La Teoría del Funcional de Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) ha demostrado ser eficiente para algunos sistemas de interés práctico. Ésta se basa en los *dos teoremas de Hohenberg-Kohn* los cuales demuestran que las propiedades de los sistemas moleculares están determinadas por la densidad electrónica. Con la ventaja de que la densidad electrónica es una función de sólo tres variables. En particular, Hohenberg y Kohn mostraron que la energía puede expresarse como un funcional de la densidad y que además la densidad del sistema minimiza este funcional. El problema, es que no se conoce la forma completa de este funcional, por lo que debe ser aproximado. Es por ello que surgen distintos funcionales aplicables a distintos sistemas moleculares.

#### 2.1.1.1. Primer Teorema de Hohenberg-Kohn

*“Toda observable de un sistema mecánico cuántico estacionario es determinada por la densidad electrónica del estado base”*

En otras palabras, se encuentra la energía del sistema como una función de la densidad, sin referencia a la función de onda. Como caso particular en un sistema de n-electrones, la energía como observable será, según este primer teorema, función de la densidad electrónica. La ecuación de Schrödinger para tal sistema es:

$$\hat{H}\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3, \dots) = E\Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3, \dots) \quad (2.14)$$

En el Hamiltoniano se incluyen: la energía cinética y la potencial. En la energía potencial son considerados dos términos: el correspondiente a la interacción núcleo-electrón y el correspondiente a la interacción electrón-electrón:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_{ee} \quad (2.15)$$

donde el operador de energía cinética es:

$$\hat{T} = \sum_{i=1}^N \frac{-\nabla_i^2}{2m_i} \quad (2.16)$$

La energía potencial de la interacción núcleo-electrón es:

$$\hat{V}_{ne} = \sum_i^N v r_i = - \sum_{i=1}^N \sum_{\alpha}^N \frac{Z_{\alpha}}{r_{\alpha i}} \quad (2.17)$$

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

Por otro lado, la energía potencial de interacción electrón-electrón es:

$$\hat{V}_{ee} = \sum_{i < j}^N \left( \frac{1}{r_{ij}} \right) \quad (2.18)$$

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

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

$$\rho(\vec{r}_i) = \sum_{\sigma=\uparrow\downarrow} \int |\psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3, \dots)| dx_1 dx_2 \dots dx_N \quad (2.19)$$

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

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

$$\hat{V} \leftrightarrow \psi \leftrightarrow \rho \quad (2.20)$$

Comprobemos esta relación, en primer lugar notemos que dado el potencial  $\hat{V}$  es posible, usando la ecuación de Schrödinger, encontrar la función de onda  $\psi$ ; así, con la función de onda y empleando la Ec. 2.19 podemos encontrar la densidad electrónica. Es decir:

$$\hat{V} \rightarrow \psi \rightarrow \rho \quad (2.21)$$

Ahora analicemos si se satisface  $\hat{V} \leftarrow \psi$ . Como ya hemos probado que  $\hat{V} \rightarrow \psi$  sólo resta verificar que para dos potenciales,  $\hat{V}$  y  $\hat{V}'$  diferentes, se tendrán dos funciones de onda,  $\psi$  y  $\psi'$ , respectivamente. *"Si  $\hat{V}$  y  $\hat{V}'$  difieren por más de una constante  $C$ , no podrán conducir a la misma función de onda".*

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

$$(\hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee}) |\psi\rangle = E_{gs} |\psi\rangle \quad (2.22)$$

Y

$$(\hat{T} + \hat{V}' + \hat{V}_{ee}) |\psi\rangle = E'_{gs} |\psi\rangle \quad (2.23)$$

Restando las dos ecuaciones anteriores tenemos que:

$$(\hat{V} - \hat{V}') |\psi\rangle = (E_{gs} - E'_{gs}) |\psi\rangle \quad (2.24)$$

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

Ya hemos probado que  $\psi \rightarrow \rho$ . Para probar que además  $\psi \leftarrow \rho$  usaremos la siguiente afirmación: "*Si el estado base de  $\psi$  para  $H$  y  $\psi'$  para  $H'$  son diferentes, no podrán conducir a la misma densidad electrónica*".

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

$$E_{gs} = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle < \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle = \langle \psi' | \hat{H}' + \hat{V} - \hat{V}' | \psi' \rangle = E'_{gs} + \int \rho'(\vec{r}) [v(\vec{r}) - v'(\vec{r})] \quad (2.25)$$

$$E'_{gs} = \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle < \langle \psi | \hat{H}' | \psi \rangle = \langle \psi | \hat{H} + \hat{V}' - \hat{V} | \psi \rangle = E_{gs} + \int \rho(\vec{r}) [v'(\vec{r}) - v(\vec{r})] \quad (2.26)$$

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

$$E_{gs} + E'_{gs} < E_{gs} + E'_{gs} \quad (2.27)$$

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

$$\psi \longleftrightarrow \rho(\vec{r}) \quad (2.28)$$

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

Ahora que sabemos que la densidad electrónica determina las propiedades del sistema, sólo resta saber cómo calcularla.

### 2.1.1.2. Segundo Teorema de Hohenberg-Kohn

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

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

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

$$\left(-\frac{\nabla^2}{2} + \hat{V}_{so}(\vec{r})\right) \phi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (2.29)$$

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

$$\rho_s(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N |\phi_i(\vec{r})|^2 \quad (2.30)$$

Y la energía cinética no interactiva del sistema es:

$$T_s[\rho] = \sum_{i=1}^N \left\langle \phi_i \left| -\frac{\nabla^2}{2} \right| \phi_i \right\rangle \quad (2.31)$$

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

$$E[\rho] = T_s[\rho] + \int V_0(\vec{r})\rho(\vec{r})d\vec{r} + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}d\vec{r}' + E_{XC}(\rho) \quad (2.32)$$

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

$$E_{XC}[\rho] = F_{HF}[\rho] - T_s\rho - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}d\vec{r}' \quad (2.33)$$

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

$$\frac{\delta E[\rho]}{\delta \rho(\vec{r})} \Big|_{\rho=\rho_0} = 0 \quad (2.34)$$

Así, empleando las Ecuaciones 2.32, 2.33 y 2.34 tenemos:

$$\frac{\delta F_{HK}[\rho]}{\delta \rho(\vec{r})} \Big|_{\rho=\rho_0} = -V_0(\vec{r}) \quad (2.35)$$

y aplicando este resultado al sistema no interactivo de nuestro interés tenemos:

$$\frac{\delta F_{HK}[\rho]}{\delta \rho(\vec{r})} \Big|_{\rho=\rho_0} = -V_{s,o}(\vec{r}) \quad (2.36)$$

Al resolver la derivada parcial indicada obtenemos:

$$V_{s,o}(\vec{r}) = V_0(\vec{r}) + V_H(\vec{r}) + V_{X,C}(\vec{r}) \quad (2.37)$$

Y combinando esta última ecuación con la ecuación de Schrödinger, finalmente se concluyen las **ecuaciones de Kohn-Sham**:

$$\left[ -\frac{\nabla^2}{2} + V_0(\vec{r}) + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d(\vec{r}') + \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho(\vec{r})} \right] \phi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (2.38)$$

Donde el potencial de intercambio correlación está dado por:

$$V_{X,C}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho(\vec{r})} \quad (2.39)$$

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

$$V_{S,O}(\vec{r}) = V_0(\vec{r}) + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho(\vec{r})} \quad (2.40)$$

$$V_{X,C}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho(\vec{r})} \quad (2.41)$$

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

### 2.1.1.3. Intercambio y Correlación

Aún cuando el planteamiento de Kohn y Sham es exacto, hasta el momento el funcional de intercambio y correlación exacto,  $E_{XC}$ , es desconocido y por lo tanto son necesarias aproximaciones a este funcional. La clasificación a estas aproximaciones se puede encontrar en la escalera de Jacob definida por John. P. Perdew [22].

La primera aproximación para este funcional se conoce como Aproximación de Densidad Local (LDA) y consiste en suponer que en cada punto, la energía de intercambio y correlación depende sólo de la densidad en ese punto. Este valor se considera como el que tendría un gas de electrones libres de esa densidad. Si bien es una aproximación bastante fuerte, se obtienen resultados sorprendentemente precisos para algunas propiedades, y es en parte a eso que se debe el éxito de esta teoría.

Existen aproximaciones más sofisticadas para el funcional de intercambio y correlación, estas se conocen como Aproximaciones de Gradiente Generalizado, éstas son semilocales ya que

consideran en cada punto el valor de la densidad y sus gradientes. Un ejemplo representativo de esta aproximación es el funcional reportado por Perdew, Burke y Ernzerhof, el cual ha motivado a varias revisiones y mejoras. Para algunas propiedades estas aproximaciones dan mejores resultados que LDA, en particular para geometrías moleculares y energías del estado fundamental, aunque para otras no representan una mejora sustancial.

Aún con esta aproximación, no se conoce la forma funcional para las energías de intercambio (también llamado interacción de canje) y correlación electrónicas. Estas corresponden a la interacción cuántica entre electrones, la primera debido a la parte cuántica de la repulsión coulombiana y la segunda debido al principio de exclusión de Pauli entre electrones del mismo espín. Una solución a este problema es el desarrollo de métodos híbridos como el funcional B3LYP, pero existen otros métodos dentro de la propia Teoría del Funcional de la Densidad.

Una serie de funcionales más sofisticados puede obtenerse al suponer que la energía de intercambio y correlación depende explícitamente de los orbitales de Kohn-Sham. El más común de estos funcionales es el de Intercambio Exacto (EXX), que incluye de manera completa la energía de intercambio electrónico y que puede derivarse desde primeros principios. El problema de este tipo de funcionales es que computacionalmente son más costosos de tratar.

## 2.2. Metodología empleada para estudiar las diferentes estructuras espaciales de ADN

El objetivo de este trabajo de investigación es estudiar diferentes conformaciones espaciales de ADN, las cuales presentan características de distintas clases y algunas de ellas presentan en adición una base nitrogenada modificada. Para conocer la naturaleza de las interacciones de sus subunidades, así como la viabilidad de su estructura y sus regularidades de formación, se han analizado los parámetros geométricos (y por ende conformacionales) de distintos fragmentos de ADN cuyas cadenas antiparalelas de nucleótidos presentan ángulos de torsión en regiones de diferentes clases conformacionales NtCs, además de estructuras de la familia conformacional Z que contienen bases nitrogenadas Adeninas y Timinas en su secuencia -con los pares Gua(*syn*):Cyt(*anti*), Ade(*syn*):Thy(*anti*) o Gua(*syn*):Thy(*anti*)-, así como de conformaciones de dúplex con las bases modificadas 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, 8-oxoguanina y 2-Aminopurina.

Dado el inherente costo computacional que presenta el optimizar -con métodos de Mecánica Cuántica- la geometría de moléculas con un gran número de átomos, nuestro estudio se ha centrado en fragmentos mínimos de esqueletos azúcar-fosfato (SPBs), en los desoxidinucleósidos monofosfatos (dDMPs) y en los dDMPs complementarios (cdDMPs), como unidades mínimas para estudiar las características conformacionales de las diferentes estructuras espaciales de ADN que nos interesan en este trabajo, ya que el estudio de estos fragmentos nos permitió entender cuáles interacciones permiten la estabilidad de la doble hélice en cada caso. Las bases de la selección de ese tipo de moléculas pequeñas se tiene en estudios realizados anteriormente, en donde se reporta que los cdDMPs son las unidades mínimas de la doble hélice del ADN que nos pueden aportar información estructural de ésta [23], mientras que los dDMPs son los de la cadena única.

Para cumplir con nuestros propósitos, se seleccionaron del *Nucleic Acid Database*<sup>1</sup> aquellos fragmentos de ADN que contuviesen dDMPs complementarios con las características ya mencionadas, realizándose la extracción de dichos fragmentos mínimos de dúplex como se muestra en la Figura 2.2, y posteriormente extrayéndose de los mismos los dDMPs y SPBs para el estudio complementario. Se realizó la optimización de la geometría de los mencionados fragmentos, pues de esta manera se obtienen estructuras de mínima energía y físicamente realizables, para luego obtener las regularidades de formación de los mismos al analizar los parámetros geométricos de las estructuras experimentales y de las ya optimizadas.

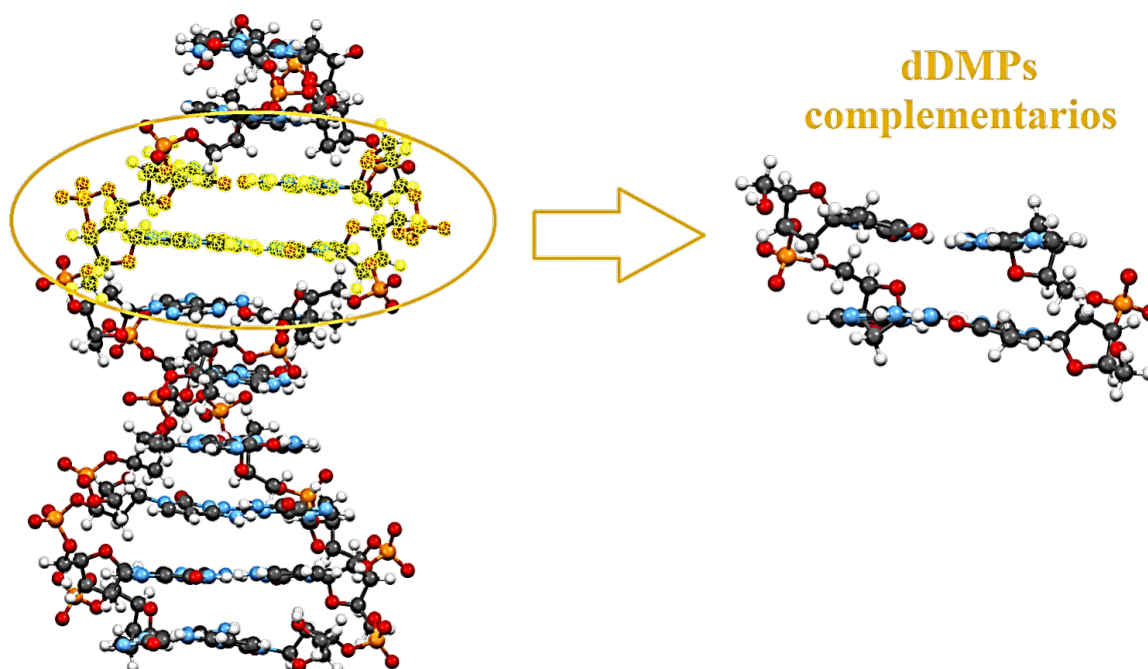


Figura 2.2: *Desoxidinucleósidos monofosfatos complementarios, unidad mínima de la hélice doble del ADN, extraídos de un fragmento experimental depositado en el NDB.*

A fin de optimizar la geometría de nuestros fragmentos elegidos, es necesario neutralizarlos puesto que los dDMPs no son estructuras eléctricamente neutras debido a la carga negativa del grupo fosfato, los cuales en condiciones naturales son neutralizados por los diferentes iones que hay en el medio en que se encuentran. En este caso, es necesario estabilizarlos agregando un ión de sodio ( $\text{Na}^+$ ) equidistantemente a  $2.3\text{\AA}$  de los oxígenos del grupo fosfato que no se encuentran en la línea consecutiva de átomos que forman el esqueleto azúcar-fosfato. Además, se agregaron los hidrógenos necesarios, ya que la mayoría de fragmentos experimentales reportados en los bancos de datos no los contienen.

<sup>1</sup><http://ndbserver.rutgers.edu/>

La estructura de los dDMPs y los cdDMPs puede ser descrita totalmente por los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato ( $\delta_{1,2}$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , véase la Figura 1.4, el empaquetamiento de los dos anillos de azúcar desoxirribosa, los dos ángulos de torsión glucosídicos ( $\chi$ ), uno por base, y el ángulo promedio formado entre las bases nitrogenadas apiladas, además de los parámetros de posición mutua de las bases y pares de bases *Buckle*, *Propeller*, *Tilt*, *Roll*, *h-Twist* y *h-Rise*, y el área de traslape de los anillos de las bases apiladas debida al *Stacking*, ver Figura 2.3. En tanto que los SPBs quedan descritos por estos mismos parámetros, exceptuando aquéllos que involucran una o más bases nitrogenadas.

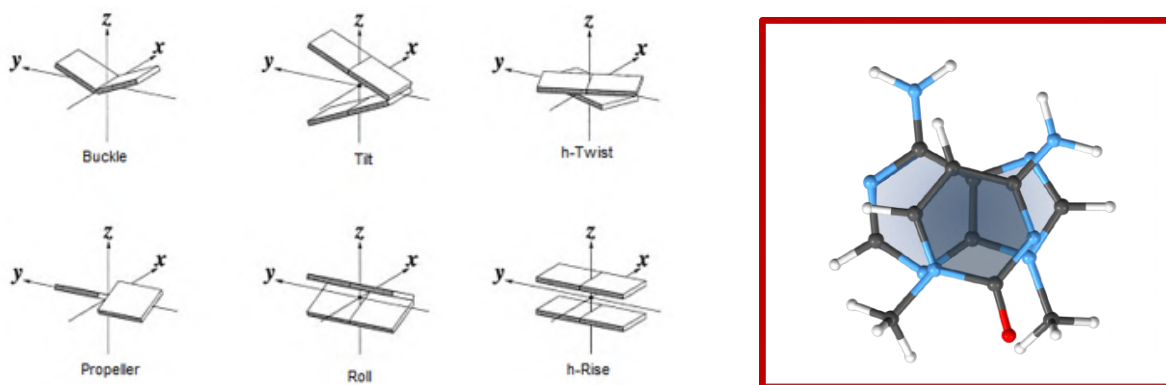


Figura 2.3: IZQ: Parámetros de posición mutua de las bases y pares de bases nitrogenadas. Figura adaptada de [40]. DER: Área de traslape entre los anillos de las bases apiladas (*stacking*).

### 2.2.1. Optimización de la geometría de los fragmentos estudiados

Como se ha mencionado previamente, la principal metodología empleada en este estudio ha sido la basada en la Mecánica Cuántica, con la aproximación de la Teoría del Funcional de Densidad (DFT), la cual presenta un procedimiento variacional alternativo para obtener las propiedades del sistema molecular en cuestión. Esta teoría se basa en los dos teoremas de Hohenberg-Kohn, los cuales demuestran que las propiedades de los sistemas moleculares están determinados por la densidad electrónica, así, DFT trabaja con esta en lugar de las tres coordenadas de posición de cada electrón.

Sin embargo, no existe una expresión exacta del funcional que relaciona la densidad electrónica con la energía del sistema. En la actualidad existe una amplia variedad de distintos funcionales aproximados, cada uno con limitaciones y ventajas. Para los cálculos de optimización se han empleado en este trabajo principalmente los funcionales GGA (Aproximaciones de Gradiente Generalizado) PBEPBE [24] y PW91PW91 [25], empleados anteriormente para estructuras de WC, así como el funcional meta-híbrido-GGA M05-2X [26], el cual considera un porcentaje de HF para el exchange y es recomendado para cálculos de moléculas biológicas donde las interacciones por apilamiento sean de vital importancia [27, 28].

El funcional PBEPBE considera tanto componentes de intercambio como correlación corregida por gradiente, cuyos resultados son semejantes a los obtenidos con PW91PW91, pero

da una energía un tanto más cercana a la exacta, a diferencia del segundo. Estudios realizados con dichos funcionales demostraron que estos reproducen resultados *ab initio* razonablemente buenos para complejos con enlaces de hidrógeno [30, 31] y para complejos con bases de ADN apiladas [32], interacciones importantes en la estabilidad de la doble hélice del ADN. No obstante, estos funcionales GGA han mostrado una preferencia a las interacciones de enlaces de hidrógeno, siendo en ciertos casos estas interacciones sobreestimadas, conduciendo a estructuras físicamente no realizables.

En adición, para la evaluación de los distintos funcionales, en algunos cálculos se ha utilizado el funcional de Grimme B97-D3 y el funcional híbrido B3LYP-D3, los cuales consideran dispersión Grimme de tercer grado con la función de amortiguación D3 original (D3BJ), donde un funcional híbrido es todo aquél que incluye una mezcla de exchange de Hartree-Fock con exchange-correlation de DFT.

Para los sistemas moleculares más pequeños considerados, los SPBs, se empleó también la teoría de perturbaciones de Moller-Plesset con cálculos MP2, el cual es un método *ab initio* post-Hartree-Fock que mejora los cálculos HF añadiendo efectos de correlación de electrones por medio de la teoría de perturbaciones de segundo orden de Rayleigh-Schrödinger (RS-PT).

La comparación de los resultados obtenidos con las distintas rutas de cálculos, y los distintos funcionales empleados, nos permitió hacer un análisis sobre qué metodología emplear dependiendo del sistema molecular a estudiar. Como auxiliar en la ruta de cálculos propuesta para la reproducción de todas las características conformacionales que muestran las estructuras experimentales, a fin de eliminar las distancias interatómicas cortas que han sido observadas en estructuras optimizadas con M05-2X, se ha empleado el funcional PW91-ulg [25, 29], el cual tiene en su forma un término extra para corregir las interacciones London de dispersión (atracción de van der Waals, vdW) considerando en este el campo de fuerzas univerval (UFF).

En los cálculos de optimización con DFT se utilizó el conjunto de funciones base 6 – 31G\*, donde cada uno de los orbitales internos son expresados con una single-zeta y esta a su vez es desarrollada por seis Gaussianas, mientras que los orbitales de valencia son expresados con doble-zeta, una desarrollada con tres Gaussianas y la otra con sólo una, además, dicho conjunto base tiene añadido un conjunto único de funciones de polarización Gaussianas. En cuanto a los estudios realizados con MP2 se empleó el conjunto base 6 – 31G(*d'*, *p'*), el cual agrega además funciones difusas dobles.

Todos los cálculos de optimización realizados a los sistemas moleculares de interés en este trabajo se llevaron a cabo en el programa Gaussian 9 D.01 [33], considerado como uno de los mejores paquetes comerciales para realizar cálculos post HF. El funcional PW91-ulg no se encuentra en dicho paquete, por lo que para los cálculos con este se utilizó el programa ADF 2018 [34], el cual usa funciones de Slater y un esquema de integración numérica ajustable con suficiente exactitud, en el cual las coordenadas se adaptan automáticamente a las funciones-base disponibles, lo que reduce el tiempo de evaluación de los potenciales de Coulomb. En este programa se empleó el conjunto base *TZP*, donde cada uno de los orbitales internos son expresados con una doble-zeta y los orbitales de valencia con triple-zeta, además de contar con una función de polarización.

Al realizar optimizaciones de la geometría de un sistema molecular no se puede tener la certeza de que se han obtenido mínimos reales pues en la superficie de energía potencial, la cual describe la energía del sistema, es posible obtener tanto máximos, mínimos o puntos de silla, véase la Figura 2.4. Para comprobar que se consiguieron mínimos -como se desea-, y no puntos de silla, se comprobó mediante cálculos de frecuencias vibracionales (segundas derivadas) que estas fuesen positivas en las estructura optimizadas ( $N\text{Imag}=0$ ).

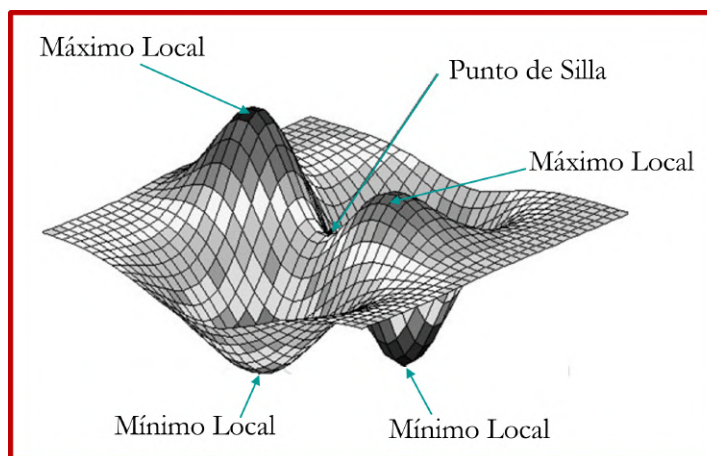


Figura 2.4: *Superficie de energía potencial (PES) de un sistema molecular.*

Finalmente, como cálculos preliminares en las diferentes rutas de optimización, y para comparación de las distintas metodologías en la reproducción de las características conformacionales de las estructuras estudiadas, se llevaron a cabo optimizaciones con el método de la Mecánica Molecular basada en la mecánica clásica, y en donde las principales aproximaciones empleadas son la aditividad de los términos de energía responsable de las contribuciones de diferente naturaleza física y la aditividad de la contribución de los átomos. Para este tipo de metodología existen distintos campos de fuerzas, los cuales son un conjunto de parámetros empíricos -o parámetros obtenidos de cálculos *ab initio*- asociados a una función de energía potencial específica.

El paquete comercial AMBER 9 [35], que trabaja con el campo de fuerzas de igual nombre, ha sido utilizado en este trabajo. Los diferentes campos de fuerzas AMBER que existen actualmente son derivados del original campo de fuerzas de Cornell et al. ff94 [36]; el empaquetamiento del azúcar y las torsiones glucosídicas de los ácidos nucleicos, descritos previamente en ff94, fueron mejorados en los campos de fuerzas ff98 [37] y ff99 [38]. Posteriormente, en 2007, la corrección ff99bsc0 [39] introdujo una descripción mejorada de las torsiones alfa y gamma del esqueleto azúcar-fosfato. De la reparametrización de distintos conjuntos de torsiones de este campo ff99bsc0 surgieron los campos de fuerzas AMBER OL15 y BSC1, los cuales han sido empleados en nuestras optimizaciones, junto con ff99.

### 2.2.2. Medición de los parámetros geométricos

Para obtener las regularidades de formación de los fragmentos de ADN considerados, así como entender las interacciones de sus subunidades y su papel en la conformación de los mismos, es necesario analizar la estructura tanto de las estructuras experimentales como de las estructuras obtenidas mediante las distintas optimizaciones. Esto es posible analizando los parámetros geométricos antes mencionados -ángulos de torsión, parámetros de posición mutua de las bases y pares de bases, empaquetamiento de los azúcares y el área de traslape entre los anillos de las bases apiladas-, los cuales se han obtenido con el programa en línea *3DNA*<sup>2</sup>.

En este programa se puede realizar el análisis tanto de las estructuras cristalinas individuales, tales como las recopiladas en el NDB o PDB -al introducir el NDB/PDB ID-, o conjuntos de estructuras generadas en las simulaciones moleculares. Parámetros convencionales de torsión y una variedad de distancias virtuales y los ángulos son utilizados para caracterizar la conformación molecular, con las clasificaciones conformacionales automáticas basadas en parámetros derivados conocidos para las diferentes formas helicoidales [40].

La preparación y visualización de nuestros sistemas moleculares han tenido lugar en los softwares Mercury 4.1.3, Avogadro 1.0.3, Chemcraft 1.8 y Oxford.

Para la clasificación y asignación de la clase conformacional NtC de los dDMPs estudiados se ha empleado el programa en línea *DNATCO v3.2*<sup>3</sup>, de igual manera, este programa sirve para buscar aquellos fragmentos de ADN y ARN depositados en el Protein Data Bank que contienen dDMPs pertenecientes a la clase que se desee. Sin embargo, hay ciertas inexactitudes en la asignación de NtC a algunas estructuras optimizadas, por lo que no se puede descartar en análisis manual y detallado de los parámetros de las mismas. En adición, este programa sólo sirve para fragmentos que contengan bases nitrogenadas, por lo que no fue posible utilizarlo con los fragmentos de SPBs, realizándose la clasificación de cada uno de ellos manualmente, misma situación en la obtención de sus parámetros geométricos.

---

<sup>2</sup><http://web.x3dna.org/>

<sup>3</sup><https://dnatco.datmos.org/>

## Capítulo 3

# Resultados

*My brain is only a receiver, in the Universe there is a core from which we obtain knowledge, strength and inspiration. I have not penetrated into the secrets of this core, but I know that it exists.*

NIKOLA TESLA

Dada la variabilidad que posee la estructura tridimensional del ADN, debida a la flexibilidad del esqueleto azúcar-fosfato (SPB), incluyendo la del empaquetamiento del azúcar desoxirribosa, y a la habilidad que poseen las 4 bases nitrogenadas de formar distintos pares de bases, con distintas interacciones de apilamiento o *stacking*, en este trabajo de tesis doctoral se han estudiado diversos fragmentos de ADN para analizar la posición mutua de las subunidades correspondientes a la formación de las dobles hélices y con ello analizar su viabilidad y encontrar regularidades de formación.

Anteriormente, durante mis estudios de maestría, se consideraron fragmentos de la familia conformacional levógira de ADN-Z con la secuencia d(CGCGCG)<sub>2</sub>, conformaciones de dobles hélices dextrógiras con pares de bases Ade:Thy de Hoogsteen, conformaciones de dúplex de cadenas paralelas con pares diferentes de los de Watson-Crick (WC), y dúplex con pares incorrectos surgidos durante procesos como la replicación del ADN [7].

Como una extensión, en este trabajo se han estudiado y analizado diferentes tipos de subunidades de variadas clases conformacionales de dobles hélices de ADN con pares de nucleósidos de WC, A:T y G:C (todos en conformación *anti*), y con bases modificadas tales como 5-metilcitosina (5mC), 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), 8-oxoguanina (8-oxoG) y 2-Aminopurina (2AP). Además, se ha extendido el estudio del ADN-Z considerando fragmentos de dúplex con la secuencia d(GCAGACC):d(GGTCTGC), con pares G:C y A:T, y de dúplex con la secuencia d(TGTG)<sub>2</sub>, con pares G:T, ambos casos teniendo a los nucleósidos de purinas en conformación *syn* y los de pirimidinas en conformación *anti*.

La investigación se comenzó con el estudio de fragmentos mínimos de dúplex de ADN (cdDMP) con la base modificada 5-mC, empleando la misma metodología de estudios anteriores; sin embargo, los cálculos de optimización realizados a los diferentes cdDMPs, con

PBEPBE/6-31G\*, resultaron en conformaciones no reales y con la formación de enlaces de hidrógeno artificiales entre las bases nitrogenadas apiladas, teniendo con ello pares de bases casi perpendiculares entre sí, lo cual imposibilita la formación de hélices dobles con más nucleósidos consecutivos.

Se realizaron diferentes pruebas para descifrar el motivo de tales resultados e interacciones artificiales, esto nos llevó a dos nuevos panoramas importantes para el camino que tomó la investigación. El primero, considerar la importancia de estudiar dúplex de ADN con ambas cadenas en distintas conformaciones y además con la posibilidad de que una o ambas cadenas presenten conformaciones de clases diferentes a las grandes familias BI, BII, AI y AII, con ángulos de torsión intermedios entre estas. Y el segundo, la implementación de una nueva metodología para el estudio de dichas conformaciones, con la reproducción de la mayoría de las interacciones no-enlazantes en el ADN. Para más detalles sobre la metodología y rutas de cálculos propuestos, ver el Apéndice A.

Dada la importancia del esqueleto azúcar-fosfato, debido a su indispensable papel que contiene la información de la estructura del ADN, se presenta primero el análisis de los resultados obtenidos para los mismos. Se sabe de otros estudios que, para aquellas conformaciones que tienen mínimos de energía para SPBs separados se presentan reglas de superposición parecidas a las de las familias AI y BI; para corroborar y comprender esto, y tal vez ajustar estas reglas para cada clase conformacional, se han realizado muchos cálculos con distintas metodologías.

De esta manera, en la Sección 3.1 se presenta el estudio realizado a esqueletos azúcar-fosfato de estructuras en conformación de distintas clases NtCs, de acorde al análisis y clasificación realizados por Scheider et al. [6], para la elucidación de cuáles de estas clases conformacionales corresponden a mínimos de energía de SPB separado.

Para encontrar las regularidades de formación de los dúplex con ambas cadenas en distintas conformaciones (NtCs), y entender las interacciones importantes intrínsecas a estas, se expone un análisis de los resultados obtenidos de los cálculos de optimización realizados a los diferentes fragmentos de cdDMPs, dDMPs y SPBs en la Sección 3.2.

Finalmente, en las Secciones 3.3 y 3.4 se exhiben los resultados obtenidos del estudio realizado a dúplex con bases modificadas y a fragmentos de ADN-Z, respectivamente. Ambos tipos de conformaciones de importancia en distintos procesos biológicos como lo son la activación/silenciamiento de genes, daño oxidativo del ADN -proceso que da como resultado enfermedades neurodegenerativas-, o la cancirogenesis, por citar algunos.

En las tablas se han marcado aquellos ángulos de torsión de las estructuras optimizadas que tienen diferencia de  $\geq 30^\circ$  con la estructura experimental inicial o con los valores promedio para la NtC correspondiente. Específicamente, con *cursiva* se ha marcado cuando la variación es respecto a la estructura experimental, con ***cursiva+negrta*** cuando es respecto a los valores promedio de la clase estudiada, y con ***cursiva+negrta+subrayado*** cuando la diferencia es tanto con la estructura experimental como con los valores promedio de la NtC en cuestión.

### 3.1. Estudio de esqueletos azúcar-fosfato de dDMPs con diferentes clases conformacionales

Los ángulos de torsión de la cadena única de polinucleótidos en el ADN pueden tener variaciones a lo largo de esta. Sin embargo, sólo cierto conjunto de variaciones son compatibles con estructuras de doble hélice. Para la optimización de la geometría de diferentes fragmentos mínimos, y el análisis de sus características estructurales, se seleccionaron aquellas clases conformacionales para los fragmentos de dDMPs (NtCs, [6]) que fuesen compatibles con la formación de dúplex de Watson-Crick (WCDs) con pares canónicos G:C y A:T, y ambos nucleósidos en conformación *anti*.

Este estudio es importante ya que, de investigaciones realizadas por Poltev et al. [9, 12], se sabe que el esqueleto azúcar-fosfato juega un papel indispensable en la dependencia que tiene la estructura 3D de los WCDs en la secuencia de los nucleótidos. Específicamente, aquellas conformaciones que tienen mínimos de energía para SPB separado presentan reglas de superposición parecidas a las que se tienen en las familias AI y BI, predeterminándose así las regularidades en la formación 3D. Para verificar y comprender, y tal vez ajustar estas conclusiones sobre la dependencia de las regularidades de formación en la correspondencia de regiones conformacionales de ángulos de torsión del esqueleto a mínimos de energía para SPBs separados, se han llevado a cabo muchos cálculos con distintas metodologías a los fragmentos de las clases NtCs escogidas.

En la Tabla 3.1 se muestra la lista de NtCs seleccionadas para la elucidación de los mínimos de energía de SPB separado, se presentan los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato y los ángulos de torsión glucosídicos para cada una de estas.

Tabla 3.1: *Ángulos de torsión y ángulos glucosídicos de las clases conformacionales de fragmentos mínimos de las cadenas de ADN (NtCs, [6]) consideradas en este trabajo.*

Descripción	NtC	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_1$	$\chi_2$
Forma canónica A, <i>la más frecuente</i>	AA00	<b>82</b>	206	288	293	173	55	<b>82</b>	199	200
A con $\alpha/\gamma$ switch (150°/180°)	AA01	<b>81</b>	197	<b>291</b>	<b>149</b>	192	<b>182</b>	<b>85</b>	204	188
A-B: $\delta_1 \approx O4'$ -endo, $\epsilon$ muy pequeño, $\chi_{1,2}$ B	AB02	<b>94</b>	<b>59</b>	<b>56</b>	<b>208</b>	188	66	131	239	250
BI-A, confórmero con $\delta_2$ de C3' a C4'-exo, $\chi_{1,2}$ B	BA01	136	189	255	300	161	53	<b>88</b>	254	225
BI-A, confórmero con $\delta_2$ de C3' a C4'-exo, $\chi_{1,2}$ B	BA05	131	184	269	296	169	52	<b>104</b>	251	235
BI-A: $\beta \approx 60^\circ$ , $\alpha/\gamma$ switch (260°/170°), $\chi_2$ A	BA08	139	208	<b>213</b>	301	<b>141</b>	49	<b>89</b>	263	215
B-A: $\beta$ pequeño	BA09	134	200	287	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	265	186
BII-A: $\chi_2$ A	BA16	146	<b>246</b>	<b>190</b>	<b>61</b>	<b>229</b>	<b>199</b>	<b>85</b>	266	199
<i>Confórmero de ADN más frecuente</i> , forma canónica B: BI	BB00	138	183	258	304	180	44	138	253	258
Variante menos poblada de forma BI	BB01	131	181	266	301	176	49	120	248	244
BI con $\alpha/\gamma$ switch (30°/300°)	BB02	141	194	246	<b>31</b>	195	<b>297</b>	150	252	253
Confórmero entre formas BI y BII	BB04	140	201	<b>214</b>	315	<b>153</b>	46	140	263	253
Forma BII, típica por $\epsilon/\zeta$ switch comparado a BI	BB07	144	<b>247</b>	<b>169</b>	297	<b>141</b>	46	141	271	260
Forma B con $\alpha, \beta, \gamma$ muy pequeños y $\epsilon, \zeta$ pequeños	BB10	138	196	<b>192</b>	<b>22</b>	<b>106</b>	19	129	257	258
BI con $\alpha/\gamma$ switch (260°/170°), $\beta$ pequeño, $\chi_2$ A	BB12	140	196	280	<b>257</b>	<b>76</b>	<b>171</b>	140	269	205
BI con $\alpha/\gamma$ switch (220°/160°), $\beta$ pequeño, $\chi_2$ A	BB13	143	187	<b>293</b>	<b>219</b>	<b>98</b>	<b>161</b>	146	253	219
BI con $\alpha$ grande y $\gamma$ cerca de 0°	BB15	144	189	257	<b>345</b>	189	<b>350</b>	148	250	262

Ángulos en grados (°). Se han marcado con letras negritas aquéllas torsiones del SPB que presentan una desviación de más de 30° comparadas con las que se tienen en la clase BB00.

En esta lista de NtCs se incluyen las grandes familias conformacionales BI (BB00), BII (BB07), AI (AA00) y AII (AA01). Si se comparan las demás NtCs presentes con la familia BI, se tiene que en general hay una diferencia de más de  $30^\circ$  para uno y hasta seis ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato. Varias de estas clases conformacionales son encontradas frecuentemente en complejos ADN-proteínas.

En la Figura 3.1 se muestra un ejemplo de cuatro SPBs de diferentes clases conformacionales, en estos se ha dejado el nitrógeno correspondiente al enlace glucosídico entre esqueleto y bases sólo para fines demostrativos, además, se han colocado dichos enlaces glucosídicos en una posición similar para poder apreciar mejor la comparación entre las diferentes NtCs. En esta figura se puede observar cómo la región entre los dos azúcares desoxirribosa en cada SPB varía de acorde a la clase conformacional a la que corresponden, esto debido a las diferencias entre las torsiones que presentan respectivamente.

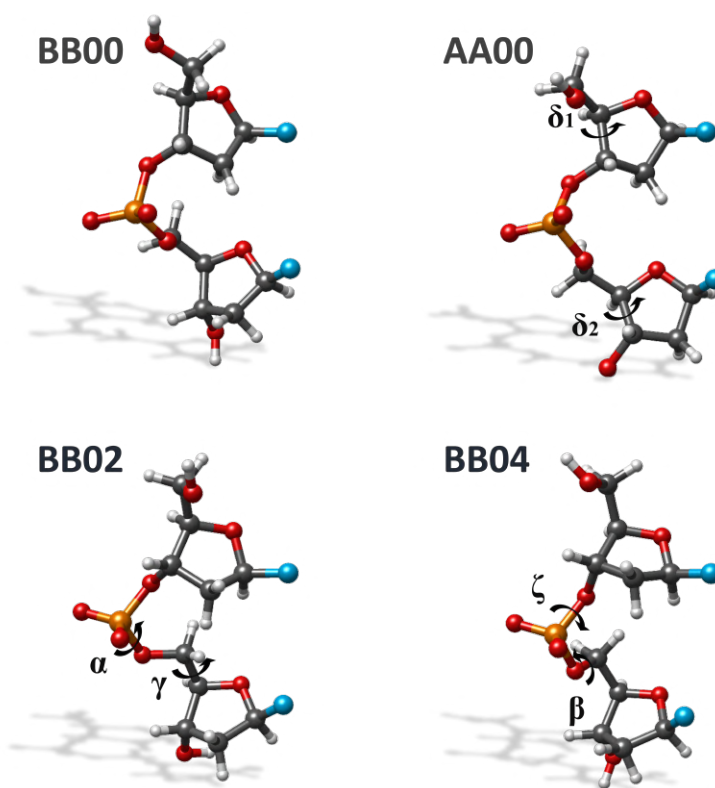


Figura 3.1: Conformaciones experimentales de SPBs de diferentes clases NtC de dDMPs. Los ángulos de torsión marcados indican aquéllos en donde difieren dichas clases con la familia BB00. Las estructuras presentan una misma posición mutua de los ángulos glucosídicos. Extracción: BB00, del fragmento dCpdC NDB ID PDT058; AA00, del fragmento dCpdA NDB ID PD0426; BB02, del fragmento dApdA NDB ID PD0311; BB04, del fragmento dCpdG NDB ID 5ET9. Figura publicada en [1]

Para un panorama un poco más completo, se presenta en la Figura 3.2 diferentes SPBs experimentales con ángulos de torsión correspondientes a cada una de las NtCs estudiadas. En esta figura se han arreglado todas las estructuras con una misma posición mutua de sus enlaces glucosídicos, sin embargo, es notorio que aunque se han superpuesto los del primer nucleósido de todos los SPBs, el segundo enlace glucosídico tiene variadas ubicaciones y distancias -con respecto al primero- en cada uno de los SPBs de las distintas clases. Esto se debe a las diferencias entre las torsiones y características inherentes de cada clase conformacional.

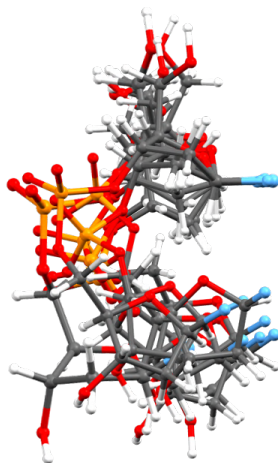


Figura 3.2: *Esqueletos azúcar-fosfato experimentales correspondientes a todas las clases conformacionales (NtCs) estudiadas, Tabla 3.1, presentando la misma posición mutua de los enlaces glucosídicos y superpuestos entre sí para mostrar la diferencia entre las NtCs mencionadas.*

Es importante mencionar que, de algunos cálculos de optimización realizados a estructuras de las clases NtCs seleccionadas para su estudio, se han obtenido mínimos correspondientes a clases conformacionales no consideradas en este trabajo, cuyos valores promedio de las torsiones de dichas clases se presentan en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2: *Ángulos de torsión y glucosídicos de las clases NtCs [6] no consideradas en este trabajo, pero cuyos mínimos de energía para SPB separado se han obtenido.*

Descripción	NtC	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_1$	$\chi_2$
A con $\alpha/\gamma$ switch ( $130^\circ/180^\circ$ )	AA05	<b>82</b>	<b>214</b>	<b>291</b>	<b>140</b>	<b>225</b>	<b>182</b>	<b>85</b>	<b>209</b>	<b>184</b>
Forma A variante	AA09	<b>87</b>	<b>232</b>	272	302	154	52	<b>85</b>	217	233
Esqueleto BII, pueden ser intercaladas bases paralelas	IC05	141	<b>255</b>	<b>174</b>	289	178	50	147	273	275
B-A empaquet. y torsiones $\chi$ , bases paralelas distantes	OP10	147	<b>218</b>	<b>152</b>	289	175	40	<b>87</b>	248	186

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). Las designaciones de fuente son las mismas de la Tabla 3.1.

En adición, dados los objetivos de este trabajo de investigación, y de la importancia de estudiar conformaciones de hélices dobles levóginas de ADN-Z, se han considerado y seleccionado clases conformacionales de dDMPs de este tipo de ADN, el cual se forma sólo en condiciones específicas y con la secuencia Pur-Pyr-Pur-Pyr-Pur..., en donde los nucleósidos de las Pirimidinas se encuentran en una conformación *anti* (como en los WCDs), mientras que las Purinas presentan una conformación *syn*. A pesar de tener diferentes conformaciones en sus nucleósidos, este tipo de estructuras suelen formar pares normales de WC. En la Tabla 3.3 se muestran las tres clases NtCs estudiadas de este tipo de ADN levógiro, las cuales presentan distintas regiones de sus torsiones, así como dos secuencias diferentes.

Tabla 3.3: *Ángulos de torsión y ángulos glucosídicos de las clases NtCs [6] de ADN-Z levógiro consideradas y estudiadas en este trabajo.*

Descripción	NtC	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_1$	$\chi_2$
Forma Z, secuencia Pirimidina-Purina (Y-R)	ZZ1S	147	263	76	66	186	178	96	207	<b>61</b>
Forma ZI, secuencia Purina-Pyrimidina (R-Y)	ZZS1	97	243	293	210	231	56	144	<b>63</b>	206
Forma ZII, secuencia Purina-Pyrimidina (R-Y)	ZZS2	95	187	64	169	162	44	143	<b>56</b>	213

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). Se han marcado con letras negritas los ángulos  $\chi$  correspondientes a una conformación *syn* de los nucleósidos en cuestión.

El estudio de estas diferentes NtCs será dividido para fines prácticos, y mostrar un mejor análisis, en 1) grandes familias conformacionales más conocidas, 2) clases que tienen mínimos de energía para SPBs separados, 3) sección especial para una nueva clase propuesta como consecuencia de estos estudios, la *Subclase X*, 4) clases cuyos esqueletos azúcar-fosfato no corresponden a mínimos de energía para SPBs separados y 5) SPBs de ADN-Z.

### 3.1.1. Grandes familias conformacionales más conocidas de ADN

Las familias conformacionales clasificadas como BI (BB00), BII (BB07), AI (AA00) y AII (AA01) se han estudiado con anterioridad, sin embargo, para redefinir las conclusiones de trabajos anteriores sobre la formación de la estructura tridimensional de la doble hélice de ADN, se han realizado una serie de optimizaciones de la geometría de una variada cantidad de esqueletos azúcar-fosfato tomados de dDMPs de estas conocidas familias. Las optimizaciones se llevaron a cabo con cálculos DFT, empleando los funcionales PBEPBE y M05-2X, y cálculos de MP2. En adición, se realizaron optimizaciones empleando tres campos de fuerzas AMBER, BSC1, OL15 y ff99, con objeto de evaluar la capacidad de esta metodología en la reproducción de las regularidades dependientes en la secuencia presentes en la formación 3D del ADN.

Como se puede notar en la Tabla 3.1, dos de estas familias muy estudiadas, BI y BII, difieren principalmente en los ángulos de torsión  $\epsilon$  ( $C4'-C3'-O3'-P$ ) y  $\zeta$  ( $C3'-O3'-P-O5'$ ). Una apreciación visual de estas diferencias se muestra en la Figura 3.3, con ello se demuestra la diferencia en la posición mutua de los átomos en estas dos familias.

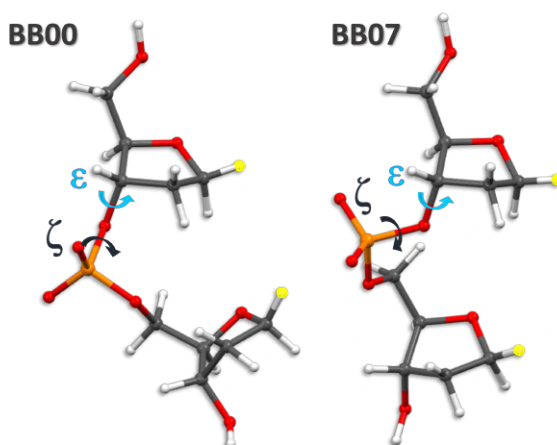


Figura 3.3: *SPBs* seleccionados de dDMPs en las conformaciones BI y BII (NDB ID PD0192 y 5ET9, respectivamente). La posición de 5'-desoxirribosa es la misma para ambas conformaciones. Se encuentra marcado con amarillo el hidrógeno que ha sustituido al nitrógeno de la base correspondiente. Figura publicada en [2]

Se presentan en la Tabla 3.4 los esqueletos azúcar-fosfato experimentales estudiados pertenecientes a dDMPs de la NtC BB00, así como los parámetros conformacionales de los resultados obtenidos mediante las distintas metodologías empleadas. La optimización de la geometría de estos SPBs separados mediante los tres métodos de MC (PBEPBE, M05-2X y MP2) produjo tres estructuras de mínima energía para cada caso, estos mínimos difieren entre sí tanto en las torsiones ( $1-11^\circ$ ) como en los valores de la energía (1-3 kcal/mol), pero son muy cercanos a los valores promedio para esta clase conformacional. Los tres campos AMBER empleados también reproducen dichas características estructurales para estos SPBs BB00.

Tabla 3.4: *Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación BI (BB00, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB00</b>			<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>				
<b>NDB</b>	dApdA - 5F9I	1	138	182	245	309	174	51	136	154	153	34	34
	dGpdG - PDT058	2	140	191	250	305	179	44	139	161	159	35	36
	dGpdG - PD0230	3	139	187	264	296	176	47	138	164	146	33	41
	dGpdA - 3MXB	4	140	195	249	308	181	31	148	151	160	41	44
	dApdT - 2MAV	5	146	191	278	287	171	44	143	188	144	30	47
	dApdT - PD0652	6	132	182	267	312	182	34	134	149	146	34	38
	dGpdT - 1MOW	7	134	180	251	318	184	39	141	151	159	37	38
	dTpdT - PD0192	8	137	191	263	300	174	45	143	156	151	37	42
	dTpdT - PD0311	9	129	175	265	297	190	49	131	138	146	36	35
	dTpdC - PD0292	10	136	203	254	301	171	43	137	156	151	33	37
	dTpdC - BD0037	11	135	195	272	287	177	46	143	149	149	36	44
	dTpdC - 5KEO	12	159	183	262	304	177	40	140	205	155	38	38
	dCpdC - PDT058	13	132	193	277	308	173	54	142	203	161	11	36
	dCpdC - IIGN	14	110	169	275	291	192	49	135	115	150	42	43
	dCpdC - BDJB49	15	121	<del>222</del>	251	311	168	26	148	140	143	36	40
	dTpdG - BD0105	16	129	193	250	309	171	48	140	145	162	32	34
	dCpdG - DD0003	17	149	186	270	288	177	46	136	186	147	33	40
	d2PRpdA - 2KV0	18	144	175	251	312	183	40	142	164	160	36	35
	dTpdT - 2KV0	19	136	176	257	309	183	42	134	149	146	35	35
<b>PBE</b>	dApdA	1	137	207	<del>283</del>	291	172	49	136	147	154	38	38
	dGpdG	2	137	207	<del>283</del>	291	172	49	136	147	154	38	38
	dGpdG <sup>1</sup>	3	136	208	283	291	171	48	137	147	147	38	40
	dGpdG <sup>1</sup>	3	137	208	283	290	171	48	136	147	147	38	40
	dGpdA	4	136	208	<del>283</del>	290	171	48	136	146	147	38	40
	dApdT	5	136	208	283	290	171	48	136	146	147	38	40
	dApdT <sup>1</sup>	6	137	208	283	290	171	48	136	147	147	38	40
	dGpdT	7	137	208	<del>283</del>	290	171	48	137	147	147	38	40
	dTpdT	8	137	206	283	291	171	48	136	148	147	38	40
	dTpdT	9	137	<del>207</del>	283	291	172	49	136	147	154	38	38
	dTpdC	10	117	207	281	290	169	48	136	120	147	42	40
	dTpdC	11	136	208	283	290	171	48	137	147	147	38	40
	dTpdC*	12	137	207	276	295	169	49	136	143	147	39	40
	dCpdC*	13	137	207	276	295	169	49	136	143	147	39	40
	dCpdC	14	116	<del>281</del>	304	294	<del>148</del>	52	<del>85</del>	308	348	39	36
	dCpdC	15	137	208	283	291	171	48	137	147	148	38	40
	dTpdG	16	137	207	283	291	171	48	136	147	147	38	40
	dCpdG*	17	137	207	276	295	169	49	136	144	147	38	40
	d2PRpdA	18	137	208	<del>283</del>	291	171	48	137	147	147	39	40
dTpdT	19	137	208	283	290	171	48	137	147	147	38	40	

Continuación de Tabla 3.4.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
	<b>BB00</b>		<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>			
<b>M05</b> <b>- 2X</b>	dApdA	1	140	190	276	293	164	48	139	150	156	39 38
	dGpdG	2	141	190	276	293	164	48	139	151	156	39 38
	dGpdG <sup>1</sup>	3	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dGpdA	4	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dApdT	5	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dApdT <sup>1</sup>	6	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dGpdT	7	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dTpdT	8	140	191	276	293	163	48	141	151	150	39 40
	dTpdT	9	140	190	276	293	164	48	139	150	156	39 38
	dTpdC	10	136	193	276	294	164	49	140	142	149	41 40
	dTpdC	11	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dTpdC*	12	145	193	274	295	163	49	140	153	149	39 40
	dCpdC*	13	145	193	274	295	163	49	140	153	149	39 40
	dCpdC	14	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dCpdC	15	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dTpdG	16	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
	dCpdG*	17	145	193	274	295	163	49	140	153	149	39 40
	d2PRpdA	18	139	191	276	293	164	48	140	148	149	39 40
	dTpdT	19	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
<b>MP2</b>	dApdA <sup>2</sup>	1	140	208	286	288	173	56	<b>100</b>	147	320	40 41
	dGpdG <sup>1</sup>	3	140	204	284	289	170	47	141	147	150	40 41
	dGpdA	4	139	194	278	293	165	47	140	147	149	40 41
	dGpdT	7	139	194	278	293	165	48	140	147	149	40 41
	dTpdC	11	139	194	278	293	165	48	140	147	148	40 41
	dTpdC*	12	143	197	276	293	164	48	140	148	146	40 42
	dCpdC	14	139	194	278	293	165	48	140	147	149	40 41
	dCpdC	15	139	194	278	293	165	48	140	148	149	40 41
	dTpdG	16	140	205	285	289	170	47	141	147	151	40 41
	dCpdG*	17	143	197	276	293	164	48	140	149	148	40 41
d2PRpdA	18	138	193	277	293	164	48	140	147	148	40 41	
dTpdT	19	139	194	278	293	165	47	140	148	149	40 41	
<b>BSC1</b>	dGpdG	3	132	185	279	291	162	50	135	144	141	44 43
<b>OL15</b>	dGpdG	3	118	181	274	291	152	51	122	126	125	42 42
<b>ff99</b>	dApdT	6	123	187	278	291	162	46	125	129	129	44 41

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con algún campo de fuerzas AMBER.

<sup>2</sup>Va a mínimo para la clase conformacional BA05. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

En estas optimizaciones el empaquetamiento de ambos anillos de azúcar continua en la región C2'-endo para todas las estructuras optimizadas con MC y con el campo de fuerzas BSC1; por otro lado, los campos de fuerzas OL15 y ff99 producen anillos de azúcares y ángulos  $\delta$  algo distorsionados, aun así permanecen cerca de las regiones de las estructuras experimentales.

Estos resultados han permitido constatar las conclusiones previas sobre la correspondencia de los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato a el mínimo local de energía de fragmentos de SPBs separados BB00 [1].

Nótese que en la Tabla 3.4 se muestra un resultado obtenido con PBE en el que se tiene una distinta conformación, sin embargo, no podemos hacer conclusiones con esto pues sólo se obtuvo un resultado como este y podría ser un *caso excepcional*.

Por otro lado, para los cálculos realizados con M05-2X se tiene un resultado que corresponde a la NtC BA05. Para los cálculos realizados a SPBs en dicha conformación se han obtenido resultados correspondientes a la clase BB00 (ver Tabla 3.10), esto nos indica que hay una barrera de energía no muy grande entre ambas clases conformacionales y se puede tener el cambio conformacional entre una y otra (la diferencia mayor entre ambas sólo es en  $\delta_2$ ).

Del análisis realizado a las estructuras experimentales y teóricas, obtenidas de las distintas optimizaciones, para los SPBs de dDMPs de la NtC AA00, la cual representa la clase más abundante de la familia de ADN-A, se tiene la presencia de distintos mínimos de energía con las distintas metodologías. Los mínimos correspondientes a esta clase conformacional no difieren en más de 1 kcal/mol entre sí, o  $5^\circ$  entre sus respectivas torsiones; ver Tabla 3.5.

Tabla 3.5: Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación AI (AA00, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
	<b>AA00</b>		<b>82</b>	<b>206</b>	<b>288</b>	<b>293</b>	<b>173</b>	<b>55</b>	<b>82</b>				
<b>NDB</b>	dGpdG - ADH0103	1	79	196	284	299	176	47	79	9	30	43	46
	dGpdA - 6L75	2	86	207	290	293	183	46	87	14	11	38	37
	dApdC - 5IYG	3	93	203	293	293	162	64	82	12	43	34	43
	dGpdT - ADJ0102	4	85	208	287	296	177	55	86	14	17	38	37
	dGpdC - ADH033	5	83	203	280	309	166	44	83	26	21	35	34
	dCpdC - ADH0103	6	83	204	297	293	188	48	82	11	14	42	39
	dTpdC - NA0453	7	86	206	283	293	168	60	86	15	16	39	39
	dCpdT - 1I1P	8	82	189	289	307	184	42	92	21	40	19	33
	dTpdA - PD0248	9	88	184	280	291	163	66	94	51	37	38	32
	dTpdG - 6ROR	10	82	215	283	310	163	55	84	12	37	42	40
	dCpdA - PD0426	11	80	214	277	299	162	51	81	29	40	21	39
<b>PBE</b>	dGpdG	1	106	190	277	290	165	52	93	318	336	39	38
	dGpdA <sup>1</sup>	2	94	<u>245</u>	295	296	160	56	100	342	324	37	39
	dApdC	3	<b>116</b>	<u>280</u>	304	295	147	50	88	307	351	39	36
	dGpdT <sup>1</sup>	4	93	<u>244</u>	295	295	162	56	97	343	324	37	39
	dGpdC	5	101	187	275	295	166	54	95	323	332	38	39
	dCpdC <sup>1</sup>	6	78	<u>249</u>	292	300	156	56	99	31	326	40	34
	dTpdC <sup>2</sup>	7	<b>115</b>	209	282	290	169	55	97	118	330	42	38
	dCpdT	8	<b>116</b>	<u>282</u>	304	294	148	51	85	308	349	39	36
	dTpdA <sup>2</sup>	9	<b>137</b>	208	283	291	172	56	93	147	330	38	38
	dTpdG	10	106	190	277	290	165	52	93	318	336	38	38
	dCpdA*	11	102	187	276	293	168	55	92	323	331	38	38
<b>M05 - 2X</b>	dGpdG	1	101	182	276	295	169	57	103	327	323	39	39
	dGpdG	1	103	183	277	292	168	56	101	324	326	40	39
	dGpdA <sup>1</sup>	2	84	<u>243</u>	299	293	162	57	103	13	323	38	40
	dApdC	3	<b>117</b>	<u>277</u>	301	297	148	55	95	309	336	39	39
	dGpdT <sup>1</sup>	4	84	<u>241</u>	299	293	164	57	101	15	321	38	40
dGpdC	5	103	183	277	292	167	56	101	324	326	40	39	

Continuación de Tabla 3.5.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
AA00			82	206	288	293	173	55	82				
M05 - 2X	dCpdC	6	117	<u>277</u>	301	297	148	55	95	309	336	39	39
	dTpdC	7	103	183	277	292	167	56	101	324	326	40	39
	dCpdT*	8	102	182	277	293	170	57	101	324	321	40	40
	dTpdA*	9	103	182	277	293	170	57	101	324	322	40	40
	dTpdG	10	103	183	277	292	167	56	101	324	326	40	40
	dCpdA*	11	102	182	277	294	170	57	101	324	322	40	40
MP2	dGpdG	1	<u>115</u>	<u>276</u>	303	296	145	52	88	310	348	40	39
	dGpdA	2	<u>115</u>	<u>268</u>	296	301	147	57	98	310	330	42	40
	dApdC	3	<u>115</u>	<u>276</u>	303	296	145	51	88	310	348	40	39
	dGpdT <sup>1</sup>	4	93	<u>243</u>	298	294	162	56	101	342	319	39	41
	dGpdC	5	101	182	276	295	167	56	102	323	322	41	41
	dCpdC	6	<u>115</u>	<u>276</u>	303	295	145	51	88	311	348	40	39
	dTpdC <sup>2</sup>	7	<u>127</u>	210	285	289	171	56	104	130	320	43	41
	dCpdT*	8	102	182	277	295	168	56	99	322	321	41	41
	dTpdA*	9	102	182	277	295	168	56	99	323	321	41	41
	dCpdA*	11	102	182	277	295	168	57	99	322	321	41	41
BSC1	dTpdC	7	98	185	284	290	172	53	111	329	315	42	43
	dCpdA	8	98	185	284	290	172	53	111	329	315	42	43

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Va a mínimo para la clase conformacional AA09. <sup>2</sup>Va a mínimo para la clase conformacional BA05. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Es importante notar que para esta NtC, AA00, se han obtenido con las tres distintas metodologías de MC dos mínimos de energía extra que no corresponden a dicha conformación. Uno de ellos presenta cambios en los ángulos  $\delta_1$  y  $\epsilon$ , mientras que el otro mínimo presenta sólo cambios en el ángulo  $\epsilon$ . El primer mínimo mencionado no va a la posición de ninguna clasificación existente realizada por Schneider et al. [6]. Mientras que el segundo corresponde a un mínimo de energía para la clase conformacional AA09, la cual difiere de AA00 sólo en el ángulo  $\epsilon$ .

Además, con PBE y MP2 se obtuvo un tercer mínimo no correspondiente a esta clase. Presenta cambios de región únicamente en el ángulo  $\delta_1$ , con lo cual va a una posición correspondiente a un mínimo de energía obtenido para la NtC BA05, veánse las Tablas 3.5 y 3.10.

Estos resultados nos muestran la *flexibilidad* presente en aquellas conformaciones de la clase AA00, por lo cual se puede tener fácilmente el cambio de esta conformación a AA09 (este se ha presentado también al realizar optimizaciones empleando agua como solvente con la metodología de PCM) y BA05 (cambiando el empaquetamiento del azúcar en la posición 5'). Es necesario considerar dicho análisis en futuras publicaciones.

Por otro lado, del análisis realizado a la clase AA01 se tienen cambios a las conclusiones anteriores. De las optimizaciones de geometría realizadas a fragmentos separados de SPB de esta NtC se produjeron dos tipos de mínimos de energía, ver Tabla 3.6, aquéllos con ángulos de torsión cercanos a los valores promedio para dicha clase y mínimos con diferencia de más de  $30^\circ$  comparando con las regiones promedio para AA01 [1].

Tabla 3.6: Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación AII (AA01, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
AA01			81	197	291	149	192	182	85				
NDB	dApdG - 5MVP	1	93	191	282	124	198	199	93	48	14	29	30
	dGpdG - ADH0103	2	78	192	289	154	199	175	87	16	6	42	39
	dTpdC - NA2224	3	85	190	273	161	221	169	91	22	35	34	30
	dCpdG - 5MVL	4	84	206	297	136	184	188	80	20	10	37	45
	dCpdG - ADH0103	5	82	187	291	151	193	177	87	14	7	39	39
PBE	dApdG	1	106	208	293	147	195	189	80	319	2	38	37
	dGpdG	2	106	207	293	147	195	189	78	319	10	39	37
	dGpdG	2	106	208	293	148	195	189	77	319	12	38	37
	dTpdC*	3	106	207	293	148	195	190	74	318	53	39	40
	dCpdG	4	106	208	293	147	195	189	78	319	7	39	37
dCpdG	5	106	208	293	147	195	189	78	319	8	38	37	
M05 - 2X	dApdG <sup>1</sup>	1	86	<u>232</u>	302	126	221	189	82	359	359	39	38
	dTpdC*	3	109	205	299	147	187	189	76	318	20	38	38
	dCpdG <sup>1</sup>	4	86	<u>232</u>	302	127	<u>221</u>	188	82	359	358	39	38
MP2	dApdG <sup>1</sup>	1	94	<u>235</u>	299	132	<u>227</u>	188	92	91	330	44	41
	dGpdG*	2	105	210	301	143	192	189	73	320	52	40	43
	dTpdC*	3	105	210	300	143	<u>192</u>	189	73	320	52	40	43
	dCpdG <sup>1</sup>	4	88	233	301	130	<u>224</u>	188	91	351	333	39	40
	dCpdG*	5	105	210	300	143	192	189	73	320	52	40	43
BSC1	dApdG	1	106	214	297	<u>90</u>	188	185	103	321	326	42	43
	dApdG <sup>2</sup>	1	107	213	297	<u>90</u>	188	185	103	321	326	42	43
	dTpdC	3	106	214	297	<u>90</u>	188	185	104	321	326	42	43
	dCpdG <sup>2</sup>	4	107	213	297	<u>90</u>	188	185	103	321	326	42	43
OL15	dApdG <sup>2</sup>	1	116	215	297	<u>89</u>	190	187	110	308	316	39	40
	dCpdG <sup>2</sup>	4	116	215	297	<u>89</u>	190	187	110	307	316	39	40
ff99	dApdG <sup>2</sup>	1	119	204	303	<u>94</u>	185	194	<u>117</u>	306	308	38	41
	dCpdG <sup>2</sup>	4	119	204	303	<u>94</u>	185	194	<u>117</u>	303	308	38	41

Ángulos en grados ( $^{\circ}$ ). <sup>1</sup>Va a mínimo para la clase conformacional AA05. <sup>2</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el funcional PBEPBE. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Para algunos cálculos realizados con M05-2X y MP2 a los SPBs-AA01, se tiene una desviación en el ángulo  $\epsilon$  y  $\beta$ , sólo un caso no tiene desviación en esta segunda torsión, teniéndose un mínimo de energía correspondiente a la clase conformacional AA05. Esto nos da pie a creer que hay una pequeña barrera entre las NtCs AA01 y AA05, permitiendo el paso de una a otra dependiendo de las condiciones. Nótese que ambas clases tienen torsiones muy cercanas y sólo difieren entre sí en más de  $30^{\circ}$  en el ángulo  $\beta$  ( $33^{\circ}$ ), en  $\epsilon$  sólo varían en  $17^{\circ}$ , para más detalles de las regiones promedio de ambas clases ver Tablas 3.1 y 3.2.

Es importante mencionar que los tres campos de fuerzas AMBER no reproducen las características conformacionales que MC sí hace, pues se tiene una desviación en el ángulo  $\alpha$  de  $\approx 60^{\circ}$ .

La conformación que ha tomado nuestra especial atención es BB07 pues se han obtenido resultados muy distintos a las conclusiones que se tenían anteriormente. Se ha hecho un estudio de variados SPBs de dDMPs experimentales en esta conformación, sin embargo, después de las optimizaciones realizadas mediante las diferentes metodologías de MC (PBE, M05-2X, MP2 e incluso PW91) no se han obtenido mínimos de energía correspondientes a esta NtC, a excepción de una única estructura obtenida con M05-2X, véase Tabla 3.7.

La mayoría de resultados obtenidos con MC presentan una desviación en el ángulo  $\epsilon$  con un valor de  $\approx 280^\circ$ , lo cual representa una desviación de más de  $30^\circ$  de los valores promedio para BB07. Es importante mencionar que esta desviación se tiene también en las optimizaciones realizadas a aquellos dúplex considerados en este estudio que presentan una de sus cadenas en conformación de esta clase. Pero esto se discutirá más adelante.

Tabla 3.7: *Ángulos promedio de torsión del esqueleto azúcar-fosfato de estructuras experimentales para la conformación BII (BB07, [6]) y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados por varios métodos.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
<b>BB07</b>			<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>			
<b>NDB</b>	dApdA - PD0192	1	151	224	189	303	155	47	149	164	176	41 38
	dGpdG - PD1271	2	135	244	185	297	155	36	139	133	168	43 35
	dGpdA - BD0037	3	137	224	179	298	147	52	144	143	175	46 35
	dGpdT - BD0080	4	146	254	157	303	130	47	126	153	142	44 32
	dGpdC - 5ET9	5	141	266	163	308	143	15	144	146	159	48 41
	dGpdC - BDL084	6	143	260	146	287	144	51	144	146	164	44 37
	dGpdC - 5EZF	7	141	255	155	299	152	36	145	141	171	47 36
	dGpdC - BD0014	8	146	230	195	291	160	45	143	164	166	50 41
	dGpdC - DD0076	9	139	223	186	306	147	37	114	145	104	47 18
	dCpdG - 5EZF	10	145	239	175	306	138	43	126	148	133	48 32
	dCpdG - BD0090	11	147	241	174	302	138	45	135	139	146	54 41
	dCpdA - BD0105	12	143	247	161	303	140	41	141	148	167	44 33
<b>PBE</b>	dApdA	1	136	<b>198</b>	169	291	<b>186</b>	48	137	144	148	39 40
	dGpdG*	2	129	<b>278</b>	157	292	126	43	138	129	151	43 39
	dGpdA	3	136	<b>198</b>	169	291	<b>186</b>	48	137	144	147	39 40
	dGpdT	4	<b>109</b>	253	157	277	116	42	136	108	148	43 39
	dGpdC*	5	129	<b>278</b>	157	292	125	43	138	129	152	43 39
	dGpdC	6	<b>113</b>	<b>196</b>	165	292	<b>179</b>	46	154	115	234	43 41
	dGpdC	7	<b>109</b>	<b>252</b>	149	283	<b>119</b>	42	138	108	151	43 39
	dGpdC	7	<b>101</b>	242	156	294	<b>180</b>	48	136	100	147	43 40
	dGpdC	8	136	<b>198</b>	169	291	<b>185</b>	48	137	144	148	39 40
	dGpdC	9	136	<b>199</b>	169	290	<b>186</b>	48	137	144	148	39 40
	dCpdG	10	<b>109</b>	253	156	277	116	42	136	108	148	43 39
	dCpdG	11	<b>109</b>	253	157	277	115	42	136	108	148	43 39
dCpdA	12	<b>110</b>	251	149	283	119	42	138	109	151	43 39	
<b>M05 - 2X</b>	dApdA	1	141	<b>195</b>	166	295	<b>188</b>	48	142	149	152	39 40
	dGpdG*	2	127	<b>278</b>	150	291	117	43	144	126	159	44 37
	dGpdA	3	141	<b>196</b>	167	294	<b>189</b>	48	142	148	152	39 40
	dGpdT*	4	127	<b>278</b>	150	291	116	43	144	126	159	44 37
	dGpdC*	5	128	<b>278</b>	150	291	116	43	144	126	160	44 37
	dGpdC	6	<b>108</b>	263	<b>123</b>	289	127	51	156	107	221	45 38

Continuación de Tabla 3.7.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
	<b>BB07</b>		<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>			
<b>M05 - 2X</b>	dGpdC <sup>1</sup>	7	134	274	147	296	<u>183</u>	48	142	136	152	42 40
	dGpdC*	7	127	<b>278</b>	150	291	<i>116</i>	43	144	126	159	44 37
	dGpdC	8	141	<b>195</b>	166	295	<b>189</b>	48	142	149	152	39 40
	dGpdC	9	141	<b>195</b>	166	295	<b>189</b>	48	142	149	152	39 40
	dCpdG**	10	123	<i>274</i>	146	289	116	45	144	122	159	44 37
	dCpdG <sup>2*</sup>	10	127	<b>278</b>	150	291	116	43	144	125	159	44 37
	dCpdG*	11	127	<b>277</b>	150	291	116	44	144	126	160	44 37
	dCpdA*	12	127	<b>278</b>	150	291	116	43	144	125	159	44 37
<b>MP2</b>	dGpdG*	2	130	<b>280</b>	<i>155</i>	292	119	40	144	129	157	46 39
	dGpdA	3	143	<i>269</i>	152	<b>254</b>	<b>107</b>	45	135	150	142	39 43
	dGpdT*	4	130	<b>280</b>	155	292	119	40	144	129	157	46 39
	dGpdC*	7	130	<b>280</b>	155	292	<i>119</i>	40	144	129	157	46 39
	dGpdC	8	139	<b>195</b>	166	294	<b>181</b>	47	141	145	150	41 41
	dGpdC	9	139	<b>195</b>	166	295	<b>181</b>	47	141	145	150	41 41
	dCpdG <sup>2*</sup>	10	130	<b>280</b>	156	292	119	40	144	129	157	46 39
	dCpdG*	11	130	<b>280</b>	156	292	119	40	144	129	157	46 39
dCpdA*	12	130	<b>280</b>	155	292	119	40	144	129	157	46 39	
<b>PW91-ulg</b>	dCpdG**	7	136	242	178	301	137	48	128	140	137	41 40
<b>PW91</b>	dCpdG <sup>2*</sup>	7	129	<b>278</b>	157	292	126	43	138	129	151	43 39

Ángulos en grados ( $^{\circ}$ ). <sup>1</sup>Va a mínimo para la clase conformacional IC05. <sup>2</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el funcional PW91-ulg. \*Mínimo con mismo cambio que presentan cdDMPs y dDMPs optimizados. \*\*Mínimo que no presenta cambios en conformación BB07. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Finalmente, de algunas optimizaciones con PBE se tiene cambio en la torsión  $\delta_1$ , mientras que con M05-2X se ha obtenido un mínimo correspondiente a la NtC IC05, cuya diferencia con BB07 es en la torsión  $\beta$  ( $\approx 190^{\circ}$  en IC05). Además, se tiene otros mínimos con este mismo cambio más uno extra en el ángulo  $\epsilon$  ( $\approx 200^{\circ}$ ).

Este resultado resulta ser muy interesante, pues de pruebas realizadas con cálculos de PBEP-BE a SPBs-BB07, empleando agua como solvente en la metodología de PCM, se han obtenido sólo mínimos de energía para SPB separado correspondientes a esta clase IC05. Por ello, son necesarios más estudios a este tipo de conformaciones de la NtC BB07, ya que estos resultados sugieren que dependen mucho de las condiciones e interacciones con su entorno, más de lo que se había considerado anteriormente.

En cuanto a los campos de fuerzas AMBER, no fue posible reproducir estructuras viables con ninguno de ellos, pues en todos los casos se tuvo una interacción artificial entre el ión de sodio (Na<sup>+</sup>) -empleado para neutralizar el grupo fosfato durante los cálculos de optimización- y el oxígeno O5'.

### 3.1.2. Clases conformacionales con esqueletos azúcar-fosfato correspondientes a mínimos de energía para SPBs separados

Dada la importancia de conocer la dependencia en las características intrínsecas a la formación de la doble hélice de ADN, elucidar cuáles NtCs tienen esqueletos azúcar-fosfato que correspondan a mínimos de energía para SPBs separados es uno de los grandes objetivos de este trabajo de investigación. Esto nos permitirá entender y poder extender nuestros estudios a sistemas más grandes como lo son los desoxidinucléosidos monofosfatos complementarios (cdDMPs), y con ello descifrar las regularidades dependientes en estas clases conformacionales y en el *emparejamiento* entre ellas, como cuando se tienen dúplex de cadenas con distinta NtC.

Entre el conjunto seleccionado de NtCs para estudiar en este trabajo, existen varias clases conformacionales que tienen mínimos de energía para SPBs separados. Una de ellas es la clase BB01, la cual tiene características conformacionales muy cercanas a las de BB00. La mayor diferencia entre ambas clases es en el ángulo  $\delta_2$ , siendo más pequeño en BB01. Además, esta NtC es aún más probable de encontrarse en cuádruplex o en cruces de uniones de Holliday, que BB00.

Los resultados obtenidos de las optimizaciones realizadas a SPBs de dDMPs en esta conformación se encuentran en la Tabla 3.8. Como se puede observar, con todas las metodologías empleadas se han obtenido mínimos de energía correspondientes a la clase BB00 (los mismos mostrados en la sección anterior). Lo cual es coherente dadas las mínimas diferencias entre ambas clases.

Tabla 3.8: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB01, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
<b>BB01<sup>1</sup></b>			<b>131</b>	<b>181</b>	<b>266</b>	<b>301</b>	<b>176</b>	<b>49</b>	<b>120</b>			
<b>NDB</b>	dGpdA - PD0736	1	139	181	260	308	165	53	111	148	114	36 36
	dApdT - NA2554	2	142	185	261	304	172	49	120	165	124	35 40
	dTpdT - BDJ031	3	116	192	253	320	172	41	116	124	116	40 41
<b>PBE</b>	dGpdA	1	137	207	283	291	172	49	136	147	154	38 38
	dApdT	2	137	207	283	291	172	49	136	147	154	38 38
	dTpdT	3	137	207	283	291	172	49	136	147	154	38 38
	dTpdT <sup>2</sup>	3	137	208	283	291	171	48	137	147	147	38 40
<b>M05 - 2X</b>	dGpdA	1	140	190	276	293	164	48	139	150	156	39 38
	dApdT	2	140	190	276	293	164	48	139	150	156	38 38
	dTpdT	3	140	190	276	293	164	48	139	150	156	39 38
	dTpdT <sup>2</sup>	3	140	191	276	293	163	48	140	150	150	39 40
<b>MP2</b>	dGpdA	1	140	205	285	289	171	47	140	147	157	40 38
	dApdT	2	140	205	285	289	171	47	140	147	157	40 38
	dTpdT <sup>2</sup>	3	139	194	278	293	165	47	140	147	149	40 41
<b>BSC1</b>	dApdT	2	134	192	283	290	169	47	138			
<b>OL15</b>	dApdT	2	116	181	276	291	156	49	127			
<b>ff99</b>	dApdT	2	120	189	282	291	168	44	129			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Resultado obtenido de SPB tomado de cadena única previamente optimizada con el campo de fuerzas OL15. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Otras dos NtCs estudiadas, BA01 y BA05, corresponden a dDMPs del tipo B-A; es decir, con el azúcar en la posición 5'-fin con un empaquetamiento tipo-B, mientras que en 3'-fin se tiene al azúcar como tipo-A. Ambas clases difieren de BB00 sólo en el ángulo  $\delta_2$ . Las regiones de las torsiones de BA01 y BA05 son muy cercanas, la diferencia notoria es en  $\delta_2$ , siendo más pequeño su valor en la primera. Se podría decir que BA05 es un intermedio entre BB00 y BA01, y BB01 intermedio entre BB00 y BA05. Además, BA05 puede encontrarse en estructuras presentes en cruces de uniones de Holliday (igual que BB01), mientras que BA01 no.

Ambas NtCs tienen las torsiones de sus SPBs cercanas a mínimos de energía correspondientes a SPBs separados, ver Tablas 3.9 y 3.10. Sin embargo, es interesante que se ha obtenido para algunas estructuras optimizadas de estas clases una correspondencia a mínimos para BB00. Esto nos comprueba la conclusión de la sección anterior, en la que se menciona la existencia de una pequeña barrera energética entre las conformaciones BA05 y BB00, incluyendo ahora a BA01, y permitiendo el paso entre una y otra dependiendo de las condiciones existentes.

Es importante mencionar que los mínimos correspondientes a las clases BA01 y BA05 obtenidos con las distintas metodologías son muy cercanos entre sí, con una diferencia mínima en las torsiones y en las energías de los mismos, con lo que se puede decir que tenemos los mismos mínimos de energía para ambas clases; particularmente, se tienen resultados semejantes en las pruebas realizadas empleando la metodología de PCM con agua como solvente. Esto se puede observar mejor en la Figura 3.4, en donde se muestran esqueletos optimizados con PBE para cada clase conformacional, ubicando los enlaces glucosídicos en una misma posición mutua.

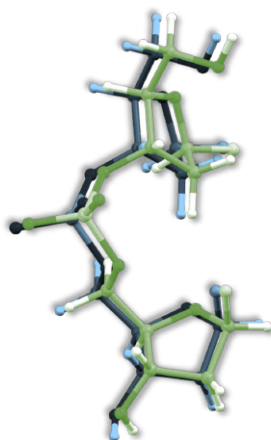


Figura 3.4: *Mínimos obtenidos para SPBs optimizados de dDMPs de las clases conformacionales BA01 y BA05. Se muestra una misma posición mutua de los enlaces glucosídicos. En verde: mínimo obtenido con PBEPBE para SPB-BA05. En azul: mínimo obtenido con PBEPBE para SPB-BA01.*

Tabla 3.9: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA01, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\mathbf{P}_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BA01<sup>1</sup></b>			<b>136</b>	<b>189</b>	<b>255</b>	<b>300</b>	<b>161</b>	<b>53</b>	<b>88</b>				
<b>NDB</b>	dGpdC - 5EZF	1	123	176	259	311	156	53	87	133	61	31	40
	dGpdC - 5ET9	2	121	185	261	305	162	50	92	125	76	38	41
	dCpdG - 5EZF	3	141	200	241	288	156	53	90	153	40	38	35
<b>PBE</b>	dGpdC	1	137	<i>208</i>	282	292	171	56	97	146	330	38	38
	dGpdC <sup>2</sup>	2	137	208	283	291	171	48	<b><u>136</u></b>	147	147	38	40
	dCpdG	3	137	208	<i>283</i>	292	171	56	97	147	331	38	38
<b>M05 - 2X</b>	dGpdC	1	140	189	275	295	166	58	98	151	331	38	39
	dGpdC	2	140	189	275	294	165	57	94	151	337	38	39
	dCpdG	3	140	189	<i>274</i>	296	166	58	98	151	331	38	39
<b>MP2</b>	dGpdC	1	140	209	<b><u>286</u></b>	289	172	56	104	147	320	41	41
	dGpdC	2	139	208	<b><u>286</u></b>	289	172	56	104	146	320	41	41
	dCpdG	3	140	209	<b><u>286</u></b>	289	172	56	104	147	319	41	41
<b>PW91-<i>ulg</i></b>	dCpdG	3	123	186	265	283	170	50	83	132	359	39	37
<b>BSC1</b>	dGpdC	1	134	198	<b><u>286</u></b>	289	174	52	112	145	313	43	43

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BB00. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Tabla 3.10: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA05, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\mathbf{P}_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BA05<sup>1</sup></b>			<b>131</b>	<b>184</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>169</b>	<b>52</b>	<b>104</b>				
<b>NDB</b>	dGpdC - BDL084	1	115	178	266	303	160	57	82	130	42	33	38
	dGpdC - BDL078	2	108	191	276	317	151	49	88	64	48	13	31
	dTpdT - NA2122	3	119	192	274	295	169	54	102	124	98	40	38
	dTpdC - BDJ025	4	110	185	256	305	170	55	106	117	108	37	35
	dCpdG - 5ET9	5	154	188	265	294	167	59	121	188	125	36	38
<b>PBE</b>	dGpdC	1	137	<i>208</i>	283	291	172	56	93	147	329	38	38
	dGpdC	2	137	208	283	291	173	56	93	147	329	38	38
	dTpdT <sup>2</sup>	3	136	208	283	291	171	48	<b><u>137</u></b>	147	147	38	40
	dTpdC <sup>2</sup>	4	137	207	283	291	171	48	<b><u>137</u></b>	147	147	38	40
	dCpdG <sup>2</sup>	5	137	208	276	295	168	49	<b><u>136</u></b>	143	147	39	40
<b>M05 - 2X</b>	dGpdC	1	141	189	274	295	167	59	95	151	330	38	39
	dGpdC	2	<i>140</i>	189	274	295	167	58	95	151	330	38	39
	dTpdT <sup>2</sup>	3	140	191	276	293	163	48	<b><u>140</u></b>	150	150	39	40
	dTpdC <sup>2</sup>	4	<i>140</i>	191	276	293	163	48	<b><u>140</u></b>	150	150	39	40
	dCpdG <sup>2</sup>	5	145	193	274	295	163	49	<b><u>140</u></b>	157	149	38	40
<b>MP2</b>	dGpdC	1	140	<i>208</i>	286	288	173	56	100	147	319	40	41
	dGpdC	2	<i>140</i>	208	286	<i>288</i>	173	56	100	147	320	40	41
	dTpdT <sup>2</sup>	3	140	204	284	289	170	47	<b><u>141</u></b>	147	150	40	41
	dTpdC <sup>2</sup>	4	139	194	278	293	165	48	<b><u>140</u></b>	147	149	40	41
	dCpdG <sup>2</sup>	5	143	197	276	294	164	48	<b><u>140</u></b>	149	148	40	41
<b>BSC1</b>	dGpdC	1	134	198	286	289	174	52	112	145	313	43	43

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BB00. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

En la lista de NtCs elegidas para este estudio existen dos de ellas que presentan cambios respecto a la clase BB00 en los ángulos de torsión  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , éstas son BB12 y BA09. En adición, BA09 difiere también en el ángulo  $\delta_2$ , pues es del tipo B-A. Como nota importante, se tiene que la NtC BB12 puede presentarse en regiones en donde se necesite acomodar las deformaciones de la doble hélice que han sido inducidas por interacciones del ADN con una proteína.

De las optimizaciones realizadas a los SPBs de estas conformaciones podemos decir que en ambos casos se tiene que corresponden a mínimos de energía para SPBs separados, lo cual se ha corroborado con cálculos realizados incluyendo la metodología PCM considerando agua como solvente. Pero es necesario mencionar que se han obtenido dos resultados, uno con PBE y uno con MP2, para SPBs de la clase BB12 que corresponden a mínimos de energía para la NtC BA09, como se puede ver en la Tabla 3.11. Además, varias optimizaciones realizadas a SPBs-BA09 con las tres metodologías de MC corresponden a estructuras BB12 de energía minimizada, véase Tabla 3.12.

Estos resultados nos muestran la posibilidad de cambiar de una conformación BB12 a una conformación de la clase BA09, y viceversa, dependiendo de las condiciones en las que se encuentren las estructuras.

Los campos de fuerza empleados reprodujeron bien las características conformacionales para los esqueletos de dichas clases; sin embargo, es importante notar que para BA09 los campos OL15 y ff99 dieron una desviación de poco más de  $30^\circ$  para el ángulo  $\alpha$ , la cual no es reproducida por MC.

Tabla 3.11: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB12, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$	$\nu_{mar1,2}$		
<b>BB12<sup>1</sup></b>			<b>140</b>	<b>196</b>	<b>280</b>	<b>257</b>	<b>76</b>	<b>171</b>	<b>140</b>				
<b>NDB</b>	dApdG - 3AFA	1	150	185	312	<b>226</b>	66	177	151	179	181	35	35
	dGpdA - NA0318	2	149	185	272	264	75	179	142	164	175	42	34
	dApdT - 4Z5D	3	133	202	279	258	76	175	144	140	160	41	39
	dApdT - 4EFJ	4	152	185	286	228	94	157	155	193	168	37	42
	dApdC - 5GUN	5	131	196	276	259	84	163	144	143	162	37	38
	dApdC - 4UNB	6	150	204	274	266	79	170	141	171	152	42	43
	dApdC - PD0514	7	141	199	306	233	70	173	139	165	161	33	34
	dGpdT - UDJ060	8	158	217	251	247	72	164	148	170	177	49	38
	dGpdT - 3MXB	9	123	187	271	266	71	172	155	125	186	39	38
	dGpdC - 3AZH	10	156	179	284	238	86	163	154	189	188	34	35
	dGpdC - PD0170	11	147	196	308	240	69	175	142	162	175	40	34
	dTpdC - NA0318	12	119	192	267	272	72	165	151	126	170	41	39
<b>PBE</b>	dApdG	1	137	<b>275</b>	298	281	78	174	130	144	135	39	42
	dGpdA	2	134	200	276	275	83	179	127	145	132	38	42
	dApdT	3	134	201	276	275	83	179	127	145	132	38	42
	dApdT	4	134	201	276	275	83	179	127	145	132	38	42
	dApdC <sup>2</sup>	5	138	207	285	269	73	189	<b>73</b>	149	47	37	40
	dApdC	6	134	200	276	275	83	179	127	144	132	38	42
	dApdC <sup>3</sup>	7	134	201	276	275	83	179	127	145	132	38	42

Continuación de Tabla 3.11.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB12<sup>1</sup></b>			<b>140</b>	<b>196</b>	<b>280</b>	<b>257</b>	<b>76</b>	<b>171</b>	<b>140</b>				
<b>PBE</b>	dGpdT	8	115	199	276	276	83	175	162	119	231	41	45
	dGpdT	9	134	201	276	275	83	179	126	145	131	38	42
	dGpdC*	10	138	205	274	276	83	177	132	145	138	38	41
	dGpdC <sup>3*</sup>	11	138	204	274	276	83	177	131	145	137	38	41
	dTpdC	12	135	201	276	275	83	179	126	145	131	38	42
<b>M05 - 2X</b>	dApdG	1	139	199	277	276	84	178	138	148	143	39	42
	dGpdA	2	139	199	276	276	84	177	139	148	145	39	42
	dApdT	3	140	199	276	276	84	177	138	148	143	38	42
	dApdT	4	139	199	276	276	84	178	137	148	142	39	42
	dApdC*	5	141	203	279	271	79	178	165	150	229	38	44
	dApdC	6	139	199	276	276	84	178	138	148	143	38	42
	dApdC <sup>3</sup>	7	140	199	276	276	84	178	137	149	143	38	42
	dGpdT	8	133	201	278	273	79	177	165	138	228	41	44
	dGpdT	9	139	199	276	276	84	178	138	152	143	43	42
	dGpdC	10	143	201	274	276	81	177	137	150	142	39	42
	dGpdC <sup>3</sup>	11	145	201	276	274	81	177	137	152	142	39	42
	dTpdC	12	139	199	276	276	84	178	137	148	143	38	42
<b>MP2</b>	dApdG	1	138	199	277	276	82	179	131	145	135	40	44
	dGpdA	2	138	198	278	276	82	179	131	145	135	40	44
	dApdT	3	138	199	278	276	82	179	131	145	134	40	44
	dApdT	4	138	199	277	276	82	179	131	145	134	40	44
	dApdC <sup>2</sup>	5	140	201	281	272	77	183	<b>107</b>	147	113	40	45
	dApdC	6	138	199	278	276	82	179	131	145	134	40	44
	dApdC <sup>3</sup>	7	138	199	277	276	82	179	131	145	134	40	44
	dGpdT	9	138	199	277	276	82	179	131	145	134	40	44
	dGpdC*	10	141	201	275	277	81	178	133	145	137	41	44
	dGpdC <sup>3*</sup>	11	141	201	275	277	81	178	133	145	137	41	44
	<b>PW91-<i>ulg</i></b>	dApdC	5	131	200	278	267	79	173	129	142	140	37
<b>BSC1</b>	dApdT	3	140	198	276	281	73	186	138				
	dApdC	7	131	194	276	282	74	186	137				
<b>OL15</b>	dGpdC	11	140	197	276	281	73	185	138				
	dApdT	3	127	184	269	281	80	182	134				
<b>ff99</b>	dApdT	3	128	195	277	282	72	191	111				

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BA09. <sup>3</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el campo de fuerzas BSC1. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Tabla 3.12: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA09, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
<b>BA09<sup>1</sup></b>			<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>			
<b>NDB</b>	dApdG - 1I1P	1	133	206	282	269	65	188	94	134	79	45 38
	dGpdG - 1IGN	2	137	190	281	251	89	168	83	133	27	54 48
	dApdC - 1MOW	3	132	192	293	246	66	168	105	143	52	39 17
	dTpdC - 3MXB	4	129	195	284	253	78	157	78	139	20	41 39
	dCpdC - PD1271	5	134	195	296	233	88	158	100	149	38	42 21
	dTpdA - NA0646	6	123	208	282	253	76	173	106	130	103	47 36
	dTpdG - 1P51	7	131	201	316	230	88	169	94	144	89	38 42
<b>PBE</b>	dApdG <sup>2</sup>	1	134	201	276	275	83	179	<u>127</u>	144	132	38 42
	dGpdG*	2	138	206	285	269	73	189	73	150	40	37 39
	dGpdG <sup>2</sup>	2	134	200	276	275	83	179	<u>127</u>	144	132	38 42
	dApdC*	3	137	207	284	269	73	188	73	148	51	37 41
	dApdC <sup>2</sup>	3	134	201	276	275	83	179	<b>126</b>	145	131	38 42
	dTpdC <sup>2</sup>	4	135	202	276	275	84	179	<u>126</u>	146	131	38 42
	dCpdC*	5	137	207	285	<i>269</i>	73	<i>189</i>	73	149	48	37 40
	dCpdC <sup>2</sup>	5	135	201	276	<i>275</i>	83	179	<b>126</b>	145	131	38 42
	dTpdA <sup>2</sup>	6	134	200	276	275	83	179	<b>126</b>	144	132	38 42
	dTpdG	7	138	207	286	<i>268</i>	71	190	73	149	50	37 41
dTpdG <sup>2</sup>	7	134	201	276	<i>275</i>	83	179	<u>127</u>	145	132	38 42	
<b>M05 - 2X</b>	dApdG*	1	140	199	279	274	81	180	79	150	25	38 39
	dGpdG*	2	140	199	278	275	81	180	79	149	26	38 40
	dApdC*	3	140	199	279	274	81	180	79	150	25	38 40
	dTpdC*	4	140	199	279	274	81	180	79	150	25	38 40
	dCpdC*	5	140	199	279	<i>274</i>	81	180	79	150	25	38 40
	dTpdA <sup>2</sup>	6	139	199	276	276	84	178	<u>137</u>	148	143	39 42
	dTpdG <sup>2</sup>	7	140	199	277	<i>275</i>	84	178	<u>138</u>	149	143	38 42
<b>MP2</b>	dApdG*	1	139	199	280	275	79	181	78	146	30	40 42
	dGpdG*	2	139	199	280	275	80	181	78	146	32	40 41
	dApdC*	3	139	199	280	275	79	181	78	146	31	40 41
	dTpdC*	4	139	199	280	275	80	181	78	146	32	40 41
	dCpdC*	5	139	199	280	<i>275</i>	80	181	78	146	31	40 41
	dTpdA <sup>2</sup>	6	138	199	278	276	82	179	<u>131</u>	145	135	40 44
	dTpdG <sup>2</sup>	7	138	199	278	<i>276</i>	82	179	<u>131</u>	145	134	40 44
<b>BSC1</b>	dTpdA	6	132	196	277	282	74	183	78			
<b>OL15</b>	dTpdA	6	105	179	270	<u>292</u>	90	182	109			
<b>ff99</b>	dTpdA	6	112	188	275	<u>287</u>	75	191	111			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BB12. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Para una representación visual sobre las clases que tienen esqueletos azúcar-fosfato con correspondencia a mínimos de energía para SPBs separados, en la Figura 3.6 se muestran los mínimos cambios que existen en la conformación de los SPBs debida a la optimización realizada con PBE a estructuras de las clases BB00 y BB12.

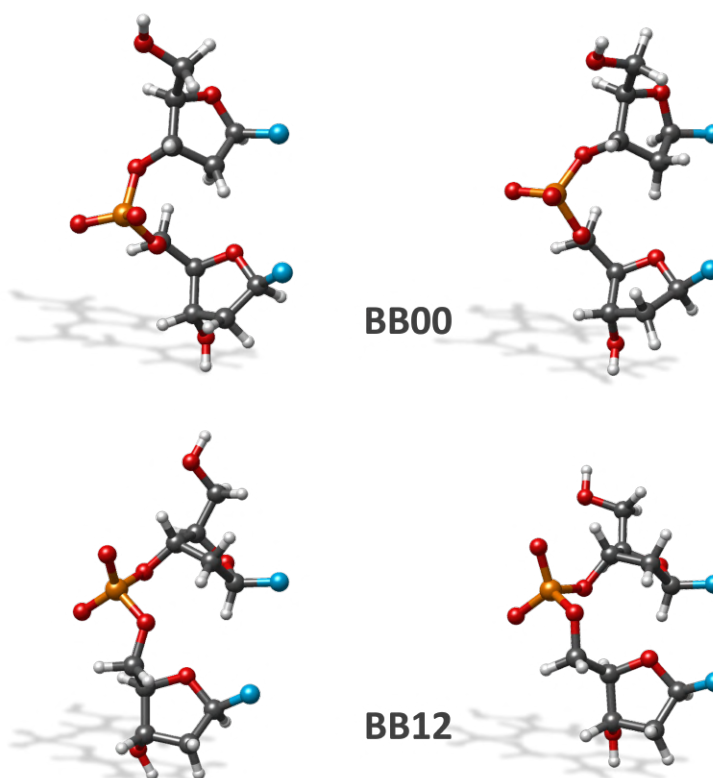


Figura 3.5: Conformaciones de SPB experimental (izquierda) y optimizado con PBE/PBE (derecha) de las clases NtCs BB00 y BB12, las cuales tienen ángulos de torsión correspondientes a mínimos de energía para SPBs separados. La optimización de las respectivas geometrías produce un cambio mínimo en la posición mutua de los enlaces glucosídicos entre estructuras optimizadas y experimentales. Los nitrógenos de las bases han sido sustituidos por hidrógenos en los cálculos de optimización. Figura publicada en [1].

Del estudio realizado a estructuras en conformación de la clase AB02, la cual es un híbrido entre ADN-A y ADN-B, podemos decir que esta presenta una correspondencia a mínimos de energía para dichos fragmentos de SPBs separados, pues se han reproducido estos con la metodología empleada de MC. Sin embargo, es indispensable extender estos estudios en un futuro, pues el tamaño de la muestra es muy pequeño y en los resultados obtenidos se tiene que una estructura experimental va a otra conformación después de las optimizaciones realizadas a su geometría, como se puede ver en la Tabla 3.13.

Tabla 3.13: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional AB02, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
<b>AB02<sup>1</sup></b>			<b>94</b>	<b>59</b>	<b>56</b>	<b>208</b>	<b>188</b>	<b>66</b>	<b>131</b>			
<b>NDB</b>	dGpdA - NA0318	1	86	60	82	199	172	56	144	53	154	42 46
	dTpdG - PD1117	2	103	59	58	227	189	47	140	71	158	20 36
	dCpdA - PD0956	3	70	65	60	223	174	64	104	45	104	47 23
<b>PBE</b>	dGpdA	1	87	74	<b>90</b>	205	161	51	136	94	146	43 40
	dTpdG*	2	89	34	53	200	193	52	130	92	139	44 41
	dCpdA	3	88	<i>34</i>	53	205	195	53	131	91	147	44 39
<b>M05 - 2X</b>	dGpdA	1	87	78	<b>90</b>	203	<b>154</b>	48	141	91	149	44 40
	dTpdG*	2	88	36	47	204	205	52	139	89	147	45 39
	dCpdA	3	87	36	48	207	203	53	<i>140</i>	88	160	45 35
<b>MP2</b>	dGpdA	1	87	77	<b>89</b>	204	<b>155</b>	48	140	94	147	45 41
	dTpdG*	2	88	34	48	202	199	51	136	90	143	46 42
	dCpdA	3	74	38	56	222	180	53	<i>136</i>	64	150	45 39
<b>BSC1</b>	dTpdG	2	80	45	53	<u>253</u>	176	48	137	77	147	41 42
	dCpdA	3	101	44	49	<u>263</u>	177	48	137	317	147	40 42

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Tal como ha sucedido en otros casos, para esta NtC AB02 el campo de fuerzas BSC1 no reproduce los mínimos de MC. Los resultados obtenidos con este campo de fuerzas presentan una desviación de más de 40° con respecto al valor promedio para el ángulo  $\alpha$  de dicha clase conformacional. En todas las optimizaciones realizadas con las distintas metodologías empleadas el empaquetamiento de ambos azúcares permanece en las regiones para ADN-A y ADN-B, respectivamente.

### 3.1.3. NtC BB10 y Subclase X

Otra de las clases conformacionales estudiadas es BB10; sin embargo, hemos encontrado y agregado una *subclase X* a las estructuras “cercanamente correspondientes” a BB10, las cuales difieren de esta última en el ángulo  $\gamma$ , siendo en la *subclase X* su valor más cercano al que se tiene para la NtC BB00, véase Tabla 3.14. Las estructuras BB10 presentan ángulos  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  diferentes de los que tienen las conformaciones de la familia BI, y pueden encontrarse en regiones cercanas a las interacciones del ADN con proteínas.

Antes de continuar con los resultados obtenidos para las estructuras correspondientes a esta clase y subclase es importante brindar información sobre el origen de la *subclase X* y sus estudios.

El estudio a las estructuras correspondientes a esta subclase comenzó antes de la publicación realizada por Schneider et al. (2018) [41]. Cuando comenzamos estos análisis no existía la versión moderna y extendida de la clasificación de NtCs que incluye a BB10.

Nuestro primer acercamiento a la *subclase X* fue con el estudio realizado al dúplex con la secuencia dTpdT:dApdA, NDB ID 5F9I, en donde la cadena dTpdT presentaba características conformacionales que no correspondieron a ninguna clase antes reportada. Posteriormente se procedió al estudio del fragmento de SPB separado extraído de dicho dDMP, dTpdT. Aunado a ello, del estudio realizado al dúplex dApdA(BB04):dTpdT(BA05), NDB ID NA2122, se obtuvieron estructuras con cambios de conformación en la cadena dApdA, correspondiendo a la subclase que habíamos encontrado. Esto nos llevó a la búsqueda de más estructuras con dicha conformación.

Después de la publicación moderna del artículo que contiene las 96 clases conformacionales de dDMPs propuestas por Černý et al. [6] se han incluido a este análisis más estructuras seleccionadas de la lista de NtCs BB10. A pesar de que la clase BB10 puede encontrarse a veces en las regiones cercanas en donde interaccionan las dobles hélices con proteínas, las estructuras experimentales que hemos elegido para nuestros estudios no se encuentran en complejos con proteínas u otras moléculas. Los valores promedio para los ángulos de torsión de la *subclase X* han sido obtenidos considerando estos dDMPs experimentales estudiados.

De las optimizaciones realizadas a las estructuras elegidas BB10, se han reproducido con las tres metodologías empleadas de MC mínimos de energía correspondientes a SPBs separados para la *subclase X*, véase Tabla 3.14. Este resultado se ha obtenido también al realizar cálculos con PBE empleando agua como solvente con el método PCM. Nótese que en los mínimos obtenidos se tienen cambios de región para el ángulo  $\gamma$ , yendo de BB10 a la *subclase X*. Los campos de fuerza AMBER no reproducen este mínimo para los fragmentos de SPB, pues presentan una diferencia de  $\approx 40^\circ$  para la torsión  $\beta$ .

Tabla 3.14: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la Subclase X, correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\mathbf{P}_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
	BB10 <sup>1</sup>		138	196	192	22	106	19	129				
	<i>Subclase X</i> <sup>2</sup>		141	192	197	30	104	55	118				
NDB	dGpdA - 5I6Q	1	163	176	170	48	79	38	112	176	118	45	42
	dGpdA - BDL032	2	139	167	187	31	103	31	136	148	151	49	44
	dGpdA - 5KEO	3	135	186	202	23	116	14	122	147	130	40	35
	dApdT - 5W6W	4	143	199	199	34	91	8	<b>93</b>	164	92	39	43
	dApdT - BD0093	5	143	195	208	11	120	16	127	157	135	41	44
	dGpdC - 5KEO	6	144	187	187	41	92	11	<b>98</b>	164	88	38	33
	dTpdT - 5F9I	7	129	194	217	28	122	352	147	138	160	43	43
	dTpdT - 5F9I	8	132	201	206	18	118	6	<b>96</b>	137	87	46	23
	dCpdG - BDL032	9	155	194	204	35	88	31	139	199	148	37	49
	dCpdG - BDL014	10	124	221	194	<b>350</b>	114	42	111	139	151	42	29
	dApdA - NA2122 <sup>3</sup>	11	136	195	199	318	143	56	144	143	164	46	36
<i>duplex-PBE</i>	11'	148	194	188	<b>25</b>	<b>94</b>	45	124	173	133	36	43	

Continuación de Tabla 3.14.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
<b>BB10<sup>1</sup></b>			<b>138</b>	<b>196</b>	<b>192</b>	<b>22</b>	<b>106</b>	<b>19</b>	<b>129</b>			
<i>Subclase X<sup>2</sup></i>			<b>141</b>	<b>192</b>	<b>197</b>	<b>30</b>	<b>104</b>	<b>55</b>	<b>118</b>			
<b>PBE</b>	dGpdA	1	138	194	187	26	90	47	134	149	155	39 37
	dGpdA	2	138	195	189	26	89	47	135	148	146	39 39
	dGpdA	3	137	194	188	26	89	<i>46</i>	133	147	144	39 39
	dApdT	4	138	194	187	26	90	<i>47</i>	<i>135</i>	149	154	39 37
	dApdT	5	136	198	198	28	89	<i>46</i>	134	146	145	39 39
	dGpdC	6	137	194	189	26	89	<i>46</i>	<i>133</i>	148	145	39 39
	dTpdT	7	138	194	187	26	<i>90</i>	<i>47</i>	134	149	154	39 37
	dTpdT	8	137	194	189	26	89	<i>46</i>	<i>133</i>	148	145	39 39
	dCpdG*	10	131	217	217	<i>31</i>	94	43	138	137	152	39 38
	dApdA <sup>4</sup>	11'	136	194	189	<i>26</i>	<i>89</i>	46	133	147	144	39 39
	<b>M05 - 2X</b>	dGpdA	1	142	200	198	23	90	<b>52</b>	141	151	160
dGpdA*		2	141	200	199	23	90	<b>51</b>	140	150	150	39 38
dGpdA*		3	141	199	199	23	90	<b>51</b>	140	150	150	39 38
dApdT		4	141	200	199	23	90	<b>52</b>	<i>140</i>	150	159	39 36
dApdT*		5	141	199	199	23	90	<b>51</b>	140	150	150	39 38
dGpdC*		6	141	199	199	23	90	<b>51</b>	<i>140</i>	150	150	39 38
dTpdT		7	141	200	200	23	<i>90</i>	<b>52</b>	140	151	159	39 36
dTpdT*		8	141	200	199	23	90	<b>51</b>	<i>140</i>	150	150	39 38
dCpdG*		9	152	200	207	23	92	<b>50</b>	141	165	152	38 38
dCpdG*		10	141	200	199	<i>23</i>	90	<b>51</b>	140	150	150	39 38
dApdA <sup>4</sup>		11'	141	200	199	<i>22</i>	<i>90</i>	<b>51</b>	140	150	151	39 38
<b>MP2</b>	dGpdA	1	139	198	200	24	90	<b>51</b>	137	147	154	40 37
	dGpdA*	2	138	197	199	23	89	<b>50</b>	138	145	147	41 40
	dGpdA*	3	139	198	200	23	89	<b>50</b>	138	146	148	41 40
	dApdT	4	139	198	200	24	90	<b>51</b>	<i>137</i>	147	157	40 42
	dApdT*	5	139	198	200	23	89	<b>50</b>	138	146	148	41 40
	dGpdC*	6	139	198	200	23	89	<b>50</b>	<i>138</i>	146	148	41 40
	dTpdT	7	139	198	200	24	<i>90</i>	<b>51</b>	137	147	154	41 37
	dTpdT*	8	139	198	200	23	89	<b>50</b>	<i>138</i>	146	148	41 40
	dCpdG	9	150	200	206	24	92	<b>49</b>	140	161	149	39 39
	dCpdG*	10	139	198	200	<i>23</i>	89	<b>50</b>	138	146	148	41 40
	dApdA <sup>4*</sup>	11'	138	197	200	<i>23</i>	<i>89</i>	50	138	146	147	41 40
<b>BSC1</b>	dGpdA	1	131	205	179	31	<b>68</b>	46	110	138	117	44 42
	dApdT	4	131	205	179	31	<b>68</b>	46	110	138	117	44 42

Ángulos en grados ( $^{\circ}$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Ángulos de torsión promedio obtenidos para estructuras correspondientes a la clase BB10, los cuales difieren de esta clasificación en el ángulo  $\gamma$ . <sup>3</sup>Cadena en conformación correspondiente a la clase BB04, después de someter a optimización su dúplex correspondiente, va a una conformación cercaca a la *Subclase X*. <sup>4</sup>Resultado obtenido de SPB cortado de dúplex con una cadena BB04, optimizado con PBE/PBE. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

### 3.1.4. Clases conformacionales con esqueletos azúcar-fosfato desviados de los mínimos de energía para SPBs separados

En esta sección se consideran NtCs del tipo BB y BA, es decir, dDMPs con ambos nucleósidos teniendo azúcares del tipo-B (*tipo BB*) y dDMPs con el primer nucleósido con azúcar tipo-B y el segundo con azúcar tipo-A (*tipo BA*). Las clases aquí presentadas difieren de las conformaciones BI en dos (BB02, BB04, BB15), tres (BA08), cuatro (BB13) o seis (BA16) torsiones.

La mayoría de mínimos de energía de SPBs separados obtenidos para las NtCs estudiadas en esta sección están caracterizados por un cambio considerable en la distancia C1'-C1' (hasta 2.5Å) y en la orientación mutual de los enlaces glucosídicos, comparados con sus valores y posiciones en las estructuras experimentales. Sin embargo, algunos mínimos de energía tienen una distancia C1'-C1' que es muy cercana al valor en las estructuras experimentales, a pesar de la gran variación ocurrida en uno o dos ángulos de torsión.

En la Figura 3.7 se muestran dos ejemplos de los cambios conformacionales ocurridos durante la optimización de SPBs separados de las clases BB04 y BB16. Se han marcado los ángulos de torsión en los que se presentan respectivamente dichos cambios.

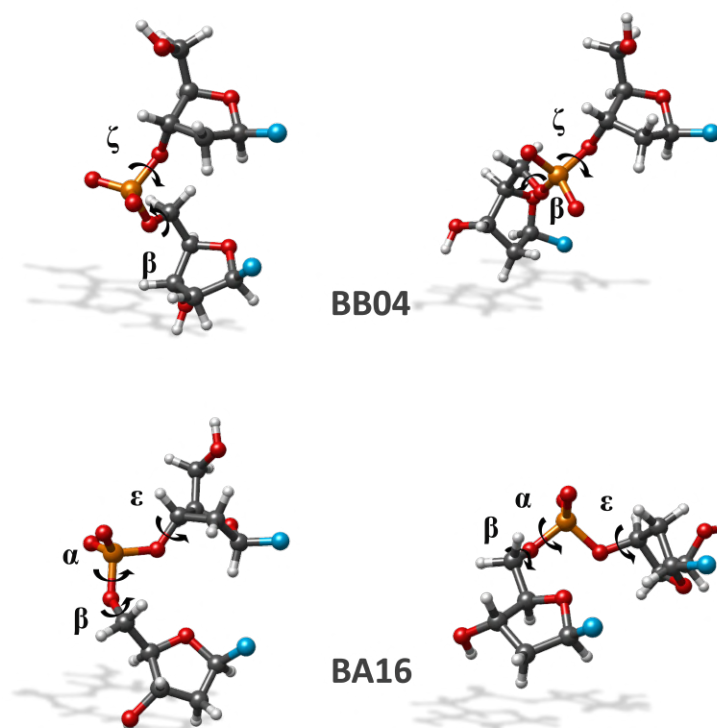


Figura 3.6: Cambios en las conformaciones de esqueletos azúcar-fosfato después de optimizaciones realizadas con PBEPBE a estructuras de NtCs que no tienen correspondencia con mínimos de energía para SPBs separados. Izquierda: SPB experimental, derecha: SPB optimizado con PBEPBE. Se muestra un cambio drástico en la posición mutual de los enlaces glucosídicos debido a las optimizaciones. Los ángulos de torsión marcados indican aquéllos en los que se han obtenido cambios de más de 30°. Figura publicada en [1].

Tres clases importantes para el estudio de interacciones entre ADN y proteínas son BB02, BB04 y BB15, pues estas NtCs suelen estar presentes para corregir deformaciones de la doble hélice, las cuales han sido inducidas por interacciones con proteínas o ligandos.

Los ángulos de torsión para los SPBs optimizados mediante las distintas metodologías computacionales, así como las estructuras experimentales empleadas en conformación de la clase BB02 se muestran en la Tabla 3.15. Todos los cálculos realizados con las tres metodologías de MC presentan cambios de región para los ángulos  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ , mientras que las optimizaciones realizadas con los tres campos de fuerzas AMBER sólo reproducen el cambio en el ángulo  $\alpha$ . Es interesante la alteración obtenida en esta torsión  $\alpha$ , pues se obtuvo también en cálculos realizados a fragmentos mínimos de dúplex, cdDMPs, lo cual se discutirá en secciones más adelante. De igual manera, esta desviación en dicha torsión ha sido reproducida en cálculos realizados con DFT empleando la metodología de PCM con agua como solvente.

Tabla 3.15: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB02, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB02<sup>1</sup></b>			<b>141</b>	<b>194</b>	<b>246</b>	<b>31</b>	<b>195</b>	<b>297</b>	<b>150</b>				
<b>NDB</b>	dApdA - PD0311	1	134	193	241	31	179	304	155	159	182	33	31
	dApdA - PD0190	2	149	193	256	31	211	287	138	174	171	36	28
	dGpdG - PDT058	3	139	192	236	36	176	302	153	159	189	36	32
	dGpdA - PD0292	4	142	189	238	44	172	302	149	160	189	35	29
	dApdT - 5W6W	5	<b>171</b>	184	<b>206</b>	23	<b>158</b>	<b>344</b>	146	185	177	50	35
	dGpdT - 5GUN	6	152	194	232	39	168	307	159	177	196	38	38
	dTpdT - PD0190	7	136	201	248	25	216	293	153	151	188	38	34
	dTpdT - PD0329	8	142	193	251	34	204	293	146	161	191	37	28
	dCpdC - PD0230	9	142	200	247	32	177	304	155	167	184	32	34
	dCpdC - PDT058	10	142	203	265	18	211	293	146	161	179	36	28
<b>PBE</b>	dApdA	1	134	197	<b>169</b>	<b>74</b>	<b>117</b>	288	161	143	227	39	42
	dGpdG	3	136	196	<b>168</b>	<b>66</b>	<b>117</b>	281	142	145	149	39	40
	dGpdA	4	136	196	<b>168</b>	<b>66</b>	<b>116</b>	281	141	145	149	39	40
	dApdT	5	145	196	<b>180</b>	<b>69</b>	<b>116</b>	<i>287</i>	161	155	226	38	42
	dGpdT	6	<b>110</b>	196	<b>167</b>	<b>76</b>	<b>116</b>	288	161	112	226	43	42
	dTpdT	7	134	198	<b>169</b>	<b>73</b>	<b>117</b>	288	161	143	227	39	42
	dTpdT	8	136	196	<b>168</b>	<b>67</b>	<b>116</b>	281	142	145	149	39	40
	dCpdC	9	136	198	<b>171</b>	<b>73</b>	<b>117</b>	288	161	145	227	39	42
	dCpdC <sup>2</sup>	9	<b>109</b>	194	<b>163</b>	<b>68</b>	<b>118</b>	282	140	112	148	43	40
<b>M05 - 2X</b>	dApdA	1	140	198	<b>174</b>	<b>68</b>	<b>119</b>	293	165	148	224	39	42
	dApdA	2	121	194	<b>164</b>	<b>61</b>	<b>125</b>	286	147	123	155	43	40
	dGpdG	3	140	200	<b>176</b>	<b>62</b>	<b>125</b>	287	148	147	156	39	40
	dGpdA	4	141	199	<b>174</b>	<b>62</b>	<b>125</b>	287	148	149	156	39	40
	dApdT	5	151	205	<b>204</b>	<b>64</b>	<b>118</b>	<i>293</i>	165	160	224	39	42
	dGpdT	6	<i>119</i>	194	<b>163</b>	61	<b>128</b>	286	147	120	155	43	40
	dTpdT	7	140	198	<b>174</b>	<b>67</b>	<b>119</b>	293	165	148	225	39	42
	dTpdT	8	140	197	<b>169</b>	61	<b>125</b>	287	148	148	156	39	40
	dCpdC	9	140	198	<b>174</b>	<b>68</b>	<b>119</b>	293	165	148	225	39	42
	dCpdC <sup>2</sup>	9	140	200	<b>176</b>	<b>62</b>	<b>125</b>	287	148	147	156	39	40
dCpdC	10	120	194	<b>163</b>	<b>60</b>	<b>125</b>	286	147	122	155	43	40	

Continuación de Tabla 3.15.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB02<sup>1</sup></b>			<b>141</b>	<b>194</b>	<b>246</b>	<b>31</b>	<b>195</b>	<b>297</b>	<b>150</b>				
<b>MP2</b>	dApdA	1	139	200	<u>180</u>	<u>68</u>	<u>118</u>	292	164	145	228	41	44
	dCpdC	9	138	200	<u>179</u>	<u>69</u>	<u>128</u>	290	142	145	145	41	41
	dCpdC <sup>2</sup>	9	139	200	<u>178</u>	<u>62</u>	<u>123</u>	286	145	145	152	41	41
<b>PW91-ulg</b>	dGpdT <sup>3</sup>	6	<u>105</u>	198	<u>171</u>	<u>72</u>	<u>119</u>	286	158	109	225	43	39
<b>BSC1</b>	dApdA	1	131	189	239	<u>62</u>	179	301	147				
	dGpdC	3	131	189	239	<u>62</u>	179	301	147				
	dTpdT	7	131	194	236	<u>62</u>	178	303	145				
	dCpdC	9	129	198	233	<u>63</u>	178	304	144				
<b>OL15</b>	dTpdT	7	115	205	<u>177</u>	<u>65</u>	188	304	133				
<b>ff99</b>	dTpdT	7	<u>98</u>	200	224	<u>65</u>	179	307	134				

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el campo de fuerzas BSC1. <sup>3</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el funcional PBEPBE. Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.

Para la optimización de la geometría de SPBs tomados de dDMPs de la NtC BB04 hemos obtenido tres tipos de mínimos diferentes con MC, ninguno de los cuales corresponde a un mínimo de energía para SPB separado de esta clase. Por el contrario, se tiene que un mínimo coincide con resultados obtenidos para BB00, otro coincide con resultados de BB07 y el tercero no se parece a ninguna clase NtC reportada, ver Tabla 3.16. Los mínimos parecidos a resultados de BB00 y BB07 pueden tener su explicación en que esta conformación BB04 es un híbrido entre BI y BII. Es interesante e importante que al emplear cálculos de optimización con PCM con agua como solvente se ha tenido el cambio de conformación de BB04 a BB00.

Tabla 3.16: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB04, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB04<sup>1</sup></b>			<b>140</b>	<b>201</b>	<b>214</b>	<b>315</b>	<b>153</b>	<b>46</b>	<b>140</b>				
<b>NDB</b>	dApdA - PD0329	1	143	191	214	325	156	38	143	159	160	39	35
	dApdA - NA2122	2	136	195	199	318	143	56	144	143	164	46	36
	dApdT - PDT043	3	145	201	235	317	151	43	127	167	138	37	43
	dTpdT - PD0638	4	128	210	200	323	136	48	133	138	147	41	38
	dCpdG - 5ET9	5	144	192	213	335	169	27	156	159	191	41	38
	dCpdG - BDJ036	6	138	217	223	316	156	38	138	167	169	33	35
<b>PBE</b>	dApdA <sup>2</sup>	1	136	208	<u>283</u>	291	171	48	136	146	147	38	40
	dApdA	2	142	<u>267</u>	<u>150</u>	<u>258</u>	<u>108</u>	43	132	154	142	37	40
	dApdT <sup>2</sup>	3	137	208	<u>283</u>	291	171	48	137	147	147	38	40
	dTpdT	4	136	198	<u>168</u>	291	<u>185</u>	48	137	144	148	39	40
	dCpdG	5	136	198	<u>169</u>	291	<u>186</u>	48	137	144	148	39	40
	dCpdG <sup>2</sup>	6	136	208	<u>283</u>	290	171	48	137	147	147	38	40

Continuación de Tabla 3.16.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB04<sup>1</sup></b>			<b>140</b>	<b>201</b>	<b>214</b>	<b>315</b>	<b>153</b>	<b>46</b>	<b>140</b>				
<b>M05 - 2X</b>	dApdA <sup>2</sup>	1	140	191	<u>276</u>	293	163	48	140	150	150	39	40
	dApdA	2	143	<u>268</u>	<u>156</u>	<u>254</u>	<u>104</u>	47	134	153	141	37	41
	dApdT <sup>2</sup>	3	140	191	<u>276</u>	293	164	48	140	151	150	38	40
	dTpdT	4	141	199	199	<u>23</u>	<u>90</u>	51	140	150	150	39	38
	dCpdG	5	141	196	<u>166</u>	295	<b>189</b>	48	142	149	152	39	40
	dCpdG <sup>2</sup>	6	140	191	<u>276</u>	293	163	48	140	150	150	39	40
<b>MP2</b>	dApdA <sup>2</sup>	1	139	194	<u>278</u>	293	165	48	140	147	149	40	41
	dApdA	2	143	<u>269</u>	<u>152</u>	<u>254</u>	<u>107</u>	44	135	151	142	39	43
	dApdT <sup>2</sup>	3	139	194	<u>278</u>	293	165	47	140	148	149	40	41
	dTpdT	4	139	198	200	<u>23</u>	<u>89</u>	50	138	146	148	41	40
	dCpdG	5	139	195	<u>166</u>	294	180	47	141	145	150	41	41
	dCpdG <sup>2</sup>	6	139	194	<u>278</u>	293	165	47	140	147	148	40	41
<b>BSC1</b>	dApdA	2	132	202	<u>164</u>	288	175	47	137	140	148	43	42
	dCpdG	5	134	191	<u>282</u>	290	169	47	138	145	148	43	42

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BB00. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Del estudio realizado a conformaciones de la clase BB15 se tiene que esta no corresponde a mínimos de energía para SPBs separados. En la Tabla 3.17 se observan tres mínimos de energía diferentes con todas las metodologías de MC empleadas, de los cuales uno es igual a los mínimos obtenidos para BB00, otro corresponde con las optimizaciones realizadas a SPBs-BB02 (en este caso cambiaron de región cuatro torsiones para ir a dicha posición) y el tercero no corresponde a ninguna NtC. En cuanto a cálculos empleando agua como solvente, con PCM, se obtuvo una transición hacia la clase BB00.

Tabla 3.17: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB15, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BB15<sup>1</sup></b>			<b>144</b>	<b>189</b>	<b>257</b>	<b>345</b>	<b>189</b>	<b>350</b>	<b>148</b>				
<b>NDB</b>	dApdA - BDLB56	1	149	180	257	346	187	356	152	182	188	42	40
	dGpdG - BD0017	2	151	191	238	11	162	336	161	182	178	37	37
	dApdC - UDJ060	3	132	195	254	344	166	3	148	156	167	36	44
	dTpdC - BDJ036	4	139	181	267	329	201	4	150	162	197	35	36
	dTpdA - PD0645	5	134	186	244	343	193	2	148	143	196	40	29
	dCpdA - PD1235	6	141	200	<u>226</u>	343	<b>155</b>	14	163	159	168	38	50
<b>PBE</b>	dApdA <sup>2</sup>	1	137	208	283	<u>291</u>	171	<u>48</u>	137	147	147	38	40
	dGpdG <sup>3</sup>	2	136	196	<u>168</u>	<u>66</u>	<u>116</u>	<u>281</u>	141	145	149	39	40
	dApdC <sup>2</sup>	3	137	207	283	<u>291</u>	172	<u>49</u>	136	147	154	38	38
	dTpdC	4	138	195	278	<u>293</u>	<u>231</u>	<u>53</u>	137	149	147	39	40
	dTpdA <sup>2</sup>	5	137	208	283	<u>291</u>	171	<u>48</u>	137	147	147	38	40
	dCpdA <sup>2</sup>	6	136	208	283	<u>291</u>	171	<u>48</u>	137	147	147	38	40

Continuación de Tabla 3.17.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$	$\nu_{max1,2}$		
BB15 <sup>1</sup>			144	189	257	345	189	350	148				
M05 - 2X	dApdA <sup>2</sup>	1	140	191	276	<u>293</u>	163	<u>48</u>	140	150	150	39	40
	dGpdG <sup>3</sup>	2	140	200	<u>176</u>	<u>62</u>	<u>124</u>	<u>287</u>	148	147	156	39	40
	dApdC <sup>2</sup>	3	141	205	<u>284</u>	<u>289</u>	172	<u>47</u>	142	150	162	39	37
	dTpdC <sup>2</sup>	4	140	191	276	<u>293</u>	163	<u>48</u>	140	150	150	39	40
	dTpdA	5	141	193	<u>277</u>	<u>298</u>	<u>231</u>	<u>53</u>	141	150	150	39	39
	dCpdA <sup>2</sup>	6	140	191	276	<u>293</u>	163	<u>48</u>	140	150	150	39	40
MP2	dApdA <sup>2</sup>	1	139	194	278	<u>293</u>	165	<u>48</u>	140	147	148	40	41
	dGpdG <sup>3</sup>	2	138	200	<u>179</u>	<u>62</u>	<u>123</u>	<u>286</u>	145	145	152	41	41
	dApdC <sup>2</sup>	3	140	207	<u>287</u>	<u>288</u>	171	<u>46</u>	140	148	157	40	38
	dTpdC <sup>2</sup>	4	139	194	278	<u>293</u>	165	<u>48</u>	140	147	149	40	41
	dTpdA <sup>2</sup>	5	139	204	<u>284</u>	<u>289</u>	170	<u>47</u>	141	147	150	40	41
	dCpdA <sup>2</sup>	6	139	194	278	<u>293</u>	165	<u>47</u>	140	147	149	40	41
BSC1	dApdC	3	134	191	282	<u>290</u>	169	<u>47</u>	138	145	148	43	42

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BB00. <sup>3</sup>Estructura parecida a todas las obtenidas en las optimizaciones realizadas a SPBs en conformación de la clase BB02. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada.*

La clase BB13, la cual difiere de BB00 en más de 30° en los ángulos  $\zeta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , sólo presenta una diferencia grande con las torsiones promedio para la NtC BB12 en  $\alpha$  (diferencia de 38°). Esta está presente en fragmentos cercanos a terminaciones de la doble hélice de ADN.

En todos los cálculos realizados con MC a las distintas estructuras experimentales de esqueletos de la NtC BB13 se ha obtenido un cambio de región en el ángulo de torsión  $\alpha$ , teniendo así mínimos de energía que se han obtenido previamente para la clase BB12, lo cual se puede observar en la Figura 3.7. Dicho cambio de conformación de BB13 a BB12 se ha observado también en los cálculos realizados incluyendo agua como solvente empleando la metodología de PCM. Sólo existe un caso único para una optimización realizada con MP2 que es diferente de estos mínimos, tal como se puede ver en la Tabla 3.18.

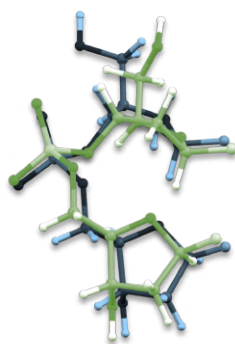


Figura 3.7: *Mínimos obtenidos para SPBs optimizados con PBE/PBE de dDMPs de las clases conformacionales BB13 y BB12. Se muestra una misma posición mutua de los enlaces glucosídicos. En verde: mínimo obtenido para SPB-BB12. En azul: mínimo obtenido para SPB-BB13.*

Con los tres campos de fuerzas AMBER se tiene este mismo cambio en la torsión  $\alpha$ , en adición, con OL15 y ff99 también cambiaron los ángulos  $\delta_{1,2}$ , por lo que sólo BSC1 reproduce los mismos mínimos que MC, los cuales no cambiaron el empaquetamiento de los azúcares de región.

Tabla 3.18: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BB13, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
	<b>BB13<sup>1</sup></b>		<b>143</b>	<b>187</b>	<b>293</b>	<b>219</b>	<b>98</b>	<b>161</b>	<b>146</b>				
<b>NDB</b>	dGpdG - BDJB49	1	155	193	272	243	119	132	156	173	174	43	49
	dGpdA - PD0428	2	140	181	289	217	113	166	146	154	165	38	36
	dApdC - PDE0142	3	135	190	287	224	109	149	117	147	118	38	30
	dTpdA - PD0092	4	150	176	299	202	110	163	147	189	189	32	31
	dTpdA - NA0246	5	141	190	298	210	94	169	142	158	159	36	37
	dTpdG - NA1140	6	154	200	284	232	83	154	153	182	183	35	35
<b>PBE</b>	dGpdG <sup>2</sup>	1	134	200	276	<u>275</u>	83	179	127	145	131	38	42
	dGpdA <sup>2</sup>	2	134	200	274	<u>274</u>	82	178	129	144	134	38	42
	dApdC <sup>2</sup>	3	134	200	276	<u>275</u>	83	179	127	145	132	38	42
	dTpdA <sup>2</sup>	4	134	200	276	<u>275</u>	83	179	127	144	132	38	42
	dTpdA <sup>2</sup>	5	134	201	276	<u>275</u>	83	179	136	145	131	38	42
	dTpdG <sup>2</sup>	6	138	205	274	<u>276</u>	83	177	131	145	137	38	41
<b>M05 - 2X</b>	dGpdG <sup>2</sup>	1	139	199	276	<u>276</u>	84	178	137	148	143	39	42
	dGpdA <sup>2</sup>	2	140	199	277	<u>275</u>	83	178	138	149	143	39	42
	dApdC <sup>2</sup>	3	139	199	276	<u>276</u>	84	178	137	148	143	38	42
	dTpdA <sup>2</sup>	4	139	199	276	<u>276</u>	84	178	137	148	142	39	42
	dTpdA <sup>2</sup>	5	139	199	276	<u>276</u>	84	178	138	148	143	39	42
	dTpdG <sup>2</sup>	6	144	201	275	<u>275</u>	81	177	137	150	142	39	42
<b>MP2</b>	dGpdA <sup>2</sup>	2	137	198	276	<u>278</u>	83	178	136	144	140	40	43
	dApdC <sup>2</sup>	3	138	199	277	<u>276</u>	82	179	131	145	135	40	44
	dTpdA	4	139	<u>273</u>	297	<u>284</u>	74	171	134	143	138	41	44
	dTpdA <sup>2</sup>	5	138	199	277	<u>276</u>	82	179	131	145	134	40	44
	dTpdA <sup>2</sup>	5	138	199	277	<u>276</u>	82	179	131	145	134	40	44
	dTpdG <sup>2</sup>	6	141	201	275	<u>277</u>	81	178	133	145	137	41	44
<b>BSC1</b>	dTpdA	4	140	198	276	<u>281</u>	73	186	138				
<b>OL15</b>	dTpdA	4	<u>105</u>	179	270	<u>292</u>	90	182	<u>109</u>				
<b>ff99</b>	dTpdA	4	<u>112</u>	188	275	<u>287</u>	75	191	<u>111</u>				

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BB12. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Por otro lado, los resultados de las optimizaciones realizadas a SPBs de dDMPs de la clase conformacional BA08 con los tres métodos de MC coinciden con los mínimos de energía obtenidos para BB00 y BA05, además de un mínimo de energía extra que corresponde a la NtC OP10. Es necesario mencionar que se han reproducido estos tres mínimos en cálculos en los que se ha considerado agua como solvente empleando la metodología PCM. En cuanto al campo de fuerzas BSC1, este reprodujo también mínimos de energía para BB00 y BA05, ver Tabla 3.19.

Tabla 3.19: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA08, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BA08<sup>1</sup></b>			<b>139</b>	<b>208</b>	<b>213</b>	<b>301</b>	<b>141</b>	<b>49</b>	<b>89</b>				
<b>NDB</b>	dGpdC - 1NJW	1	143	214	221	288	147	46	81	158	34	37	37
	dTpdC - 3F27	2	141	205	219	291	153	62	108	149	102	45	36
	dTpdG - 2AC0	3	134	201	198	296	147	49	98	132	14	51	31
	dTpdG - 6MHT	4	134	213	219	286	157	47	97	135	55	51	37
<b>PBE</b>	dGpdC <sup>2</sup>	1	137	208	<u>283</u>	291	<u>173</u>	56	94	147	329	38	38
	dTpdC <sup>3</sup>	2	137	208	<u>283</u>	291	<u>172</u>	49	<u>136</u>	147	154	38	38
	dTpdG <sup>4</sup>	3	136	197	<u>168</u>	287	<u>189</u>	53	102	144	316	39	39
	dTpdG <sup>2</sup>	4	136	207	<u>283</u>	290	<u>173</u>	56	93	146	331	39	38
<b>M05 - 2X</b>	dGpdC <sup>2</sup>	1	140	189	<u>274</u>	295	167	59	95	151	330	38	39
	dTpdC <sup>3</sup>	2	140	190	<u>276</u>	293	164	48	<u>139</u>	150	156	39	38
	dTpdG <sup>4</sup>	3	141	194	<u>166</u>	288	<u>184</u>	55	103	149	318	39	40
	dTpdG <sup>2</sup>	4	140	189	<u>274</u>	295	167	59	95	151	330	38	39
<b>MP2</b>	dGpdC <sup>2</sup>	1	140	208	<u>286</u>	289	<u>173</u>	56	100	147	320	40	41
	dTpdC <sup>3</sup>	2	139	194	<u>278</u>	293	166	48	<u>138</u>	148	153	40	39
	dTpdG	3	139	195	<u>166</u>	293	<u>185</u>	55	<u>130</u>	145	317	41	40
	dTpdG <sup>2</sup>	4	140	208	<u>286</u>	288	<u>173</u>	56	100	147	320	40	41
<b>BSC1</b>	dGpdC	1	134	198	<u>285</u>	289	<u>174</u>	52	112	145	313	43	43
	dTpdC	2	134	191	<u>282</u>	290	169	47	<u>138</u>	145	148	43	42

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Va a mínimo para la conformación BA05. <sup>3</sup>Va a mínimo para la conformación BB00. <sup>4</sup>Va a mínimo para la conformación OP10. Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.

Es importante mencionar que para algunos SPBs-BA16, NtC del tipo BII con variaciones en 4 torsiones, se tuvieron problemas al realizar cálculos de optimización con las tres metodologías de MC ya que se presentaba una interacción artificial entre el ion de sodio (Na<sup>+</sup>) -empleado para neutralizar la molécula durante las optimizaciones- y el átomo O5' del nucleósido en 5'-fin. Esta interacción se obtuvo a pesar de las rotaciones realizadas alrededor del enlace C4'-C5', por ello, se procedió a eliminar el grupo -O5'-H y colocar un hidrógeno en su posición. Como se puede notar en la Tabla 3.20, se tienen diferentes mínimos de energía, ninguno correspondiente a la clase BA16 o alguna NtC reportada, con todas las metodologías y rutas de optimización empleadas.

Tabla 3.20: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional BA16, la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>BA16<sup>1</sup></b>			<b>146</b>	<b>246</b>	<b>190</b>	<b>61</b>	<b>229</b>	<b>199</b>	<b>85</b>				
<b>NDB</b>	dApdA - BDJ031	1	143	240	196	73	233	196	90	161	19	43	29
	dApdG - PD0368	2	139	238	207	61	223	206	87	143	40	48	37
	dApdT - 2MAV	3	143	279	180	66	234	192	104	148	102	43	38
	dGpdC - PDT039	4	135	236	189	73	235	195	83	139	20	45	37
	dTpdC - PD0576	5	151	244	209	70	217	196	96	163	40	44	34

Continuación de Tabla 3.20.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
<b>BA16<sup>1</sup></b>			<b>146</b>	<b>246</b>	<b>190</b>	<b>61</b>	<b>229</b>	<b>199</b>	<b>85</b>			
<b>NDB</b>	dApdA - BDJ031	1	143	240	196	73	233	196	90	161	19	43 29
	dApdG - PD0368	2	139	238	207	61	223	206	87	143	40	48 37
	dApdT - 2MAV	3	143	279	180	66	234	192	104	148	102	43 38
	dGpdC - PDT039	4	135	236	189	73	235	195	83	139	20	45 37
	dTpdC - PD0576	5	151	244	209	70	217	196	96	163	40	44 34
<b>PBE</b>	dApdA <sup>2</sup>	1	136	<u>198</u>	180	<b>95</b>	<u>264</u>	199	83	144	349	40 37
	dApdA <sup>3</sup>	1	139	<u>196</u>	175	<b>94</b>	<u>261</u>	201	74	148	57	40 41
	dApdT <sup>4</sup>	3	134	<u>280</u>	<u>244</u>	88	<u>260</u>	198	75	136	19	41 37
<b>M05 - 2X</b>	dApdA	1	138	<u>205</u>	189	87	<u>279</u>	202	80	145	358	40 39
	dApdG	2	127	271	169	72	<u>179</u>	191	81	124	1	43 37
	dApdT <sup>4</sup>	3	137	<u>284</u>	<u>240</u>	81	<u>265</u>	199	74	138	32	41 39
	dTpdC	5	143	235	<u>221</u>	70	239	193	78	149	55	40 42
<b>MP2</b>	dApdA	1	146	<u>184</u>	169	75	<u>286</u>	214	70	162	58	39 46
	dApdG	2	138	<u>289</u>	<b>98</b>	59	224	185	75	141	57	42 43
	dGpdC	4	136	<u>204</u>	188	86	<u>282</u>	205	79	142	357	41 39
<b>BSC1</b>	dApdA	1	132	<u>206</u>	173	75	<u>294</u>	200	77	140	42	43 45

Ángulos en grados ( $^{\circ}$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el funcional M05-2X. <sup>3</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con MP2. <sup>4</sup>Resultado obtenido de SPB sin el grupo OH ubicado inicialmente en 5'-fin, para evitar su interacción con el ión de sodio (Na<sup>+</sup>). Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.

### 3.1.5. Clases conformacionales estudiadas de ADN-Z

Dada la importancia del estudio y entendimiento de los mecanismos de formación del ADN-Z, para elucidar su rol en procesos celulares como la cancerogénesis o en diversas enfermedades, se ha realizado un análisis a distintas clases conformacionales correspondientes a esta familia. Anteriormente se estudiaron fragmentos de cdDMPs y dDMPs [3, 7], como una continuación y extensión de esto, se analizaron en esta ocasión fragmentos mínimos del esqueleto azúcar-fosfato de dichas conformaciones para ver si hay o no correspondencia con mínimos de energía para SPBs separados de cada NtC considerada.

El ADN-Z de dobles hélices levóginas se forma sólo con la alternación de secuencias purinas y pirimidinas, Pur-Pyr-Pur-Pyr..., en donde los nucleósidos de pirimidinas se encuentran en conformación *anti* (como en los WCDs), mientras que los de purinas presentan una conformación *syn*. Pese a los dos tipos de conformación de los nucleósidos, estos forman pares de bases nitrogenadas de Watson-Crick.

Este estudio incluye las clases ZZ1S, ZZS1 y ZZS2, de las cuales existen 139, 100 y 22 dDMPs de ADN clasificados de las estructuras del Nucleic Data Bank (NDB), respectivamente. La primera, ZZ1S, corresponde a dDMPs cuya secuencia de nucleósidos es Pyr(*anti*)-Pur(*syn*);

este tipo de estructuras ocurren en una forma específica de GNRA/UNCG tetraloop (principalmente dCpdG en UNCG tetraloops: OP09-OP20-ZZ1S). Por otro lado, las clases ZZS1 y ZZS2 pertenecen a dDMPs de secuencia Pur(*syn*)-Pyr(*anti*), estas dos NtCs difieren entre sí en las torsiones  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ .

La Figura 3.8 presenta fragmentos de SPBs de estas clases conformacionales para su comparación. Aunque visualmente parece ser que hay una mayor distancia C1'-C1' en ZZS2 que la que hay en ZZS1, la diferencia entre ambas clases es de sólo 0.1Å.

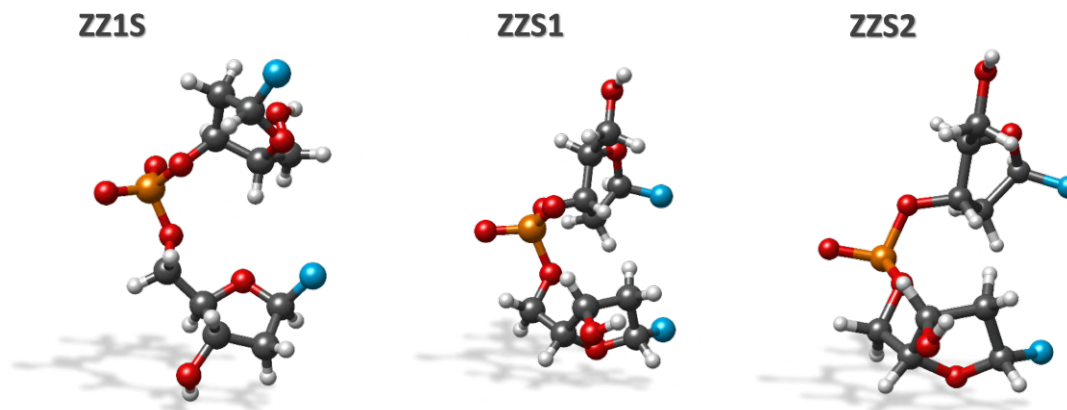


Figura 3.8: Esqueletos azúcar-fosfato de dDMPs de diferentes clases conformacionales de ADN-Z. ZZ1S: NtC de dDMPs con la secuencia Pyr(*anti*)-Pur(*syn*). ZZS1 y ZZS2: NtCs de dDMPs de secuencia Pur(*syn*)-Pyr(*anti*). ZZ1S NDB ID 6A1Q, ZZS1 NDB ID NA0804, ZZS2 NDB ID NA0804.

Del estudio realizado a SPBs de dDMPs en conformación ZZ1S se han obtenido mediante las tres metodología de MC correspondencia con mínimos de energía para SPBs separados de esta clase. Sólo se ha tenido un resultado para cada método que tiene desviación en 1-2 torsiones, como se puede ver en la Tabla 3.21. Pero esto podría ser un caso aislado, dado que la mayoría de resultados son buenos. Nótese además que para la primer estructura experimental (NA1493), a pesar de tener los ángulos de torsión  $\alpha$  y  $\gamma$  fuera de región, se obtuvieron mínimos con todas sus torsiones en regiones para esta clase ZZ1S.

Tabla 3.21: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional ZZ1S, Pyr(*anti*)-Pur(*syn*), correspondiente a mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$
	<b>ZZ1S<sup>1</sup></b>		<b>147</b>	<b>263</b>	<b>76</b>	<b>66</b>	<b>186</b>	<b>178</b>	<b>96</b>			
	dTpdG - NA1493	1	147	287	54	<b>157</b>	187	<b>123</b>	77	152	48	54 48
	dTpdG - 6A1Q	2	142	254	95	76	200	156	85	151	40	38 33
NDB	dCpdA - 6A1Q	3	145	245	93	63	198	174	91	163	39	48 31
	dCpdG - NA0804	4	147	268	74	65	181	180	98	163	35	18 25
	dCpdG - NA0804	5	148	262	72	69	190	181	92	159	39	27 28

Continuación de Tabla 3.21.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\mathbf{P}_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>ZZS1<sup>1</sup></b>			<b>147</b>	<b>263</b>	<b>76</b>	<b>66</b>	<b>186</b>	<b>178</b>	<b>96</b>				
<b>PBE</b>	dTpdG*	1	134	256	72	74	191	184	119	140	129	40	41
	dTpdG	2	135	259	72	74	190	189	85	141	347	39	37
	dCpdA	3	<u>110</u>	273	76	75	188	189	88	111	340	43	38
	dCpdG	4	135	259	72	74	190	189	85	141	347	39	37
	dCpdG	5	135	259	72	74	190	189	85	141	347	39	37
<b>M05 - 2X</b>	dTpdG	1	137	263	67	75	189	184	103	142	317	40	40
	dTpdG	2	137	263	68	75	189	184	103	142	317	40	40
	dCpdA	3	146	<u>202</u>	68	68	<u>228</u>	187	103	155	318	39	41
	dCpdG*	4	155	281	81	56	188	181	108	176	312	36	41
	dCpdG	5	137	263	67	75	188	184	103	141	317	40	40
<b>MP2</b>	dTpdG*	1	138	260	67	76	189	186	98	142	322	41	41
	dTpdG*	2	139	260	67	76	189	186	98	143	322	41	41
	dCpdA	3	150	<u>209</u>	71	62	<u>222</u>	185	77	159	60	40	42
	dCpdG*	4	138	260	67	76	189	186	98	143	322	41	41
	dCpdG*	5	138	260	67	76	189	186	98	142	321	41	41

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Por otro lado, para la NtC ZZS1 se han obtenido resultados variados, PBE y M05-2X reproducen mínimos de energía para SPBs separados en esta conformación, sin embargo, en todos los resultados obtenidos con MP2 se tienen desviaciones, véase Tabla 3.22. Dado que no tenemos una reproducción con los tres métodos, no podemos asegurar que esta familia corresponde a un mínimo de energía, pero tampoco podemos decir que no lo hace. Aunado a ello, hubo estructuras que después de las optimizaciones realizadas con un método, o más, presentaron interacción entre el átomo O5' del nucleósido en 5'-fin y el ión Na<sup>+</sup>, esto no ha sido incluido en la tabla.

Tales resultados nos dan pauta para creer que la clase ZZS1 puede tener o no mínimos de energía para SPBs separados dependiendo de las condiciones que se tengan, como las condiciones geométricas iniciales de las conformaciones, el entorno, y, si las interacciones de dispersión juegan un papel crucial de estabilidad, o por el contrario, afectan esta si no hay otras interacciones que las estabilicen. Es necesario extender este estudio con más estructuras experimentales.

Tabla 3.22: Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para estructuras experimentales de la clase conformacional ZZS1, de dDMPs de secuencia Pur(syn)-Pyr(anti), y estructuras teóricas de fragmentos separados de SPB optimizados.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\mathbf{P}_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>ZZS1<sup>1</sup></b>			<b>97</b>	<b>243</b>	<b>293</b>	<b>210</b>	<b>231</b>	<b>56</b>	<b>144</b>				
<b>NDB</b>	dApdC - 6A1Q	1	91	235	<u>324</u>	208	207	54	137	48	31	148	37
	dGpdC - NA0804	2	98	243	291	211	237	55	141	18	25	155	35
	dGpdC - NA0804	3	91	240	291	212	239	55	148	31	31	159	39
	dGpdC - NA0804	4	93	249	283	217	228	56	147	34	30	162	35
<b>PBE</b>	dGpdC	2	95	244	291	205	243	49	130	339	137	37	41
	dGpdC*	4	91	<u>215</u>	289	203	244	48	127	83	134	42	42

Continuación de Tabla 3.22.

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>ZZS1<sup>1</sup></b>			<b>97</b>	<b>243</b>	<b>293</b>	<b>210</b>	<b>231</b>	<b>56</b>	<b>144</b>				
<b>M05 - 2X</b>	dGpdC*	2	84	214	304	192	237	53	136	70	143	43	40
	dGpdC	3	80	211	305	191	236	54	136	48	142	40	40
	dGpdC*	4	84	<i>214</i>	304	192	237	53	136	69	143	42	40
<b>MP2</b>	dApdC	1	<u>128</u>	212	295	184	234	53	135	130	141	44	42
	dGpdC	2	78	<u>209</u>	308	<u>167</u>	239	61	115	47	119	42	44
	dGpdC	3	78	<u>209</u>	308	<u>168</u>	239	61	116	45	119	42	44

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. \*Mínimo más favorable obtenido con dicho método. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

Finalmente, en la Tabla 3.23 se presentan los parámetros conformacionales obtenidos para los SPBs-ZZS2 optimizados. Ninguno de los tres métodos de MC empleados pudo reproducir estructuras sin desviación en ninguna torsión. Con esto podemos concluir que para la NtC ZZS2 no hay correspondencia con mínimos de energía para SPBs separados. Aunque son pocas las estructuras experimentales estudiadas podemos asegurar esto dada la experiencia adquirida en los estudios realizados a SPBs de otras NtCs, pues al obtener en esos estudios resultados como estos, con las tres metodologías de MC, nos permitió ser más certeros y al aumentar las muestras se tuvieron resultados semejantes, sin obtener mínimos que si correspondiesen.

Tabla 3.23: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para la clase conformacional ZZS2, Pur(syn)-Pyr(anti), la cual se desvía del mínimo de energía de fragmentos de SPB separados.*

Método	dDMP	No.	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$P_{1,2}$		$\nu_{max1,2}$	
<b>ZZS2<sup>1</sup></b>			<b>95</b>	<b>187</b>	<b>64</b>	<b>169</b>	<b>162</b>	<b>44</b>	<b>143</b>				
<b>NDB</b>	dGpdT - NA1493	1	90	212	<b>13</b>	164	174	66	147	66	37	152	48
	dGpdC - NA0804	2	92	182	66	168	167	44	143	27	28	157	33
<b>PBE</b>	dGpdT	1	117	193	<i>57</i>	<u>235</u>	155	51	134	120	143	42	40
	dGpdC	2	78	194	60	<u>228</u>	150	51	131	40	140	41	40
<b>M05 - 2X</b>	dGpdT	1	74	185	<i>47</i>	<u>237</u>	<i>144</i>	50	137	32	146	42	39
	dGpdC	2	76	188	50	<u>235</u>	143	50	137	51	146	43	39
<b>MP2</b>	dGpdT	1	73	190	<i>49</i>	<u>235</u>	<i>143</i>	50	138	50	147	45	40
	dGpdC	2	73	190	49	<u>235</u>	143	49	138	50	147	45	40

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. *Se ha indicado en la 3er columna el número de la estructura experimental empleada para los cálculos de optimización.*

### 3.2. Fragmentos mínimos de dúplex de ADN con cadenas de distintas clases NtCs

De acuerdo a estudios realizados anteriormente por Poltev et al. [9, 10, 11, 12, 42, 43], la direccionalidad de la cadena azúcar-fosfato y los rangos característicos para los ángulos dihedros de mínimos de energía de SPB separado, combinados con las diferencias entre bases nitrogenadas purinas (Pur) y pirimidinas (Pyr), determinan la dependencia de la estructura tridimensional de los dúplex de Watson-Crick (WCDs) en la secuencia de las bases.

Gracias a esa serie de trabajos se pudieron establecer regularidades de formación para los WCDs. Se comprobó que aquéllos dDMPs de secuencias Pur-Pur y Pur-Pyr presentan una notable superposición entre dichas bases apiladas, mientras que en los de secuencias Pyr-Pyr y Pyr-Pur el traslape entre los anillos de las bases es insignificante. A estas regularidades le llamaremos *reglas normales* de superposición de los anillos de las bases apiladas.

Para tener un panorama más completo sobre los dúplex de ADN es necesario establecer si las regularidades de formación encontradas para estructuras con ambas cadenas en conformación de una de las grandes familias (BI, AI), i.e. *reglas normales*, siguen siendo válidas para otras clases NtCs con formación de pares de nucleósidos normales de WC, y también para aquéllos casos en los que tenemos dúplex con cadenas de diferentes NtCs, por ejemplo, BB00:BB07, AA00:AA01, BB00:BA01, BB07:BA05, BB00:BB02, por nombrar algunos.

Por otro lado, la presencia de proteínas haciendo complejos con dúplex de ADN pueden afectar, y por ende cambiar, algunos de los parámetros conformacionales [5, 44]. No obstante, la existencia de variadas conformaciones en las estructuras experimentales puede deberse a fuerzas de empaquetamiento inherentes en el cristal. Así pues, es de interés en este trabajo estudiar la optimización de cdDMPs experimentales mediante distintas metodologías, ya que podrían algunas conformaciones regresar a mínimos ya estudiados, o podrían resultar en nuevos mínimos con nuevas regularidades para las distintas NtCs y el emparejamiento entre estas.

En adición, dado el análisis de los resultados obtenidos para los SPBs de las distintas clases estudiadas en la Sección 3.1, es importante ajustar las reglas de superposición, las cuales están intrínsecamente relacionadas a cuáles NtCs tienen mínimos de energía para SPBs separados.

En las siguientes secciones se muestran los resultados obtenidos del estudio de diversos dúplex experimentales con ambas cadenas en conformación de diferentes NtCs, con lo cual se muestran regularidades de formación de los mismos y las posibles causas de estas.

Para una mejor comprensión de los estudios realizados y, por ende, de las conclusiones en las regularidades de formación a la que estos conllevan, se presentan los cdDMPs estudiados agrupados en subsecciones de acuerdo a la clase NtC que presentan una o ambas cadenas del mismo, y así poder relacionar las regularidades con los resultados obtenidos previamente sobre cuáles clases conformacionales tienen mínimos de energía para SPB separado y cuáles no.

### 3.2.1. Estudio de fragmento de dúplex con cadenas complementarias en conformación AI:AI

Dada la ya mencionada importancia de estudiar estructuras con ambas cadenas en conformación de distintas clases NtCs, con objeto de comprender y tal vez ajustar las reglas de superposición, comenzamos este análisis con un dúplex de cadenas complementarias correspondientes a dos de las grandes familias de ADN: AA00 y AA01.

En la Tabla 3.24 se muestran los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, los ángulos glucosídicos y la superposición entre las bases apiladas para las cadenas del cdDMP experimental, y optimizado con distintas metodologías, de secuencia dGpdG:dCpdC, el cual ha sido tomado del dúplex experimental d(GGTATACC)<sub>2</sub>, NDB ID AD0067 [45].

En este fragmento mínimo de dúplex, de la estructura experimental se tiene a la cadena de secuencia dGpdG en conformación de la clase AA00, mejor conocida como AI. Mientras que la cadena dCpdC tiene sus torsiones en regiones casi como las de la clase AA01, AII, pero con el ángulo  $\alpha$  con una desviación de 34° y el azúcar en la posición 3'-fin en conformación del tipo-B, i.e.  $\delta_2$  con una variación de >50°. Además, ambas cadenas experimentales presentan reglas normales de superposición.

La cadena AA00 de los fragmentos de dúplex optimizado, empleando tanto el programa Gaussian como el paquete ADF, retiene los ángulos de torsión, así como el empaquetamiento del azúcar, en regiones cercanas a la estructura experimental y a dicha clase.

Por otro lado, después de las optimizaciones realizadas con las distintas metodologías, se tiene que el ángulo de torsión  $\alpha$  de la cadena dCpdC va a regiones cerca del valor promedio de este para la clase AA01. Sin embargo, se tienen cambios de región para la torsión  $\beta$  en las optimizaciones realizadas con el funcional PBEPBE, tanto en vacío como en los dos cálculos considerando agua como solvente con distintas metodologías. Nótese que este cambio de región para  $\beta$  se ha obtenido también en algunas optimizaciones realizadas con M05-2X y con MP2 a SPBs-AA01, ver Tabla 3.6, teniéndose mínimos cercanos a la clase conformacional AA05.

Es interesante cómo se tiene este cambio de conformación de AA01 a AA05, las cuales difieren en sus torsiones promedio en más de 30° sólo en el ángulo  $\beta$ , tanto en optimizaciones realizadas a SPBs como a cdDMP, ver Tabla 3.24. Esto nos indica que este cambio de una clase a otra es posible tanto en dúplex como en fragmentos más pequeños, aún teniendo presentes más interacciones estabilizadoras en los cdDMPs.

A pesar de no existir reportada alguna clase conformacional que presente las torsiones de la cadena experimental dCpdC, con el azúcar en 3'-fin en conformación tipo-B, después de las optimizaciones realizadas con las distintas metodologías se mantiene una conformación C2'-endo para el azúcar de 3'-fin. Lo cual nos muestra la viabilidad de esta combinación de torsiones con un empaquetamiento del tipo-B.

Tabla 3.24: *Ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\mathbf{A}^2)$ , para las cadenas de la estructura experimental y las optimizaciones del dúplex dGpdG:dCpdC con la cadena dGpdG en conformación AA00 y la cadena dCpdC cercana a AA01.*

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\mathbf{A}^2)$	
<b>AA00<sup>1</sup></b>		<b>82</b>	<b>206</b>	<b>288</b>	<b>293</b>	<b>173</b>	<b>55</b>	<b>82</b>	<b>199</b>	<b>200</b>		
<b>INI (experimental)<sup>2</sup></b>		<b>86</b>	<b>212</b>	<b>297</b>	<b>291</b>	<b>179</b>	<b>54</b>	<b>81</b>	<b>183</b>	<b>196</b>	<b>1.51</b>	
dGpdG	PBE	cdDMP	85	209	290	294	180	57	81	195	210	2.04
AA00		cdDMP <sup>3*</sup>	84	211	289	292	181	56	83	198	211	1.95
AD0067	PW91(ADF)	cdDMP <sup>4*</sup>	85	207	290	294	178	57	81	196	209	2.28
	PBE-D	cdDMP <sup>5*</sup>	83	208	289	296	178	61	81	192	203	2.18
	ff99	cdDMP	83	204	293	292	184	54	82	194	207	2.10
		cdDMP	84	194	294	293	175	59	86	194	198	2.21
<b>AA01<sup>1</sup></b>		<b>81</b>	<b>197</b>	<b>291</b>	<b>149</b>	<b>192</b>	<b>182</b>	<b>85</b>	<b>204</b>	<b>188</b>		
<b>INI (experimental)<sup>2</sup></b>		<b>79</b>	<b>190</b>	<b>287</b>	<b>183</b>	<b>186</b>	<b>170</b>	<b>147</b>	<b>202</b>	<b>202</b>	<b>0.00</b>	
dCpdC	PBE	cdDMP	80	192	269	167	<u>223</u>	182	<b>146</b>	195	197	0.00
AA01		cdDMP <sup>3*</sup>	82	196	268	166	<u>222</u>	181	<b>147</b>	198	204	0.14
AD0067	PW91(ADF)	cdDMP <sup>4*</sup>	80	192	269	168	<u>224</u>	181	<b>145</b>	194	197	0.00
	PBE-D	cdDMP	79	190	276	176	207	180	<b>145</b>	196	199	0.00
		cdDMP <sup>5*</sup>	77	185	278	172	214	179	<b>150</b>	196	199	0.00
	ff99	cdDMP	79	178	282	170	197	180	<b>155</b>	197	205	0.00

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex AD0067. <sup>3</sup>Estructura optimizada con Gaussian empleando el Modelo del Continuo Polarizable (PCM) con agua como solvente. <sup>4</sup>Estructura optimizada con el programa Gaussian empleando el Modelo de Onsager con agua como solvente (SCRF=dipolo). <sup>5</sup>Estructura optimizada con el programa ADF utilizando corrección de dispersión (funcional PBE-D). \*Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PBE/PBE.

Tabla 3.25: *Parámetros de posición mutua de las bases, y pares de bases, en el dúplex dCpdG (BA05):dCpdG(BB04) optimizado por distintos métodos.*

Método	h-Twist	h-Rise	Buckle <sub>1,2</sub>		Propeller <sub>1,2</sub>		Tilt	Roll		
dGpdG:dCpdC AA00:AA01 (AD0067)										
<b>INI (experimental)<sup>2</sup></b>	<b>33.39</b>	<b>2.27</b>	<b>-5.61</b>	<b>-10.34</b>	<b>-2.99</b>	<b>-14.05</b>	<b>0.82</b>	<b>8.60</b>		
	cdDMP	29.91	3.59	2.02	6.75	4.51	-12.42	3.51	2.66	
PBE	cdDMP <sup>3*</sup>	31.78	3.23	-0.89	4.62	-2.52	-9.84	1.38	7.44	
	cdDMP <sup>4*</sup>	28.96	3.47	1.81	8.15	5.85	-11.12	3.59	3.36	
PW91(ADF)	cdDMP	30.41	4.30	2.31	-1.89	2.78	-14.06	3.88	0.01	
	cdDMP <sup>5*</sup>	30.69	3.33	-0.39	4.81	3.33	-14.72	4.45	1.56	
	ff99	cdDMP	30.38	2.94	-5.04	2.30	4.61	-11.00	-0.03	3.83

h-Twist, Buckle, Propeller, Tilt y Roll en grados (°), h-Rise en Å. Mismas designaciones que en Tabla 3.24.

Los resultados obtenidos de todas las optimizaciones realizadas muestran una disposición casi paralela de los pares de bases con pequeños ángulos de Propeller y Buckle, véase Tabla 3.25, y exhiben substancial superposición entre las bases purinas y nula entre los anillos de las pirimidinas. Estas características no cambiaron a pesar de considerar correcciones de dispersión o de solvente al modelo. Por lo tanto, se tienen *reglas normales* de superposición para este dúplex con cadenas en conformación de clases que tienen mínimos de energía para SPB separado.

En la Figura 3.9 se muestran dos vistas del dúplex optimizado con el funcional PBE, en esta se puede observar la superposición entre los anillos de las bases apiladas, teniéndose reglas normales; además, se aprecia una buena disposición mutual de los pares de bases apilados, comprobándose la viabilidad de esta estructura.

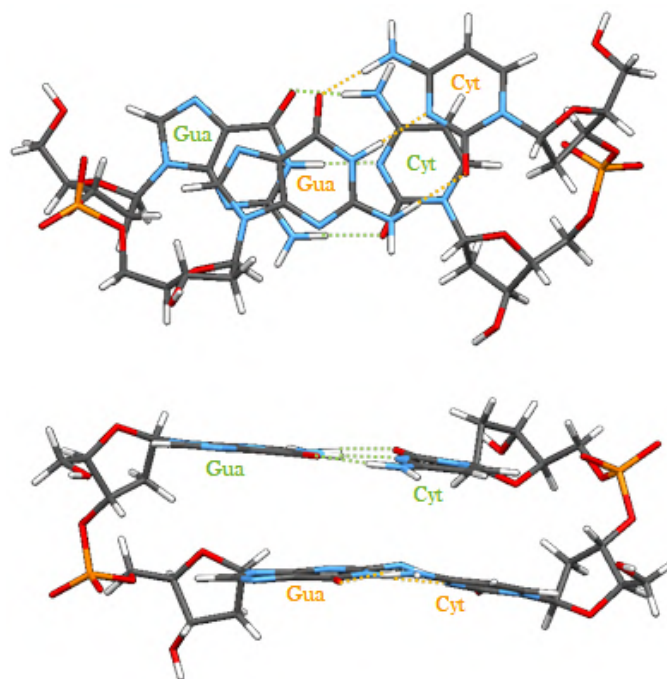


Figura 3.9: *Diferentes vistas de dúplex de ADN-A (NDB ID AD0067), con una cadena en conformación AA00 y la otra cercana a AA01, optimizado con DFT empleando el funcional PBEPBE. Arriba: se muestra la superposición entre los anillos de las bases apiladas. Abajo: se puede observar la posición mutual de los pares de bases apilados. Figura publicada en [3]*

### 3.2.2. Fragmentos mínimos de dúplex con una cadena tipo-BI y su complementaria del tipo-BII

En esta sección se presentan los resultados obtenidos del estudio realizado a dúplex con una cadena del tipo-BI (BA01, BA05, BB00) y la cadena complementaria del tipo-BII (BB07, BB04). Las secuencias de los cdDMPs considerados son (dCpdG)<sub>2</sub>, (dGpdC)<sub>2</sub> y dTpdT:dApdA.

Del estudio presentado en la Sección 3.1 sabemos que las clases BA01, BA05 y BB00 tienen mínimos de energía para SPBs separados, mientras que BB04 no tiene correspondencia con ninguno y BB07 presenta resultados variados, con conclusiones ajustadas a estos. Por ende, es necesario hacer un análisis de las regularidades en la superposición de las bases dependiente en su secuencia y en la clase conformacional, tomando en cuenta si esta tiene o no mínimos de energía para SPB separado.

Es importante mencionar que la NtC BB07 es un tipo de conformación crucial para doblar el ADN, mientras que la clase BB04 suele acomodar deformaciones de la doble hélice de ADN, las cuales han sido inducidas por interacciones con proteínas o ligandos. A continuación se discuten los resultados obtenidos para cada estructura experimental, separadas por secuencia; así como la importancia biológica de las mismas.

#### 3.2.2.1. Estructuras (dCpdG)<sub>2</sub> con las conformaciones BA01:BB07 y BA05:BB04

Se han extraído de las terminales de los fragmentos experimentales NDB ID 5EZF y 5ET9, de secuencia d(CGCTATAATGCG):d(CGCATTATAGCG), dos conformaciones de (dCpdG)<sub>2</sub>, uno en cada fragmento. El objetivo de estos dúplex experimentales es presentar estructuras con la Caja de Pribnow, zona rica en adeninas y timinas con la secuencia TATAAT, la cual juega un rol vital en la regulación de la transcripción bacteriana [46]. Las terminales tomadas en cuenta en nuestro estudio son funcionalmente irrelevantes, pero necesarias para la estabilidad del dúplex.

El primer cdDMP considerado es el extraído del fragmento experimental NDB ID 5EZF. De la estructura experimental se tiene a uno de los dDMPs estudiados en conformación de la NtC BA01, mientras que el complementario presenta ángulos de torsión en regiones para la clase BB07. Como se puede notar en la Tabla 3.26, ambas cadenas únicas presentan reglas normales de superposición para la secuencia dCpdG.

Sin embargo, después de las primeras optimizaciones realizadas se tuvo un cambio en las reglas de superposición, por lo que se realizó una serie de cálculos empleando distintas metodologías y distintas rutas de estos (es decir, diversa combinación de optimizaciones, una seguida después de la otra, para obtener un mínimo). Todo esto con objeto de descifrar los motivos del cambio de superposición de las bases y así descartar que fuese debido a la metodología empleada, al no considerar ciertas interacciones importantes.

Tabla 3.26: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA01 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dCpdG(BA01):dCpdG(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
<b>BA01<sup>1</sup></b>		<b>136</b>	<b>189</b>	<b>255</b>	<b>300</b>	<b>161</b>	<b>53</b>	<b>88</b>	<b>254</b>	<b>225</b>		
dCpdG BA01 5EZF	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	141	200	241	288	156	53	90	257	222	0.00	
	PBE	cdDMP	138	215	<u>287</u>	280	163	47	80	238	254	2.90
		cdDMP <sup>3</sup>	138	216	<u>286</u>	281	163	47	80	238	254	2.90
		dDMP	132	<u>222</u>	<u>277</u>	286	172	55	103	<u>224</u>	<u>303</u>	1.58
		dDMP <sup>4</sup>	138	<u>230</u>	283	282	161	49	79	225	<u>275</u>	1.99
		dDMP <sup>5</sup>	136	<u>225</u>	278	282	166	49	80	227	<u>278</u>	1.34
		SPB	137	208	283	292	171	56	97			
	SPB <sup>6</sup>	138	216	<u>287</u>	283	168	51	91				
	M05 - 2X	cdDMP <sup>4</sup>	142	201	281	284	162	48	80	246	244	2.35
		dDMP	138	194	276	289	162	53	78	239	235	2.37
	PW91 - ulg	SPB	140	189	274	296	166	58	98			
		cdDMP	132	188	268	285	175	49	82	243	234	0.00
		cdDMP <sup>4</sup>	136	217	<u>286</u>	284	161	45	82	238	253	2.85
	PW91 (ADF)	dDMP	127	191	264	283	173	52	83	242	234	0.02
		SPB	123	186	265	283	170	50	83			
	ff99	dDMP	127	191	265	284	173	52	82	240	235	0.08
dDMP <sup>5</sup>		129	195	270	286	174	51	81	236	236	1.05	
ff99	cdDMP	135	183	256	281	177	45	90	246	224	0.00	
MP2	SPB	140	209	<u>286</u>	289	172	56	104				
<b>BB07<sup>1</sup></b>		<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b>	<b>260</b>		
dCpdG BB07 5EZF	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	145	239	175	306	138	43	126	256	236	0.00	
	PBE	cdDMP	142	<u>279</u>	192	269	155	49	142	230	269	0.00
		cdDMP <sup>3</sup>	136	<u>277</u>	184	277	151	48	142	232	270	0.00
		dDMP <sup>5</sup>	<u>104</u>	253	150	319	117	51	142	233	285	0.00
		SPB	<u>109</u>	253	156	277	116	42	136			
	M05 - 2X	cdDMP <sup>4</sup>	147	270	180	279	155	45	145	238	265	0.00
		SPB	123	274	146	289	116	45	144			
		SPB <sup>7</sup>	127	<u>278</u>	150	291	116	43	144			
	PW91 - ulg	cdDMP	137	234	185	301	143	48	139	255	243	0.00
		cdDMP <sup>4</sup>	145	276	191	275	153	46	141	235	269	0.00
	PW91(ADF)	SPB	136	242	178	301	137	48	128			
		dDMP <sup>5</sup>	124	232	186	313	137	53	142	241	260	0.00
	ff99	cdDMP	125	<u>280</u>	<u>129</u>	292	115	51	129	289	239	0.00
	MP2	SPB <sup>7</sup>	130	<u>280</u>	156	292	119	40	144			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5EZF. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PBEPBE. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PW91(ADF). <sup>6</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el funcional M05-2X. <sup>7</sup>Resultado obtenido de SPB previamente optimizado con el funcional PW91-ulg.

Este análisis fue complementario al realizado para la elección de la metodología a emplear en esta tesis, ver Apéndice A.3. En esta sección sólo se muestran los resultados más representativos, para revisar todos los resultados obtenidos con las distintas metodologías y rutas empleadas con esta estructura véase el Apéndice A.2.

De las optimizaciones realizadas a la estructura experimental con los funcionales PBEPBE, PW91PW91 y B97-D3, empleando la base 6-31g\*, se obtuvo un cambio de región en el ángulo  $\epsilon$  de la cadena dCpdG-BB07, este cambio de región se ha presentado también en algunos de los resultados obtenidos en la Sección 3.1.1. Por otro lado, en la cadena dCpdG-BA01 se tiene un cambio en la torsión  $\zeta$ , la cual va a un valor mayor, esta variación se tiene de igual manera en los cálculos de optimización realizados a los SPBs separados, teniéndose un cambio hacia la NtC BA05, la cual es muy cercana.

En este punto es importante mencionar que además del cambio de región de la torsión  $\zeta$  en el dCpdG-BA01, después de las optimizaciones realizadas a la geometría del cdDMP se tiene una superposición grande entre los anillos de las bases apiladas de dicha cadena, cambiando así las reglas de superposición. Es interesante que estos mismos cambios se han presentado en los cálculos realizados con el funcional PW91PW91 empleando las bases TZVP y cc-pVTZ, las cuales son un conjunto de base triple zeta y un conjunto de triple base de valencia polarizada consistente de correlación de Dunning, respectivamente, con lo cual, comprobamos que cálculos más exactos reproducen las mismas características para esta estructura.

Aunado a ello, considerando diferentes rutas de cálculos, por un lado se tiene de las optimizaciones realizadas con los funcionales M05-2X y B3LYP-D3 a la estructura obtenida con PBE, que estas metodologías no regresan el cdDMP a su posición inicial con reglas normales, si no que se sigue teniendo un stacking notable en la cadena BA01; además, presentan una mejor posición mutual de los pares de bases, comparado con la estructura resultado de los cálculos con PBE, ver Tabla 3.27.

Tabla 3.27: *Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dCpdG (BA01):dCpdG(BB07) optimizado por distintos métodos.*

Método		h-Twist	h-Rise	Buckle <sub>1,2</sub>		Propeller <sub>1,2</sub>		Tilt	Roll
(dCpdG) <sub>2</sub> BA01:BB07 (5EZF)									
<b>INI (experimental)</b>		<b>39.42</b>	<b>3.58</b>	<b>8.91</b>	<b>-2.07</b>	<b>-13.09</b>	<b>-0.92</b>	<b>0.91</b>	<b>-1.39</b>
PBE	cdDMP	39.15	3.60	3.53	10.60	-18.37	2.23	3.84	2.20
	cdDMP <sup>3</sup>	38.61	3.48	1.92	11.12	-18.79	3.13	3.57	-0.10
M05-2X	cdDMP <sup>4</sup>	39.82	3.08	-1.94	0.18	-19.86	1.38	4.09	-3.71
PW91	cdDMP	41.14	3.38	-1.75	-1.90	-3.14	-2.29	4.53	-5.22
	- ulg	cdDMP <sup>4</sup>	38.87	3.63	4.07	8.06	-18.60	0.97	4.36
ff99	cdDMP	40.82	3.62	-4.55	-22.82	-10.55	-14.67	2.45	1.53

h-Twist, Buckle, Propeller, Tilt y Roll en grados (°), h-Rise en Å. Mismas designaciones que en Tabla 3.26.

Por otra parte, de las dos rutas de optimización empleadas con PBE, un cálculo realizado a la estructura experimental y otro realizado a la conformación previamente optimizada con el campo de fuerzas ff99, se ha llegado a un mismo mínimo con mismas reglas de superposición, a pesar de que ff99 cambia de región a los ángulos  $\epsilon$  y  $\zeta$  de la cadena BB07, tal como se puede notar en la Tabla 3.26.

Finalizando con estas distintas rutas de optimización, se tienen resultados diferentes para el caso de los cálculos realizados con el programa ADF empleando los funcionales PW91PW91 y PW91-ulg, con la base TZVP. De los cálculos realizados a la estructura experimental no se obtuvo cambio de región para ningún ángulo ni cambio en las reglas de superposición; sin embargo, para el caso de la optimización realizada a la conformación previamente calculada con PBE se obtuvieron cdDMPs con los mismos cambios en las torsiones que mostraron los cálculos realizados con otros funcionales y el cambio de superposición en la cadena BA01. Este mínimo con cambios es  $\approx 2.87$  kcal/mol más favorable que aquel igual a la estructura experimental de reglas normales.

El empaquetamiento para los azúcares, tanto de la estructura experimental como para las estructuras optimizadas mediante las distintas rutas y metodologías, se mantiene sin cambio, del tipo-B para ambos azúcares de la cadena BB07 y el azúcar en posición 5'-fin de la cadena BA01, mientras que es tipo-A para el azúcar en posición 3'-fin de la cadena BA01.

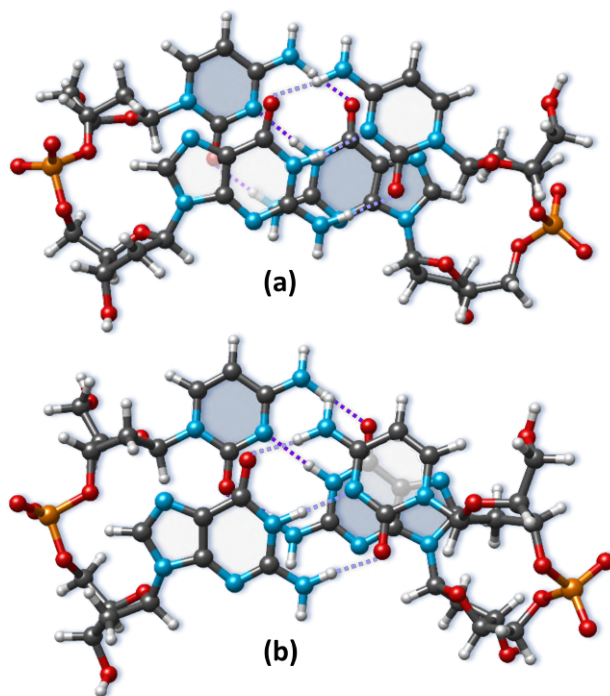


Figura 3.10: Estructura experimental y optimizada de  $(dCpdG)_2$  con una cadena de la clase NtC BA01 (derecha) y la otra de la clase BB07 (izquierda). Proyección para mostrar el área de superposición entre las bases apiladas de ambas cadenas. (a) Estructura experimental, NDB ID 5EZf. (b) Estructura optimizada empleando el funcional M05-2X.

Nótese que de las optimizaciones realizadas a los SPBs tomados de las dos cadenas del dúplex estudiado, se tiene con M05-2X y MP2 el mismo cambio de región en la torsión  $\epsilon$  de la cadena en conformación BB07 que el que se obtuvo en las optimizaciones realizadas al dúplex. Mientras que para el SPB-BA01 se tiene correspondencia con los mínimos de energía para SPB separado obtenidos en la Sección 3.1.2.

En la Figura 3.10 se puede observar el cambio de superposición entre las bases apiladas del dCpdG en conformación de la clase BA01 después de las optimizaciones realizadas, teniendo una regla no normal de superposición para este dúplex.

Para analizar si estos cambios de superposición son válidos en las cadenas únicas se llevaron a cabo cálculos a dDMPs separados. De las optimizaciones realizadas al fragmento dCpdG en conformación de la NtC BB07, el funcional PBE mantuvo casi todas las torsiones en sus respectivas regiones, a excepción de  $\delta_1$ , sin embargo, se obtuvo una inclinación grande entre los pares de bases apilados con la formación de un enlace de hidrógeno; con el programa ADF empleando el funcional PW91 se obtuvo una estructura viable sin cambios en su conformación.

Por otro lado, para la cadena en conformación BA01 se realizaron distintas rutas de optimización. De los cálculos realizados a la estructura experimental con ADF empleando los funcionales PW91PW91 y PW91-ulg no se tienen cambios notorios en esta, mientras que de la optimización realizada a la cadena tomada del dúplex previamente optimizado con la misma metodología se tiene un cambio notorio en la superposición de las bases, ver Figura 3.11; ambos mínimos sólo difieren en 0.31kcal/mol, siendo más favorable el que presenta más stacking. Con el funcional M05-2X también se obtuvo este cambio de superposición entre las bases apiladas, teniendo estas una buena posición mutual.

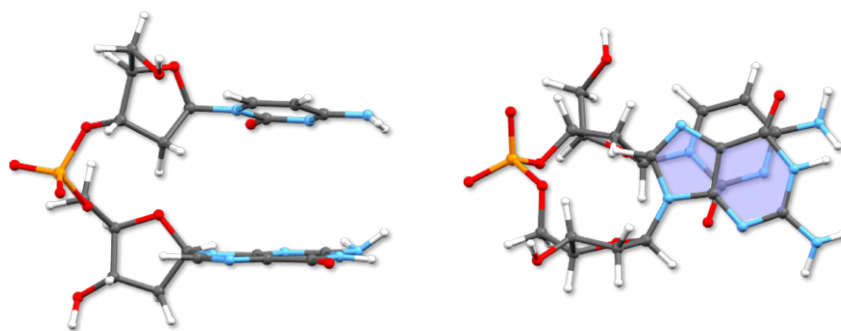


Figura 3.11: Estructura optimizada de dCpdG correspondiente a la NtC BA01, empleando el funcional PW91PW91 en el programa ADF. Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de las bases apiladas y la notable superposición entre los anillos de estas.

El funcional PBE no reprodujo ningún buen resultado, ni tomando como inicial la estructura experimental de reglas normales, ni partiendo del dDMP con cambio de superposición debida a la optimización realizada al dúplex. En ambos casos se tienen cambios de región para los ángulos de torsión  $\epsilon$ ,  $\zeta$  y  $\chi_{1,2}$ , yendo a regiones cercanas para la clase NtC IC06, además de que se tiene la formación de enlaces artificiales de H, como se puede observar en la Figura 3.12.



Tabla 3.28: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA01 y BB04 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dCpdG(BA05):dCpdG(BB04).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BA05<sup>1</sup></b>	<b>131</b>	<b>184</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>169</b>	<b>52</b>	<b>104</b>	<b>251</b>	<b>235</b>		
dCpdG BA05 5ET9	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	154	188	265	294	167	59	121	262	251	0.59	
	PBE	cdDMP	131	213	277	293	164	51	134	234	272	2.58
		SPB	137	208	276	295	168	49	136			
	M05 - 2X	dDMP	147	<u>234</u>	275	295	157	50	143	<u>210</u>	<u>294</u>	1.27
		SPB	145	193	274	295	163	49	140			
	PW91/TZP	cdDMP	139	208	284	291	168	50	132	235	270	2.19
		ff99	cdDMP	133	193	279	289	172	46	128	227	235
	MP2	SPB	143	197	276	294	164	48	140			
	<b>BB04<sup>1</sup></b>	<b>140</b>	<b>201</b>	<b>214</b>	<b>315</b>	<b>153</b>	<b>46</b>	<b>140</b>	<b>263</b>	<b>256</b>		
dCpdG BB04 5ET9	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	144	192	213	335	169	27	156	265	258	0.00	
	PBE	cdDMP	146	219	215	302	167	51	146	237	269	0.00
		dDMP	138	<u>268</u>	<u>159</u>	310	125	51	143	231	287	0.00
	M05 - 2X	SPB	136	198	<u>169</u>	291	186	48	137			
		dDMP	133	194	<u>271</u>	296	170	51	131	224	263	0.23
	PW91/TZP	SPB	141	196	<u>166</u>	295	189	48	142			
		cdDMP	146	216	219	303	169	51	146	238	267	0.00
	ff99	cdDMP	131	188	<u>245</u>	291	190	44	145	247	227	0.00
MP2	SPB	139	195	<u>166</u>	294	180	47	141				

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5ET9. \*Presenta también superposición entre las bases purinas de diferente cadena ( $0.39\text{Å}^2$ ).

Tabla 3.29: Parámetros de posición mutua de las bases, y pares de bases, en el dúplex dCpdG(BA05):dCpdG(BB04) optimizado por distintos métodos.

Método	h-Twist	h-Rise	Buckle <sub>1,2</sub>	Propeller <sub>1,2</sub>	Tilt	Roll
(dCpdG) <sub>2</sub> BA05:BB04 (5ET9)						
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>	36.27	3.63	5.47	-3.77	-10.73	-14.56
PBE	cdDMP	38.84	3.69	5.66	8.14	-21.99
PW91/TZP	cdDMP	39.14	3.91	7.35	4.84	-22.33
ff99	cdDMP	47.77	3.57	25.38	-33.94	-22.42
					-25.53	10.46
						<u>22.05</u>

h-Twist, Buckle, Propeller, Tilt y Roll en grados (°), h-Rise en Å. <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5ET9.

Finalmente, de los cálculos realizados a las cadenas únicas tomadas del dúplex en cuestión, se tiene de la optimización realizada con M05-2X a dCpdG-BA05 cambio en la superposición entre las bases apiladas, pero también en algunas de sus torsiones, y, en adición, la formación de un enlace de hidrógeno al tener bases apiladas con un ángulo grande entre estas. De las optimizaciones realizadas con PBE y M05-2X a la cadena dCpdG-BB04 se tiene cambio de conformación, yendo a BB07 y BB00, respectivamente, y mala posición de las bases apiladas con la formación de enlaces de hidrógeno entre estas.

### 3.2.2.2. Estructuras (dGpdC)<sub>2</sub> con las conformaciones BA01:BB07 y BA05:BB07

El fragmento mínimo de dúplex (dGpdC)<sub>2</sub> con la conformación BA01:BB07 ha sido tomado de una de las terminaciones de la estructura experimental NDB ID 5ET9 [46], de la cual se extrajo también el (dCpdG)<sub>2</sub> mencionado y estudiado en la subsección previa.

De la estructura experimental, este fragmento (dGpdC)<sub>2</sub> presenta una superposición normal entre los anillos de las bases de la cadena de NtC BA01, mientras que la cadena dGpdC-BB07 muestra una superposición muy pequeña entre sus bases apiladas. En los cálculos de optimización realizados a este cdDMP con el funcional PBE no se pudo reproducir una buena estructura, pues, a pesar de reproducir las regiones de casi todos los ángulos de torsión y la superposición de ambas cadenas, la posición mutual de los pares de bases no es buena, con una gran inclinación entre estos y la formación de un enlace artificial de hidrógeno entre bases apiladas, como se puede observar en la Figura 3.13.

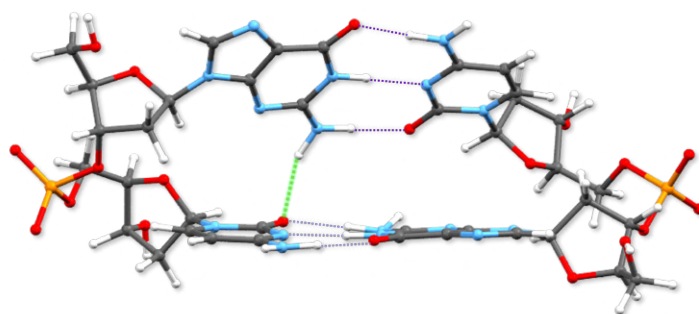


Figura 3.13: Estructura optimizada con el funcional PBE/PBE del fragmento (dGpdC)<sub>2</sub> con cadenas complementarias de las clases BA01:BB07. Se encuentra indicado con verde el enlace de hidrógeno artificial formado. Se pueden observar los pares de bases apilados en una posición con un Roll de  $-44^\circ$ .

Sin embargo, de la optimización realizada con el funcional M05-2X se tiene una estructura con las mismas clases conformacionales para ambas cadenas que las que se tienen en la estructura experimental, y sin cambio cualitativo en los valores de superposición de las bases apiladas, ver Tabla 3.31. Dicho cdDMP presenta una posición mutual de los pares de bases casi paralelos entre sí, siendo de esta manera una estructura viable, contrario al caso del resultado obtenido con PBE, ver Tabla 3.30.

Tabla 3.30: Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dGpdC (BA01):dGpdC(BB07) optimizado por distintos métodos.

Método	h-Twist	h-Rise	Buckle <sub>1,2</sub>		Propeller <sub>1,2</sub>		Tilt	Roll
(dGpdC) <sub>2</sub> BA01:BB07 (5ET9)								
INI (experimental) <sup>1</sup>	37.56	3.28	-3.77	-4.21	-14.56	-6.55	0.73	-1.54
PBE cdDMP	57.81	3.20	5.41	-4.86	-4.56	12.91	4.1	<b>-44.39</b>
M05-2X cdDMP	32.29	3.20	-5.93	-0.54	-6.44	12.76	1.69	-3.32

h-Twist, Buckle, Propeller, Tilt y Roll en grados ( $^\circ$ ), h-Rise en Å.

<sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5ET9.

Tabla 3.31: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA01 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BA01):dGpdC(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	<b>BA01<sup>1</sup></b>	<b>136</b>	<b>189</b>	<b>255</b>	<b>300</b>	<b>161</b>	<b>53</b>	<b>88</b>	<b>254</b> <b>225</b>			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	121	185	261	305	162	50	92	251	226	2.91	
dGpdC BA01 5ET9	PBE	cdDMP	141	193	267	298	166	58	86	247	232	1.62
		dDMP	141	202	282	280	174	49	82	<b>223</b>	251	3.03
	M05 - 2X	SPB	137	208	283	291	171	48	<b>136</b>			
		cdDMP	145	190	277	292	164	55	87	250	226	3.78
		dDMP <sup>3</sup>	148	175	265	289	<b>201</b>	52	<b>145</b>	235	254	3.09
	MP2	SPB	140	189	275	294	165	57	94			
		SPB	139	208	<b>286</b>	289	172	56	104			
	<b>BB07<sup>1</sup></b>	<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b> <b>260</b>			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	141	266	163	308	143	15	144	266	265	0.20	
dGpdC BB07 5ET9	PBE	cdDMP	154	<b>284</b>	148	294	138	48	133	243	239	0.00
		dDMP	153	<b>283</b>	144	296	134	50	134	<b>237</b>	246	0.00
		dDMP <sup>4</sup>	143	276	166	283	151	42	136	248	253	<b>2.23</b>
	M05 - 2X	SPB	129	<b>278</b>	157	292	125	43	138			
		cdDMP	141	270	159	287	135	44	132	255	239	0.49
		dDMP	144	276	156	284	145	41	137	259	244	<b>2.63</b>
		dDMP <sup>4</sup>	144	276	157	285	143	41	137	259	243	<b>2.62</b>
	B97 - D3	SPB	128	<b>278</b>	150	291	116	43	144			
		dDMP <sup>4</sup>	142	<b>281</b>	154	282	150	38	138	258	246	<b>2.89</b>
		dDMP <sup>5</sup>	153	<b>281</b>	142	296	133	49	135	237	244	0.00
ff99	dDMP	130	<b>283</b>	142	286	128	47	129	264	233	<b>1.96</b>	

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5ET9. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el funcional PBE/PBE.

De los cálculos realizados a los SPBs separados se tienen mínimos de energía para el de la clase BA01, en tanto que de los resultados obtenidos para el SPB-BB07 se tiene un cambio de región para la torsión  $\epsilon$ , cambio obtenido también en las optimizaciones hechas a la cadena única.

Al realizar cálculos de optimización a los dDMPs separados, se obtuvo una estructura viable con M05-2X para el dGpdC-BA01, con una superposición normal entre las bases apiladas, pero con cambio para el ángulo  $\delta_2$ , teniendo ahora una conformación de la clase BB00. Con PBE se tiene una inclinación entre las bases y la formación de dos enlaces de hidrógeno entre las mismas.

Para la cadena dGpdC-BB07, la cual inicialmente muestra un stacking casi nulo entre las bases apiladas, se realizaron diferentes pruebas y cálculos de optimización para descifrar si dicha regularidad es posible también en las cadenas únicas.

Tal como en el caso de la cadena en conformación BA01, PBE dio pauta a la formación de un enlace de hidrógeno entre las bases apiladas y una mala posición mutua de estas. Sin embargo, el funcional M05-2X cambió la superposición entre las bases apiladas, siendo esta ahora normal para una secuencia Pur-Pyr (ver Tabla 3.31), con una posición casi paralela entre las mismas.

Aunque el funcional B97-D3 considera interacciones de dispersión, este no pudo regresar a una buena posición las bases inclinadas entre sí del dDMP previamente optimizado con PBE.

El campo de fuerzas AMBER ff99 reprodujo una buena estructura con una regla normal, tomando como inicial esta conformación se realizaron cálculos con los funcionales PBE, M05-2X y B97-D3, obteniéndose cadenas únicas dGpdC-BB07 viables con superposición notable entre las bases apiladas. En adición, nótese que en todas las optimizaciones realizadas a la cadena única en conformación BB07 se tiene cambio de región para el ángulo  $\epsilon$ .

En la Figura 3.14 se muestra una comparación entre los resultados obtenidos con PBE de la estructura experimental con regla no normal y de la estructura previamente optimizada con el campo de fuerzas ff99 -la cual se desplazó a una posición de regla normal para dicho dGpdC-.

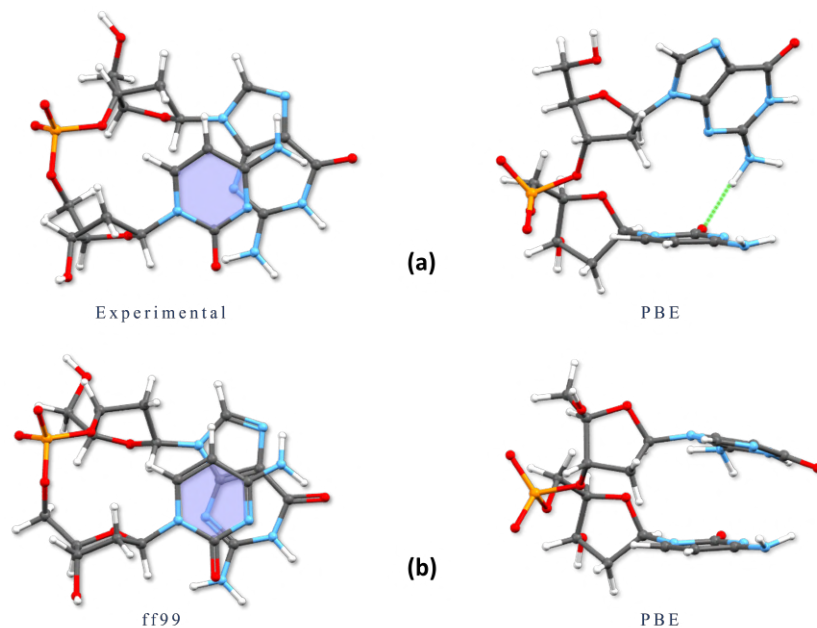


Figura 3.14: Cadena única dGpdC-BB07 inicial (izquierda) y optimizada con el funcional PBE/PBE (derecha). Se muestra la superposición de los anillos de las bases del dDMP inicial y la posición mutua de las bases del dDMP optimizado con PBE para cada caso respectivamente. Se encuentra indicado el enlace de hidrógeno artificial formado entre bases apiladas. (a) Resultado obtenido para conformación experimental. (b) Resultado obtenido para conformación obtenida de previa optimización con el campo de fuerzas ff99.

Por otro lado, se ha tomado del fragmento experimental NDB ID BDL078 [47], de secuencia  $d(\text{CGCGATATCGCG})_2$ , la estructura  $(d\text{GpdC})_2$  con la conformación BA05:BB07. Dicho dúplex experimental ha sido sintetizado con objeto de entender las características e interacciones presentes en ADN conteniendo pequeñas regiones periódicas de residuos de adenina, conocidas como A-tracks, el cual presenta una pronunciada curvatura macroscópica. En este fragmento se han sustituido algunas secuencias de adeninas por timinas para evaluar su efecto en la flexión.

Dado que los A-tracks muestran poca variación conformacional entre varias estructuras cristalinas, se ha propuesto que la flexión debe ocurrir fuera de dichas regiones [48]. De acuerdo al análisis realizado por Shatzky-Schwartz et al. [47], el fragmento BDL078 presenta dos curvaturas, una de las cuales está entre los pares de bases 10mo y 11vo, en la secuencia dGpdC. El fragmento estudiado aquí,  $(dGpdC)_2$ , corresponde a dicha secuencia con curvatura.

Esta estructura experimental presenta una notable superposición entre las bases apiladas de la cadena en conformación de la NtC BA05, i.e. regla normal, y una superposición nula entre los anillos de las bases de la cadena BB07. Tal como en el cdDMP anterior, de misma secuencia y stacking de las bases, el funcional PBE no pudo reproducir una estructura con una buena posición mutual de las bases, teniéndose la formación de dos enlaces de hidrógeno entre las bases apiladas.

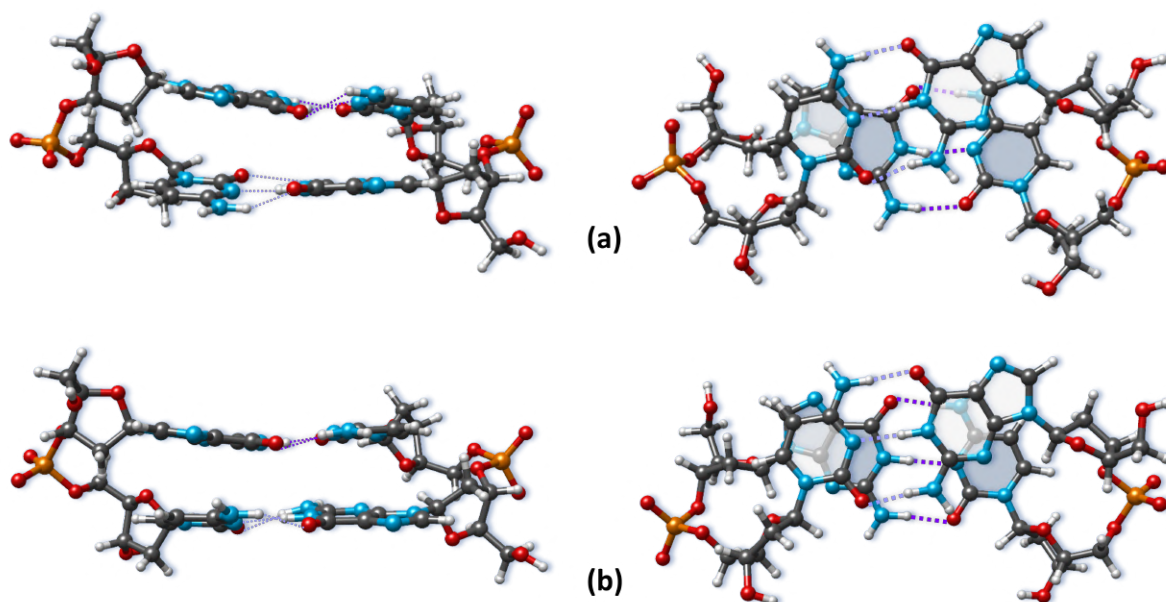


Figura 3.15: *Conformación experimental y optimizada de  $(dGpdC)_2$ , con cadenas de las clases NtCs BA05 (cadena izquierda) y BB07 (cadena derecha). Las dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela de los pares de bases y la superposición de las bases apiladas. (a) Estructura experimental, NDB ID BDL078. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X.*

En cuanto al funcional M05-2X, y los funcionales M06-2X y PBE-D3BJ (funcional PBE con corrección de dispersión de Grimme D3 y damping Becke-Johnson), estos reproducen las mismas características conformacionales de la estructura experimental, correspondiendo a las familias iniciales y con superposiciones cualitativas semejantes. Para la cadena BB07 se tiene un cambio de región en el ángulo de torsión  $\epsilon$ , como se observa en la Tabla 3.32.

Dichos resultados presentan una buena posición mutual de los pares de bases apilados, ver Tabla 3.33, con lo cual se muestra la importancia de considerar dispersión e interacciones de stacking en este tipo de conformaciones. En la Figura 3.15 se muestra la posición mutual de los pares de bases apilados y la superposición entre los anillos de las bases de la estructura experimental y de la obtenida de la optimización realizada con el funcional M05-2X.

Tabla 3.32: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA05 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BA05<sup>1</sup></b>	<b>131</b>	<b>184</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>169</b>	<b>52</b>	<b>104</b>	<b>251</b> <b>235</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	108	191	276	317	151	49	88	228 224	2.11	
		cdDMP	146	198	<u>213</u>	323	127	65	75	240 200	0.00
	PBE	cdDMP <sup>3</sup>	141	204	288	277	185	48	122	233 246	3.45
		dDMP	85	213	285	295	174	57	83	<u>197</u> 235	3.01
		SPB	137	208	283	291	173	56	93		
dGpdC	PBE <i>D3-BJ</i>	cdDMP	144	176	267	290	173	52	77	259 224	1.36
BA05	M05	cdDMP	145	190	277	292	165	56	89	248 227	3.81
BDL078	- 2X	dDMP <sup>4</sup>	144	196	279	285	169	51	82	234 239	3.46
		SPB	140	189	274	295	167	58	95		
	M06-2X	cdDMP	145	186	277	296	163	58	81	248 217	3.92
	PW91- <i>ulg</i>	cdDMP <sup>3</sup>	142	191	280	293	168	52	96	250 232	3.88
	PW91(ADF)	cdDMP	119	193	274	293	169	57	77	231 221	1.61
	PW91	cdDMP <sup>5</sup>	141	206	288	277	184	48	122	230 246	3.24
	MP2	SPB	140	208	286	288	173	56	100		
	<b>BB07<sup>1</sup></b>	<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b> <b>260</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	145	261	142	291	151	41	157	282 257	0.00	
		cdDMP	157	<b>292</b>	<b>137</b>	297	139	51	132	<u>240</u> 240	0.00
	PBE	cdDMP <sup>3</sup>	136	267	179	278	148	42	127	272 233	1.48
		dDMP	154	<b>285</b>	143	297	<b>136</b>	49	131	236 248	0.00
		SPB	137	276	162	293	134	45	154		
dGpdC	PBE <i>D3-BJ</i>	cdDMP	150	275	153	289	141	44	133	255 246	0.03
BB07	M05	cdDMP	137	272	156	285	134	45	126	258 238	0.52
BDL078	- 2X	dDMP	153	<b>281</b>	143	294	133	50	136	<u>236</u> 240	0.00
		SPB	141	<b>278</b>	153	301	128	47	155		
	M06-2X	cdDMP	136	274	156	285	131	46	123	256 234	0.61
	PW91- <i>ulg</i>	cdDMP <sup>3</sup>	134	269	160	288	138	43	126	260 236	0.55
	PW91(ADF)	cdDMP	135	260	158	286	155	46	139	263 254	0.00
	PW91	cdDMP <sup>5</sup>	137	269	176	281	145	42	125	271 231	1.69
	MP2	SPB	143	<b>279</b>	152	299	131	46	156		

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex BDL078. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X. <sup>4</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X y luego con el funcional PW91-*ulg*.

Tabla 3.33: *Parámetros de posición mutual de las bases, y pares de bases, en el dúplex dGpdC (BA05):dGpdC(BB07) optimizado por distintos métodos.*

Método		h-Twist	h-Rise	Buckle <sub>1,2</sub>		Propeller <sub>1,2</sub>		Tilt	Roll
(dGpdC) <sub>2</sub> BA05:BB07 (BDL078)									
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		<b>43.60</b>	<b>3.54</b>	<b>8.14</b>	<b>1.06</b>	<b>-14.00</b>	<b>-14.42</b>	<b>-8.69</b>	<b>-7.89</b>
PBE	cdDMP	82.84	3.02	23.80	-16.30	7.75	5.64	-0.03	<b>-71.82</b>
	cdDMP <sup>3</sup>	55.13	2.56	16.10	-18.39	6.20	2.58	-3.37	<b>41.92</b>
PBE <i>D3-BJ</i>	cdDMP	44.22	3.29	6.59	0.33	7.49	-16.37	-0.68	-16.19
M05 - 2X	cdDMP	32.08	3.19	1.42	7.24	14.17	-4.93	-1.63	-1.53
M06-2X	cdDMP	32.45	3.12	2.15	6.93	10.92	-4.05	-1.88	-2.48
PW91- <i>ulg</i>	cdDMP <sup>3</sup>	31.88	3.56	4.45	2.41	14.04	-4.00	-1.77	1.53
PW91(ADF)	cdDMP	46.40	4.12	7.76	-2.06	1.58	-10.12	-3.84	-15.16
PW91	cdDMP <sup>5</sup>	54.09	4.66	14.66	-18.40	6.41	0.02	-3.4	<b>40.24</b>

h-Twist, Buckle, Propeller, Tilt y Roll en grados (°), h-Rise en Å. Mismas designaciones que en Tabla 3.32.

De los cálculos realizados con ADF, empleando los funcionales PW91 y PW91-ulg, se tiene una reproducción de todos los parámetros geométricos de la estructura experimental. Es importante mencionar que la optimización realizada con PW91-ulg a la estructura obtenida con M05-2X mejora la distancia entre las bases apiladas, eliminando la existencia de contactos cortos entre los átomos de los anillos de estas, lo cual se puede ver en los valores para el h-Rise en la Tabla 3.33. Para más detalles sobre la mejora de las estructuras obtenidas con esta ruta de optimización ver el Apéndice A.3.

Para analizar si el funcional PBE, y en adición el funcional PW91, pueden reproducir las características estructurales de este dúplex, se realizaron cálculos de optimización tomando como inicial la estructura obtenida con M05-2X, sin embargo, los cálculos resultaron en estructuras no viables con un ángulo grande entre los pares de bases apilados.

Se tiene de las optimizaciones realizadas a las cadenas únicas separadas, resultados semejantes con PBE para la cadena dGpdC-BB07 a los obtenidos para la cadena única del dúplex anterior (ambas teniendo inicialmente una superposición nula). En cuanto a la cadena dGpdC-BA05, con el funcional PBE se tuvo cambio hacia la conformación AA00 y una mala posición mutual de las bases apiladas, mientras que con el funcional M05-2X no se tienen cambios en las regiones de las torsiones y es una estructura viable con regla normal de superposición, con los grupos aminos no planos debido a la optimización.

En adición, se ha estudiado otra estructura de secuencia (dGpdC)<sub>2</sub> con la conformación BA05:BB07. Esta ha sido extraída del fragmento experimental d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub>, NDB ID BDL084 [49], cuyo objetivo fue estudiar un dodecámero de Dickerson con mayor resolución. Este cristal contiene espermina para estabilizar el dúplex de ADN, la cual se ubica cerca del cdDMP considerado en esta investigación.

Nótese que, a pesar de que las dos estructuras analizadas de secuencia (dGpdC)<sub>2</sub> y conformación BA05:BB07 vienen de fragmentos experimentales con distintos objetivos en su estudio, pero con adeninas y timinas en su centro (única diferencia en su secuencia es en los nucleótidos

6 y 7), ambas presentan las mismas características conformacionales, tal como se puede ver en las Tablas 3.32 y 3.34.

De acuerdo con estudios a modelos para la interacción de espermina y ADN realizados por Feuerstein et al. [50], la espermina estabiliza el complejo maximizando las interacciones entre los aceptores de protones en el oligómero y los donantes de protones en la espermina. Esto se logra doblando el surco mayor del ADN sobre la espermina y alterando el empaquetamiento del azúcar del oligómero y las distancias de fosfato entre cadenas. Además la espermina exhibe una unión preferencial con ciertos sitios en el ADN, lo cual proporciona una fuerza poderosa para la modificación de la conformación del mismo.

En la Figura 3.16 se muestran superpuestos los dos fragmentos de  $(dGpdC)_2$  experimentales, NDB ID BDL078 y BDL084, estudiados. Se puede observar una posición mutua de los pares de bases semejante, lo cual muestra que se presenta una curvatura en dichas estructuras, tal como era de esperarse en el fragmento BDL084, debido a la presencia de la molécula de espermina en esa región.

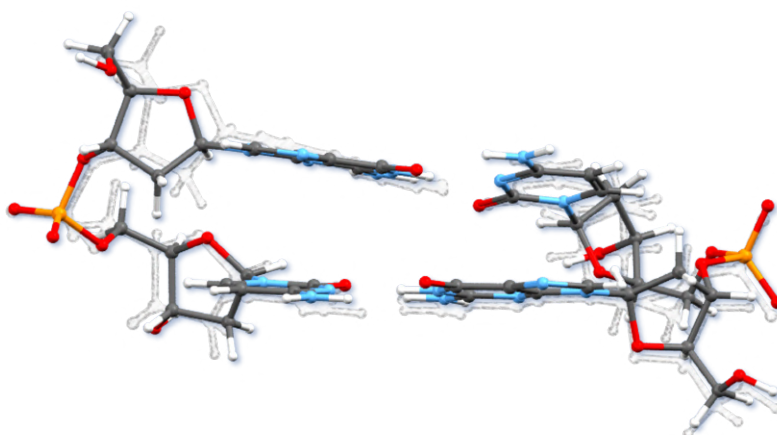


Figura 3.16: Estructura experimental de  $(dGpdC)_2$  tomados de los fragmentos NDB ID BDL084 (fig. nítida) y BDL078 (fig. blanca). Se muestra una posición mutua de los pares de bases semejante en ambos dúplex.

A pesar de la ya mencionada necesidad de la espermina para estabilizar el dúplex experimental, en los cálculos de optimización realizados a la estructura de  $(dGpdC)_2$ , sin la presencia de esta molécula, con el funcional M06-2X que considera interacciones de stacking, se obtuvieron conformaciones viables con las mismas características de la estructura experimental. Esto nos indica que se pueden mantener dichos parámetros geométricos sin la necesidad de la presencia de la espermina para estabilizarlos.

En las Tablas 3.34 y 3.35 se puede observar que pese a las diferentes rutas de optimización realizadas, el funcional PBE no reprodujo estructuras viables, mientras que el campo de fuerzas ff99 sí lo hizo. Estos resultados obtenidos, y los de los cálculos realizados con el funcional M06-2X, son parecidos a los obtenidos para los dos dúplex mencionados anteriormente en esta misma sección de igual secuencia de nucleósidos.

Tabla 3.34: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA05 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BA05<sup>1</sup></b>	<b>131</b>	<b>184</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>169</b>	<b>52</b>	<b>104</b>	<b>251</b> <b>235</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	115	178	266	303	160	57	82	250 223	2.35	
dGpdC BA05 BDL084	cdDMP <sup>3</sup>	146	198	<u>211</u>	<b>326</b>	<u>125</u>	64	75	241 200	0.00	
		146	198	<u>212</u>	325	<u>126</u>	65	75	241 200	0.00	
	PBE	cdDMP <sup>4</sup>	146	197	<u>211</u>	<b>326</b>	<u>126</u>	64	79	240 199	0.00
		dDMP	141	201	282	279	177	50	78	222 252	3.01
	SPB	137	208	283	291	172	56	93			
	M05	dDMP	144	196	279	285	169	51	81	234 239	3.46
- 2X	SPB	141	189	274	295	167	59	95			
M06-2X	cdDMP	145	186	277	296	163	58	81	248 217	3.92	
ff99	cdDMP	141	178	265	283	177	48	87	248 219	1.84	
MP2	SPB	140	208	286	288	173	56	100			
	<b>BB07<sup>1</sup></b>	<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b> <b>260</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	143	260	146	287	144	51	144	276 247	0.00	
dGpdC BB07 BDL084	cdDMP <sup>3</sup>	156	<u>292</u>	<b>138</b>	297	139	50	131	<u>240</u> 240	0.00	
		156	<u>292</u>	<b>138</b>	297	137	50	134	<u>240</u> 237	0.00	
	PBE	cdDMP <sup>4</sup>	156	<u>291</u>	<b>139</b>	297	137	50	134	<u>240</u> 237	0.00
		dDMP	154	<b>284</b>	143	296	136	49	131	<u>236</u> 248	0.00
	SPB <sup>3</sup>	<u>113</u>	<u>196</u>	165	292	<u>179</u>	46	154			
	M05	dDMP	154	<u>281</u>	142	294	134	50	132	<u>235</u> 241	0.00
- 2X	SPB	<u>108</u>	263	<b>123</b>	289	127	51	156			
M06-2X	cdDMP	135	274	156	285	131	46	122	256 234	0.64	
ff99	cdDMP	130	<u>283</u>	<b>139</b>	287	123	50	126	266 <b>229</b>	<b>1.97</b>	

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex BDL084. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99.

Tabla 3.35: Parámetros de posición mutua de las bases, y pares de bases, en el dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07) optimizado por distintos métodos.

Método	h-Twist	h-Rise	Buckle <sub>1,2</sub>	Propeller <sub>1,2</sub>	Tilt	Roll
(dGpdC) <sub>2</sub> BA05:BB07 (BDL084)						
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	42.69	3.30	4.21	0.28	-9.60	-17.42
PBE	cdDMP <sup>3</sup>	<u>81.13</u>	3.03	22.89	-15.32	7.74
	cdDMP	<u>81.22</u>	3.03	22.70	-16.28	7.32
	cdDMP <sup>4</sup>	<u>80.22</u>	3.04	22.45	-15.36	7.66
M06-2X	cdDMP	32.34	3.11	1.53	6.69	10.89
ff99	cdDMP	38.05	3.47	8.81	8.69	9.01

h-Twist, Buckle, Propeller, Tilt y Roll en grados (°), h-Rise en Å. Mismas designaciones que en Tabla 3.34.

De igual manera, los cálculos realizados a los fragmentos de cadena única separados, dDMPs, de esta estructura, coinciden con los que se llevaron a cabo para el fragmento NDB ID BDL078.

Para una mejor comparación de los resultados que se tienen para los tres dúplex aquí estudiados con la secuencia  $(dGpdC)_2$ , con una cadena en conformación del tipo BI-to-A (BA01 o BA05) y la otra cadena del tipo-BII (BB07), en la Figura 3.17 se muestran las estructuras obtenidas de las optimizaciones realizadas con el funcional M05-2X y M06-2X a estos.

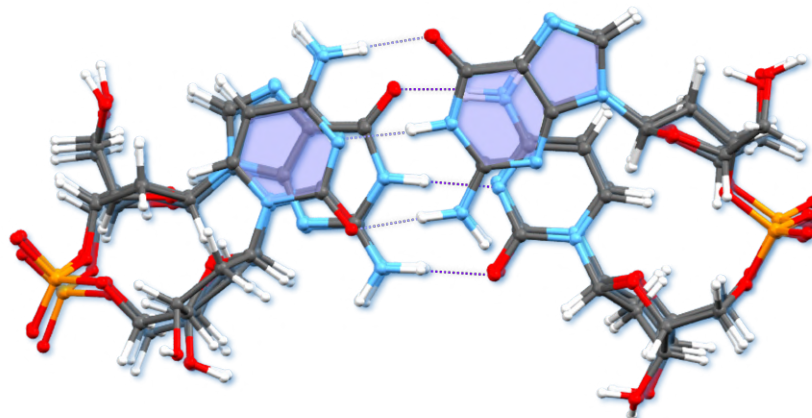


Figura 3.17: Conformaciones de  $(dGpdC)_2$ , con una cadena del tipo BI-to-A y la otra cadena de la clase BB07, optimizados con los funcionales M05-2X y M06-2X. Las estructuras iniciales han sido tomadas de los fragmentos experimentales NDB ID 5ET9, BDL078 y BDL084. Se muestra una proyección con las bases apiladas superpuestas, todos los dúplex presentan una posición y parámetros geométricos semejantes.

En las optimizaciones realizadas a las tres conformaciones de  $(dGpdC)_2$  se mantiene el mismo empaquetamiento de todos los azúcares que el que se tenía en las estructuras experimentales. Siendo del tipo-B para los azúcares de las cadenas BB07 y el ubicado en 5'-fin de las cadenas BI-to-A, mientras que azúcar en la posición 3'-fin de estas últimas es del tipo-A.

### 3.2.2.3. Estructuras dTpdT:dApdA con las conformaciones BA05:BB04 y BB00:BB07

Se sabe que las bases Adenina-Timina (AT) predominan en intrones y, en general, en secuencias no codificantes de ADN. Se desconoce el papel de tales secuencias, sin embargo, dada su abundante presencia en variadas regiones del ADN es importante su estudio. Esto es lo que ha llevado a Acosta-Reyes et al. a sintetizar y estudiar distintos fragmentos de dodecámeros con todas las posibles secuencias de AT [51]. Siguiendo este criterio, se ha extraído la estructura dTpdT:dApdA con conformación BA05:BB04 del dúplex sintetizado por ellos, NDB ID NA2122, con secuencia  $d(AATAAATTTATT)_2$ .

La cadena dTpdT-BA05 presenta una notable superposición entre los anillos de las bases apiladas, mientras que en la cadena dApdA-BB04 esta es casi nula, con lo cual este dúplex

experimental no presenta reglas normales de superposición para ninguno de sus dDMPs.

En la Figura 3.18 se observan las reglas no normales de superposición en ambas cadenas de esta estructura experimental, teniendo un stacking notable en la cadena dTpdT-BA05 e insignificante en el dApdA-BB04 (esta cadena presenta torsiones de la *subclase X* después de las optimizaciones realizadas al cdDMP). También se muestra una comparación con el dúplex optimizado con el funcional M05-2X.

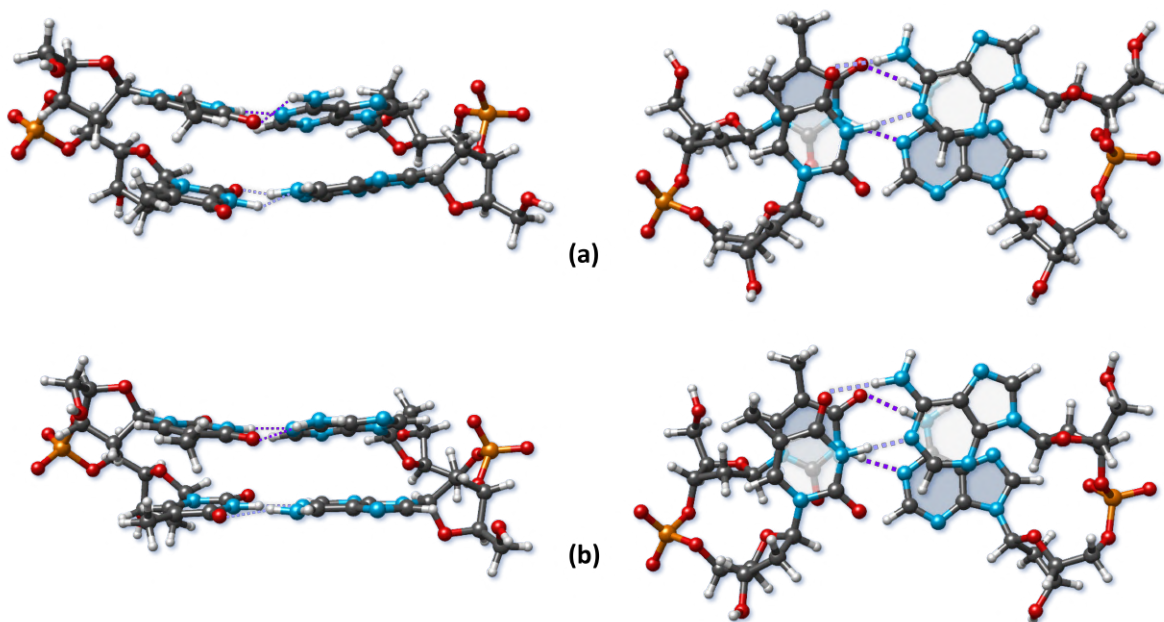


Figura 3.18: *Conformación experimental y optimizada de dTpdT:dApdA, con la cadena dTpdT de la NtC BA05 y la cadena dApdA de la NtC BB04. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela de los pares de bases y la superposición de las bases apiladas. (a) Estructura experimental, NDB ID NA2122. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X, la cual presenta cambio de conformación en la cadena dApdA (va a la subclase X).*

De todos los cálculos de optimización realizados a este dúplex con los funcionales PBE, PW91, M05-2X y PW91-ulg se tienen estructuras que van a una posición con aún más superposición entre las bases Timinas apiladas, la cual es mayor a la que se tiene en la cadena dApdA. En el caso de la estructura obtenida con PBE, la superposición entre los anillos de las bases Adeninas se puede considerar casi normal, pero en las demás optimizaciones realizadas esta es muy pequeña, véase Tabla 3.36.

En las estructuras optimizadas se han reproducido las regiones para las torsiones de la cadena dTpdT de la clase BA05; sin embargo, para la cadena dApdA-BB04 se tienen cambios en los ángulos de torsión  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ , teniendo así una conformación de la *subclase X*. En el caso de los dos resultados del funcional PW91-ulg se tiene una energía un poco más favorable en el cdDMP que se presenta el cambio de la clase BB04 a la *subclase X*.

Tabla 3.36: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA05 y BB04 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdT(BA05):dApdA(BB04).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BA05<sup>1</sup></b>	<b>131</b>	<b>184</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>169</b>	<b>52</b>	<b>104</b>	<b>251</b> <b>235</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	119	192	274	295	169	54	102	222 222	0.90	
	cdDMP	139	194	274	291	168	53	82	237 230	1.22	
	PBE	dDMP	141	196	282	289	169	53	80	227 249	3.54
	SPB	136	208	283	291	171	48	<b>137</b>			
dTpdT	cdDMP	141	193	277	291	163	54	82	240 227	2.00	
BA05	dDMP	141	189	274	293	164	57	81	235 234	3.47	
NA2122	SPB	140	191	276	293	163	48	<b>140</b>			
	PW91	cdDMP	139	192	280	294	170	54	101	238 234	1.51
	- ulg	cdDMP <sup>3</sup>	136	199	280	288	170	53	83	237 233	1.43
	PW91	cdDMP <sup>4</sup>	139	197	278	289	167	52	82	236 235	1.55
	MP2	SPB	140	204	284	289	170	47	<b>141</b>		
	<b>BB04<sup>1</sup></b>	<b>140</b>	<b>201</b>	<b>214</b>	<b>315</b>	<b>153</b>	<b>46</b>	<b>140</b>	<b>263</b> <b>256</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	136	195	199	318	143	56	144	253 233	0.12	
	cdDMP	148	194	188	<u>25</u>	<u>94</u>	45	124	239 244	0.93	
	PBE	dDMP	145	202	<b>168</b>	<b>16</b>	<b>94</b>	45	128	239 247	0.00
	SPB	142	<b>267</b>	<b>150</b>	<b>258</b>	<b>108</b>	43	132			
	SPB <sup>5</sup>	136	194	189	<b>26</b>	<b>89</b>	46	133			
	cdDMP	150	196	<b>180</b>	<b>11</b>	<b>100</b>	44	131	252 247	0.21	
dApdA	dDMP	144	195	<b>177</b>	<b>6</b>	<b>98</b>	47	131	274 249	2.95	
BB04	SPB	143	<b>268</b>	<b>156</b>	<b>254</b>	<b>104</b>	47	134			
NA2122	SPB <sup>5</sup>	141	200	199	<u>22</u>	<u>90</u>	51	140			
	PW91	cdDMP	142	204	195	<b>321</b>	<b>142</b>	53	141	252 242	0.19
	- ulg	cdDMP <sup>3</sup>	144	201	185	<b>25</b>	<b>92</b>	44	120	244 246	0.65
	PW91	cdDMP <sup>4</sup>	148	196	<b>184</b>	<b>24</b>	<b>94</b>	45	125	244 247	0.53
	MP2	SPB	143	<b>269</b>	<b>152</b>	<b>254</b>	<b>107</b>	44	135		
	SPB <sup>5</sup>	138	197	200	<u>23</u>	<u>89</u>	50	138			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA2122. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PW91-*ulg* y posteriormente con el funcional PW91PW91. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PW91-*ulg*. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PBEPBE.

Para evaluar la viabilidad de las regiones de las torsiones de la cadena dApdA de los dúplex optimizados, se sometió a cálculos el esqueleto azúcar-fosfato tomado del dúplex-PBE, con lo cual se obtuvieron mínimos de energía para SPB separado de esta *subclase X*. Sin embargo, de los cálculos realizados al SPB experimental no corresponde ningún mínimo a la clase BB04. Por otro lado, de las optimizaciones realizadas al SPB-BA05 se tuvo cambio de región para el ángulo  $\delta_2$ , correspondiendo a mínimo para la NtC BB00.

En cuanto a los dDMPs tomados del dúplex experimental para su optimización, no se obtuvieron estructuras viables con la mayoría de las metodologías empleadas para estas estructuras de superposiciones no normales. Para la cadena dTpdT-BA05 no se tienen cambios de región en ninguna de las torsiones, pero hay una mala posición de las bases, con una inclinación grande entre estas.

Del cálculo realizado a la cadena dApdA-BB07 con el funcional PBE se tienen los mismos cambios en las torsiones que en las optimizaciones realizadas al dúplex, además de un gran ángulo entre las bases. Sin embargo, con el funcional M05-2X se ha obtenido un dDMP con buena posición mutua de las bases apiladas, las cuales van a una conformación con mucha superposición entre sus anillos, i.e. regla normal, y con un cambio de torsiones correspondientes a la *subclase X*.

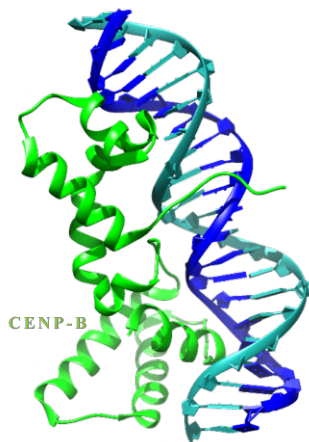


Figura 3.19: Estructura general del complejo de ADN y la proteína CENP-B, NDB ID PDB0192.

Para el estudio de complejos entre ADN-proteínas, y los posibles cambios en la conformación del ADN debido a la interacción entre ambos, se ha considerado el fragmento dTpdT:dApdA con conformación BB00:BB07, extraído de la estructura experimental NDB ID PD0192 [4] de secuencia d(GCCTTCGTTGGAAACGGGATT):d(AATCCCGTTTCCAACGAAGGC), la cual se encuentra en complejo con la proteína centromérica B, CENP-B. Dicha proteína es una de las principales implicadas en la formación del centrómero, región angosta de un cromosoma que lo separa en dos brazos, enlazándose al ADN centromérico repetitivo mediante el reconocimiento de la secuencia de 17 pares de bases conocida como *CENP-B box*.

En la Figura 3.20 se tiene un diagrama de la secuencia de nucleótidos de las dos cadenas del fragmento experimental considerado, en este se han marcado con letras azules las bases que conforman el cdDMP estudiado en esta sección. Como se puede observar, no forman parte de las bases esenciales para el enlace entre la proteína y el ADN; sin embargo, de acuerdo con Tanaka et al. [4], el grupo fosfato del dTpdT interacciona con R5 (aminoácido arginina en posición 5) mediante un *punte de sal*, mientras que el grupo fosfato de dApdA interacciona con N48 (aminoácido asparagina en posición 48) a través de una molécula de agua.

En un puente de sal entre una proteína y el ADN, el grupo guanidino del aminoácido arginina se enlaza al grupo fosfato del esqueleto azúcar-fosfato del ADN. Análisis bioinformáticos de contactos entre aminoácidos-ADN en estructuras cristalinas de alta resolución han mostrado que los enlaces arginina-fosfato, además de ser los modos de interacción más comunes entre

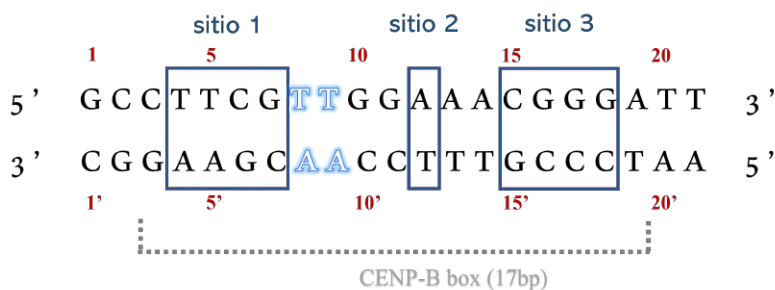


Figura 3.20: Secuencia de los 21 nucleótidos de ADN del fragmento PD0192, con la CENP-B box. Los tres cuadros, marcados como sitio 1, 2 y 3, indican aquellas bases esenciales para el enlace de la proteína CENP-B a la CENP-B box del ADN. Se han resaltado las bases nitrogenadas que conforman el cdDMP estudiado en este trabajo. Figura adaptada de [4].

histonas y ADN, son también una de las clases más comunes de interacción proteína-ADN en general [52, 53]. Son así una unión común que controla la funcionalidad y estabilidad de muchos diferentes complejos proteína-ADN.

Cálculos de DFT han demostrado que la combinación de secuencia, denticidad y la posición del puente de sal permiten a las histonas aplicar una tensión mecanoquímica sintonizable al ADN mediante la activación precisa y específica de las deformaciones del esqueleto [54].

Para estudiar las regularidades de formación de este fragmento mínimo de dúplex implicado en dichos procesos, se sometió a cálculos de optimización la estructura ya mencionada, dTpdT:dApdA, cuya cadena dTpdT en conformación de la NtC BB00 presenta una superposición grande entre los anillos de sus bases apiladas, por el contrario, la cadena dApdA cuya conformación es de la clase BB07 presenta una nula superposición.

De las optimizaciones realizadas con los funcionales PBE y M05-2X se han obtenido estructuras con reglas no normales de superposición para ambas cadenas, además de una buena posición mutual de sus pares de bases. Sin embargo, se tiene un cambio de conformación de los esqueletos azúcar-fosfato en dichas estructuras, pues, en la cadena dTpdT se presentó una variación en el ángulo  $\delta_2$  y en la cadena dApdA se presentan cambios en las torsiones  $\epsilon$ ,  $\zeta$  y  $\beta$ , nótese que estas regiones para  $\epsilon$  y  $\beta$  se tienen también en los cálculos efectuados al SPB-BB07. Así, las estructuras dTpdT:dApdA optimizadas muestran ángulos de torsión que van de las clases BB00:BB07 a las conformaciones BA05:BB00, véase Tabla 3.37.

Con el funcional M05-2X se han obtenido dos mínimos muy cercanos en energía, cuya diferencia radica en la superposición mostrada entre los anillos de las bases apiladas, siendo un poco diferente a la de la estructura experimental en el caso de la optimización realizada a la misma, mientras que, cualitativamente, los valores de superposición son muy parecidos a los de la estructura experimental cuando se emplea una ruta de cálculos distinta.

Tabla 3.37: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB00 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdT(BB00):dApdA(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b> <b>258</b>			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>137</b>	<b>191</b>	<b>263</b>	<b>300</b>	<b>174</b>	<b>45</b>	<b>143</b>	<b>258</b> <b>277</b>	<b>2.84</b>		
dTpdT BB00 PD0192	PBE	cdDMP	141	197	280	290	167	55	<u>90</u>	237	239	2.39
		dDMP	141	196	282	288	169	53	<u>80</u>	227	249	3.55
	SPB	dDMP <sup>3</sup>	141	196	282	289	169	53	<u>80</u>	227	249	3.56
		SPB	137	206	283	291	171	48	136			
	M05	cdDMP	141	193	275	290	166	56	<u>83</u>	236	231	<b>0.92</b>
		cdDMP <sup>4</sup>	142	192	276	291	164	56	<u>82</u>	240	<u>227</u>	1.85
	- 2X	dDMP	141	189	275	293	164	57	<u>81</u>	234	<u>234</u>	3.46
		SPB	140	191	276	293	163	48	141			
	PBE <i>D3-BJ</i>	dDMP	144	191	282	299	169	57	130	225	260	3.96
	PW91	dDMP	141	195	282	288	169	54	<u>80</u>	226	249	3.58
	<b>BB07<sup>1</sup></b>	<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b> <b>260</b>			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>151</b>	<b>224</b>	<b>189</b>	<b>303</b>	<b>155</b>	<b>47</b>	<b>149</b>	<b>266</b> <b>261</b>	<b>0.00</b>		
dApdA BB07 PD0192	PBE	cdDMP	145	<u>192</u>	<u>239</u>	301	<u>184</u>	53	145	241	260	0.02
		dDMP	146	218	182	313	147	51	144	241	259	0.00
	SPB	SPB	136	<b>198</b>	169	291	<u>186</u>	48	137			
		cdDMP	147	<u>175</u>	<u>255</u>	298	<u>193</u>	53	146	244	256	0.45
	M05	cdDMP <sup>4</sup>	148	<u>184</u>	<u>242</u>	300	<u>187</u>	52	147	242	256	0.05
		dDMP	148	<u>204</u>	<u>207</u>	306	166	50	147	248	259	0.00
	- 2X	dDMP	148	<u>204</u>	<u>207</u>	306	166	50	147	248	259	0.00
		SPB	141	<b>195</b>	166	295	<u>188</u>	48	142			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex PD0192. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el funcional M05-2X. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PBE-PBE.

Para los dos fragmentos de cadenas únicas, dDMPs, tomados de este dúplex no se obtuvieron estructuras viables con ninguna de las metodologías empleadas, excepto un único caso, pues se tienen ángulos grandes entre las bases apiladas. La consideración de las interacciones de stacking en el funcional M05-2X y la dispersión en el funcional PBE-D3BJ ayudó un poco, pero no lo suficiente. En cuanto al único caso viable corresponde a la cadena dApdA-BB07 optimizada con el funcional M05-2X, esta presenta una regla no normal con cero stacking, pero tiene cambios en sus torsiones yendo a regiones para la NtC BB04.

### 3.2.3. Fragmentos mínimos de dúplex con una o ambas cadenas en conformación de la NtC BB12

Dada la importancia de las estructuras de la clase conformacional BB12, la cual se ha definido como una conformación que corrige las deformaciones de la doble hélice del ADN que son inducidas por interacciones con una proteína [41], y ya que se ha comprobado que esta tiene mínimos de energía para SPBs separados, se han sometido a cálculos de optimización distintas estructuras para evaluar y elucidar las regularidades de formación de los dúplex con una o ambas cadenas de esta clase.

A pesar de la mencionada existencia de esta NtC como correctora de las deformaciones del ADN inducidas por proteínas, sólo uno de los dúplex que se han considerado en este estudio se encuentra en un complejo ADN-proteína, NDB ID NA0318. Los otros dos fragmentos de ADN experimentales se hallan solos.

#### 3.2.3.1. Estructuras de dGpdT:dApdC con una de sus cadenas de la clase BB12

Del fragmento experimental NDB ID 5GUN [55], de secuencia  $d(\text{GTGGAATGGAAC})_2$ , se ha extraído el dúplex dApdC:dGpdT con la cadena dApdC de la NtC BB12 y la cadena dGpdT como BB02. Ambos dDMPs presentan una superposición normal de las bases apiladas en la estructura experimental, siendo un poco más pequeña en la cadena dGpdT-BB02.

Se han realizado cálculos a este dúplex con distintas metodologías y rutas de optimización. En el caso de los funcionales PBE y PW91, empleados en el programa Gaussian, no han reproducido buenas estructuras que sean viables pues se tiene un ángulo grande entre los pares de bases apilados, además de la formación de enlaces de hidrógeno artificiales. En la Figura 3.21 se muestra un ejemplo de estos resultados.

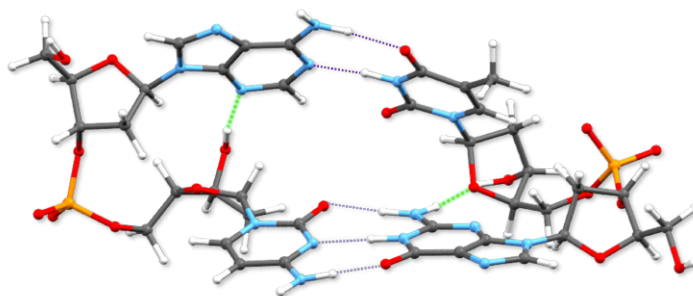


Figura 3.21: Estructura optimizada con el funcional PBE/PBE del fragmento dApdC:dGpdT con la cadena dApdC de la NtC BB12 y la cadena dGpdT BB02. Se encuentran indicados con verde los enlaces de hidrógeno artificiales formados. Se puede observar los pares de bases apilados en una posición con un Roll de  $-54.8^\circ$ .

Por otro lado, de las optimizaciones realizadas con diferentes rutas de cálculos empleando los funcionales M05-2X, PW91-ulg, PW91 (en el programa ADF) y con el campo de fuerzas AMBER OL15 se tienen conformaciones viables con parámetros aceptables de posición mutua de las bases y de los pares de bases. En la mayoría de estas estructuras optimizadas no se tienen

cambios de conformación en la cadena dApdC, siendo esta de la clase BB12; mientras que se tienen cambios de región de los ángulos de torsión  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  en dGpdT-BB02, estos dos últimos se presentan también en los SPBs optimizados, en varios casos se tiene también cambio en el ángulo glucosídico del primer nucleósido ( $\chi_1$ ) de esta cadena, veáse Tabla 3.38.

En adición, se tiene cambio en la superposición de los anillos de las bases apiladas en la cadena de secuencia dGpdT, siendo menor que la que se tiene en la estructura experimental, e incluso yendo a una regla no normal. En el dApdC-BB12 se observa una superposición normal para dicha secuencia.

En la Figura 3.22 se puede ver la superposición de las bases en la estructura experimental y el ligero cambio en la cadena dGpdT como resultado de la optimización realizada con el funcional M05-2X. Cabe mencionar que al hacer una optimización a este resultado con el funcional PW91-ulg se obtuvo una conformación semejante con un h-Rise más grande, el cual asegura la eliminación de cualquier contacto corto entre los átomos de las bases apiladas.

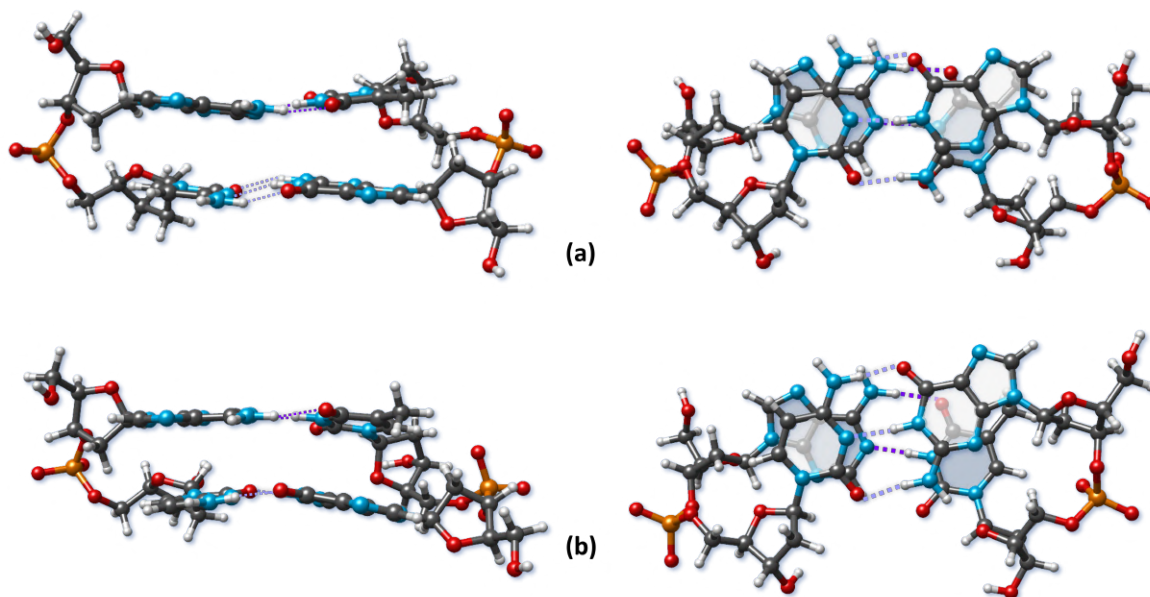


Figura 3.22: *Conformación experimental y optimizada de dApdC:dGpdT, con dApdC (cadena izquierda) de la NtC BB12 y dGpdT (cadena derecha) de la NtC BB02. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela de los pares de bases y la superposición de las bases apiladas. (a) Estructura experimental, NDB ID 5GUN. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X.*

Para las cadenas únicas de este dúplex, en el caso de dApdC-BB12 sólo se ha obtenido un buen resultado con los funcionales M05-2X y PW91-ulg, correspondiendo a la misma clase y mostrando reglas normales de superposición. En cuanto a la cadena dGpdT-BB02 se tienen cambios en las torsiones  $\alpha$  y  $\beta$  como en las optimizaciones realizadas al dúplex, mostrando reglas normales de superposición; en este caso ha sido M05-2X quien ha reproducido una mejor posición de las bases, siendo aceptables los resultados de PBE y PW91-ulg.

Tabla 3.38: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB12 y BB02 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdC(BB12):dGpdT(BB02).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BB12<sup>1</sup></b>	<b>140</b>	<b>196</b>	<b>280</b>	<b>257</b>	<b>76</b>	<b>171</b>	<b>140</b>	<b>269</b>	<b>205</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	131	196	276	259	84	163	144	258	198	3.62	
dApdC BB12 5GUN	PBE	cdDMP	146	203	276	284	93	176	149	<b>231</b>	199	1.13
		cdDMP <sup>3</sup>	146	204	273	<b>289</b>	92	173	150	<b>228</b>	192	<b>0.00</b>
		dDMP	142	199	268	280	84	170	148	<b>231</b>	196	<b>0.00</b>
		SPB	138	207	285	269	73	189	<b>73</b>			
	M05 - 2X	cdDMP	149	200	287	258	76	171	141	253	201	4.05
		cdDMP <sup>4</sup>	143	200	278	264	73	171	147	259	198	4.35
		dDMP	148	201	285	259	73	170	144	253	205	3.11
	PW91 - ulg	SPB	141	203	279	271	79	178	165			
		cdDMP	135	195	279	266	74	171	142	262	207	3.57
		cdDMP <sup>5</sup>	146	201	287	261	78	171	137	254	201	4.15
		cdDMP <sup>4</sup>	133	196	276	273	85	177	136	261	184	1.95
		cdDMP <sup>6</sup>	138	201	278	267	81	171	139	258	197	4.45
		dDMP	133	197	278	265	77	171	140	257	202	3.54
	PW91(ADF)	SPB	131	200	278	267	79	173	129			
		cdDMP <sup>5</sup>	144	203	286	260	82	170	133	253	200	4.16
		cdDMP	146	204	272	<b>289</b>	92	173	151	228	191	<b>0.00</b>
		cdDMP <sup>7</sup>	146	201	279	267	82	172	143	243	201	4.12
	PW91	cdDMP <sup>3</sup>	148	203	280	270	84	171	145	241	201	3.79
cdDMP		134	193	273	276	75	179	141	264	182	1.99	
OL15	cdDMP	134	193	273	276	75	179	141	264	182	1.99	
MP2	SPB	140	201	281	272	77	183	<b>107</b>				
	<b>BB02<sup>1</sup></b>	<b>141</b>	<b>194</b>	<b>246</b>	<b>31</b>	<b>195</b>	<b>297</b>	<b>150</b>	<b>252</b>	<b>253</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	152	194	232	39	168	307	159	243	267	2.17	
dGpdT BB02 5GUN	PBE	cdDMP	144	189	<b>213</b>	<b>66</b>	<b>138</b>	<b>343</b>	156	<b>203</b>	256	<b>0.00</b>
		cdDMP <sup>3</sup>	136	186	223	41	<b>148</b>	<b>39</b>	139	<b>194</b>	239	<b>0.00</b>
		dDMP	140	197	227	<b>66</b>	166	289	155	<b>218</b>	259	1.49
		dDMP <sup>3</sup>	142	193	218	60	<b>143</b>	<b>331</b>	161	<b>204</b>	272	1.41
	M05 - 2X	SPB	<b>110</b>	196	<b>167</b>	<b>76</b>	<b>116</b>	288	161			
		cdDMP	147	189	<b>216</b>	<b>67</b>	<b>135</b>	317	166	<b>213</b>	276	<b>0.71</b>
		cdDMP <sup>4</sup>	154	193	217	<b>64</b>	<b>133</b>	307	159	<b>221</b>	269	<b>1.06</b>
	PW91 - ulg	dDMP	149	188	217	<b>69</b>	<b>128</b>	308	159	<b>218</b>	271	2.13
		SPB	<b>119</b>	194	<b>163</b>	<b>61</b>	<b>128</b>	286	147			
		cdDMP	150	191	221	59	<b>154</b>	298	159	248	273	1.37
		cdDMP <sup>5</sup>	146	187	217	<b>67</b>	<b>134</b>	316	161	<b>221</b>	270	<b>0.71</b>
		cdDMP <sup>4</sup>	149	199	226	<b>67</b>	<b>156</b>	290	152	<b>217</b>	240	0.27
		cdDMP <sup>6</sup>	150	197	222	<b>64</b>	<b>147</b>	298	155	225	259	<b>0.65</b>
	PW91(ADF)	dDMP	143	199	218	<b>65</b>	<b>158</b>	294	152	226	267	2.15
		SPB	137	205	<b>209</b>	<b>62</b>	<b>146</b>	289	160			
		cdDMP <sup>5</sup>	144	191	<b>216</b>	<b>65</b>	<b>136</b>	317	158	<b>221</b>	267	<b>0.57</b>
		cdDMP	136	185	222	44	145	<b>39</b>	139	<b>192</b>	238	<b>0.00</b>
	PW91	cdDMP <sup>7</sup>	142	185	<b>207</b>	<b>62</b>	140	<b>336</b>	160	<b>220</b>	268	<b>0.74</b>
cdDMP <sup>3</sup>		144	188	<b>214</b>	<b>64</b>	138	<b>339</b>	159	<b>206</b>	265	<b>0.09</b>	
OL15	cdDMP	145	194	231	57	<b>161</b>	300	156	<b>211</b>	240	<b>0.37</b>	

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5GUN. <sup>3</sup>Previamente optimizado con M05-2X y PW91-ulg. <sup>4</sup>Previamente optimizado con OL15. <sup>5</sup>Previamente optimizado con M05-2X. <sup>6</sup>Previamente optimizado con OL15 y M05-2X. <sup>7</sup>Previamente optimizado con PW91-ulg.

Tabla 3.39: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB12 y BB15 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdT(BB12):dApdC(BB15).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$			
dGpdT BB12 UDJ060	BB12 <sup>1</sup>	140	196	280	257	76	171	140	269	205			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	158	217	251	247	72	164	148	276	210	1.72		
	PBE	cdDMP	143	202	268	271	73	167	151	245	207	1.15	
		dDMP <sup>3</sup>	147	213	277	274	102	174	131	219	201	0.00	
		dDMP <sup>3,4</sup>	140	216	279	275	101	174	130	210	200	0.00	
		dDMP <sup>5</sup>	147	207	279	274	106	174	131	223	200	0.00	
	M05	SPB <sup>3</sup>	115	199	276	276	83	175	162				
		cdDMP	144	191	269	264	70	168	157	257	206	0.94	
	- 2X	cdDMP <sup>6</sup>	139	196	265	268	69	167	154	262	204	1.47	
		dDMP <sup>3</sup>	143	198	280	263	75	173	147	258	201	4.03	
	PW91- <i>ulg</i>	SPB	133	201	278	273	79	177	165				
		cdDMP <sup>4</sup>	140	191	273	266	71	170	152	261	209	1.10	
		PW91(ADF)	cdDMP <sup>4</sup>	139	194	271	265	73	169	150	260	210	1.00
		PW91	cdDMP <sup>7</sup>	143	201	268	270	74	166	151	247	210	1.00
		OL15	cdDMP	128	186	265	272	61	171	155	267	202	2.43
		ff99	dDMP	129	192	278	277	67	181	147	270	203	2.18
		MP2	dDMP	130	183	270	266	70	171	158	266	202	4.20
dApdC BB15 UDJ060	BB15 <sup>1</sup>	144	189	257	345	189	350	148	250	262			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	132	195	254	344	166	3	148	245	276	2.42		
	PBE	cdDMP	143	193	274	297	167	58	96	245	236	2.74	
		dDMP	142	206	286	282	177	51	118	236	249	2.58	
		dDMP <sup>4</sup>	142	206	286	282	177	51	118	236	249	2.56	
		SPB	137	207	283	291	172	49	136				
	M05	cdDMP	145	188	276	295	163	57	85	249	223	3.68	
		cdDMP <sup>6</sup>	143	188	275	297	166	55	119	247	242	3.42	
	- 2X	dDMP	143	188	274	296	167	56	111	244	238	3.20	
		SPB	141	205	284	289	172	47	142				
	PW91- <i>ulg</i>	cdDMP <sup>4</sup>	143	188	279	296	166	56	89	251	226	3.51	
	PW91 (ADF)	cdDMP <sup>4</sup>	143	189	278	295	167	57	87	250	226	3.51	
	PW91	cdDMP <sup>7</sup>	143	193	276	294	166	56	84	247	232	2.78	
	OL15	cdDMP	139	176	274	298	163	57	123	256	239	3.14	
	MP2	SPB	140	207	287	288	171	46	140				

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex UDJ060. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>4</sup>Resultado obtenido de estructura previamente optimizada con el funcional M05-2X. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99. <sup>6</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas OL15. <sup>7</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X y posteriormente con PW91-*ulg*.

Continuando con este estudio, se extrajo del fragmento experimental NDB ID UDJ060 [56], de secuencia  $d(\text{CGACGATCGT})_2$ , la estructura  $d\text{GpdT}:d\text{ApdC}$  con la cadena  $d\text{GpdT}$  de la clase NtC BB12 y la cadena  $d\text{ApdC}$  BB15. Ambas cadenas de este dúplex presentan reglas normales de superposición de las bases apiladas, siendo un poco menor en la cadena de secuencia  $d\text{GpdT}$ , tal como en la estructura anterior (aunque son de distintas NtCs). Los resultados obtenidos de las optimizaciones realizadas se encuentran en la Tabla 3.39.

Al igual que en el caso anterior, los funcionales PBE y PW91, en Gaussian, no han reproducido una buena posición de los pares de bases apilados (y muestran enlaces artificiales entre las bases Guanina-Timina) a pesar de las diferentes rutas de cálculos empleadas; sólo en el caso de emplear como inicial el resultado de M05-2X se ha tenido menos distorsión, pero aun así es una estructura no viable.

Con el funcional M05-2X se han obtenido dos mínimos diferentes para este dúplex, siendo 2.29 kcal/mol más favorable el que se tiene directamente de la estructura experimental. En ambos casos se tiene una superposición normal en la cadena  $d\text{ApdC}$ , la mayor diferencia entre ambos mínimos es en la conformación de este dDMP y en la superposición cuantitativa entre las bases apiladas del  $d\text{ApdC}$ .

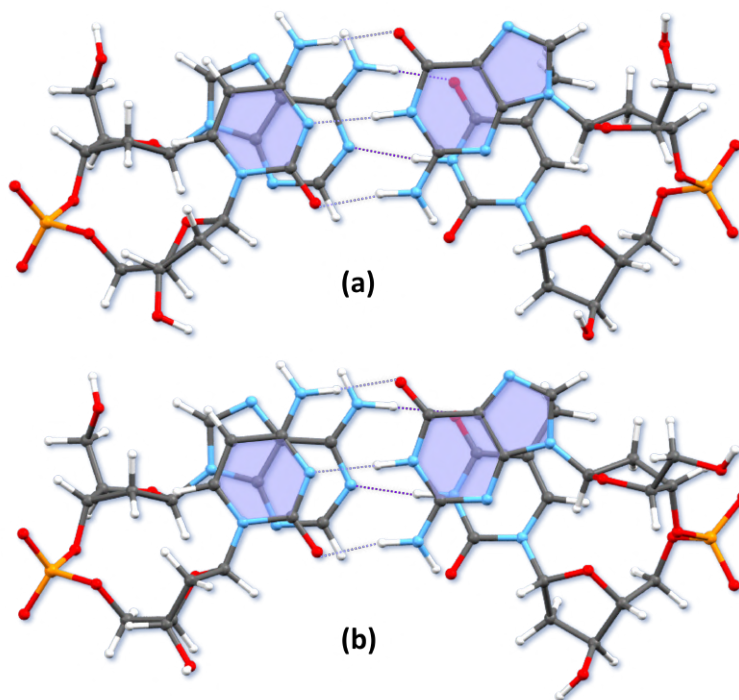


Figura 3.23: Conformaciones de  $d\text{ApdC}:d\text{GpdT}$  optimizadas por distintas rutas con el funcional M05-2X, con  $d\text{ApdC}$  (cadena izquierda) de la NtC BB15 y  $d\text{GpdT}$  (cadena derecha) de la NtC BB12. La proyección muestra la superposición de las bases apiladas. (a) Resultado obtenido de la estructura experimental, presenta cambio de conformación:  $d\text{ApdC-BA01}$ . (b) Resultado obtenido de la estructura optimizada con el campo de fuerzas AMBER OL15, presenta cambio de conformación:  $d\text{ApdC-BB01}$ .

En la optimización realizada con el funcional M05-2X, a la estructura experimental, hay cambio de región en los ángulos  $\alpha$ ,  $\gamma$  y  $\delta_2$  de la cadena dApdC, correspondiendo a BA01, y la cadena dGpdT presenta una superposición prácticamente no normal para su secuencia. Por otra parte, de la optimización realizada al cdDMP -resultado del campo de fuerzas OL15- se tiene que la cadena dApdC corresponde a la NtC BB01 y en el dGpdT se observa una superposición notable entre los anillos de las bases apiladas.

Esta diferencia de superposiciones en los dos mínimos obtenidos con M05-2X pueden apreciarse un poco en la Figura 3.23. Nótese que el resultado de la optimización realizada a la estructura experimental es parecido al obtenido para el dúplex anterior de igual secuencia pero con distinta conformación, teniendo una mayor superposición en las cadenas dApdC y mucho menor, casi no normal, en las cadenas dGpdT, ambas estructuras con las conformaciones dApdC(BB12):dGpdT(BB02<sup>1</sup>) y dApdC(BA01):dGpdT(BB12).

Del estudio realizado a los dDMPs solos, para la cadena dGpdT-BB12 no se tienen buenos resultados con ninguna de las rutas empleadas con el funcional PBE, mientras que de los cálculos realizados con M05-2X, MP2 y el campo de fuerzas ff99 se han reproducido todas las características de la estructura experimental, con superposición de sus bases normal. En cuanto a la cadena dApdC-BB15 sólo M05-2X dio una buena estructura, la cual presenta reglas normales de superposición, pero se tiene cambio de conformación hacia la NtC BA05, muy cercano a lo que se observó en las optimizaciones realizadas al dúplex.

### 3.2.3.2. Estructura de dGpdA:dTpdC con ambas cadenas en conformación de la clase BB12

Dada la importancia de la clase conformacional BB12 en los complejos entre ADN-proteínas al componer las deformaciones en la doble hélice inducidas por las segundas, se extrajo del fragmento experimental NDB ID NA0318 [57], de secuencia d(TTAGGATCCTTCAAAAAGGCAGA):d(TCTGCCTTTTTTGAAGGATCCTAA), la estructura dGpdA:dTpdC cuyos dDMPs complementarios son de la NtC BB12 y ambos presentan reglas normales de superposición de las bases.

Este fragmento experimental se encuentra interaccionando con un derivado de la endonucleasa I-CreI. Las endonucleasas dirigidas constituyen una posible estrategia para reparar las lesiones del ADN al surgir como bisturíes moleculares altamente específicos que reconocen y escinden, o en otras palabras, eliminan nucleótidos dañados junto con un segmento circundante de ADN. Dicha endonucleasa, I-CreI, ha sido propuesta por Redondo et al. [57] como terapia génica para los pacientes con xeroderma pigmentoso, enfermedad hereditaria caracterizada por hipersensibilidad a la luz ultravioleta, en la cual los pacientes tienen defectos en la reparación por escisión de nucleótidos presentando una fuerte predisposición a desarrollar cánceres de piel.

De las optimizaciones realizadas con el funcional PBE por tres rutas de cálculos distintos, a pesar de tener todos los ángulos de torsión en las regiones iniciales, se ha obtenido la misma

---

<sup>1</sup>Después de las optimizaciones realizadas se tiene cambio en algunas de las regiones de las torsiones de esta cadena, no correspondiendo a la NtC BB02.

conformación con un ángulo Roll de más de  $70^\circ$  entre los pares de bases apilados, y con la formación de enlace de hidrógeno entre las bases purinas.

Los campos de fuerzas AMBER BSC1 y OL15 han reproducido las características de la estructura experimental, con cambio en la torsión  $\epsilon$  de la cadena dTpdC, originado sólo por OL15, véase Tabla 3.40.

Los cálculos de optimización realizados con el funcional M05-2X han resultado en el mismo mínimo, cuyas características conformacionales son iguales a las del cdDMP experimental. Además, M05-2X ha regresado el ángulo de torsión  $\epsilon$  a su región original en la estructura que OL15 provocó una desviación de este. En la Figura 3.24 se muestran las conformaciones experimental y optimizada, la cual retiene la substancial superposición entre las bases purinas apiladas y la superposición casi nula entre los anillos de las pirimidinas.

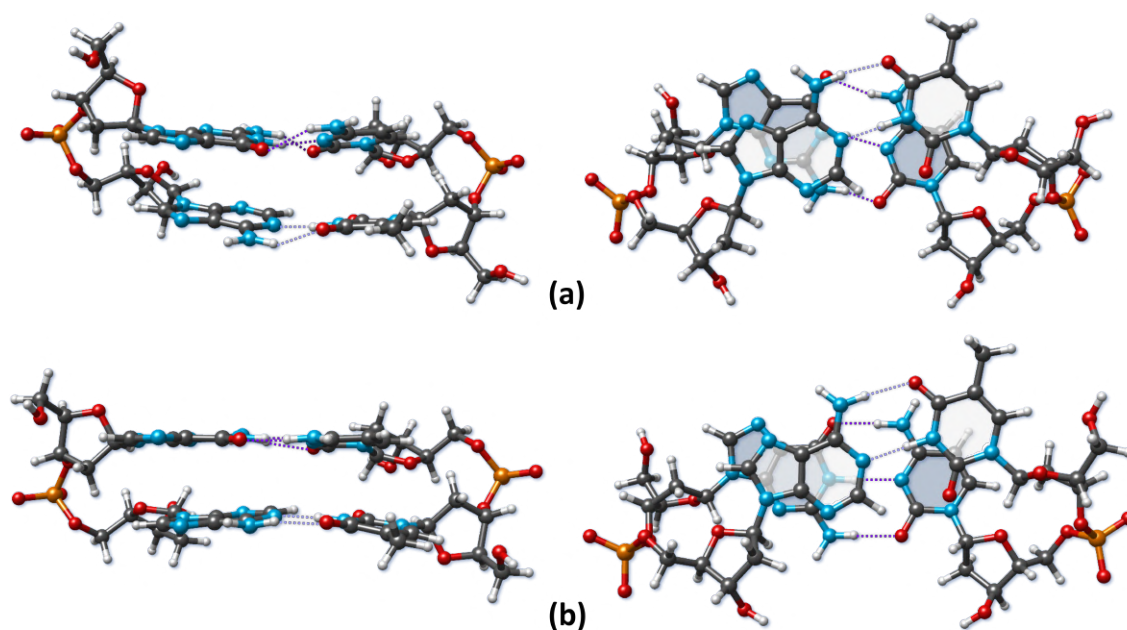


Figura 3.24: Conformaciones experimental y optimizada de dGpdA:dTpdC. Ambas cadenas corresponden a la NtC BB12. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela entre los pares de bases apilados y la substancial superposición entre los anillos de las bases purinas. (a) Estructura experimental, NDB ID NA0318. (b) Estructura optimizada empleando el funcional M05-2X. Figura publicada en [1].

Para la cadena dGpdA se han obtenido estructuras viables con todas las rutas de cálculos empleadas, mostrando reglas normales de superposición para esta secuencia con dDMP BB12, ver Tabla 3.40. El funcional M05-2X ha reproducido una mejor posición mutua de las bases apiladas. Sin embargo, para la cadena dTpdC el funcional PBE no ha dado como resultado estructuras viables, mientras que el campo de fuerzas BSC1 sí, aunque presenta cambio en la regla de superposición. El funcional M05-2X arregló esta regla no normal, dando resultados semejantes a los de la estructura experimental mediante las diferentes rutas de cálculos empleadas.

Tabla 3.40: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para ambas cadenas BB12 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdA(BB12):dTpdC(BB12).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$
	<b>BB12<sup>1</sup></b>	<b>140</b>	<b>196</b>	<b>280</b>	<b>257</b>	<b>76</b>	<b>171</b>	<b>140</b>	<b>269</b>	<b>205</b>	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	149	185	272	264	75	179	142	283	218	2.89
	cdDMP	142	204	264	283	81	169	149	242	203	0.00
	cdDMP <sup>3,4</sup>	142	203	263	284	81	167	150	240	204	0.00
	cdDMP <sup>5</sup>	142	203	263	284	81	168	150	240	204	0.00
	dDMP	146	205	288	257	86	174	137	235	202	3.89
	dDMP <sup>4</sup>	146	205	288	257	86	174	137	235	201	3.89
	SPB	134	200	276	275	83	179	127			
dGpdA	cdDMP	147	202	287	262	76	174	138	252	193	4.16
BB12	cdDMP <sup>4</sup>	147	203	287	263	75	174	138	253	193	4.15
NA0318	M05	cdDMP <sup>5</sup>	148	202	287	263	76	174	253	193	4.17
	- 2X	dDMP	149	202	288	258	76	173	247	201	4.20
		dDMP <sup>4</sup>	148	202	288	258	76	173	247	201	4.20
		SPB	139	199	276	276	84	177	139		
	BSC1	cdDMP	132	196	275	276	66	183	262	191	3.70
	OL15	cdDMP	121	187	270	283	79	178	268	185	3.51
	MP2	SPB	138	198	278	276	82	179			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	119	192	267	272	72	165	151	259	206	0.35
	cdDMP	139	203	267	283	84	171	148	235	195	0.00
	cdDMP <sup>3,4</sup>	139	203	267	283	83	171	148	236	195	0.00
	cdDMP <sup>5</sup>	139	203	267	282	83	170	148	236	195	0.00
	dDMP	142	206	285	261	84	173	131	230	212	1.13
	dDMP <sup>6</sup>	142	206	285	261	84	173	132	230	211	1.08
	dDMP <sup>4</sup>	142	206	285	261	84	173	132	230	211	1.09
	SPB	135	201	276	275	83	179	126			
dTpdC	cdDMP	143	202	283	262	74	173	145	241	197	0.28
BB12	cdDMP <sup>4</sup>	143	202	283	262	74	173	145	241	197	0.30
NA0318	M05	cdDMP <sup>5</sup>	143	202	283	262	74	173	241	197	0.28
	- 2X	dDMP	144	202	285	262	75	174	239	200	0.57
		dDMP <sup>6</sup>	143	201	284	263	75	174	241	198	0.51
		dDMP <sup>4</sup>	144	203	286	261	75	174	239	200	0.58
		SPB <sup>3</sup>	139	199	276	276	84	178	137		
	BSC1	cdDMP	143	203	284	268	63	180	244	194	0.40
		dDMP	143	204	284	267	63	176	242	204	1.40
	OL15	cdDMP	140	344	281	271	72	180	249	186	0.43

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA0318. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas BSC1. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas OL15. <sup>6</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el campo de fuerzas BSC1.

### 3.2.4. Fragmentos mínimos de dúplex con sólo una de sus cadenas de la NtC BA09

Para evaluar las regularidades de formación de los dúplex con uno de sus dDMPs de la clase BA09, la cual presenta mínimos de energía para SPB separado, y saber si estos presentan reglas normales de superposición, se han sometido a optimización seis fragmentos mínimos de dúplex de distintas estructuras experimentales. Estos presentan sus cadenas complementarias en una de las siguientes clases conformacionales: AA00, BB00 o BB07.

Recordar que, de los resultados obtenidos en la Sección 3.1.2, se tiene que esta clase NtC permite el cambio de conformación hacia la clase BB12, la cual es importante en interacciones ADN-proteínas. Dichas NtCs difieren entre sí sólo en la torsión  $\delta_2$ , siendo del tipo-A en BA09 y del tipo-B en BB12.

#### 3.2.4.1. cdDMPs con una de sus cadenas de la NtC BA09 y la cadena complementaria de la clase AA00

El primer cdDMP estudiado con estas conformaciones se ha extraído del fragmento experimental 1I1P [58], de secuencia d(CCTCG CTCTC):d(GAGAGCGAGG), esta estructura dApdG:dCpdT presenta para dichas secuencias superposiciones normales de las bases apiladas, en donde la cadena dApdG es de la NtC BA09 y la cadena dCpdT corresponde a la clase AA00.

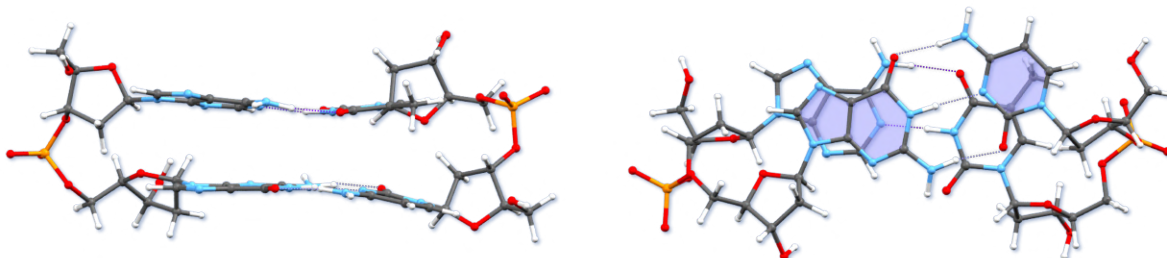


Figura 3.25: *Conformación de dApdG:dCpdT optimizada con el funcional M05-2X, con la cadena dApdG de la NtC BB12\* y la cadena dCpdT de la clase AA00. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela entre los pares de bases apilados y la substancial superposición entre los anillos de las bases purinas.*

En la Tabla 3.41 se presentan los resultados obtenidos de las distintas optimizaciones realizadas a los componentes de esta estructura. Aunque el funcional PBE mantiene todas las regiones de los ángulos de torsión de ambas cadenas, no reprodujo una buena posición mutua de los pares de bases, ya que se tiene un ángulo Roll de  $-58^\circ$ , además de la formación de un enlace de hidrógeno entre bases cruzadas de distinta cadena.

Por otro lado, el funcional M05-2X ha reproducido la superposición normal presente en ambas cadenas de la estructura experimental, con una posición mutua de los pares de bases casi paralelos, como se puede observar en la Figura 3.41, pero se tiene un cambio de conformación

en la cadena dApdG, pues se tiene otra región para la torsión  $\delta_2$ , correspondiendo así a la clase BB12. Este cambio se ha obtenido también en la optimización realizada con el funcional PBE al SPB separado.

En cuanto a las cadenas únicas separadas se tiene para dApdG-BA09 una reproducción de las regiones para las torsiones de esta clase, así como una superposición normal de las bases purinas apiladas. Por otro lado, aunque de los cálculos realizados a la cadena dCpdT-AA00 se tienen los ángulos de torsión en las mismas regiones de la estructura experimental ninguna de las metodologías empleadas ha reproducido una estructura viable con una posición aceptable de las bases apiladas.

Tabla 3.41: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA09 y AA00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdG(BA09):dCpdT(AA00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
<b>BA09<sup>1</sup></b>		<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>265</b>	<b>186</b>		
dApdG BA09 111P	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	133	206	282	269	65	188	94	273	182	3.87	
	PBE	cdDMP	146	210	287	266	73	182	77	241	196	3.64
		dDMP	146	211	293	259	85	182	95	235	182	3.78
		SPB	134	201	276	275	83	179	127			
	M05 - 2X	cdDMP	149	203	288	262	75	175	133	249	194	4.43
		dDMP	150	209	297	257	71	183	81	251	181	4.13
		SPB	140	199	279	274	81	180	79			
MP2	SPB	139	199	280	275	79	181	78				
<b>AA00<sup>1</sup></b>		<b>82</b>	<b>206</b>	<b>288</b>	<b>293</b>	<b>173</b>	<b>55</b>	<b>82</b>	<b>199</b>	<b>200</b>		
dCpdT AA00 111P	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	82	189	289	307	184	42	92	203	225	0.00	
	PBE	cdDMP	93	192	275	303	164	63	77	200	208	0.00
		dDMP	82	206	286	296	172	58	79	188	221	0.01
		SPB	116	282	304	294	148	51	85			
	M05 - 2X	cdDMP	82	199	288	292	173	59	78	195	211	0.04
		dDMP	83	201	291	292	171	61	77	187	210	0.00
		SPB	102	182	277	293	170	57	101			
MP2	SPB	102	182	277	295	168	56	99				

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 111P.

Otra estructura preparada y estudiada es dTpdG:dCpdA, donde la cadena dTpdG es de la NtC BA09 y dCpdA de la clase AA00, la cual presenta una superposición normal en la cadena dCpdA, pero tiene una substancial superposición entre los anillos de las bases apiladas en la cadena dTpdG. Este dúplex ha sido extraído del fragmento experimental PD0426 [59], de secuencia  $d(\text{GCATATCAATTTGTTGCAT})_2$ , el cual corresponde a un complejo entre ADN y la proteína HU, proteína enlazante al ADN.

Esta proteína HU, miembro de una familia de proteínas procarióticas, interactúa con el surco menor del ADN de una manera no específica de secuencia para inducir y/o estabilizar la flexión del ADN. HU desempeña funciones arquitectónicas en el inicio de la replicación, la regulación de la transcripción y la recombinación específica del sitio, y está asociada con nucleoides

bacterianos. De acuerdo con Swinger et al. [59] HU estabiliza diferentes ángulos de flexión del ADN (aproximadamente 105°-140°).

De los cálculos de optimización realizados a esta estructura dTpdG:dCpdA se han obtenido dos conformaciones con regularidades diferentes, una con PBE y la otra con M05-2X, ambas con una posición mutual casi paralela de los pares de bases apilados y con cambio de conformación en la cadena dTpdG pues va a regiones para la clase BB12 (mismo cambio presente en las optimizaciones realizadas al SPB separado). En el caso del mínimo obtenido con PBE se tienen reglas de superposición como en la estructura experimental, siendo no normal en la cadena dTpdG, mientras que en el mínimo que es resultado del funcional M05-2X la estructura presenta reglas normales para ambas cadenas, ver Tabla 3.42.

Tabla 3.42: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA09 y AA00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdG(BA09):dCpdA(AA00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$
<b>BA09<sup>1</sup></b>		<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>265</b>	<b>186</b>	
dTpdG BA09 PD0426	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	131	201	316	230	88	169	94	244	203	2.14
	cdDMP <sup>3</sup>	145	207	287	265	84	177	120	241	189	1.12
	PBE dDMP	144	198	289	259	107	187	75	219	241	0.00
	SPB	138	207	286	268	71	190	73			
	SPB	134	201	276	275	83	179	127			
	M05 cdDMP	147	202	292	258	76	175	134	243	189	0.77
	- 2X SPB	140	199	277	275	84	178	138			
MP2 SPB	138	199	278	276	82	179	131				
<b>AA00<sup>1</sup></b>		<b>82</b>	<b>206</b>	<b>288</b>	<b>293</b>	<b>173</b>	<b>55</b>	<b>82</b>	<b>199</b>	<b>200</b>	
dCpdA AA00 PD0426	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	80	214	277	299	162	51	81	210	218	0.34
	PBE cdDMP	84	205	284	292	176	56	79	200	216	0.00
	SPB	102	187	276	293	168	55	92			
	M05 cdDMP	81	207	291	285	181	54	78	198	211	0.00
	dDMP	81	201	290	289	175	57	78	196	215	0.00
	- 2X SPB	102	182	277	294	170	57	101			
MP2 SPB	102	182	277	295	168	57	99				

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex PD0426. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización.

Para visualizar mejor este cambio de superposición entre ambos mínimos obtenidos con los funcionales PBE y M05-2X, en la Figura 3.26 se muestra la proyección de ambas estructuras con sus bases apiladas, respectivamente. Este cambio de regularidades puede deberse a la falta de la interacción con la proteína que se encuentra el fragmento experimental, además de que M05-2X considera principalmente las interacciones de stacking. Ambos mínimos son viables y muestra la posibilidad de diferentes regularidades para este tipo de conformación.

A pesar de no presentar cambios grandes en las torsiones del esqueleto azúcar-fosfato de los dDMPs optimizados, no se han reproducido estructuras viables para ninguna de las cadenas únicas de este dúplex estudiado.

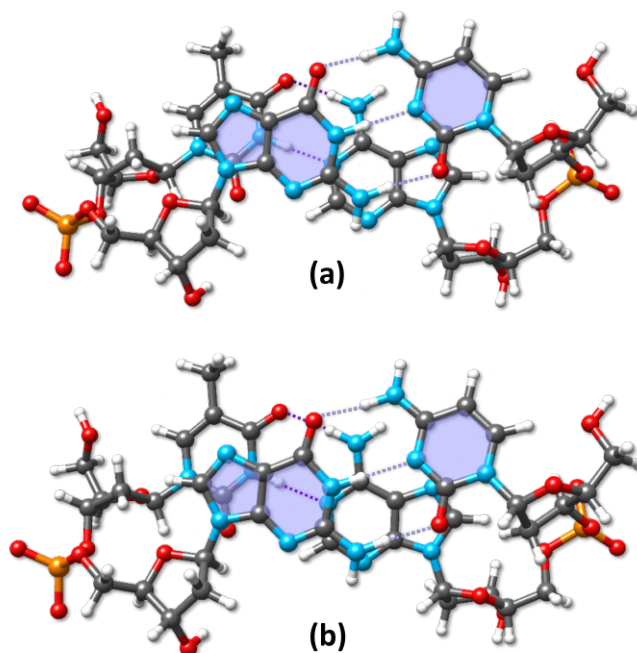


Figura 3.26: Estructuras optimizadas de *dTpdG:dCpdA*, con *dTpdG* (cadena izquierda) de la *NtC BB12\** y *dCpdA* (cadena derecha) de la clase *AA00*. Se muestra la superposición entre los anillos de las bases apiladas, siendo diferente en la cadena *dTpdG*. (a) Estructura optimizada con el funcional *PBEPBE*. (b) Estructura optimizada mediante el funcional *M05-2X*.

### 3.2.4.2. cdDMPs con una de sus cadenas de la *NtC BA09* y la cadena complementaria de la clase *BB00*

Las tres estructuras estudiadas con esta conformación se encuentran en complejos ADN-proteínas, la primera de ellas (NDB ID PDT035 [60]) es ADN telomérico enlazado a RAP1, proteína multifuncional que también participa en la regulación transcripcional. La segunda conformación, NDB ID PD0342 [61], se encuentra en un complejo entre ADN y la proteína endonucleasa I-CreI, proteína mencionada en la Sección 3.2.3.2. Finalmente, el tercer fragmento (NDB ID NA0547 [62]) es una secuencia de ADN específica dentro del gen humano RAG1 con la endonucleasa modificada I-CreI, cuya importancia radica en que mutaciones en este gen RAG1 producen inmunodeficiencia combinada severa (SCID), la cual conduce a una respuesta inmune defectuosa en los individuos, dejándolos vulnerables a enfermedades infecciosas.

Del fragmento experimental NDB ID PDT035 [60], de secuencia  $d(\text{CCGCACACCCACACA CCAG}):d(\text{CCTGGTGTGTGGGTGTGCG})$ , se ha extraído la estructura *dGpdG:dCpdC*, en la cual se tiene a la cadena *dGpdG* de la clase *NtC BA09* y *dCpdC* de *BB00*. Esta conformación muestra superposiciones normales en ambas cadenas.

Al realizar los cálculos de optimización con los funcionales PBE y M05-2X se han reproducido las regiones de las torsiones de la estructura inicial, sin cambio en las conformaciones, mostrando una superposición normal entre las bases apiladas de ambas cadenas, véase la Tabla 3.43. Sin embargo, PBE no da una estructura viable ya que los pares de bases tienen un ángulo Roll de  $37^\circ$  entre sí.

A pesar de que en las optimizaciones realizadas a los dDMPs separados se tienen estos con las mismas regiones de las torsiones características para las clases BA09 y BB00, con ninguno de los funcionales empleados se ha podido reproducir conformaciones viables con una buena posición de las bases.

Tabla 3.43: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA09 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdG(BA09):dCpdC(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$
	<b>BA09<sup>1</sup></b>	<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>265</b>	<b>186</b>	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>137</b>	<b>190</b>	<b>281</b>	<b>251</b>	<b>89</b>	<b>168</b>	<b>83</b>	<b>265</b>	<b>180</b>	<b>3.26</b>
dGpdG BA09	cdDMP	146	208	293	260	71	182	77	248	192	1.58
	PBE dDMP	143	207	272	279	78	183	78	244	190	<b>0.00</b>
	SPB	138	206	285	269	73	189	73			
	SPB	134	200	276	275	83	179	<b>127</b>			
PDT035	cdDMP	147	202	299	252	61	172	82	247	184	3.02
	M05 - 2X dDMP	149	206	295	255	63	169	81	254	197	5.15
	SPB	140	199	278	275	81	180	79			
	MP2 SPB	139	199	280	275	80	181	78			
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b>	<b>258</b>	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>110</b>	<b>169</b>	<b>275</b>	<b>291</b>	<b>192</b>	<b>49</b>	<b>135</b>	<b>238</b>	<b>241</b>	<b>0.00</b>
dCpdC BB00	cdDMP	<i>141</i>	180	269	295	199	53	135	226	237	0.00
	PBE dDMP	<i>140</i>	193	272	276	208	44	140	<b>217</b>	<b>190</b>	0.00
	SPB	116	<b>281</b>	<b>304</b>	294	<b>148</b>	52	<b>85</b>			
	cdDMP	<i>146</i>	164	276	275	<b>234</b>	47	147	225	248	0.00
PDT035	M05 - 2X dDMP	<i>145</i>	169	275	<b>268</b>	<b>246</b>	54	151	<b>220</b>	<b>192</b>	0.00
	SPB	<i>140</i>	191	276	293	163	48	140			
	MP2 SPB	139	194	<b>278</b>	293	165	48	140			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex PDT035.

En cuanto al fragmento experimental NDB ID PD0342 [61], de secuencia d(CCAAAGTGTCT CAAGTTCCGCG):d(CGCCGGAACCTTGAGACAGTTTGG), se tomó de este la estructura dApdC:dGpdT con la cadena dApdC de la clase NtC BA09 y la cadena dGpdT de BB00, ambas con superposiciones normales entre sus bases apiladas.

En la Tabla 3.44 se presentan los resultados de los cálculos de optimización realizados a los distintos fragmentos de esta estructura. Con el funcional PBE se tiene una distorsión de este dúplex, tal es la distorsión que sólo se han podido medir los ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato pero nada de la posición mutua de los pares de bases o el parámetro h-Twist.

Del resultado obtenido con M05-2X se tiene una estructura con posición mutua de las bases casi paralela, con reglas normales de superposición para ambas cadenas (aunque esta es menor en la cadena dGpdT, tal como en la conformación experimental y como en los otros dúplex estudiados con esta secuencia). Además, se tiene cambio de región en el ángulo de torsión  $\delta_2$  de la cadena dApdC, correspondiendo a la clase BB12; como se ha visto en la Sección 3.1.2, el cambio de conformación entre las clases BB12 y BA09 es posible y esperado. Por otro lado, también se tiene variación en la torsión  $\beta$  de la cadena BB00, este cambio se vio en la estructura anterior, ver Tabla 3.43.

Para la cadena dGpdT-BB00 con ningún funcional se obtuvo una estructura sin enlaces de hidrógeno artificiales y aceptable posición mutua de las bases apiladas. Por otro lado, para la cadena dApdC-BA09 se tiene con el funcional PBE una conformación de bases casi perpendiculares, mientras que M05-2X reprodujo una estructura de reglas normales de superposición y con la misma clase conformacional BA09.

Tabla 3.44: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA09 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdC(BA09):dGpdT(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	<b>BA09<sup>1</sup></b>	<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>265</b>	<b>186</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	132	192	293	246	66	168	105	270	195	4.22	
dApdC BA09 PD0342	PBE	cdDMP	148	206	283	269	90	177	83	241	188	<b>0.19</b>
		dDMP	144	206	277	271	77	181	78	237	192	<b>0.00</b>
	SPB	SPB	137	207	284	269	73	188	73			
		SPB	134	201	276	275	83	179	<b>126</b>			
	M05 - 2X	cdDMP	148	201	287	259	75	172	<b>139</b>	253	199	4.35
	dDMP	149	211	295	256	67	179	81	250	186	2.21	
	SPB	140	199	279	274	81	180	79				
	MP2	SPB	139	199	280	275	79	181	78			
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b>	<b>258</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	134	180	251	318	184	39	141	244	247	1.76	
dGpdT BB00 PD0342	PBE	cdDMP	144	185	280	300	<b>227</b>	54	143	<b>195</b>	246	<b>0.00</b>
		dDMP	144	194	271	302	192	57	145	<b>197</b>	257	1.96
	SPB	SPB	137	208	<del>283</del>	290	171	48	137			
		cdDMP	147	165	272	285	<b>220</b>	49	146	231	257	1.19
	M05 - 2X	dDMP	148	166	274	<del>283</del>	<b>239</b>	49	148	<b>217</b>	232	<b>0.00</b>
	SPB	140	191	276	293	163	48	140				
	MP2	SPB	139	194	278	293	165	48	140			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex PD0342.

Finalmente, se extrajo la estructura dTpdC:dGpdA del fragmento experimental NDB ID NA0547 [62], de secuencia d(TTGTTCTCAGGTACCTCAGCCAGA):d(TCTGGCTGAGGTA CCTGAGAACAA). Esta tiene la cadena dTpdC de la clase NtC BA09 y la cadena dGpdA de BB00, presenta una superposición normal entre las bases de dGpdA, mientras que en el dinucleósido-monofosfato dTpdC se nota una superposición un poco mayor que la normal para dicha secuencia.

En la Figura 3.27 se puede observar la superposición entre los anillos de las bases apiladas de la estructura experimental, la cual cambia después de realizar cálculos de optimización con el funcional M05-2X, siendo completamente normal en la cadena dTpdC-BA09 (la cual va a la clase BB12) y muy pequeña, i.e. no normal, en la cadena dGpdA-BB00 (con cambio en la torsión  $\beta$ ).

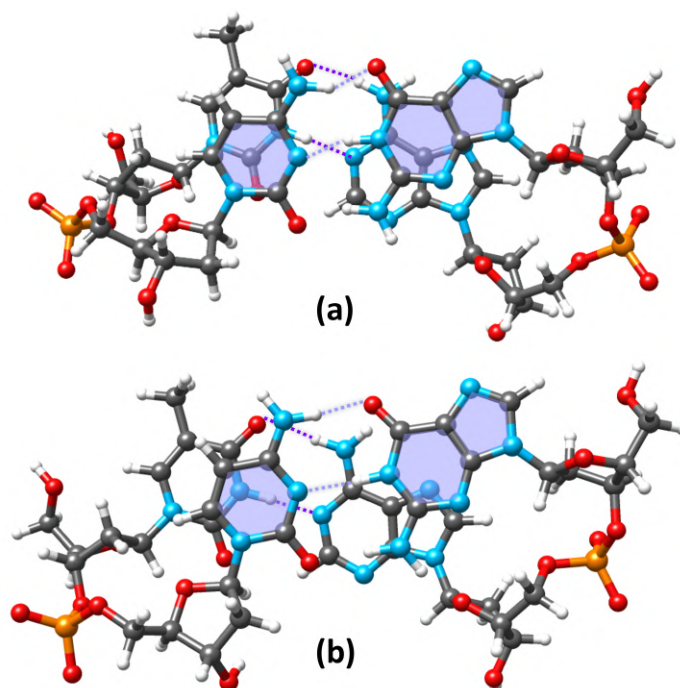


Figura 3.27: *Conformación experimental y optimizada de dTpdC:dGpdA con dTpdC (cadena izquierda) de la clase BA09 y dGpdA de BB00. La proyección muestra la superposición de los anillos de las bases apiladas. (a) Estructura experimental NDB ID NA0547. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X.*

Por otro lado, con el funcional PBE se ha obtenido una estructura de dúplex cuyo ángulo Roll es de  $-70^\circ$ , siendo no viable. En cuanto a la cadena dTpdC-BA09 ningún funcional reprodujo una conformación de bases casi paralelas, mientras que para dGpdA-BB00 se tiene tanto con PBE como con M05-2X una buena posición mutua de las bases apiladas, con superposición normal para esta secuencia. Del cálculo con el funcional M05-2X a este dDMP hay cambio de región de la torsión  $\beta$ , tal como en algunas estructuras de dúplex optimizados, véase Tabla 3.45.

Tabla 3.45: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA09 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdC(BA09):dGpdA(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	<b>BA09<sup>1</sup></b>	<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>265</b>	<b>186</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	129	195	284	253	78	157	78	260	189	0.92	
	cdDMP <sup>3</sup>	145	205	284	270	94	177	83	234	188	0.00	
dTpdC	PBE	dDMP	144	209	290	256	88	177	109	226	211	1.24
BA09		SPB	135	202	276	275	84	179	126			
NA0547	M05	cdDMP	146	200	291	258	80	175	136	243	186	0.25
	- 2X	dDMP	147	211	298	252	73	179	85	235	190	0.55
		SPB	140	199	279	274	81	180	79			
	MP2	SPB	139	199	280	275	80	181	78			
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b>	<b>258</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	140	195	249	308	181	31	148	240	256	1.53	
	cdDMP <sup>3</sup>	143	184	280	300	229	53	145	195	255	0.00	
dGpdA	PBE	dDMP	143	186	272	291	206	49	146	210	269	1.53
BB00		SPB	136	208	283	290	171	48	136			
NA0547	M05	cdDMP	147	165	274	280	235	44	150	223	256	0.30
	- 2X	dDMP	147	159	274	276	233	52	151	232	276	2.34
		SPB	140	191	276	293	163	48	140			
	MP2	SPB	139	194	278	293	165	47	140			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA0547. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las frecuencias vibracionales en cada paso de optimización.

### 3.2.4.3. Estructura de dCpdC:dGpdG, con dCpdC-BA09 y dGpdG-BB07

Para finalizar con este estudio, se extrajo del fragmento experimental NDB ID PD1271 [63], de secuencia d(TAAGGTAGGGGAGGAT):d(ATCCTCCCCTAOC), la estructura dCpdC:dGpdG con la cadena dCpdC de la clase NtC BA09 y la cadena dGpdG de BB07; este dúplex experimental presenta superposiciones no normales en ambas cadenas, es decir, es substancial entre los anillos de las bases Citosinas apiladas y despreciable entre los anillos de las Guaninas.

Dicho fragmento experimental corresponde a una estructura del complejo ternario humano REV1-ADN-DNTP, donde la proteína REV1 reparadora de ADN forma parte de una de las cuatro familias-Y de polimerasa en los humanos, las cuales permiten la continuidad de la bifurcación de replicación al permitir la replicación a través de las lesiones de ADN que han escapado de su reparación [64].

La superposición no normal de ambas cadenas del dúplex aquí estudiado puede deberse a las interacciones presentes en el complejo ternario; sin embargo, esta estructura es capaz de retener dichos stacking y las regiones de todas las torsiones después de los cálculos de optimización realizados con el funcional M05-2X en vacío, véase Tabla 3.46. Por ello, podemos decir que esta regularidad para dicha secuencia, y conformaciones de ambas cadenas, puede ser posible sin que efectos e interacciones externas la provoquen y mantengan.

Tabla 3.46: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA09 y BB07 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dCpdC(BA09):dGpdG(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BA09<sup>1</sup></b>	<b>134</b>	<b>200</b>	<b>287</b>	<b>256</b>	<b>68</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>265</b>	<b>186</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	134	195	296	233	88	158	100	263	201	2.97	
dCpdC BA09 PD1271	PBE	cdDMP	143	217	282	270	76	181	77	233	192	0.00
		dDMP	147	199	291	273	117	179	87	226	189	0.00
	M05 - 2X	SPB	137	207	285	269	73	189	73			
		SPB	135	201	276	275	83	179	126			
	MP2	cdDMP	147	206	300	247	67	159	83	251	201	2.39
		dDMP	145	207	300	250	75	181	82	228	189	0.02
	SPB	140	199	279	274	81	180	79				
	MP2	SPB	139	199	280	275	80	181	78			
	<b>BB07<sup>1</sup></b>	<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b>	<b>260</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	135	244	185	297	155	36	139	254	250	0.08	
dGpdG BB07 PD1271	PBE	cdDMP	157	291	135	307	129	47	135	239	236	0.00
		dDMP	157	286	139	308	129	47	139	237	248	0.00
	M05 - 2X	SPB	129	278	157	292	126	43	138			
		cdDMP	150	271	175	280	153	41	144	244	250	0.00
	MP2	dDMP	158	282	127	335	108	41	141	232	256	0.00
		SPB	127	278	150	291	117	43	144			
	MP2	SPB	130	280	155	292	119	40	144			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex PD1271.

En la Figura 3.28 se muestra la superposición no normal de los anillos de las bases apiladas en ambos dDMPs de este dúplex, la cual se mantiene después de la optimización realizada con el funcional M05-2X.

Es importante mencionar que, es necesario considerar las interacciones de stacking en los cálculos de optimización, pues en el caso del funcional PBE, este no fue capaz de reproducir una buena estructura ya que dio como resultado una conformación de bases con gran inclinación entre ellas, Roll = -79°.

A pesar de que, de la optimización realizada con M05-2X a la cadena única dCpdC se obtuvo una estructura con todas las torsiones en las regiones para BA09, esta presenta un ángulo grande entre las bases apiladas, lo cual sucede también en el cálculo realizado con PBE, aunque en ese caso hay una distorsión grande de la estructura. En cuanto a la cadena dGpdG-BB07 no se pudo reproducir un dDMP viable con ninguna metodología.

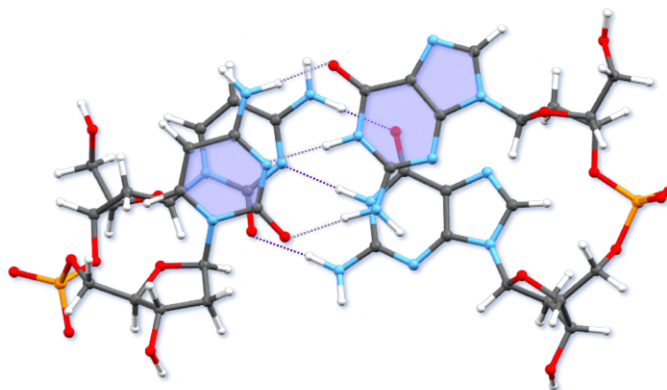


Figura 3.28: Conformación optimizada con el funcional M05-2X de *dCpdC:dGpdG* con *dCpdC* (cadena izquierda) de la clase BA09 y *dGpdG* de BB07. La proyección muestra la substancial superposición de los anillos de las Citosinas apiladas y la nula superposición entre los anillos de las Guaninas.

### 3.2.5. Fragmentos mínimos de dúplex con sólo una de sus cadenas en conformación de la *Subclase X*

Como se ha mencionado ya en la Sección 3.1.3, durante la realización de este trabajo de tesis se encontraron estructuras con torsiones no correspondientes a alguna clase NtC publicada, más tarde Schneider et al. [41] las clasificaron como NtC BB10; sin embargo, hemos propuesto una *subclase X* cuya diferencia con BB10 es en el ángulo  $\gamma$ , siendo el valor de este en la primera más cercano a los valores normales en ADN-BI, y a cuyas regiones corresponden los mínimos de SPBs separados estudiados.

En esta sección se presentan los resultados obtenidos de los dúplex estudiados con una de sus cadenas en conformación de esta subclase propuesta, los cuales han sido tomados de estructuras cristalinas que no contienen proteínas u otras moléculas extras.

#### 3.2.5.1. cdDMPs con una cadena de la *Subclase X* y la cadena complementaria de la NtC BB00

La primer estructura presentada, con la que comenzó el estudio de esta *subclase X*, ha sido extraída del fragmento experimental NDB ID 5F9I sintetizado por Acosta-Reyes et al., de secuencia  $d(\text{CCAATAATCGCGATTATTGG})_2$ . Dicho dúplex, *dTpdT:dApdA*, tiene la cadena *dTpdT* de la *subclase X* con una superposición de las bases apiladas un poco mayor de lo esperado para dicha secuencia, y la cadena *dApdA* de la NtC BB00 con un stacking normal.

En la Tabla 3.47 se encuentran los resultados obtenidos de las optimizaciones realizadas a

esta estructura con las distintas metodologías y rutas de cálculos. Con los funcionales PBE y PW91, a pesar de tener las torsiones en regiones de la estructura inicial -con cambio de BB10 a la *subclase X*- y de las rutas de cálculos empleadas, se obtuvieron estructuras con un valor absoluto del ángulo Roll de más de  $30^\circ$ , siendo conformaciones no viables.

El campo de fuerzas OL15, igual que en los cálculos realizados a los SPBs separados con otro campo de fuerzas AMBER, no ha reproducido las regiones de las torsiones para la *subclase X*; sin embargo, el funcional M05-2X ha sido capaz de regresar las torsiones a sus regiones y dar dos mínimos muy cercanos por distintas rutas, uno de la optimización realizada a la estructura producida por OL15 y otro a la experimental. En ambos casos se tiene una superposición normal entre las bases apiladas de ambos dDMPs, con conformaciones de la *subclase X* y la clase BB00.

Se puede observar en la Figura 3.29 una posición mutua casi paralela entre los pares de bases apilados del dúplex optimizado con M05-2X, así como reglas normales de superposición para esta conformación.

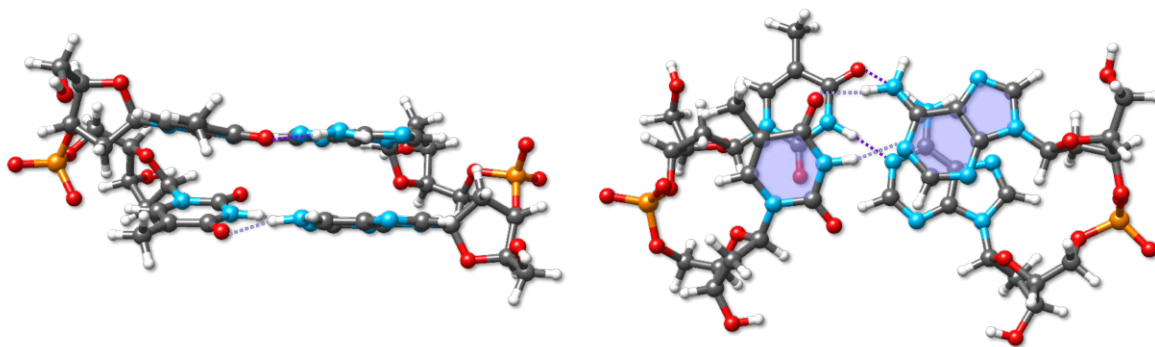


Figura 3.29: *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dTpdT:dApdA con la cadena dTpdT de la Subclase X y la cadena dApdA de la NtC BB00. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela de los pares de bases apilados y la superposición normal entre estos.*

Por otro lado, con el funcional PW91-ulg se han obtenido dos mínimos distintos por dos rutas de cálculos, la primera de ellas mejora la distancia h-Rise en la estructura obtenida con M05-2X, asegurando la eliminación de contactos cortos entre los átomos de las bases apiladas; mientras que la segunda ruta no mejora la estructura, pues no corrige las desviaciones de torsiones que el campo de fuerzas OL15 originó.

De las optimizaciones realizadas a los dDMPs separados sólo se ha obtenido una conformación viable para dApdA-BB00 con el funcional M05-2X, la cual presenta una superposición normal entre los anillos de las bases apiladas y con torsiones correspondientes a dicha clase, sólo  $\beta$  presenta cambio de región, pero esto ya se ha visto en otros resultados.

Tabla 3.47: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB10 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdT(BB10):dApdA(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BB10<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>196</b>	<b>192</b>	<b>22</b>	<b>106</b>	<b>19</b>	<b>129</b>	<b>257</b> <b>258</b>		
	<b>Subclase X<sup>2</sup></b>	<b>141</b>	<b>192</b>	<b>197</b>	<b>30</b>	<b>104</b>	<b>55</b>	<b>118</b>	<b>243</b> <b>245</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	129	194	217	28	122	352	147	243 277	0.66	
	cdDMP	146	193	192	20	96	50	107	237 233	0.34	
	PBE	dDMP	144	194	171	23	91	46	116	233 245	0.00
	SPB	138	194	187	26	90	47	134			
	cdDMP	148	192	185	19	93	49	115	242 239	0.00	
dTpdT	M05	cdDMP <sup>4</sup>	148	192	185	17	94	48	121	242 239	0.00
BB10	- 2X	dDMP	145	195	171	20	89	47	116	232 243	0.00
5F9I	SPB	141	200	200	23	90	52	140			
	PW91	cdDMP <sup>5</sup>	144	190	189	23	94	46	111	246 236	0.00
	- ulg	cdDMP <sup>4</sup>	132	200	206	317	146	60	133	253 238	0.00
	PW91	cdDMP <sup>6</sup>	146	194	191	20	93	52	97	236 227	0.18
	OL15	cdDMP	136	202	196	315	125	65	133	249 228	0.00
	MP2	SPB	139	198	200	24	90	51	137		
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b> <b>258</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	138	182	245	309	174	51	136	254 254	1.34	
	cdDMP	144	183	249	306	181	57	145	236 258	1.39	
	PBE	dDMP	146	218	182	313	147	51	144	241 259	0.00
	SPB	137	207	283	291	172	49	136			
	cdDMP	148	169	260	297	192	54	145	253 259	2.04	
dApdA	M05	cdDMP <sup>4</sup>	144	192	275	294	170	51	133	246 260	3.64
BB00	- 2X	dDMP	148	158	277	273	242	49	151	231 282	2.88
5F9I	SPB	140	190	276	293	164	48	139			
	PW91	cdDMP <sup>5</sup>	143	168	266	300	194	53	144	253 259	1.91
	- ulg	cdDMP <sup>4</sup>	141	191	275	295	174	55	126	249 256	3.75
	PW91	cdDMP <sup>6</sup>	145	182	242	313	170	59	145	239 254	1.62
	OL15	cdDMP	141	178	275	298	163	55	132	262 252	3.63
	MP2	SPB	140	208	286	288	173	56	100		

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Ángulos de torsión promedio obtenidos para estructuras correspondientes a la clase BB10, los cuales difieren de esta clasificación en el ángulo  $\gamma$ . <sup>3</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5F9I. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas OL15. <sup>5</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X. <sup>6</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X y posteriormente con el funcional PW91-ulg.

La segunda estructura dGpdA:dTpdC, con la cadena dGpdA de la *subclase X* y la cadena dTpdC de la clase BB00, se ha extraído del fragmento experimental NDB ID 5KEO [65], esta muestra superposiciones normales entre las bases apiladas de ambas cadenas. Sin embargo, después de realizar cálculos de optimización con el funcional M05-2X se tiene un cambio en la superposición de ambas cadenas, siendo substancial entre las bases del dTpdC y mínima entre los anillos de las bases de dGpdA, además de cambiar la conformación de la cadena dTpdC, yendo de BB00 a BA01, ver Tabla 3.48.

Por otro lado, el funcional PBE ha dado como resultado una conformación mala con ángulo Roll de  $-50^\circ$ . En cuanto a las optimizaciones realizadas a la cadena dGpdA, se tienen estructuras viables con conformación de la *subclase X* y superposición de las bases casi normal.

Para una mejor visualización del cambio de superposición en la estructura experimental después de la optimización realizada con el funcional M05-2X véase la Figura 3.30.

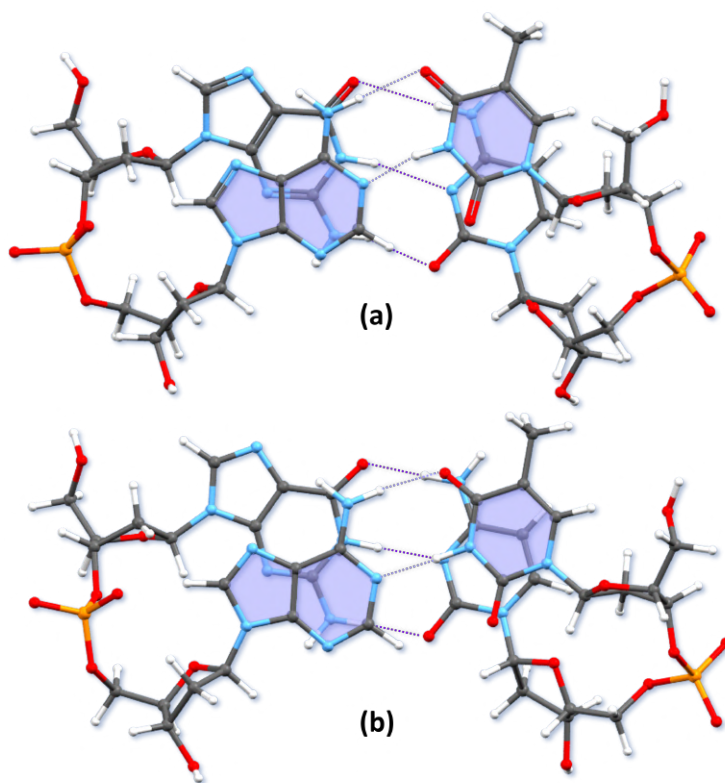


Figura 3.30: Conformaciones experimental y optimizada de dGpdA:dTpdC con la cadena dGpdA de la Subclase X y la cadena dTpdC de la NtC BB00. La proyección muestra el cambio de superposición entre las bases apiladas después de los cálculos de optimización. (a) Estructura experimental, NDB ID 5KEO. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X.

Tabla 3.48: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB10 y BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdA(BB10):dTpdC(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BB10<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>196</b>	<b>192</b>	<b>22</b>	<b>106</b>	<b>19</b>	<b>129</b>	<b>257</b>	<b>258</b>		
	<b>Subclase X<sup>2</sup></b>	<b>141</b>	<b>192</b>	<b>197</b>	<b>30</b>	<b>104</b>	<b>55</b>	<b>118</b>	<b>243</b>	<b>245</b>		
dGpdA BB10 5KEO	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	135	186	202	23	116	14	122	251	247	1.44	
	PBE	cdDMP	149	197	191	20	97	48	125	242	240	1.93
		dDMP	146	196	186	28	98	38	130	238	255	0.99
		SPB	137	194	188	26	89	46	133			
	M05	cdDMP	149	193	180	16	101	41	132	250	243	0.44
	- 2X	dDMP <sup>4</sup>	149	195	179	13	102	42	134	253	247	0.98
		SPB	141	199	199	23	90	51	140			
	MP2	SPB	139	198	200	23	89	50	138			
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b>	<b>258</b>		
dTpdC BB00 5KEO	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	160	183	262	304	177	40	140	267	268	0.29	
	PBE	cdDMP	141	189	227	319	140	60	81	234	203	0.00
		SPB	137	207	276	295	169	49	136			
	M05	cdDMP	140	187	275	296	162	61	78	240	203	1.74
	- 2X	SPB	145	193	274	295	163	49	140			
	MP2	SPB	143	197	276	293	164	48	140			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Ángulos de torsión promedio obtenidos para estructuras correspondientes a la clase BB10, los cuales difieren de esta clasificación en el ángulo  $\gamma$ . <sup>3</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5KEO. <sup>4</sup>Resultado obtenido calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización.

### 3.2.5.2. Estructura de (dApdT)<sub>2</sub> con una cadena de la Subclase X y la cadena complementaria como BB02

Del fragmento experimental NDB ID 5W6W se ha extraído la estructura (dApdT)<sub>2</sub> la cual presenta una superposición normal de sus bases apiladas, pero, a pesar de ambas cadenas tener la misma secuencia, esta es menor en la cadena de conformación cercana a la clase BB02, comparado con el stacking presente en la cadena de la *subclase X*.

Tal como en varias de las optimizaciones realizadas a los dúplex estudiados en este trabajo, el funcional PBE reprodujo una conformación con la posición mutua de pares de bases distorsionada.

Por otro lado, con el funcional M05-2X se ha obtenido una estructura viable, con una cadena correspondiendo a la *subclase X*, mientras que la cadena complementaria, a pesar de inicialmente tener cuatro ángulos de torsión en regiones lejanas a las de las clase BB02, después de la optimización se tienen sus torsiones en regiones semejantes a las obtenidas en las optimizaciones realizadas a los SPBs-BB02 separados, con  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  lejos de BB02. Para la cadena de la *subclase X* la superposición es substancial, en tanto que para el otro dApdT se tiene un stacking más pequeño y poco menor de lo esperado para dicha secuencia, véase Tabla 3.49.

Tabla 3.49: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB10 y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdT(BB10):dApdT(BB02).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$			
	<b>BB10<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>196</b>	<b>192</b>	<b>22</b>	<b>106</b>	<b>19</b>	<b>129</b>	<b>257</b> <b>258</b>				
	<b>Subclase X<sup>2</sup></b>	<b>141</b>	<b>192</b>	<b>197</b>	<b>30</b>	<b>104</b>	<b>55</b>	<b>118</b>	<b>243</b> <b>245</b>				
	<b>INI (experimental)<sup>3</sup></b>	<b>143</b>	<b>199</b>	<b>199</b>	<b>34</b>	<b>91</b>	<b>8</b>	<b>93</b>	<b>242</b> <b>242</b>	<b>2.31</b>			
dApdT BB10 5W6W	PBE	cdDMP	149	193	198	20	96	<u>53</u>	<u>97</u>	225	239	<b>0.27</b>	
		dDMP	149	196	184	19	95	<u>49</u>	113	238	240		
	M05 - 2X	cdDMP	SPB	138	194	187	26	90	<u>47</u>	<u>135</u>			
			dDMP	150	191	181	31	82	<u>46</u>	102	250	235	2.72
		SPB	dDMP	151	192	182	21	91	<u>47</u>	115	246	240	1.02
			SPB	141	200	199	23	90	<u>52</u>	<u>140</u>			
MP2	SPB	139	198	200	24	90	<u>51</u>	<u>137</u>					
	<b>BB02<sup>1</sup></b>	<b>141</b>	<b>194</b>	<b>246</b>	<b>31</b>	<b>195</b>	<b>297</b>	<b>150</b>	<b>252</b> <b>253</b>				
	<b>INI (experimental)<sup>3</sup></b>	<b>171</b>	<b>184</b>	<b>206</b>	<b>23</b>	<b>158</b>	<b>344</b>	<b>146</b>	<b>267</b> <b>254</b>	<b>1.24</b>			
dApdT BB02 5W6W	PBE	cdDMP	150	199	<u>214</u>	<u>61</u>	<u>143</u>	325	163	<u>207</u>	275	<b>0.17</b>	
		dDMP	150	203	229	<u>71</u>	<u>165</u>	<u>292</u>	154	<u>208</u>	<u>197</u>	<b>0.00</b>	
	M05 - 2X	cdDMP	SPB	145	196	<b>180</b>	<b>69</b>	<b>116</b>	<u>287</u>	161			
			dDMP	152	192	<b>208</b>	<b>63</b>	<b>138</b>	315	167	<u>228</u>	<u>283</u>	0.95
		SPB	dDMP	153	192	224	<b>66</b>	<b>128</b>	<u>302</u>	153	<u>212</u>	259	1.12
			SPB	151	205	<b>204</b>	<b>64</b>	<b>118</b>	<u>293</u>	165			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Ángulos de torsión promedio obtenidos para estructuras correspondientes a la clase BB10, los cuales difieren de esta clasificación en el ángulo  $\gamma$ . <sup>3</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5W6W.

Para las cadenas únicas se tienen resultados aceptables sólo con el funcional M05-2X. La cadena de la *subclase X* presenta una buena posición de las bases apiladas, con stacking normal, aunque menor que el experimental; a la vez que la cadena dApdT-BB02 muestra cambio de región en las mismas torsiones que el dúplex y SPB optimizados, con un stacking parecido al de su cadena complementaria optimizada.

### 3.2.5.3. cdDMPs con una cadena de la *Subclase X* y la cadena complementaria aún no clasificada

Como última parte del estudio realizado a conformaciones con una cadena de la *subclase X* que hemos propuesto, se tienen dos dúplex cuyas cadenas complementarias no corresponden a ninguna clase NtC hasta ahora publicada.

La primera de ellas ha sido extraída del fragmento experimental NDB ID 5KEO [65], del cual se extrajo otro dúplex ya analizado en esta Sección, esta estructura de  $(dGpdC)_2$  presenta una superposición normal en la cadena no clasificada, mientras que es mínima en la cadena de la *subclase X*.

Después de las optimizaciones realizadas, sólo se obtuvo una conformación viable con el funcional M05-2X, el cual reproduce todas las características de la estructura experimental, llá-

mese regiones de las torsiones de ambas cadenas y las superposiciones no normal en la cadena de la *subclase X* y normal en la de la cadena no clasificada. Único cambio es en el ángulo de torsión  $\delta_2$  de esta última.

De los cálculos ejecutados al SPB de esta cadena no clasificada, se tienen por las tres metodologías empleadas mínimos de energía de SPB separado que corresponden para dichas regiones, véase Tabla 3.50.

Es de gran interés estos resultados obtenidos para la cadena no clasificada en las optimizaciones llevadas a cabo en el dúplex y en el esqueleto azúcar-fosfato. Tal parece que se ha encontrado una nueva subclase, llamada por el momento *subclase V*, la cual necesita ser estudiada y analizada a futuro.

Tabla 3.50: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BB10 y AB02 de los cdDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdC(BB10):dGpdC(—).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$
	BB10 <sup>1</sup>	138	196	192	22	106	19	129	257 258	
	<i>Subclase X</i> <sup>2</sup>	141	192	197	30	104	55	118	243 245	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	144	187	187	41	92	11	98	252 244	0.36
dGpdC	PBE cdDMP	147	204	204	331	117	67	77	235 196	0.00
BB10	SPB	137	194	189	26	89	46	133		
5KEO	M05 cdDMP	150	193	177	19	92	45	123	252 236	0.75
	- 2X SPB	141	199	199	23	90	51	140		
	MP2 SPB	139	198	200	23	89	50	138		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	88	33	46	89	177	188	130	267 233	2.52
dGpdC	PBE cdDMP	150	294	92	89	257	181	85	244 192	0.00
noCo-	SPB	82	28	58	83	188	184	127		
nocida	M05 cdDMP	88	35	49	94	188	189	89	255 201	3.98
5KEO	- 2X SPB	81	27	57	82	188	177	144		
	MP2 SPB	80	29	55	83	186	180	137		

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Ángulos de torsión promedio obtenidos para estructuras correspondientes a la clase BB10, los cuales difieren de esta clasificación en el ángulo  $\gamma$ . <sup>3</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5KEO.

Para finalizar, del fragmento experimental NDB ID 5I6Q [66] se ha extraído la estructura dGpdA:dTpdC, con la cadena dGpdA de la *subclase X* y la cadena dTpdC no clasificada, la cual tiene superposición normal entre las bases apiladas de ambos dDMPs.

Al realizar cálculos de optimización con el funcional M05-2X a esta estructura de cdDMP se tiene una conformación viable con posición mutua casi paralela de pares de bases apilados, reglas normales de superposición en ambas cadenas, regiones de la *subclase X* para las torsiones de la cadena dGpdA, pero para el dTpdC no clasificado hay cambios en los ángulos de torsión  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\gamma$ , como se puede ver en la Tabla 3.51.

Este resultado es de futuro interés pues se ha obtenido un mínimo de energía para el SPB separado extraído de la cadena dTpdC, dicho mínimo presenta también cambios de región en algunas de sus torsiones, yendo a las mismas regiones que se tienen en el dúplex optimizado, por tanto, tal vez en un futuro se pueden encontrar y estudiar más conformaciones que tengan sus ángulos de torsión en estas regiones obtenidas de las optimizaciones realizadas. Dado que este resultado se considera importante y necesario considerar en estudios futuros, llamaremos a esta combinación de regiones de torsiones *subclase M*.

Por otro lado, para la cadena dTpdC separada no se pudo obtener una estructura viable con las optimizaciones realizadas; mientras que para la cadena dGpdA, tanto PBE como M05-2X han reproducido las características de la estructura experimental, con torsiones para la *subclase X*, bases casi paralelas entre sí y una superposición casi normal. Sobre esto último, tal parece que las cadenas separadas de secuencia dGpdA-*subX* tienen predisposición a una superposición apenas normal, pues es poco menos de  $1 \text{ \AA}^2$ , tal como se ha obtenido en este caso y en un dúplex anterior, ver Tabla 3.48.

Tabla 3.51: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{\AA}^2)$ , para la cadena BB10 y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdA(BB10):dTpdC(—).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{\AA}^2)$	
	BB10 <sup>1</sup>	138	196	192	22	106	19	129	257	258		
	<i>Subclase X</i> <sup>2</sup>	141	192	197	30	104	55	118	243	245		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	163	176	170	48	79	38	112	252	228	1.51	
dGpdA	PBE	dDMP	146	196	185	29	97	37	124	239	256	0.97
		SPB <sup>4</sup>	138	194	187	26	90	47	134			
BB10	M05	cdDMP	146	193	187	7	114	37	135	253	251	2.94
		dDMP	150	195	179	16	99	41	126	252	248	0.86
5I6Q	- 2X	SPB	142	200	198	23	90	52	141			
		MP2	139	198	200	24	90	51	137			
dTpdC	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>3</sup>	156	284	133	352	112	336	153	263	288	0.54	
noCo-nocida	M05	cdDMP	161	311	80	53	113	303	163	266	284	0.00
		dDMP	150	193	187	18	93	52	115	232	235	0.35
5I6Q	- 2X	SPB <sup>4</sup>	167	299	83	57	122	294	165			

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Ángulos de torsión promedio obtenidos para estructuras correspondientes a la clase BB10, los cuales difieren de esta clasificación en el ángulo  $\gamma$ . <sup>3</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5I6Q. <sup>4</sup>Resultado obtenido calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización.

### 3.3. Estudio de dúplex de ADN conteniendo una base nitrogenada modificada

Dada la importancia de las modificaciones que pueden ocurrir en el ADN, a través de la inserción de grupos funcionales a las bases nitrogenadas en distintos procesos biológicos, se han elegido para su estudio conformaciones conteniendo una base modificada, llámese 5-metilcitosina (5mC), 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), 8-oxoguanina (8-oxoG) o 2-Aminopurina (2AP).

La principal marca epigenética del ADN en eucariontes superiores, evolutivamente hablando, es 5mC, la cual modula la actividad transcripcional de genes clave principalmente mediante la alternación de interacciones ADN-proteínas [67, 68]. Además, se sabe que en las células cancerosas los patrones de metilación en la Citosina son corrompidos.

Por otro lado, 5-hmC ha sido identificada como una base relativamente frecuente en genomas de eucariontes. En adición, muestra una distribución tisular desigual, es decir, una distribución desigual entre los diferentes tejidos, con ocurrencia preferencial en el cerebro, principalmente en regiones asociadas a funciones cerebrales superiores [17, 18]. La función fisiológica de 5-hmC aún no es clara, pero se supone que esta sirve como intermediario en la desmetilación del ADN.

El estrés oxidativo a menudo se define como una situación en la que se altera el equilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes. Se han identificado más de 100 tipos diferentes de modificaciones oxidativas del ADN en el genoma de los mamíferos; sin embargo, debido a su bajo potencial redox, la guanina es la base más vulnerable [69], formándose como producto 8-oxoG. La disfunción mitocondrial asociada con el estrés oxidativo se ha relacionado con trastornos neurodegenerativos relacionados con el envejecimiento, tal como la enfermedad de Alzheimer (EA) [70], la enfermedad de Parkinson (EP) [71] y la enfermedad de Huntington (EH) [72].

Los análogos de nucleótidos han demostrado ser muy útiles en el estudio de la reparación y mutagénesis del ADN de *Escherichia coli* [73] -bacteria que forma parte de la microbiota de la flora intestinal del ser humano-, 2AP es uno de estos análogos mejor entendidos. Como análogo de la adenina, se empareja fácilmente con la timina durante la replicación del ADN. Sin embargo, también se empareja frecuentemente con la citosina, causando el par erróneo 2AP:Cyt. Se cree que estas lesiones son la principal causa de los altos números de transiciones de mutación C:G a T:A y T:A a C:G ocurridas cuando la *E. coli* se cultiva en presencia de 2AP [74]. Además, se ha demostrado también que 2AP es mutagénico en células animales [75].

A continuación se presentan los resultados obtenidos del estudio realizado a fragmentos mínimos de hélices dobles de ADN (cdDMPs) conteniendo una de las bases modificadas ya mencionadas. Cabe mencionar que dichas bases forman pares normales de Watson-Crick, tal como lo harían sin las modificaciones que han recibido.

### 3.3.1. Conformación de dúplex con la base 5-metilcitosina

Para la consideración de conformaciones con una base metilada, específicamente 5mC, se han extraído estructuras dGpd5CM:dGpdC y d5CMpdG:dCpdG de los fragmentos experimentales NDB ID NA2719 [76] y NDB ID NA1970 [77], ambos de secuencia d(CG5CMGAATTTCGCG)<sub>2</sub>. La mayoría de las estructuras experimentales consideradas exhiben una superposición normal entre las bases apiladas de una de sus cadenas, mientras que es no normal para la complementaria, considerando la secuencia de los nucleósidos en cada caso.

#### 3.3.1.1. Estructuras con la secuencia dGpd5CM:dGpdC

La primer estructura, con la cual comenzaron los primeros pasos de esta investigación, y con la cual se tuvieron los primeros problemas con la metodología empleada (ver Apéndice A.1), presenta la cadena dGpd5CM de la clase conformacional BA08 con una superposición normal entre las bases apiladas, mientras que la cadena dGpdC de la NtC BB07 muestra un nulo stacking.

De los cálculos realizados con el funcional PBE, mediante dos rutas distintas, se han obtenido estructuras cuya posición mutua entre pares de bases apilados muestra un ángulo Roll de más de 40°. Ambas rutas de optimización han distorsionado la estructura de diferente manera, pues en una se tiene la inclinación de las bases hacia el surco mayor y en la otra hacia el surco menor, como se puede observar en la Figura 3.31. Dicha distorsión se tiene también en el caso de la optimización realizada a la estructura con previa eliminación del grupo metil en la base 5mC.

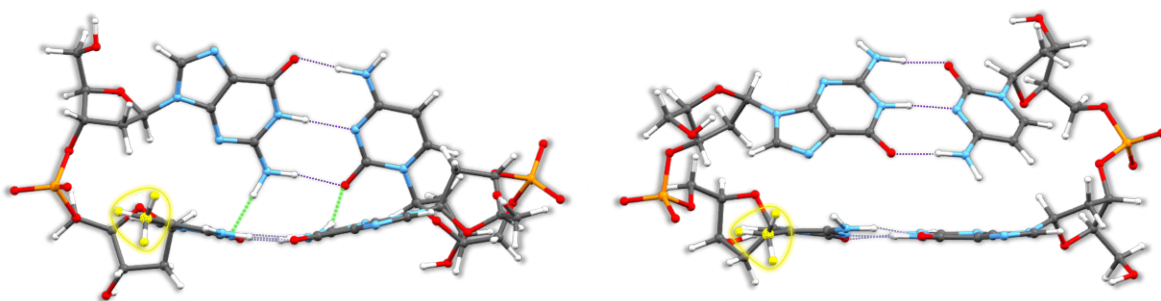


Figura 3.31: Conformaciones optimizadas con el funcional PBE/PBE de dGpd5CM:dGpdC. Se encuentran indicados con verde los enlaces de hidrógeno artificiales formados, y se han marcado los grupos metil de la base 5mC. Se puede observar la inclinación de las bases hacia diferente surco en cada caso. (a) Estructura experimental optimizada. (b) Estructura optimizada iniciando de resultado del campo de fuerzas AMBER ff99.

Por otro lado, de los cálculos realizados con el campo de fuerzas ff99 a la estructura metilada, y a la desmetilada, se tienen conformaciones con buena posición mutua de las bases, aunque hay un cambio en la superposición de la cadena dGpdC-BB07 (con  $\epsilon$  en otra región), la cual va a un stacking normal, en adición, la cadena BA08 muestra cambios en varias de sus torsiones, correspondiendo a la clase AB05 en el caso de la estructura con 5mC, véase Tabla 3.52.

Tabla 3.52: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA08 y BB07 del dúplex dGpd5CM(BA08):dGpdC(BB07) optimizado con distintas metodologías .

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$	
<b>BA08<sup>1</sup></b>		<b>139</b>	<b>208</b>	<b>213</b>	<b>301</b>	<b>141</b>	<b>49</b>	<b>89</b>	<b>263</b> <b>215</b>		
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		<b>126</b>	<b>181</b>	<b>260</b>	<b>294</b>	<b>157</b>	<b>78</b>	<b>63</b>	<b>247</b> <b>217</b>	<b>1.88</b>	
dGpd5CM BA08 NA2719	cdDMP	143	192	<i>232</i>	312	144	63	76	241 203	<i>0.00</i>	
	PBE	<b>86</b>	<i>219</i>	<b>277</b>	310	<b>174</b>	61	<b>139</b>	<b>221</b> <b>242</b>	3.74	
	cdDMP**	139	189	<b>260</b>	296	165	57	77	246 224	<b>0.94</b>	
	M05-2X	cdDMP	145	189	<b>277</b>	293	163	56	88	250 227	3.86
	B97- D3	cdDMP	143	187	<b>277</b>	292	166	53	77	248 222	3.56
		cdDMP <sup>3</sup>	<b>85</b>	<i>216</i>	<b>288</b>	306	<b>172</b>	60	<b>141</b>	<b>191</b> 233	3.34
		cdDMP*	144	180	<b>263</b>	292	167	53	79	265 228	<b>0.08</b>
	ff99	cdDMP	<b>79</b>	209	<b>282</b>	299	<b>173</b>	63	<b>137</b>	<b>205</b> 239	1.47
		cdDMP**	141	178	<b>265</b>	283	<b>177</b>	<i>48</i>	87	248 219	1.84
	<b>BB07<sup>1</sup></b>		<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b> <b>260</b>	
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		<b>139</b>	<b>256</b>	<b>153</b>	<b>291</b>	<b>139</b>	<b>52</b>	<b>139</b>	<b>272</b> <b>250</b>	<b>0.00</b>	
dGpdC BB07 NA2719	cdDMP	156	<b>291</b>	<b>139</b>	297	139	50	131	<b>240</b> 239	0.00	
	PBE	135	267	178	280	145	42	124	275 234	<b>1.21</b>	
	cdDMP**	151	<b>280</b>	153	292	139	48	128	244 241	0.00	
	M05-2X	cdDMP	145	270	160	288	136	46	127	251 239	0.25
	B97- D3	cdDMP	138	275	157	284	138	42	127	259 239	0.55
		cdDMP <sup>3</sup>	137	276	160	286	147	36	134	250 236	<b>1.19</b>
		cdDMP*	156	<b>281</b>	144	286	150	45	138	256 254	0.00
	ff99	cdDMP	126	<b>281</b>	147	274	123	61	<b>109</b>	257 <b>224</b>	<b>2.62</b>
		cdDMP**	130	<b>283</b>	<b>139</b>	287	123	50	126	266 <b>230</b>	<b>1.97</b>

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA2719. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99. \*\*Resultado obtenido de dúplex con la base 5mC previamente desmetilada. \*Estructura optimizada con Gaussian empleando el Modelo del Continuo Polarizable (PCM) con agua como solvente.

Al optimizar con el funcional M05-2X la estructura con 5mC, se ha obtenido una conformación viable con pares de bases casi paralelos, con las mismas reglas de superposición entre las bases apiladas que las que muestra la estructura experimental. Para la cadena dGpd5CM-BA08 se tiene cambio en el ángulo de torsión  $\zeta$ , correspondiendo así a la NtC BA01, este cambio se ha visto ya en los mínimos de energía obtenidos para SPBs separados de la clase BA08.

En cuanto a las optimizaciones realizadas con el funcional B97-D3, para el caso del cálculo realizado a la estructura experimental se tiene un resultado semejante al obtenido con M05-2X, mientras que para la optimización llevada a cabo a la conformación obtenida con el campo de fuerzas ff99 se presentan superposiciones normales en ambas cadenas, con cambio de conformación en la cadena BA08, pues va a la NtC AB05.

En la Figura 3.32 se pueden observar las reglas de superposición obtenidas para este dúplex optimizado con el funcional M05-2X, las cuales son iguales a las de la estructura experimental.

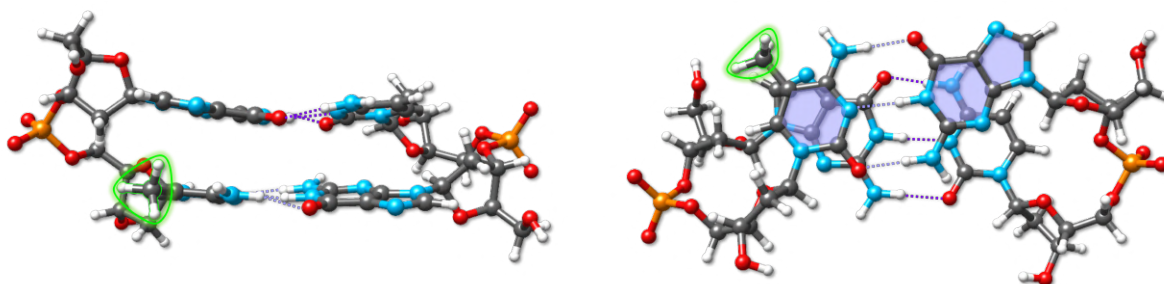


Figura 3.32: *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dGpd5CM:dGpdC. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela de los pares de bases y la superposición en cada cadena. Se ha indicado el grupo metil de la base 5mC.*

Como cálculo extra, se ha realizado una optimización con el funcional B97-D3 simulando agua como solvente, con PCM, en este se tienen los mismos cambios en las torsiones que en el caso de las optimizaciones realizadas en vacío con el mismo funcional -y con M05-2X-, además, muestra una nula superposición entre las bases apiladas de ambas cadenas. Dicho cambio en el stacking puede deberse a la presencia del medio, sin embargo, necesita de más estudios para poder explicar las interacciones inherentes y la posible explicación del mismo.

Dados los resultados obtenidos para conformaciones con secuencia  $(dGpdC)_2$  en la Sección 3.2.2, cuyas cadenas complementarias son del tipo-BI y tipo-BII, podemos asegurar que las reglas de superposición aquí obtenidas (una cadena con regla normal y la complementaria con regla no normal) no dependen de la metilación a la Citosina, sino de la combinación de conformaciones de las cadenas complementarias. Y que, en el caso de tener reglas normales de superposición para ambas cadenas se debió al cambio de conformación de BA08 a AB05.

Otro dúplex estudiado con esta secuencia dGpd5CM:dGpdC presenta ambas cadenas de la clase NtC BA08; de la estructura experimental se tiene la cadena con la base 5mC con una superposición normal entre las bases apiladas, mientras que en la complementaria esta es nula, véase la Tabla 3.53. Sin embargo, después de optimizar dicho fragmento mínimo de dúplex con el funcional B97-D3, se tiene un cambio de conformación para la cadena dGpd5CM, yendo a la clase BB00 (como en las optimizaciones realizadas a SPBs separados), este dDMP muestra una superposición normal como en la estructura experimental, pero la cadena dGpdC complementaria cambió de una superposición no normal a una normal para dicha secuencia. No podemos decir las causas de este cambio, ya que es el primero en su tipo que se obtiene.

Tabla 3.53: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para ambas cadenas BA08 del dúplex dGpd5CM(BA08):dGpdC(BA08) optimizado .

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$
	BA08 <sup>1</sup>	139	208	213	301	141	49	89	263 215	
dGpd5CM	INI (experimental) <sup>2</sup>	137	192	230	326	140	47	105	266 237	1.02
BA08	B97-D3 cdDMP	145	<u>157</u>	<u>278</u>	<u>278</u>	<u>243</u>	43	<u>148</u>	<u>230</u> <u>264</u>	1.67
dGpdC	INI (experimental) <sup>2</sup>	133	211	192	302	136	49	82	269 208	0.08
BA08	B97-D3 cdDMP	139	191	215	304	147	54	75	261 198	3.04

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA1970.

### 3.3.1.2. Estructuras con la secuencia d5CMpdG:dCpdG

Para este caso, se estudiaron dos estructuras con dicha secuencia, en donde la primera tiene la cadena d5CMpdG de la clase AB01 y la cadena dCpdG complementaria es de la NtC BB00. Esta estructura experimental presenta una superposición normal en la cadena AB01, mientras que es algo substancial en la cadena BB00.

De los cálculos realizados con el funcional PBE a este cdDMP se tiene una conformación cuyos pares de bases apilados presentan una inclinación grande entre sí, con la formación de un enlace de hidrógeno artificial. En cuanto al funcional M05-2X, no ha podido reproducir una estructura viable, pues aunque colocó tres de las bases en una buena posición, la base 5mC presenta una posición con una gran desviación del plano, como puede verse en la Figura 3.33. Este mismo resultado con desviación se ha obtenido para algunas otras conformaciones de bases modificadas.

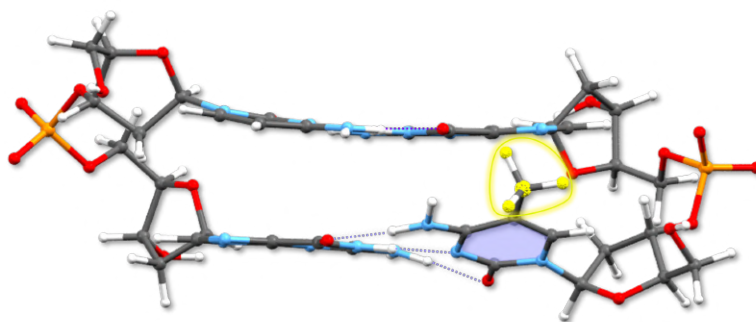


Figura 3.33: Conformación optimizada con el funcional M05-2X de d5CMpdG:dCpdG. Se puede observar la desviación en la posición de la base 5mC, mientras que las otras tres bases tienen una posición casi paralela entre sí. Se ha indicado el grupo metil de 5mC.

Es interesante que, en el caso de la optimización realizada con el campo de fuerzas AMBER ff99 se tiene una estructura viable, en la cual se tiene cambio de conformación en ambas cadenas, yendo de AB01 a la clase AB03 y de BB00 a AB01, además de un cambio en la superposición

de las bases apiladas, siendo normal en ambos dDMPs, véase la Tabla 3.54. Por otro lado, al quitar el grupo metil y realizar optimización de dicha estructura con este campo de fuerzas se tuvo una conformación semejante al resultado de M05-2X, lo cual nos indicaría que el grupo metil no es el causante único de dichas distorsiones.

Tabla 3.54: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena AB01 y BB00 del dúplex  $d5CMpdG(AB01):dCpdG(BB00)$  optimizado con distintas metodologías.

NDB	Método		$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$
	AB01 <sup>1</sup>		86	186	281	301	179	54	142	223	256	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		63	196	288	301	175	65	145	217	257	0.00
d5CMpdG	PBE	cdDMP	87	218	283	303	180	59	142	232	250	2.05
AB01	M05-2X	cdDMP	84	215	284	301	174	57	148	210	253	0.00
NA2719	ff99	cdDMP	95	186	251	325	162	59	146	224	280	0.00
		cdDMP**	82	198	292	296	180	59	143	213	229	0.00
	BB00 <sup>1</sup>		138	183	258	304	180	44	138	253	258	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		136	198	271	292	167	44	139	248	272	1.27
dCpdG	PBE	cdDMP	136	219	285	280	178	48	131	235	269	0.00
BB00	M05-2X	cdDMP	139	196	275	292	171	50	129	235	262	0.00
NA2719	ff99	cdDMP	92	188	262	303	168	60	147	228	246	0.64
		cdDMP**	137	190	281	291	170	45	126	233	233	0.01

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA2719. \*\*Resultado obtenido de dúplex con la base 5mC previamente desmetilada.

En cuanto a la segunda estructura con esta secuencia, presenta superposiciones normales en ambas cadenas, en donde d5CMpdG es de la clase NtC AB03 y la cadena dCpdG es de AB01, ver Tabla 3.55. A pesar de presentar otras superposiciones y conformaciones de ambas cadenas, que las que se tienen en el dúplex anterior, no se ha podido obtener una estructura viable con el funcional B97-D3, pues presenta una posición mutua de las bases semejante a la de la estructura anterior optimizada con M05-2X (ver Figura 3.33).

Tabla 3.55: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena AB03 y AB01 del dúplex  $d5CMpdG(AB03):dCpdG(AB01)$  optimizado.

NDB	Método		$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$
	AB03 <sup>1</sup>		103	195	255	321	162	40	136	228	256	
d5CMpdG	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		105	193	265	300	178	45	149	237	264	0.00
AB03	B97-D3	cdDMP	84	211	282	306	167	59	145	222	248	0.94
	AB01 <sup>1</sup>		86	186	281	301	179	54	142	223	256	
dCpdG	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		103	188	277	288	169	54	133	237	269	0.53
AB01	B97-D3	cdDMP	139	195	277	291	174	48	129	236	263	0.00

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA1970.

### 3.3.2. Conformación de dúplex con la base 5-hidroximetilcitosina

A fin de estudiar conformaciones con la base 5-hmC, de los fragmentos experimentales NDB ID NA1984 [77] y NDB ID NA2706 [78], de secuencias  $d(\text{CG5HCGAATTCGCG})_2$  y  $d(\text{CGCGAATT5HCGCG})_2$ , respectivamente, se han extraído las estructuras dTpd5HC:dGpdA y d5HCpdG:dCpdG.

#### 3.3.2.1. Estructura con la secuencia dTpd5HC:dGpdA

La estructura dTpd5HC:dGpdA presenta una superposición no normal de los anillos de las bases apiladas en la cadena dTpd5HC de la clase NtC BA05 y un stacking normal en la cadena dGpdA-BB07.

De los cálculos de optimización realizado a este dúplex, se tienen buenas estructuras -viables con la formación de hélices dobles- con los dos funcionales empleados. Tanto con el funcional PBE, como con el funcional M05-2X, se obtuvieron todas las torsiones de la cadena dTpd5HC en las regiones para la clase BA05, mientras que para la cadena dGpdA-BB07 se tienen cambios en los ángulos de torsión  $\epsilon$ ,  $\zeta$  y  $\beta$ , ver Tabla 3.56, no correspondiendo a alguna NtC reportada.

Tabla 3.56: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena BA05 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dTpd5HC(BA05):dGpdA(BB07).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
<b>BA05<sup>1</sup></b>		<b>131</b>	<b>184</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>169</b>	<b>52</b>	<b>104</b>	<b>251</b>	<b>235</b>		
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		130	188	272	298	168	45	101	245	235	<b>0.95</b>	
dTpd5HC	PBE	cdDMP	140	188	272	287	176	53	75	236	222	<b>0.51</b>
BA05		dDMP	137	194	274	287	172	54	75	<b>221</b>	246	0.78
NA2706	M05	cdDMP	139	177	257	293	166	61	76	237	212	<b>0.13</b>
	- 2X	dDMP <sup>3</sup>	138	178	258	292	167	60	77	234	221	<b>0.39</b>
<b>BB07<sup>1</sup></b>		<b>144</b>	<b>247</b>	<b>169</b>	<b>297</b>	<b>141</b>	<b>46</b>	<b>141</b>	<b>271</b>	<b>260</b>		
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		150	221	178	317	141	44	132	264	242	<b>1.04</b>	
dGpdA	PBE	cdDMP	145	<b>168</b>	<b>277</b>	285	<b>237</b>	45	148	<b>220</b>	274	<b>0.39</b>
BB07		dDMP	143	<b>185</b>	<b>272</b>	291	<b>206</b>	50	146	<b>211</b>	270	1.51
NA2706	M05	cdDMP	147	<b>156</b>	<b>278</b>	274	<b>245</b>	48	152	<b>229</b>	281	0.97
	- 2X	dDMP	147	<b>159</b>	<b>274</b>	276	<b>233</b>	52	151	<b>232</b>	276	2.35

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA2706. <sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización.

A pesar de presentar torsiones en las mismas regiones, ambos mínimos -resultado de diferentes funcionales- presentan distintas reglas de superposición, siendo normales en el caso del resultado obtenido con M05-2X; mientras que con PBE hay un switch entre las superposiciones mostradas por la estructura experimental, pues se tiene un stacking muy pequeño en ambas cadenas, siendo ahora normal en dTpd5HC y no normal en el dGpdA.

Esta diferencia entre los mínimos obtenidos con las dos metodologías se puede observar en la Figura 3.34. Lo que resulta interesante es que con el funcional PBE se ha obtenido una mejor posición mutua de las bases que la que se obtuvo con M05-2X.

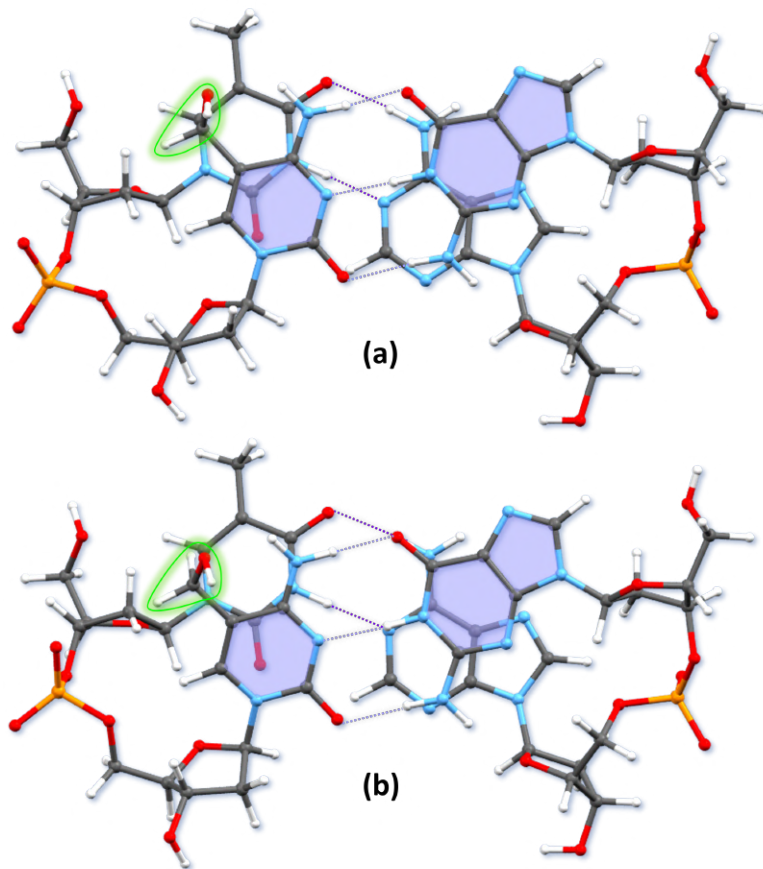


Figura 3.34: Conformaciones optimizadas de *dTpd5HC:dGpdA*, donde las cadenas tienen las conformaciones *BA05:BB07\**. La proyección muestra el cambio de superposición entre los anillos de las bases apiladas obtenida con cada metodología. Se ha indicado el grupo hidroximetil de 5-hmC. (a) Estructura optimizada con el funcional PBE. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X.

Por otro lado, de las optimizaciones realizadas a los dDMPs separados de este dúplex, no se han obtenido estructuras viables para la cadena *dTpd5HC* pues se tiene una inclinación grande entre las bases apiladas. En cuanto a la cadena *dGpdA-BB07*, se tienen estructuras con bases casi paralelas, en donde, con el funcional PBE se tiene un cambio a la NtC *BB00*, con regla normal de superposición; mientras que con M05-2X se tiene también regla normal, pero con los mismos cambios en las torsiones que mostró dicha cadena en el dúplex optimizado.

### 3.3.2.2. Estructuras con la secuencia d5HCpdG:dCpdG

Se han estudiado dos conformaciones con dicha secuencia de nucleósidos. La primera de estas estructuras presenta la cadena d5HCpdG de la clase NtC AB01 y la cadena dCpdG complementaria de BB00. Este cdDMP tiene una superposición nula entre los anillos de las bases apiladas de la cadena AB01, mientras que en la cadena BB00 es substancial, i.e. no normal.

De los cálculos de optimización realizados, no se ha obtenido ninguna conformación viable, pues, en el caso de PBE la estructura muestra un ángulo Roll = 33°. Y, aunque el funcional M05-2X no ha cambiado las regiones de las torsiones iniciales, véase Tabla 3.57, el dúplex muestra una posición en la que tres de sus bases son casi paralelas entre sí, en tanto que la base 5-hmC tiene una inclinación grande y desviación del plano (semejante a la estructura obtenida para el dúplex con la base 5mC, ver Figura 3.33).

En cuanto a los dDMPs, no se han obtenido buenos resultados de los cálculos realizados, pues para ambas cadenas se tiene una desviación de las bases apiladas, con ángulo grande entre estas y la formación de enlaces de hidrógeno artificiales.

Tabla 3.57: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena AB01 y BB00 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex d5HCpdG(AB01):dCpdG(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$
	<b>AB01<sup>1</sup></b>	<b>86</b>	<b>186</b>	<b>281</b>	<b>301</b>	<b>179</b>	<b>54</b>	<b>142</b>	<b>223</b>	<b>256</b>	
d5HCpdG	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>92</b>	<b>199</b>	<b>271</b>	<b>309</b>	<b>173</b>	<b>55</b>	<b>139</b>	<b>215</b>	<b>256</b>	<b>0.00</b>
AB01	PBE cdDMP	86	214	283	294	191	54	144	206	250	0.00
NA1984	M05 cdDMP	84	213	294	291	197	53	144	197	238	0.00*
	- 2X dDMP	89	193	265	308	162	65	152	233	278	0.43
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b>	<b>258</b>	
dCpdG	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>124</b>	<b>199</b>	<b>269</b>	<b>296</b>	<b>166</b>	<b>42</b>	<b>140</b>	<b>248</b>	<b>273</b>	<b>1.54</b>
BB00	PBE cdDMP	140	204	<b>289</b>	283	172	47	114	235	<b>109</b>	1.72
NA1984	dDMP	132	<b>222</b>	277	286	172	54	<b>103</b>	224	<b>303</b>	1.59
	M05-2X cdDMP	143	192	282	289	176	47	117	231	231	0.10

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA1984. \*Presenta también superposición entre las bases purinas de diferente cadena (0.68Å<sup>2</sup>).

En adición, para complementar este estudio, se analizó otro fragmento mínimo de dúplex de misma secuencia de nucleósidos, en donde la cadena d5HCpdG presenta una conformación de la clase NtC AB01 y la cadena dCpdG de la clase AB03, ambas con superposición mínima entre los anillos de las bases apiladas, i.e. superposición normal para dicha secuencia.

De todas las optimizaciones realizadas a dicho cdDMP, sólo una ha dado como resultado una conformación viable. Del cálculo realizado con el funcional PBE se tiene una estructura con reglas normales de superposición, tal como la estructura experimental, con posición mutua casi paralela de los pares de bases apilados, pero con cambios en algunas de las torsiones de ambas cadenas:  $\delta_1$  en las cadenas AB01 y AB03, y adicionalmente  $\alpha$  en AB03, mostrando así ambas cadenas una conformación de la clase NtC BB00, como se puede ver en la Tabla 3.58.

En cuanto al funcional M05-2X, este no ha podido reproducir una estructura viable, pero este problema ya se ha visto en optimizaciones realizadas a dúplex en los que ambas cadenas presentan una superposición mínima o nula.

Para los cálculos de optimización realizados a los dos dDMPs separados se tiene con ambos funcionales una posición de gran inclinación entre las bases apiladas, y la formación de enlaces de hidrógeno entre estas.

Tabla 3.58: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena AB01 y AB03 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex d5HCpdG(AB01):dCpdG(AB03).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
<b>AB01<sup>1</sup></b>		<b>86</b>	<b>186</b>	<b>281</b>	<b>301</b>	<b>179</b>	<b>54</b>	<b>142</b>	<b>223</b>	<b>256</b>		
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		<b>101</b>	<b>188</b>	<b>275</b>	<b>295</b>	<b>175</b>	<b>47</b>	<b>140</b>	<b>235</b>	<b>269</b>	<b>0.13</b>	
d5HCpdG	PBE	cdDMP	<u>137</u>	203	278	287	49	127	229	260	0.00	
AB01		dDMP	<u>133</u>	223	278	285	171	<u>96</u>	223	<u>302</u>	<b>1.72</b>	
NA2706	M05	cdDMP	<u>147</u>	163	278	<u>265</u>	<u>247</u>	38	151	237	263	<b>0.00**</b>
	- 2X	dDMP	<u>134</u>	191	270	297	170	52	130	230	261	0.22
<b>AB03<sup>1</sup></b>		<b>103</b>	<b>195</b>	<b>255</b>	<b>321</b>	<b>162</b>	<b>40</b>	<b>136</b>	<b>228</b>	<b>256</b>		
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>		<b>103</b>	<b>190</b>	<b>272</b>	<b>293</b>	<b>169</b>	<b>53</b>	<b>150</b>	<b>235</b>	<b>264</b>	<b>0.44</b>	
dCpdG	PBE	cdDMP	<u>138</u>	204	282	<u>288</u>	49	123	232	260	0.57	
AB03		dDMP	132	<u>222</u>	277	<u>286</u>	172	<u>103</u>	224	<u>303</u>	<b>1.58</b>	
NA2706	M05	cdDMP	<u>143</u>	193	284	<u>289</u>	176	47	<u>118</u>	229	229	<b>0.06**</b>
	- 2X	dDMP	<u>133</u>	194	271	<u>296</u>	170	51	131	224	263	0.23

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA2706. \*\*Presenta también superposición entre las bases purinas de diferente cadena (0.81Å<sup>2</sup>).

De acuerdo con Renciuik et al. [77], la posición 5' de la citosina modificada, en este caso 5-hmC, es un lugar ideal para codificar información epigenética; de esta manera, ni la estructura helicoidal ni la termodinámica se modifican, y las polimerasas no pueden distinguir 5-hmC y 5-mC de la citosina no modificada, así, las primeras no son mutagénicas.

Sin embargo, de acorde a los resultados presentados, sí se puede modificar la estructura de dúplex cuando se tiene la base 5-hmC en la posición 5'. Son necesarias ciertas interacciones para estabilizarlo, llámense interacciones de apilamiento debido a la demás secuencias de nucleótidos, o a la conformación de las cadenas en cuestión (clase NtC de las mismas).

### 3.3.3. Conformación de dúplex con la base 8-oxoguanina

Cuando el ADN celular se expone a radiaciones ionizantes, así como a procesos radicalares y reacciones con especies reactivas de oxígeno, pueden ser producidas cientos de lesiones diferentes, una de ellas es oxidando la Guanina, 8-oxoG. Dada la importancia de estas conformaciones, se extrajo del fragmento experimental NDB ID 2M3P [79], de secuencia d(CGCTCORPCACGC):d(GCGTGGGA8OGCG), la estructura dApd8OG:dCpdT con ambas cadenas de la clase NtC BA01, y superposiciones normales entre los anillos de las bases apiladas en los dos dDMPs.

En la Tabla 3.59 se presentan los resultados obtenidos de los cálculos realizados a los fragmentos de este dúplex. Aunque el funcional PBE ha reproducido la mayoría de las características geométricas de la estructura experimental, al no considerar las interacciones de stacking, las bases apiladas han ido a una posición con un ángulo Roll de  $32^\circ$ .

En cuanto al funcional M05-2X, se tiene una estructura cuya posición mutua de las bases apiladas es casi paralela, con una superposición normal en ambas cadenas, las cuales presentan las torsiones en las mismas regiones que el dúplex experimental, véase la Figura 3.35. De igual manera, para la cadena separada dApd8OG se tienen resultados semejantes con este funcional.

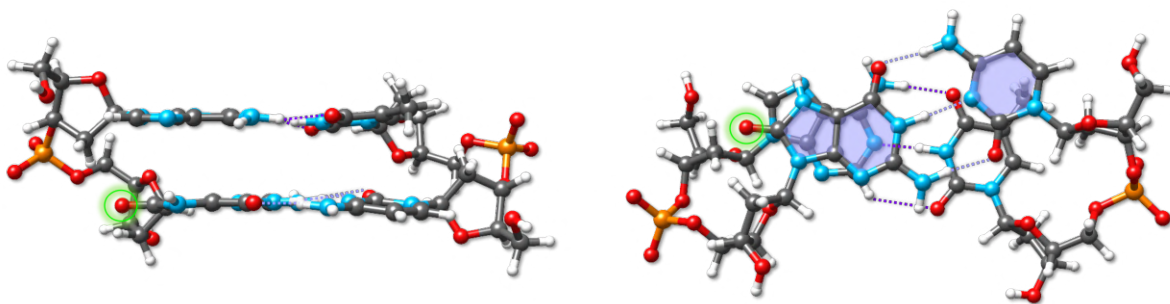


Figura 3.35: *Conformación optimizada con el funcional M05-2X de dApd8OG:dCpdT, con ambas cadenas de la clase NtC BA01. Las dos proyecciones muestran la posición mutua casi paralela de los pares de bases y la superposición normal entre los anillos de las bases apiladas de ambos dDMPs. Se ha marcado el grupo oxo de la base 8-oxoG*

Tabla 3.59: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, de los ángulos glucosídicos y del área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para ambas cadenas BB01 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dApd8OG(BB01):dCpdT(BB01).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$
	<b>BB01<sup>1</sup></b>	<b>131</b>	<b>181</b>	<b>266</b>	<b>301</b>	<b>176</b>	<b>49</b>	<b>120</b>	<b>248</b> <b>244</b>	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	121	187	267	301	177	46	128	257 248	3.56
dApd8OG	PBE									
BB01	cdDMP	143	209	<u>297</u>	276	173	41	124	243 264	5.04
	dDMP	139	<b>215</b>	<b>305</b>	<b>270</b>	176	40	125	239 266	4.73
2M3P	M05	147	188	278	293	169	47	126	252 249	4.83
	- 2X	147	197	281	291	169	48	137	254 <b>275</b>	5.38
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>128</b>	<b>187</b>	<b>262</b>	<b>292</b>	<b>175</b>	<b>55</b>	<b>117</b>	<b>240</b> <b>239</b>	<b>0.01</b>
dCpdT	PBE									
BB01	cdDMP	137	207	282	284	179	51	115	230 248	0.47
	dDMP	136	194	276	288	173	53	<u>82</u>	<b>216</b> 243	0.00
2M3P	M05	139	178	261	298	183	55	134	235 248	0.00
	- 2X	137	194	273	288	171	54	<u>81</u>	<b>216</b> 238	0.03

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 2M3P.

### 3.3.4. Conformación de dúplex con la base 2-Aminopurina

Para el estudio de las regularidades de formación de dúplex con la base 2AP, se han extraído dos estructuras diferentes del fragmento experimental NDB ID 2KV0 [80], de secuencia d(GCTGCA2PRACGTCG):d(CGACGTTTGCAGC), las cuales presentan una conformación de la clase BB00 en sus dos cadenas y una superposición normal para la secuencia de nucleósidos que tienen. En la Figura 3.36 se muestra una proyección en donde es visible el stacking normal en ambos cdDMPs experimentales considerados.

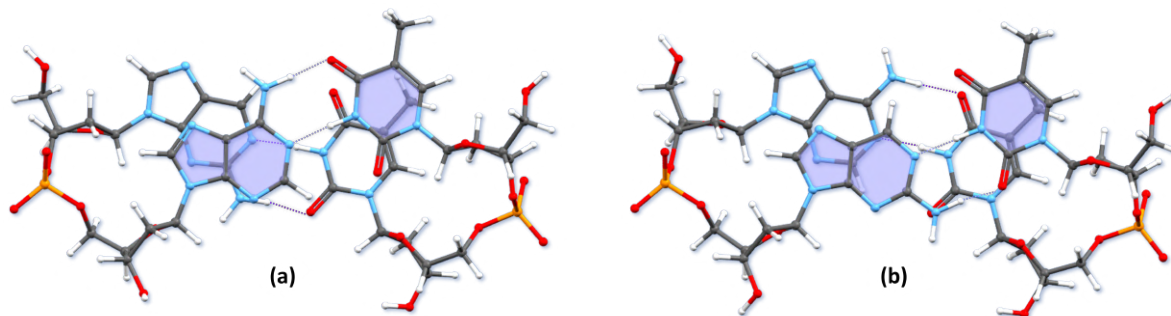


Figura 3.36: Conformaciones experimentales de fragmentos mínimos de dúplex con la base 2-Aminopurina. La proyección muestra la superposición normal entre los anillos de las bases apiladas de ambos dDMPs. (a) Estructura d2PRpdA:dTpdT. (b) Estructura dApd2PR:dTpdT.

### 3.3.4.1. Estructura con la secuencia d2PRpdA:dTpdT

De las dos metodologías empleadas se han obtenido mínimos con regularidades distintas, como se puede observar en la Tabla 3.60. Para el caso del cálculo realizado con el funcional M05-2X se han reproducido todas las características de la estructura experimental, mostrando una superposición normal en ambas cadenas del dúplex. Por otro lado, con PBE se tiene cambio de conformación en la cadena dTpdT, yendo a BA05, y, hay un switch entre reglas de superposición, pues la cadena dTpdT tiene mucha más que la cadena d2PRpdA, siendo en esta última casi nula. Nótese que con ambos cálculos hay un cambio de región para la torsión  $\beta$  de la cadena d2PRpdA, cuya variación se ha visto ya en otros dúplex considerados en este trabajo.

De igual manera, de las optimizaciones efectuadas a la cadena d2PRpdA separada, se tienen dos mínimos de stacking distinto con los dos funcionales empleados, tal como en el dúplex optimizado. En cambio, para la cadena dTpdT optimizada con ambos funcionales se tiene una conformación de regla normal de superposición.

Este cambio de stacking en la cadena d2PRpdA optimizada con PBE puede deberse a la formación de enlace de hidrógeno entre el grupo amino de la base 2AP y el átomo O4' del azúcar en la posición 3'-fin. Aunque esto no explicaría el cambio de superposición en la cadena complementaria en el caso de la optimización realizada al dúplex.

Tabla 3.60: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para ambas cadenas BB00 de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex d2PRpdA(BB00):dTpdT(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	BB00 <sup>1</sup>	138	183	258	304	180	44	138	253	258		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	144	175	251	312	183	40	142	250	245	2.12	
d2PRpdA BB00 2KV0	PBE	cdDMP	146	176	273	288	<u>221</u>	49	147	<u>217</u>	266	0.13
		dDMP	145	177	273	291	<u>219</u>	50	147	<u>215</u>	264	0.63
		SPB	137	208	<del>283</del>	291	171	48	137			
	M05	cdDMP	148	160	274	275	<u>234</u>	51	150	230	275	1.42
	- 2X	dDMP	149	166	267	284	<u>214</u>	50	149	240	265	3.25
	MP2	SPB	139	191	276	293	164	48	140			
	MP2	SPB	138	193	277	293	164	48	140			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	128	187	262	292	175	55	117	240	239	0.01	
dTpdT BB00 2KV0	PBE	cdDMP	141	193	277	294	173	56	<b>107</b>	232	236	0.88
		dDMP	140	184	262	297	181	56	130	233	242	0.00
		SPB	137	208	283	290	171	48	137			
	M05	cdDMP	141	178	260	299	177	57	132	240	247	0.05
	- 2X	dDMP	140	175	255	304	177	59	139	233	246	0.00
	MP2	SPB	140	191	276	293	163	48	140			
	MP2	SPB	139	194	278	293	165	47	140			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 2KV0.

### 3.3.4.2. Estructura con la secuencia dApd2PR:dTpdT

En cuanto al cálculo realizado a este dúplex con el funcional PBE, no se tiene una estructura viable, pues los pares de bases apilados se encuentran en una disposición con un ángulo Roll =  $-28^\circ$ . Mientras que con M05-2X se han reproducido todas las características de la estructura experimental, ver Tabla 3.61.

Para los dDMPs separados se obtuvieron conformaciones viables, cuyas características geométricas son semejantes a las de la estructura experimental, con reglas normales de superposición para dichas secuencias de bases.

Tabla 3.61: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, de los ángulos glucosídicos y del área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para ambas cadenas BB00 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dApd2PR(BB00):dTpdT(BB00).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$		$S(\text{Å}^2)$	
	<b>BB00<sup>1</sup></b>	<b>138</b>	<b>183</b>	<b>258</b>	<b>304</b>	<b>180</b>	<b>44</b>	<b>138</b>	<b>253</b>	<b>258</b>		
	<b>INI (<i>experimental</i>)<sup>2</sup></b>	<b>143</b>	<b>178</b>	<b>255</b>	<b>314</b>	<b>188</b>	<b>31</b>	<b>144</b>	<b>247</b>	<b>250</b>	<b>1.54</b>	
dApd2PR	PBE	cdDMP	141	191	272	300	172	56	137	234	250	4.16
BB00		dDMP	143	198	278	298	170	56	144	230	270	4.26
2KV0	M05	cdDMP	144	188	275	297	169	51	132	242	245	4.05
	- 2X	dDMP	147	160	278	<i>275</i>	<b>239</b>	52	154	<b>222</b>	<i>282</i>	2.87
	<b>INI (<i>experimental</i>)<sup>2</sup></b>	<b>134</b>	<b>173</b>	<b>259</b>	<b>312</b>	<b>183</b>	<b>42</b>	<b>134</b>	<b>245</b>	<b>243</b>	<b>0.43</b>	
dTpdT	PBE	cdDMP	142	185	245	310	175	59	139	229	249	0.00
BB00		dDMP	135	187	252	298	179	56	130	226	253	0.00
2KV0	M05	cdDMP	142	178	256	300	182	56	137	241	253	0.00
	- 2X	dDMP	140	175	256	304	176	59	139	234	247	0.00

Ángulos en grados ( $^\circ$ ). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 2KV0.

### 3.4. Conformaciones de ADN-Z

Normalmente, se supone que la estructura del ADN es la bien conocida hélice doble dextrógira de tipo-B. Sin embargo, existen estructuras que dependen de secuencias específicas y cuya conformación no es como se supone usualmente. Un ejemplo de estas es el ADN-Z de hélices dobles levógiras, la cual se forma sólo para la secuencia específica Pur-Pyr-Pur-Pyr..., en donde los nucleósidos de pirimidinas muestran una conformación *anti* (como en los WCDs), mientras que las purinas tienen una conformación *syn*. Esta alternación entre secuencias y conformaciones de los nucleósidos es lo que le da la forma zigzagueada a dicho ADN, de donde toma su nombre de ADN-Z.

La primer estructura cristalina de una proteína unida al ADN-Z, cuya interacción ocurre en el dominio de unión de alta afinidad  $Z\alpha$  de la enzima ADAR1 (enzima editora de ARN), permitió encontrar otras proteínas que se enlazasen a este tipo de ADN. Schwartz et al. [14] descubrieron que la proteína asociada a tumores DLM-1 contiene un dominio con notables similitudes de secuencia con  $Z\alpha_{ADAR}$ ; esto les permitió reportar una estructura cristalina de dicho dominio enlazado a ADN-Z. Ahora se le conoce a esta proteína DLM-1 (o DAI) como proteína 1 enlazante a ADN-Z o ZBP1, y se sabe que esta contiene dos dominios  $Z\alpha$  que enlazan a dicho tipo de ADN [14, 81].

Resultados de Jiao et al. [82] han proporcionado evidencia de que la detección de ácidos nucleicos endógenos en forma-Z por la proteína ZBP1 desencadena necroptosis e inflamación dependientes de RIPK3 (proteína quinasa 3), lo que podría ser la base del desarrollo de afecciones inflamatorias crónicas, particularmente en individuos con mutaciones en RIPK1 y CASP817-20. Por otro lado, datos de Wang et al. [83] sugieren que las secuencias formadoras de ADN-Z pueden ser factores causales de las translocaciones de genes que se encuentran en las leucemias y los linfomas, y que ciertas condiciones celulares -como la transcripción activa- pueden aumentar el riesgo de inestabilidad genética relacionada con el ADN-Z.

En general, el ADN-Z está formado por una secuencia de las bases Gua-Cyt-Gua-Cyt..., pero se ha encontrado que también pueden estar presentes las bases Adenina-Timina en este tipo de dúplex, respetando la alternación entre purinas y pirimidinas. A pesar de la diferencia en la conformación de los nucleósidos de purinas y pirimidinas, estos forman pares normales de Watson-Crick (con los mismos enlaces de hidrógeno). En adición, este tipo de estructuras pueden formarse con la presencia del par erróneo Gua(*syn*):Thy(*anti*).

Teniendo en cuenta la importancia de las conformaciones de ADN-Z, y como una continuación de los estudios realizados anteriormente durante mi maestría, en este trabajo se han considerado fragmentos mínimos de dúplex de este tipo de estructuras conteniendo pares de bases Ade:Thy -no sólo Gua:Cyt-, y pares Gua:Thy. Para evaluar las regularidades de formación de dichas conformaciones, y comprender las posibles causas de la estabilidad de algunos fragmentos e inestabilidad de otros, se han considerado los resultados obtenidos sobre cuáles clases NtCs de este tipo de ADN presentan mínimos de energía para SPBs separados y cuáles no, véase Sección 3.1.5.

### 3.4.1. Fragmentos mínimos de dúplex de ADN-Z conteniendo las bases Adenina - Timina

Para el estudio de conformaciones de ADN-Z conteniendo en su secuencia el par de bases Ade(*syn*):Thy(*anti*), se extrajeron dos fragmentos mínimos de dúplex de secuencias dTpdG:dCpdA y dApdC:dGpdT de la estructura experimental de hélices dobles levóginas NDB ID 6A1Q [84], con la secuencia d(TGTG):d(CACA).

El primer cdDMP experimental, dTpdG:dCpdA, presenta reglas normales de superposición para dichas secuencias, aunque existe un poco de stacking entre los anillos de las pirimidinas de distinta cadena, y ambos dDMPs se encuentran en conformación de la clase NtC ZZ1S. Es importante mencionar que las bases nitrogenadas no se encuentran en el mismo plano para formar los enlaces de hidrógeno de los pares.

A pesar de que las dos metodologías empleadas para optimizar la geometría de este fragmento dTpdG:dCpdA han reproducido las regiones de todas las torsiones para la clase ZZ1S, ver Tabla 3.62, las estructuras han resultado en conformaciones no viables. En cuanto al cálculo con PBE, este muestra una superposición normal entre las bases apiladas y eliminó el stacking entre las pirimidinas, sin embargo, la posición de los pares de bases no permite la formación de una hélice doble continua, y estos presentan un ángulo Roll de 21°. Por otro lado, el funcional M05-2X reprodujo el stacking de la estructura experimental, pero los pares tienen bases inclinadas que distorsionan la hélice doble.

Tabla 3.62: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para ambas cadenas ZZ1S de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdG(ZZ1S):dCpdA(ZZ1S).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$
	<b>ZZ1S<sup>1</sup></b>	<b>147</b>	<b>263</b>	<b>76</b>	<b>66</b>	<b>186</b>	<b>178</b>	<b>96</b>	<b>207 61</b>	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>142</b>	<b>254</b>	<b>95</b>	<b>76</b>	<b>200</b>	<b>156</b>	<b>85</b>	<b>210 66</b>	<b>0.00*</b>
dTpdG ZZ1S 6A1Q	cdDMP	153	263	76	64	187	180	85	218 70	0.00
	PBE dDMP	150	267	83	64	184	182	87	<u>247</u> 59	0.00
	SPB	135	259	72	74	190	<i>189</i>	85		
	M05 cdDMP	154	263	74	66	186	179	89	196 61	0.00**
	- 2X dDMP	152	266	76	67	186	180	91	<u>249</u> 60	0.00
	SPB	137	263	68	75	189	184	103		
MP2	SPB	139	260	67	76	189	<i>186</i>	98		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>145</b>	<b>245</b>	<b>93</b>	<b>63</b>	<b>198</b>	<b>174</b>	<b>91</b>	<b>217 54</b>	<b>0.00*</b>
dCpdA ZZ1S 6A1Q	cdDMP	162	<i>278</i>	79	57	181	182	82	195 70	0.00
	PBE SPB	<u>110</u>	273	76	75	188	189	88		
	M05 cdDMP	160	272	81	60	176	180	89	189 62	0.00**
	- 2X SPB	146	<u>202</u>	68	68	<u>228</u>	187	103		
	MP2	SPB	150	<u>209</u>	71	62	<u>222</u>	185	77	

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 6A1Q. \*Presenta también superposición entre las bases pirimidinas de diferente cadena (0.84Å<sup>2</sup>). \*\*Presenta también superposición entre las bases pirimidinas de diferente cadena (0.71Å<sup>2</sup>).

En la Figura 3.37 se puede observar el cambio en la posición que inicialmente presentaron las bases nitrogenadas en el fragmento mínimo de dúplex, después de realizar la optimización de la geometría con M05-2X se tiene una estructura que no es viable.

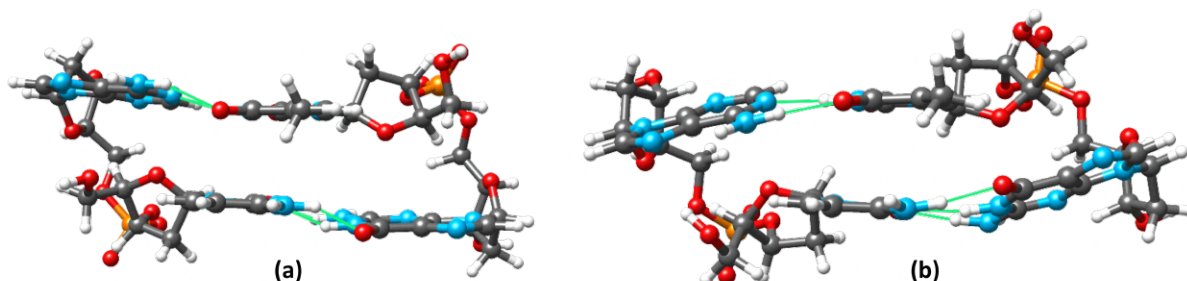


Figura 3.37: *Conformación experimental y optimizada del fragmento dCpdA:dTpdG de ADN-Z, con ambas cadenas de la clase NtC ZZ1S. Se puede observar la posición mutua de los pares de bases, antes y después de ser optimizada la estructura. Después de realizar cálculos de optimización a la geometría se tiene cambio en el arreglo mutua de las bases, encontrándose las purinas con inclinación y fuera de plano. (a) Estructura experimental, NDB ID 6A1Q. (b) Estructura optimizada con el funcional M05-2X.*

En cuanto a los SPBs separados, sólo el que fue extraído de la cadena dTpdG ha resultado en mínimos de energía para la clase ZZ1S. Los cálculos realizados con las tres metodologías de MC al esqueleto azúcar-fosfato de la cadena dCpdA presentan cambios grandes en algunas de las torsiones iniciales del mismo. Este resultado podría tal vez explicar uno de los motivos de por qué no se obtuvieron estructuras viables de las optimizaciones realizadas al cdDMP.

A pesar de que se reprodujeron las regiones de las torsiones en los cálculos realizados al SPB de la cadena dTpdG, de las optimizaciones realizadas a esta no se tuvieron buenos resultados pues las bases apiladas fueron a una posición con una gran inclinación, formándose dos enlaces de hidrógeno artificiales entre las mismas.

Por otro lado, el fragmento experimental dApdC:dGpdT presenta una regla normal de superposición en ambos dDMPs, pero sólo la cadena dApdC presenta una conformación cuyas torsiones están en las regiones para la clase NtC ZZS1, pues en el caso de la cadena dGpdT se tiene una desviación en los ángulos de torsión  $\alpha$  y  $\beta$ .

De las optimizaciones realizadas con los funcionales PBE y M05-2X a este cdDMP se han obtenido estructuras cuyas torsiones se encuentran en las regiones promedio para la clase ZZS1, con excepción de una torsión en cada caso, véase la Tabla 3.63. Sin embargo, en ambos cálculos se tiene una gran distorsión en la posición de las bases, en especial de la base Adenina, resultando en conformaciones no viables y con la formación de enlace de hidrógeno entre las bases Ade-Cyt.

Tabla 3.63: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena ZZS1 y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dApdC(ZZS1):dGpdT(—).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$
	<b>ZZS1<sup>1</sup></b>	<b>97</b>	<b>243</b>	<b>293</b>	<b>210</b>	<b>231</b>	<b>56</b>	<b>144</b>	<b>63</b> <b>206</b>	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>91</b>	<b>235</b>	<b>324</b>	<b>208</b>	<b>207</b>	<b>54</b>	<b>137</b>	<b>54</b> <b>202</b>	<b>1.57</b>
dApdC	PBE	91	232	290	207	243	52	138	58 223	<b>0.82</b>
ZZS1	dDMP	92	<b>207</b>	292	218	248	54	140	59 195	3.01
6A1Q	M05	93	238	292	209	242	51	143	58 <b>238</b>	<b>0.61</b>
	- 2X	92	236	294	208	241	51	140	59 218	3.48
	MP2	SPB	<b>128</b>	212	295	184	234	53	135	
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>80</b>	<b>257</b>	<b>306</b>	<b>243</b>	<b>198</b>	<b>29</b>	<b>142</b>	<b>59</b> <b>210</b>	<b>1.89</b>
dGpdT	PBE	85	247	<b>259</b>	221	<b>249</b>	57	140	69 212	<b>0.00</b>
noCo-	dDMP	82	261	<b>231</b>	223	<b>247</b>	<b>64</b>	149	75 <b>176</b>	<b>0.00</b>
nocida	SPB	87	251	302	<b>300</b>	<b>157</b>	50	136		
6A1Q	M05	84	<b>209</b>	280	234	<b>251</b>	52	145	85 214	<b>0.00</b>
	- 2X	83	256	<b>254</b>	229	<b>243</b>	57	150	63 <b>179</b>	<b>0.00</b>
	MP2	SPB	85	245	300	<b>295</b>	<b>159</b>	49	142	
	MP2	SPB	87	255	308	<b>299</b>	<b>154</b>	48	141	

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 6A1Q.

Respecto a los cálculos de optimización realizados a las cadenas separadas, sólo para el caso de dApdC optimizado con M05-2X se ha obtenido una estructura con buena posición mutua de las bases apiladas, mostrando una superposición normal entre las mismas y cuya conformación corresponde a la NtC ZZS1. Dicho resultado resulta interesante, puesto que en los cálculos realizados al dúplex no se reprodujo una estructura viable, tal vez debido a interacciones originadas por el dDMP complementario, las cuales originaron la deformación de la conformación.

No se han obtenido mínimos de energía para SPBs separados correspondientes a la clase ZZS1 de los cálculos realizados a los esqueletos azúcar-fosfato de este cdDMP.

### 3.4.2. Fragmentos mínimos de dúplex de ADN-Z con el par Gua:Thy

Otro de los fragmentos experimentales considerados es NDB ID 3ULN [85], cuya secuencia d(TGTG)<sub>2</sub> sólo contiene Guaninas y Timinas formando el par Gua(*syn*):Thy(*anti*). De este se han extraído dos cdDMPs para su estudio.

La primer estructura extraída, (dTpdG)<sub>2</sub>, presenta una regla normal de superposición en ambas cadenas, de las cuales sólo una de ellas presenta una conformación de la NtC ZZ1S, mientras que la complementaria no muestra torsiones correspondientes a alguna clase publicada. Después de optimizar este cdDMP con el funcional PBE se tiene correspondencia con la clase ZZ1S para una de las cadenas, mientras que la otra no, tal como en la estructura experimental, véase la Tabla 3.64.

Tabla 3.64: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena ZZ1S y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dTpdG(ZZ1S):dTpdG(—).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	<b>ZZ1S<sup>1</sup></b>	<b>147</b>	<b>263</b>	<b>76</b>	<b>66</b>	<b>186</b>	<b>178</b>	<b>96</b>	<b>207</b>	<b>61</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	147	287	54	157	187	123	77	221	52	0.00*	
dTpdG	PBE	cdDMP	152	254	79	65	187	180	86	228	68	0.00**
		dDMP	150	267	83	64	184	182	87	247	59	0.00
ZZ1S	SPB	cdDMP	134	256	72	74	191	184	119			
		dDMP	156	259	71	70	188	180	89	192	58	0.00***
NA1493	M05	dDMP	152	266	76	67	186	180	91	249	61	0.00
		SPB	137	263	67	75	189	184	103			
	MP2	SPB	138	260	67	76	189	186	98			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	163	234	161	334	275	189	95	211	47	0.00*	
dTpdG	PBE	cdDMP	145	265	147	315	268	199	83	228	70	0.00**
		dDMP	145	274	146	319	263	198	83	247	65	0.00
noCo-	SPB <sup>3</sup>	cdDMP	139	203	148	315	301	207	74			
		dDMP	147	273	145	316	268	201	87	184	60	0.00***
NA1493	M05	dDMP	144	275	145	318	265	199	88	246	62	0.00
		SPB	155	288	124	331	248	191	92			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA1493. \*Presenta también superposición entre las bases pirimidinas de diferente cadena (0.02Å<sup>2</sup>). \*\*Presenta también superposición entre las bases pirimidinas de diferente cadena (0.56Å<sup>2</sup>). \*\*\*Presenta también superposición entre las bases pirimidinas de diferente cadena (0.32Å<sup>2</sup>). <sup>3</sup>Resultado obtenido calculando las frecuencias vibracionales en cada paso de optimización.

Esta estructura obtenida muestra una regla normal de superposición, pero se desplazaron las bases un poco de tal manera que se tiene stacking entre las pirimidinas. A pesar de estos cambios se tiene una conformación viable, con posición mutua de las bases aceptable, tal como se puede observar en la Figura 3.38. Además, a diferencia de la estructura experimental que sólo tiene un enlace de hidrógeno entre los pares de bases, esta estructura optimizada muestra la formación de pares con dos enlaces de hidrógeno, lo cual la hace más estable.

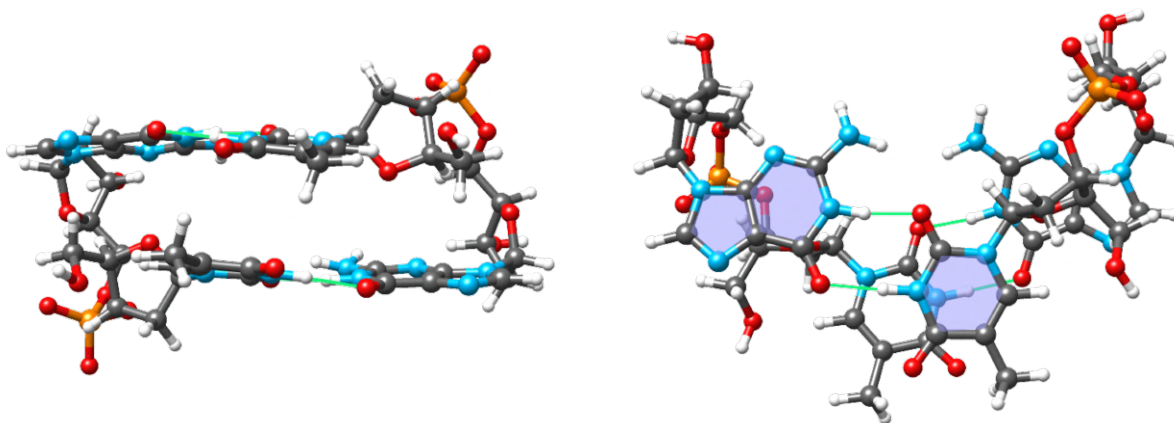


Figura 3.38: Conformación del fragmento  $(dTpdG)_2$  de ADN-Z optimizado con el funcional PBE/PBE, con sólo una de sus cadenas de la clase ZZ1S. La dos proyecciones muestran la posición mutual casi paralela entre los pares de bases apilados y la superposición entre los anillos de las pirimidinas. Se puede observar que esta estructura presenta dos enlaces de hidrógeno en cada par de bases Gua(syn):Thy(anti), lo cual le brinda una mayor estabilidad, comparada con el cdDMP experimental que sólo tiene un enlace de hidrógeno en dichos pares.

De la optimización realizada con M05-2X se tienen los mismos cambios en las torsiones que los de la estructura obtenida con PBE, sin embargo, en este caso las bases no tienen una buena posición mutual, siendo una estructura no viable pues no permite la continuidad de la hélice doble.

A pesar de que las optimizaciones realizadas a las cadenas separadas resultó en estructuras cuyas torsiones se encuentran en las mismas regiones que las del dúplex optimizado con PBE, estas no son viables, en ambos casos se tiene una mala posición de las bases apiladas con la formación de enlaces de hidrógeno entre las mismas.

En cuanto a los SPBs separados, se tiene de las optimizaciones realizadas mínimos de energía correspondientes a la clase ZZ1S para uno de ellos, mientras que para el otro se han presentado cambios de región en las torsiones  $\zeta$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ , tal como en las optimizaciones realizadas al dDMP del que fue extraído y también en el dúplex.

Finalmente, la segunda estructura estudiada, de secuencia  $(dGpdT)_2$ , presenta reglas normales de superposición entre sus bases apiladas, con una cadena en conformación de la clase ZZS2, y la complementaria con varias de sus torsiones en regiones lejanas de la misma, como puede verse en la Tabla 3.65.

Después de realizar optimización en la geometría de este cdDMP con el funcional PBE, se ha obtenido una estructura cuyos desplazamientos en la posición de las bases ha causado una completa distorsión de la hélice doble. De igual manera, de los cálculos realizados a los dDMPs separados, aunque las torsiones de la cadena dGpdT-ZZS2 se encuentran en regiones para esta clase, se tiene para ambos una mala posición de sus bases apiladas y con la formación de enlaces

de hidrógeno artificiales entre las mismas. En cuanto a los SPBs separados, no se tiene mínimos de energía correspondientes a alguna NtC reportada.

Tabla 3.65: Comparación de ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato, ángulos glucosídicos y área de superposición entre los anillos de las bases apiladas,  $S(\text{Å}^2)$ , para la cadena ZZS2 y la no clasificada de los cdDMP, dDMP y SPB optimizados del dúplex dGpdT(ZZS2):dGpdT(—).

NDB	Método	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$\chi_{1,2}$	$S(\text{Å}^2)$		
	<b>ZZS2<sup>1</sup></b>	<b>95</b>	<b>187</b>	<b>64</b>	<b>169</b>	<b>162</b>	<b>44</b>	<b>143</b>	<b>56</b>	<b>213</b>		
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>90</b>	<b>212</b>	<b>13</b>	<b>164</b>	<b>174</b>	<b>66</b>	<b>147</b>	<b>45</b>	<b>221</b>	<b>2.42</b>	
dGpdT	PBE	cdDMP	83	205	<i>74</i>	159	<b>95</b>	40	120	57	238	<b>0.00</b>
ZZS2	PBE	dDMP	90	187	<i>68</i>	159	159	48	146	59	204	1.56
		SPB	117	193	<i>57</i>	<b>235</b>	155	51	134			
NA1493	M05	dDMP	88	184	<i>68</i>	163	160	48	148	53	206	2.78
	- 2X	SPB	74	185	<i>47</i>	<b>237</b>	<i>144</i>	50	137			
	MP2	SPB	73	190	<i>49</i>	<b>235</b>	<i>143</i>	50	138			
	INI ( <i>experimental</i> ) <sup>2</sup>	<b>95</b>	<b>172</b>	<b>90</b>	<b>5</b>	<b>203</b>	<b>166</b>	<b>161</b>	<b>47</b>	<b>218</b>	<b>1.18</b>	
dGpdT	PBE	cdDMP	81	173	<i>34</i>	<b>73</b>	<b>89</b>	157	155	66	199	<b>0.00</b>
noCo-	PBE	dDMP	89	177	63	<b>50</b>	<b>160</b>	151	156	54	<b>185</b>	1.23
nocida		SPB <sup>3</sup>	119	194	<b>57</b>	<b>69</b>	202	187	<b>123</b>			
NA1493	M05	dDMP	88	178	61	<b>53</b>	<b>168</b>	145	158	44	190	2.46
	- 2X	SPB	94	190	61	<b>69</b>	204	183	135			
	MP2	SPB	77	190	<b>58</b>	<b>66</b>	207	183	<b>128</b>			

Ángulos en grados (°). <sup>1</sup>Ángulos de torsión promedio para dicha clase conformacional, tomados de [6]. <sup>2</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA1493. <sup>3</sup>Resultado obtenido calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización.

## Capítulo 4

# Discusión

*Research is to see what everybody else has seen,  
and to think what nobody else has thought.*

ALBERT SZENT-GYORGYI

Tras presentar los resultados obtenidos del estudio realizado para esclarecer la contribución de las subunidades del ADN a la formación de su estructura tridimensional y las regularidades de la dependencia en la secuencia de la hélice doble de ADN cuyas cadenas complementarias presentan distintas clases conformacionales (NtCs), o contiene alguna base modificada (5mC, 5-hmC, 8-oxoG, 2AP), se expone en este capítulo un resumen de los mismos y las implicaciones de estos.

La importancia de las diversas conformaciones analizadas no radica sólo en las distintas NtCs que presentan, sino también en el hecho de que muchas de ellas se encuentran en complejos con proteínas indispensables en diferentes procesos biológicos, o son estructuras cuyas bases modificadas están implicadas en la activación o silenciamiento de genes, en procesos oxidativos relacionados a enfermedades neurodegenerativas, o enfermedades cancerogénicas, por citar algunos ejemplos.

Este estudio ha permitido redefinir las generalizaciones y conclusiones de trabajos publicados anteriormente por Poltev et al. [10, 11, 12, 42, 43], además, muestran apoyo a sus conclusiones acerca de el importante rol del esqueleto azúcar-fosfato (SPB) en la formación de la dependencia de la estructura del dúplex de Watson-Crick (WCD) en la secuencia de nucleótidos en este.

### **4.1. Análisis de esqueletos azúcar-fosfato cuyas diferentes clases conformacionales tienen o no mínimos de energía para SPBs separados**

Se ha mencionado en los capítulos anteriores que el esqueleto azúcar-fosfato (SPB) juega un papel muy importante en la formación de la estructura del ADN; en adición, se sabe de otros estudios que para aquellas conformaciones que tienen mínimos de energía para SPBs separados

se presentan reglas de superposición parecidas a las de las familias AI y BI [9, 12], i.e., una notable superposición entre las bases apiladas de los fragmentos mínimos de cadena única (dDMPs) cuya secuencia de nucleósidos es Pur-Pur o Pur-Pyr, mientras que esta es despreciable en los casos de las secuencias Pyr-Pyr y Pyr-Pur, las cuales hemos llamado *reglas normales*.

Por ello, es indispensable saber cuáles clases conformacionales presentan mínimos de energía para SPBs separados, y cuáles no, a fin de poder comprender y establecer las regularidades de formación de los dúplex de ADN cuyas cadenas presentan alguna de las clases estudiadas. Así, se realizaron muchos cálculos con distintas metodologías a variados SPBs extraídos de fragmentos de dDMPs experimentales de las clases seleccionadas.

De los resultados obtenidos para las clases NtCs seleccionadas, las cuales son compatibles con la formación de WCDs donde ambos nucleósidos de los pares de bases complementarios se encuentran en conformación *anti*, se tiene que pueden ser divididas en dos grupos: 1) aquéllas con torsiones del esqueleto azúcar-fosfato cercanas a de los mínimos locales de energía del fragmento SPB separado y, 2) aquéllas que tienen torsiones del SPB muy diferentes de los mínimos de energía para un fragmento de SPB separado.

Específicamente, de los resultados presentados en la Sección 3.1, tenemos en cada grupo a las siguientes clases conformacionales de dDMPs estudiadas:

1. BB00, AA00, AA01, BB07<sup>1</sup>, BB01, BA01, BA05, BB12, BA09, AB02, *Subclase X*.
2. BB02, BB04, BB13, BB15, BA08, BA16.

Para el primer grupo de clases de dDMPs, de las observaciones realizadas a las estructuras experimentales estudiadas, en muchos casos se tiene que la superposición de los anillos de las bases apiladas presentan reglas normales. Mientras que para el segundo grupo estas regularidades no necesariamente se mantienen, pues en la mayoría de dDMPs de nuestro conjunto experimental se observa una superposición menor entre los anillos de las bases, incluyendo dDMPs con secuencias Pur-Pur y Pur-Pyr. Aunado a ello, existen también excepciones para el primer grupo, en las que se observa una superposición substancial en secuencias Pyr-Pyr y Pyr-Pur. Esto ha llevado a un análisis más profundo, el cual se discutirá más adelante.

La optimización de la geometría de fragmentos de SPB extraídos de dDMPs pertenecientes al primer grupo de clases NtCs produce conformaciones que tienen todos sus ángulos de torsión muy cercanos a los valores iniciales en las estructuras experimentales y a los valores promedio para dichas NtCs. Por otro lado, la optimización de la geometría de fragmentos separados de SPBs extraídos del segundo grupo de dDMPs conduce a una o más torsiones significativamente desviadas de los valores promedio por más de 40°. En la Figura 4.1 podemos observar estas características mencionadas para algunas de las clases NtCs estudiadas.

---

<sup>1</sup>Esta conformación incluye muchas estructuras cuyas optimizaciones han dado como resultado fragmentos con ángulos de torsión muy diferentes de las estructuras de mínimos de energía para SPBs separados.

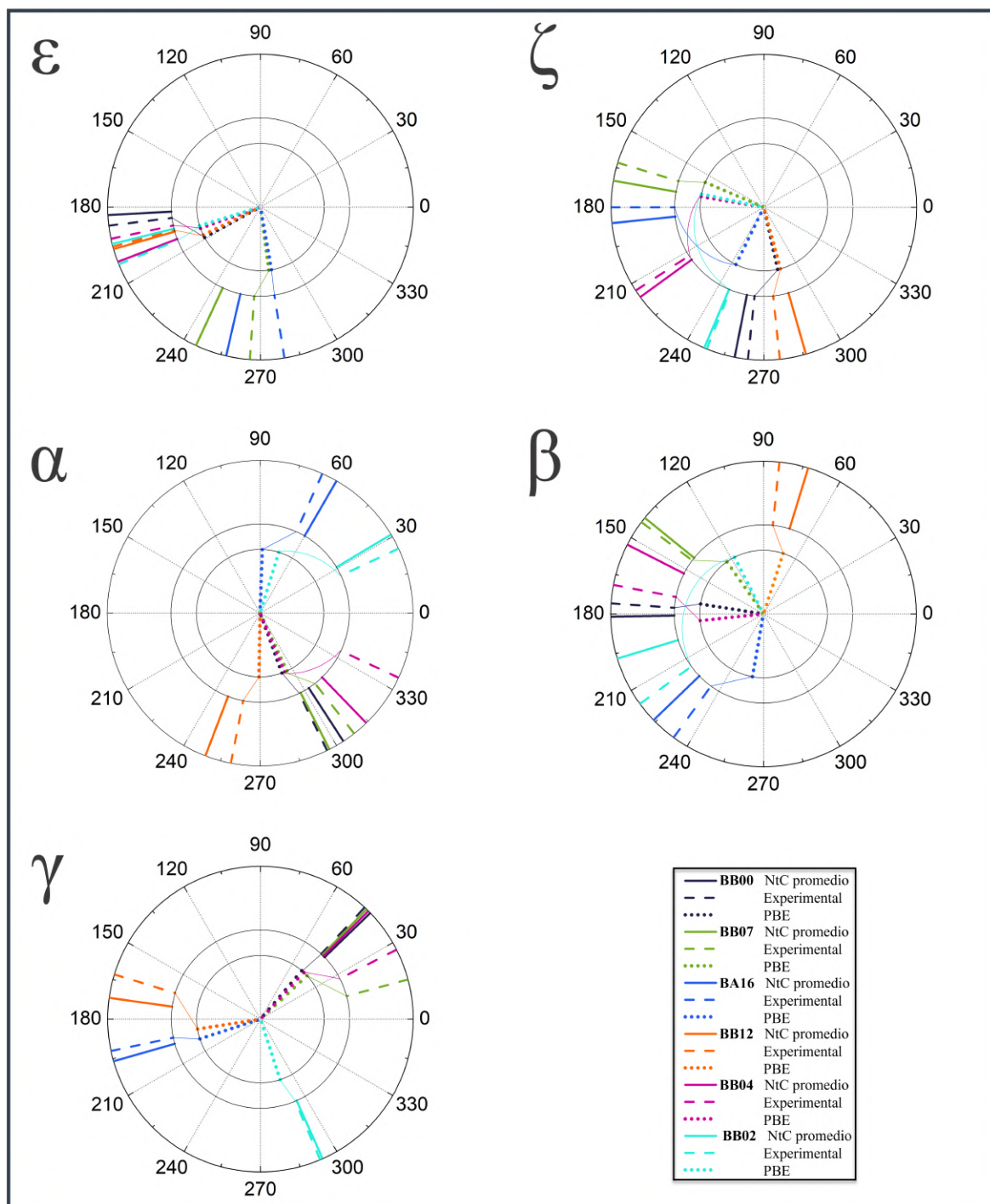


Figura 4.1: Comparación de cinco ángulos de torsión del esqueleto azúcar-fosfato para las clases NtCs BB00, BB07, BA16, BB12, BB04 y BB02. Las líneas continuas representan los valores promedios de las torsiones para las clases publicadas por Svozil et al. [5]; las líneas discontinuas indican las torsiones que presenta la estructura experimental seleccionada del NDB; las líneas punteadas muestran los valores obtenidos para la estructura optimizada con el funcional PBE/PBE. Figura publicada en [2].

Gracias a este estudio, hemos encontrado que la clase BB07 (familia BII) no siempre resulta en estructuras que correspondan a mínimos de energía para SPBs separados de esta NtC. La precisión limitada de conclusiones anteriores para esta familia ha sido debido al conjunto restringido de estructuras disponibles en aquél tiempo. Con los resultados obtenidos en este trabajo dichas conclusiones han sido ajustadas.

Un aspecto importante derivado de este trabajo es que de la optimización de la geometría, mediante el uso de cualquier método computacional, de varios fragmentos de SPBs separados extraídos de dDMPs pertenecientes a la misma NtC, generalmente conduce a dos o más mínimos locales de energía. Esta observación aplica para todas las NtCs estudiadas, dando un poco de luz a la existencia de los dos grupos de dDMPs propuestos y mencionados arriba.

Los diferentes mínimos obtenidos con cada método empleado para el primer tipo de clases de dDMPs pueden diferir sólo en unos pocos grados entre todas las torsiones. Una clase que representa este particular caso es la familia BI, BB00. Para evaluar si se podrían tener más mínimos locales de energía para esta clase se realizaron segundas optimizaciones a los mínimos obtenidos con cada metodología de MC, en adición, se prepararon estructuras híbridas entre el mínimo más favorable y el que lo secundó para cada método y se prosiguió con la optimización de los mismos. De las optimizaciones realizadas no se obtuvieron nuevos mínimos locales de energía diferentes de los que ya se habían adquirido previamente.

En cuanto al segundo tipo de dDMPs, la diferencia para una o dos torsiones de los mínimos obtenidos pueden exceder los  $50^\circ$ . Un ejemplo de esto se tiene en la clase BB04, la cual es una clase conformacional intermedia entre las familias BI y BII. Para esta NtC encontramos tres mínimos diferentes con las tres metodologías de MC empleadas, uno siendo el mismo obtenido para la clase BB07, otro mínimo que coincide con uno de BB00, y el tercero tiene un conjunto de torsiones únicas no visto antes. Adicionalmente, como otro ejemplo se tiene a la clase NtC BA08, para la cual se han obtenido tres mínimos muy diferentes, en donde uno de ellos corresponde a la clase BB00, otro a la clase BA05 y el tercer mínimo corresponde a la clase conformacional OP10, la cual no se ha estudiado en este trabajo pues sólo se reportan dos dDMPs de ADN de este tipo [6].

En este punto es importante mencionar que la existencia de mínimos de energía obtenidos para una clase conformacional y vistos en otra diferente no se restringe sólo al segundo grupo. Se tiene para el primer grupo de dDMPs casos en los que los mínimos obtenidos corresponden a otra NtC. A continuación se mencionan los mínimos obtenidos para cada clase estudiada en este trabajo, entre paréntesis se menciona la torsión o torsiones que presentaron cambios, en caso de que el conjunto de ángulos obtenidos no sea reportado para alguna NtC:

#### ▪ Primer Grupo

- BB00  $\rightarrow$  BB00, BA05
- AA00  $\rightarrow$  AA00, AA09, BA05
- AA01  $\rightarrow$  AA01, AA05
- BB07  $\rightarrow$  BB07, BB07( $\epsilon$ ), BB07( $\delta_1$ ), BB07( $\epsilon\beta$ ), IC05
- BB01  $\rightarrow$  BB00

- BA01/BA05 → BA01/BA05, BB00
- BB12 → BB12, BA09
- BA09 → BA09, BB12
- AB02 → AB02, AB02( $\zeta\beta$ )
- Subclase X → Subclase X

■ **Segundo Grupo**

- BB02 → BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
- BB04 → BB00, BB07( $\epsilon\beta$ ), BB04( $\epsilon\zeta\alpha\beta$ )
- BB13 → BB12
- BB15 → BB00, BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
- BA08 → BB00, BA05, OP10
- BA16 → BA16( $\zeta\beta$ ), BA16( $\epsilon\alpha\beta$ )

Nótese que para BA01 y BA05 se tienen mínimos cercanos y algunos iguales, aunado a ello, en las primeras clasificaciones realizadas para las clases conformacionales de dDMPs [5] ambas conformaban una sola, por ello, consideramos sus mínimos como un mismo conjunto.

Estos resultados nos muestran que las barreras energéticas entre los mínimos de energía de ciertas clases, en el caso de aquellas que comparten resultados, permiten el cambio de conformación entre una y otra. Por ejemplo, se puede tener el cambio de conformación en un dDMP de la clase BB00 a BA05 y viceversa, o se puede presentar un cambio de conformación en el caso de tener un dDMP de la NtC BA08 a la clase BA05, en este último ejemplo no se puede decir que hay posibilidad de pasar de la NtC BA05 a BA08, pues de los resultados no se tiene que la clase BA05 tenga mínimos de energía que correspondan a BA08.

Del análisis realizado a todas las estructuras experimentales y optimizadas estudiadas en este trabajo, se puede asegurar que estas afirmaciones son correctas, pues existen ejemplos de dúplex experimentales con un dDMP-BB00 que después de ser optimizados cambiaron la conformación de ese dDMP a BA05. O dúplex experimentales cuya cadena con conformación BA09 al realizarle cálculos de optimización cambió a la NtC BB12. Para una mejor apreciación de este comportamiento ver en la siguiente sección la Tabla 4.3.

En cuanto a los resultados variados obtenidos para la familia BII, BB07, al indagar un poco más, se pudo observar en las optimizaciones realizadas a los fragmentos de dúplex con una cadena en esta conformación que la mayoría de estas conducen a un cambio en el ángulo de torsión  $\epsilon$ , mismo cambio presente en varios de los mínimos obtenidos para SPBs separados. Por otro lado, se presenta un caso en el que el dDMP del dúplex optimizado tiene cambio de la clase BB07 a la NtC BB00, lo cual es congruente con las optimizaciones realizadas a SPBs separados, pues uno de los mínimos obtenidos con las tres metodologías de MC presenta cambio en las torsiones  $\epsilon$  y  $\beta$ , estando estas en regiones para BB00, el único ángulo que es diferente a esta clase conformacional en dichos mínimos y que no cambió fue  $\zeta$ .

Dada la importancia de los mínimos de energía obtenidos para aquéllas clases conformacionales que tienen correspondencia con estos, y para aquéllas que no estudiamos pero obtuvimos mínimos locales para ellas, en la Tabla 4.1 se presenta una comparación entre las energías de cada mínimo local más profundo obtenido para cada NtC con las tres metodologías empleadas de MC. Además, se han ordenado las distintas clases de acorde al lugar que ocupan debido a la energía de sus mínimos, siendo la primera la más favorable y la última la menos favorable. Aunque la mayoría presentan el mismo lugar en las tres metodologías, no todas lo hacen, pero esto no ha sido impedimento para poder llegar a conclusiones sobre sus implicaciones.

Tabla 4.1: Valores de energía de los mínimos locales más favorables obtenidos para esqueletos azúcar-fosfato de las clases conformacionales estudiadas que presentan mínimos de energía para SPBs separados.

PBE			M05-2X			MP2		
NtC	E(kcal/mol)	Lugar	NtC	E(kcal/mol)	Lugar	NtC	E(kcal/mol)	Lugar
BB00/BB01	-938761.05	1	BB00/BB01	-939582.24	1	BB00/BB01	-937368.65	1
BA05/BA01	-938759.54	2	Subclase X	-939580.62	2	Subclase X	-937366.65	2
BB12	-938758.74	3	BA05/BA01	-939579.86	3	BA05/BA01	-937366.56	3
BA09	-938758.74	4	BB12	-939579.52	4	BB12	-937365.41	4
Subclase X	-938758.57	5	AA00	-939578.65	5	AA00	-937364.94	5
AA09 <sup>1</sup>	-938758.42	6	OP10 <sup>2</sup>	-939578.08	6	AA09 <sup>1</sup>	-937364.44	6
OP10 <sup>2</sup>	-938758.41	7	AA09 <sup>1</sup>	-939577.99	7	BA09	-937363.73	7
AA00	-938758.20	8	BA09	-939577.38	8	BB07( $\epsilon$ )	-937363.21	8
AA01	-938756.72	9	AB02	-939576.94	9	AB02	-937362.97	9
BB07( $\epsilon$ )	-938755.91	10	BB07	-939576.80	10	AA01	-937361.78	10
AB02	-938755.73	11	BB07( $\epsilon$ )	-939576.78	11	AA05 <sup>4</sup>	-937361.39	11
Subclase V	-938754.44	12	IC05 <sup>3</sup>	-939575.90	12	Subclase V	-937360.55	12
			AA01	-939575.39	13			
			AA05 <sup>4</sup>	-939575.22	14			
			Subclase V	-939574.72	15			

<sup>1</sup>Mínimo obtenido de SPB de la clase AA00. <sup>2</sup>Mínimo obtenido de SPB de la clase BA08. <sup>3</sup>Mínimo obtenido de SPB de la clase BB07. <sup>4</sup>Mínimo obtenido de SPB de la clase AA01.

Además de llegar a la conclusión de que el primer grupo de clases de dDMPs (en la tabla anterior) suelen presentar reglas normales de superposición, y en algunos casos un notable stacking en las secuencias Pyr-Pyr y Pyr-Pur, el análisis realizado a las estructuras experimentales y a las optimizadas, en conjunto con estos lugares que muestran cuáles NtCs son más favorables, ha permitido establecer regularidades de formación con dependencia no sólo en la secuencia de nucleósidos, sino también en las clases conformacionales a la que pertenezca cada dDMP. Esto se discutirá en la siguiente sección.

En adición, como ya se ha mencionado en el capítulo de Resultados, Sección 3.1.3, el estudio realizado ha permitido establecer la *Subclase X*, la cual presenta mínimos de energía para SPBs separados; y, del análisis realizado a dúplex con una cadena de esta *Subclase X* y la complementaria con un conjunto de torsiones no reportada, permitió encontrar otras conformaciones llamadas por el momento *Subclase V* y *Subclase M*, cuyos resultados corresponden a mínimos de energía para SPBs separados. En la Tabla 4.1 se puede ver que la *Subclase V* es la menos favorable de todas las clases estudiadas con las tres metodologías de MC.

Tabla 4.2: *Conjuntos de ángulos de torsión propuestos para las Subclases X, V y M encontradas en los estudios realizados, las cuales presentan mínimos de energía para SPBs separados.*

Clase	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$
<i>Subclase X</i>	141	192	197	30	104	55	118
<i>Subclase V</i>	84	30	53	86	185	184	125
<i>Subclase M</i>	164	305	82	55	118	299	164

Para la mayoría de los ejemplos considerados, la optimización realizada a los SPBs separados con los campos de fuerzas AMBER reproduce los resultados obtenidos con MC para ambos grupos de NtCs. Sin embargo, hay clases para las que no lo hacen, o no reproducen todos los mínimos obtenidos, mostrando la falta de precisión de esta metodología y la necesidad de un ajuste en los parámetros de la misma, lo cual no es exclusivo al estudio realizado a SPBs separados, sino también a conformaciones de dúplex.

## 4.2. Estudio de fragmentos de ADN-Z de distintas clases conformacionales

Una de las importantes familias conformacionales considerada en esta investigación es la conformación-izquierda de ADN-Z. Tales dúplex de ADN se forman por la alternación de secuencia entre purinas y pirimidinas, Pur-Pyr-Pur-Pyr..., donde los nucleósidos de las pirimidinas se encuentran en conformación *anti* y los de las purinas en conformación *syn*. Este intercalado de conformaciones de los nucleósidos, *syn-anti-syn-anti...*, es lo que le da la forma zigzagada al esqueleto de la hélice doble. A pesar de no presentar las mismas conformaciones de nucleósidos que los WCDs, estas estructuras forman pares de bases normales de WC.

Aunque no se han determinado aún hélices Z dentro de sistemas biológicos a nivel funcional, es importante considerarlas y estudiarlas pues se sabe de su presencia en procesos llevados a cabo en distintas enfermedades. La enzima de edición de ARN, ADAR1, contiene un dominio de alta afinidad ( $Z\alpha$ ) que se enlaza específicamente al ADN-Z [13], mientras que otra proteína asociada a tumores, DLM-1, contiene un dominio con similitudes de secuencia con el dominio  $Z\alpha$  de ADAR1 también unido al ADN-Z zurdo [14].

Durante mi estudio de maestría se analizaron fragmentos mínimos de cadena única, dDMPs, y de dúplex, cdDMPs, de conformaciones de la familia Z con la secuencia  $d(CGCGCG)_2$  [3], encontrándose que estos fragmentos no corresponden a mínimos de energía para dicha conformación y explicando con ello la inherente inestabilidad de la conformación-Z. Como continuación de ese trabajo, se presenta el análisis realizado a fragmentos de SPBs separados tomados de dichas estructuras y otras que se explicarán a continuación.

Anteriormente se propuso que las bases nitrogenadas que preferentemente conforman estas mencionadas estructuras de la familia Z sólo eran Guaninas y Citosinas [15], sin embargo, existe evidencia de otras secuencias diferentes con las mismas características [16], con la inclusión de

nucleósidos de Adenina (*syn*) y Timina (*anti*) formando pares normales de WC o con formación de pares incorrectos de bases, Gua(*syn*):Thy(*anti*).

Dicho esto, se ha realizado un estudio a SPBs tomados de estructuras con las secuencias Pyr-Pur y Pur-Pyr, conteniendo pares normales de WC Ade:Thy o Gua:Cyt, o con el par erróneo Gua:Thy, en donde las purinas se encuentran en conformación *syn* y las pirimidinas en conformación *anti*.

Para ello, se han considerado las clases NtC ZZ1S, ZZS1 y ZZS2, en donde ZZ1S es para aquéllos dDMPs cuya secuencia es Pyr(*anti*)-Pur(*syn*), y ZZS1 y ZZS2 consideran a los dDMPs de secuencia Pur(*syn*)-Pyr(*anti*).

Del estudio realizado a SPBs de la clase ZZ1S se tiene que esta NtC tiene mínimos de energía para SPBs separados, mientras que para los SPBs tomados de dDMPs-ZZS1 tenemos casos con variaciones grandes en dos ángulos de torsión y casos en donde sí corresponde a mínimos de energía para SPBs separados. Por otro lado, para la NtC ZZS2 los resultados se desvían de los mínimos de energía para dicha conformación. En la Sección 3.1.5 se puede ver dicho análisis y resultados.

Esta diferencia entre las tres NtCs, de las cuales sólo una de ellas presenta mínimos de energía para SPBs separados de la misma, explica por qué en el estudio realizado anteriormente [3, 7] se obtuvieron conformaciones de dúplex de ADN-Z viables sólo para la secuencia (dCpdG)<sub>2</sub>, la cual presentó ambos dDMPs de la NtC ZZ1S.

Por otro lado, estos resultados explican la necesidad de específicas condiciones del entorno en el que se encuentra el ADN-Z para poder existir, y la dificultad de estudiar su rol biológico, pues esta forma es inducida brevemente durante la actividad biológica y desaparece rápidamente cuando el entorno cambia.

### 4.3. Regularidades de formación de dúplex con dDMPs de distintas clases NtCs

Dada la importancia de establecer las regularidades de formación de dúplex de hélices dobles derechas de ADN cuyos nucleósidos se encuentran en conformación *anti*, debido a que en aquellas regiones con dDMPs con poca o nula superposición entre los anillos de las bases apiladas es posible tener una curvatura o *bending* de la doble hélice -lo que permite el empaquetamiento de esta en distintos procesos biológicos, incluyendo la formación de cromosomas y las interacciones con distintas proteínas-, se presenta un análisis profundo de los resultados obtenidos para todos los dúplex estudiados en este trabajo. En este análisis se incluyen también aquellas estructuras con una base modificada, pues presentan pares normales de WC, además de que el análisis lo permite y requiere.

Tabla 4.3: Comparación de las clases conformacionales y superposiciones en los dDMPs de los dúplex experimentales estudiados y en las estructuras obtenidas después de las optimizaciones realizadas con los funcionales PBE/PBE y M05-2X, los cuales cumplen con las nuevas regularidades de formación encontradas.

NDB ID	cdDMP	Experimental		PBE		M05-2X	
		S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC
5F9I	dApdA:	1.34	BB00*	1.39		2.04	BB00*
	dTpdT	0.66	Sub. X*	0.34	/	0.00	Sub. X*
PD0190 <sup>1</sup>	dApdA:	3.13	BB02	0.02		1.08	BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
	dTpdT	0.00	BB02	0.00	/	0.00	BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
1I1P	dApdG:	3.87	BA09*	3.64		4.43	BB12*
	dCpdT	0.00	AA00*	0.00	/	0.04	AA00*
NA0318 <sup>1</sup>	dGpdA:	2.89	BB12*	0.00		4.16	BB12*
	dTpdC	0.35	BB12*	0.00	/	0.28	BB12*
5I6Q	dGpdA:	1.51	Sub. X*			2.94	Sub. X*
	dTpdC	0.54	sin NtC			0.00	Sub. M*
AD0067	dGpdG:	1.51	AA00*	2.04	AA00*		
	dCpdC	0.00	AA01( $\delta_2$ )	0.00	AA05( $\delta_2$ )		
2KV0	dApd2PR:	1.54	BB00*	4.16		4.05	BB00*
	dTpdT	0.43	BB00*	0.00	/	0.00	BB00*
2M3P	dApd8OG:	3.56	BB01*	5.04		4.83	BB01*
	dCpdT	0.01	BB01*	0.47	/	0.00	BB01*
PD0652 <sup>1</sup>	dApdT:	4.05	BB00*	3.53	BA05*	3.35	BA01*
	dApdT	1.39	BB02	1.65	BB02( $\alpha\beta$ )	0.82	BB02( $\alpha\beta$ )
5W6W	dApdT:	2.31	Sub. X*	2.39		2.72	Sub. X*
	dApdT	1.24	naBB02	0.17	/	0.95	BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
5GUN	dApdC:	3.62	BB12*	1.13		4.05	BB12*
	dGpdT	2.17	BB02	0.00	/	<b>0.71</b>	BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
UDJ060	dApdC:	2.42	BB15	2.74		3.68	BA01*
	dGpdT	1.72	BB12*	1.15	/	0.94	BB12*
NA2706	d5HCpdG:	0.13	AB01	0.00	BB00*	0.00	
	dCpdG	0.44	AB03	0.57	BB00*	0.06	/
5KEO	dGpdA:	1.44	Sub. X*	1.93		0.44	Sub. X*
	dTpdC	0.29	BB00*	0.00	/	<b>1.74</b>	BA01*
PD0298 <sup>1</sup>	dApdT:	2.66	BB01*	3.42	BA05*	4.30	BA01*
	dApdT	2.60	BB02	1.61	BB02( $\alpha\beta$ )	1.04	BB02
5EZF	dCpdG:	0.00	BA01*	<b>2.90</b>	BA05*	<b>2.35</b>	BA05*
	dCpdG	0.00	BB07*	0.00	BB07( $\epsilon$ )	0.00	BB07( $\epsilon$ )
5ET9	dCpdG:	0.59	BA05*	<b>2.58</b>	BB00*	0.00	
	dCpdG	0.00	BB04	0.00	BB04	0.00	/
PD0329 <sup>1</sup>	dApdA:	0.76	BB04	<b>1.63</b>		<b>1.83</b>	BB00*
	dTpdT	2.11	BB02	<b>0.00</b>	/	<b>0.00</b>	BB02( $\alpha$ )
NA2122	dApdA:	0.12	BB04	0.93	Sub. X*	0.21	Sub. X*
	dTpdT	0.90	BA05*	1.22	BA05*	2.00	BA05*
PD1271 <sup>1</sup>	dGpdG:	0.08	BB07*	0.00		0.00	BB07*
	dCpdC	2.97	BA09*	0.00	/	2.39	BA09*
PDT058 <sup>1</sup>	dGpdG:	0.82	BB00*	1.38		<b>0.97</b>	BB00( $\beta$ )
	dCpdC	1.02	BB02	0.00	/	<b>0.00</b>	BB02( $\alpha\beta$ )

Continuación de Tabla 4.3.

NDB ID	cdDMP	Experimental		PBE		M05-2X	
		S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC
NA0453	dGpdA:	0.78	BA08	0.00	BA08( $\epsilon\alpha$ )		
	dTpdC	0.58	AA00*	<b>2.92</b>	AA00*		
2MAV	dApdT:	3.63	BB00*	0.00	/	4.02	BA05*
	dApdT	0.70	BA16	0.00	/	0.92	BA16
5ET9	dGpdC:	2.91	BA01*	1.62	/	3.78	BA01*
	dGpdC	0.20	BB07*	0.00	/	0.49	BB07*
BDL078	dGpdC:	2.11	BA05*	0.00	/	3.81	BA05*
	dGpdC	0.00	BB07*	0.00	/	0.52	BB07( $\epsilon$ )
BDL084	dGpdC:	2.35	BA05*	0.00	/	3.92	BA05*
	dGpdC	0.00	BB07*	0.00	/	0.64	BB07( $\epsilon$ )
NA2719	dGpd5CM:	1.88	BA08	0.00	/	3.86	BA01*
	dGpdC	0.00	BB07*	0.00	/	0.25	BB07*
1P51 <sup>1</sup>	dTpdG:	2.14	BA09*	1.12	BB12*	<b>0.77</b>	BB12*
	dCpdA	0.34	AA00*	0.00	AA00*	0.00	AA00*

<sup>1</sup> Fragmentos experimentales que se encuentran en complejos con proteínas. / Dúplex que ha resultado en una conformación no viable. \*Clase NtC que tiene mínimos de energía para SPB separado.

Se han marcado con color verde aquellas superposiciones no normales de los dDMPs experimentales. En adición, se encuentran distinguidos con negrita las superposiciones que cambiaron de regla después de las optimizaciones realizadas al respectivo dúplex.

En la Tabla 4.3 se presentan los resultados obtenidos para cada estructura considerada, en ella se muestra la conformación de los dDMPs de las estructuras experimentales y de los dúplex optimizados con los funcionales PBEPBE y M05-2X, además de la superposición de las bases apiladas en cada caso.

Gracias al análisis realizado, estos resultados se han dividido en cinco secciones considerando las características de los dúplex experimentales:

- 1) *Corresponde a aquellas estructuras donde la superposición respeta las reglas normales y por ende la secuencia de las bases, además de la clase de los dDMPs.*
- 2) *Estructuras que presentan superposición acorde a la secuencia, pero no a la clase de sus dDMPs.*
- 3) *Dúplex cuya superposición no respeta las reglas normales, pero sí considera la clase conformacional de sus dDMPs.*
- 4) *Conformaciones con superposición no normal y no considera la clase NtC que presenta.*
- 5) *Dúplex que sólo tienen superposición normal, de acuerdo a la secuencia, en un sólo dDMP.*

Del análisis realizado a las estructuras experimentales y optimizadas con las dos metodologías, se tiene que aquéllas que presentan ambos dDMPs de la misma clase NtC, sin importar a qué grupo pertenezcan, muestran reglas normales de superposición. Un ejemplo es la estructura dGpdA:dTpdC extraída del fragmento NDB ID NA0318, con la conformación BB12:BB12, en la cual se puede observar una superposición normal tanto en la estructura experimental como en la obtenida con el funcional M05-2X.

Por otro lado, en el caso de tener un dDMP en conformación de una de las clases del grupo uno mencionado en la Sección 4.1 -aquéllas clases que tienen mínimos de energía para SPBs separados- y el dDMP complementario en conformación de una de las clases del grupo dos -que no tienen mínimos de energía para SPBs separados- se tiene una notable superposición entre las bases del dDMP del grupo uno, sin importar que tenga secuencia Pyr-Pyr o Pyr-Pur, y una superposición mínima o nula en el dDMP del grupo dos, aún si tiene secuencia Pur-Pur o Pur-Pyr.

Para esta segunda aseveración un ejemplo sería la estructura (dApdT)<sub>2</sub> extraída del fragmento NDB ID PD0652, con la conformación BB00:BB02, en ella se observa una mayor superposición en la cadena dApdT-BB00 del dúplex experimental y optimizado, sin importar que ambas cadenas tienen la misma secuencia; otro ejemplo es la estructura dTpdT:dApdA extraída del fragmento NDB ID NA2122, en donde la cadena dTpdT que es de la clase BA05 presenta una notable superposición de las bases apiladas y esta es prácticamente nula en la cadena dApdA de la NtC BB04.

Sin embargo, para aquéllos duplex experimentales, y/u optimizados, con ambos dDMPs complementarios pertenecientes a clases del primer grupo o del segundo grupo ha sido necesario un análisis más profundo, en el cual se ha tenido que considerar las energías obtenidas para los mínimos locales de cada clase conformacional.

De la observación de las superposiciones presentes en las cadenas de cada dúplex experimental y optimizado, así como la clase NtC de los mismos, expuestos en la Tabla 4.3, y de la consideración de cuáles NtCs tienen mínimos de energía más favorables para SPBs separados, de acorde a los lugares otorgados en la Tabla 4.1 -comparando unas respecto a otras-, se ha llegado a la conclusión de que se presenta una mayor superposición en aquéllos dDMPs cuya clase conformacional tiene un mínimo de energía más favorable respecto a la conformación del dDMP complementario, en caso de que ambos presenten clases NtCs del mismo grupo.

Esta afirmación se puede comprobar en la estructura dApdG:dCpdT extraída del fragmento NDB ID 1I1P, la cual tiene una notable superposición en la cadena dApdG de la clase BA09 y nula en la cadena dCpdT-AA00 de la estructura experimental, después de optimizar dicho dDMP con el funcional M05-2X la cadena dApdG cambia a la clase BB12, sin embargo, la regla de superposición se mantiene, esto es explicado por el hecho de que las clases BB12 y BA09 presentan mínimos de energía para SPBs separados más favorables que la clase AA00.

Para el caso en el que ambos dDMPs tengan clases del segundo grupo sólo tenemos un ejemplo, la estructura experimental dApdA:dTpdT extraída del fragmento NDB ID PD0329, la cual presenta una notable superposición en la cadena dTpdT de la clase BB02, mientras que es mucho menor en la cadena dApdA-BB04. Esto es congruente con los resultados obtenidos

para estas dos clases NtCs, en donde, aunque ninguna tiene mínimos de energía para SPBs separados, los resultados obtenidos para la clase BB02 tienen una energía más favorable que los de BB04.

Dichas conclusiones son válidas incluso para los casos de las optimizaciones realizadas con otros funcionales que consideran interacciones de dispersión como PBE-D3BJ, B97-D3 o interacciones de stacking como M06-2X, incluidos en aquellos casos donde se utilizó solvente para realizar las optimizaciones de la geometría de las estructuras en cuestión.

Estas tres afirmaciones a las que se ha llegado después del análisis profundo, considerando tanto los resultados obtenidos para los fragmentos de dúplex como para los SPBs, son válidas también para las conformaciones estudiadas con alguna base modificada (5mC, 5-hmC, 8-oxoG, 2AP). No obstante, existen excepciones a estas regularidades de formación encontradas, tanto para estructuras con bases modificadas, como para estructuras con bases nitrogenadas normales, lo cual se discutirá en breve.

Antes de continuar con las excepciones obtenidas, es necesario hablar sobre aquéllas conformaciones presentes en complejos con proteínas u otras moléculas.

En la Tabla 4.3 se puede observar que de las estructuras estudiadas que cumplen con las regularidades de formación aquí propuestas, ocho se encuentran en complejos con proteínas, de las cuales sólo tres cambian las reglas de superposición después de realizar la optimización de las mismas sin la presencia del complejo, pero también cambian la conformación de sus dDMPs (NDB ID PD0329, PDT058, 1P51). Las otras cinco no cambian sus reglas de superposición después de ser optimizadas, sin embargo, dos de ellas cambian la conformación de ambos dDMPs (NDB ID PD0190, PD0652) y una más sólo cambia la conformación de una de sus cadenas (NDB ID PD0298).

Esto nos muestra que las reglas de superposición propuestas no dependen de la interacción con otras moléculas, como proteínas, no obstante, las características geométricas de las estructuras experimentales que cambiaron después de las optimizaciones realizadas dan pauta a pensar que dichas conformaciones sólo se mantenían debido a las interacciones presentes entre las subunidades del dúplex de ADN y las que hay en el complejo. En adición, puede que fuerzas de empaquetamiento inherentes en el cristal afecten la estructura, y al no tenerlas esta se relaje, y vaya a mínimos más favorables después de las optimizaciones realizadas a la geometría. Nótese que esto no es exclusivo para aquéllas estructuras que se encuentran interaccionando con proteínas.

Otro punto es la importancia ya mencionada de aquéllas estructuras que permiten la flexión de la doble hélice, un ejemplo de esto es la conformación de (dGpdC)<sub>2</sub> extraída del fragmento BDL078, ya que está reportado que entre sus dos nucleósidos ocurre dicho doblamiento [47]. Esta estructura experimental presenta el mismo patrón de superposición y clase NtC de ambos dDMPs después de ser optimizada, llámese una notable superposición en el dDMP de la clase BA05 y nula en el dDMP-BB07. Estas mismas características geométricas se observan en otros dúplex de misma secuencia y clase conformacional (NDB ID 5ET9, BDL078, BDL084), incluso en aquéllos con mismas reglas pero distintas NtCs y con la base 5mC (NDB ID NA2719).

De la observación de dichas conformaciones, se puede observar pares de bases con posiciones mutuales casi paralelas, pero con un desplazamiento en el eje helicoidal de las bases emparejadas. Notándose así la curvatura de la cual se habló. Esto nos demuestra la importancia de la combinación de cadenas de distintas clases NtCs que permitan distintas superposiciones entre las bases apiladas, además de la posibilidad de un cambio de conformación entre una clase y otra si las condiciones lo requieren, con objeto de cambiar dichas regularidades.

En cuanto a las excepciones a las conclusiones realizadas, tenemos cinco estructuras que presentan dos mínimos de energía diferentes obtenidos con PBE y M05-2X, todas con la secuencia Pur-Pur y Pyr-Pyr, de las cuales dos se encuentran en complejos con proteínas, estos se presentan en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4: Comparación de clases NtCs y superposiciones en los dDMPs de los dúplex experimentales estudiados y en las estructuras obtenidas después de las optimizaciones realizadas con los funcionales PBE y M05-2X, los cuales han resultado en dos mínimos con características geométricas muy diferentes.

NDB ID	cdDMP	Experimental		PBE		M05-2X	
		S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC
2KV0	d2PRpdA:	2.12	BB00*	<b>0.13</b>	BB00( $\beta$ )	1.42	BB00( $\beta$ )
	dTpdT	0.01	BB00*	<b>0.88</b>	BA05*	0.05	BB00*
BDJ025	dGpdA:	1.97	BA08	<b>0.31</b>	BA05*	1.88	BA05*
	dTpdC	0.02	BA05*	<b>1.16</b>	BA05*	0.00	BA05*
PD0292 <sup>1</sup>	dGpdA:	1.78	BB02	<b>0.58</b>	BB02( $\alpha\beta$ )	1.96	BB02( $\alpha\beta$ )
	dTpdC	0.00	BB00*	0.00	AB01	0.00	BB00*
PD0311 <sup>1</sup>	dGpdG:	2.51	BB02	<b>0.00</b>	BB02( $\alpha\beta$ )	0.85	BB02( $\zeta\alpha\beta$ )
	dTpdT	0.00	BB00*	<b>2.54</b>	BA01*	0.23	BB00*
NA2706	dGpdA:	1.04	BB07*	0.39	BB07( $\epsilon\zeta\beta$ )	0.97	BB07( $\epsilon\zeta\beta$ )
	dTpd5HC	0.95	BA05*	<b>0.51</b>	BA05*	<b>0.13</b>	BA05*

<sup>1</sup> Fragmentos experimentales que se encuentran en complejos con proteínas. \*Clase NtC que tiene mínimos de energía para SPB separado.

Se han marcado con color verde aquéllas superposiciones no normales de los dDMPs experimentales. En adición, se encuentran distinguidos con negrita las superposiciones que cambiaron de regla después de las optimizaciones realizadas al respectivo dúplex.

Para la primer estructura en la tabla anterior, la única diferencia con otras conformaciones y posible explicación a la presencia de dos mínimos es la posición en la terminación 5' de la base modificada 2-Aminopurina. Sin embargo, después del análisis realizado, el único patrón en el comportamiento de estas estructuras cuyas optimizaciones con dos metodologías resultan en dos mínimos con regularidades muy diferentes es que, para la mayoría de casos se tiene que el funcional PBE quiere respetar las clases conformacionales de la estructura inicial, incluso si estas cambian después de la optimización, lo que conduce a estructuras con poca superposición en ambas cadenas.

Por otro lado, el funcional M05-2X ha dado prioridad a reproducir reglas normales de superposición para estas conformaciones, sin tomar en cuenta las NtCs de sus dDMPs -lo cual es exclusivo a estas estructuras-, en algunos de estos casos ha coincidido con las conclusiones realizadas para las reglas dependientes en las clases conformacionales (sólo 2), pero no siempre.

Finalmente, otra excepción a las reglas encontradas son las estructuras presentadas en la Tabla 4.5, pese a realizar un análisis extra a los resultados obtenidos para estas estructuras, no se ha podido encontrar una explicación a las características conformacionales mostradas; es necesario un análisis más profundo de éstas, con más ejemplos que incluyan estructuras con mismas secuencias, superposiciones y clases NtCs, pero eso excede los propósitos de este trabajo.

Tabla 4.5: Comparación de clases NtCs y superposiciones en los dDMPs de los dúplex experimentales estudiados y en las estructuras obtenidas después de las optimizaciones realizadas con los funcionales PBE y M05-2X, cuyos mínimos obtenidos no corresponden a ninguna de las regularidades de formación encontradas.

NDB ID	cdDMP	Experimental		PBE		M05-2X	
		S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC
3MXB <sup>1</sup>	dGpdA:	1.53	BB00*	0.00	/	<b>0.30</b>	BB00(β)
	dTpdC	0.92	BA09*	0.00	/	0.25	BB12*
PD0230 <sup>1</sup>	dGpdG:	3.16	BB00*	1.41	/	<b>0.39</b>	BB00*
	dCpdC	0.26	BB02	0.00	/	0.00	BB02(αβ)
NA1970	dGpd5CM:	1.02	BA08			1.67	BB00(β)
	dGpdC	0.08	BA08			<b>3.04</b>	BA08
BDJ031	dApdA:	1.62	BA16	1.98	/	2.92	BA16(εαβ)
	dTpdT	0.07	BB01*	0.04	/	0.02	BB01*
1IGN <sup>1</sup>	dGpdG:	3.26	BA09*	1.58	/	3.02	BA09*
	dCpdC	0.00	BB00*	0.00	/	0.00	BB00*
PDT058 <sup>1</sup>	dGpdG:	2.12	BB02	0.82	/	<b>0.20</b>	BB02(ζαβ)
	dCpdC	0.51	BB00*	0.00	/	0.00	BB00(β)
1MOW <sup>1</sup>	dApdC:	4.22	BA09*	1.19	/	4.35	BB12*
	dGpdT	1.76	BB00*	0.00	/	1.19	BB00(β)
PD0192 <sup>1</sup>	dApdA:	0.00	BB07*	0.02	BB00*	0.45	BB00*
	dTpdT	2.84	BB00*	2.39	BA05*	0.92	BA05*
5KEO	dGpdC:	0.36	Sub. X*	0.00	/	0.75	Sub. X*
	dGpdC	2.52	Sub. V*	0.00	/	3.98	Sub. V*

<sup>1</sup> Fragmentos experimentales que se encuentran en complejos con proteínas. / Dúplex que ha resultado en una conformación no viable. \*Clase NtC que tiene mínimos de energía para SPB separado.

Se han marcado con color verde aquellas superposiciones no normales de los dDMPs experimentales. En adición, se encuentran distinguidos con negrita las superposiciones que cambiaron de regla después de las optimizaciones realizadas al respectivo dúplex.

Por último, y no menos importante, de los resultados obtenidos del estudio realizado a los dDMPs separados, tomados de los dúplex considerados, se tiene para la mayoría de ellos que estos cumplen las reglas de superposición antes establecidas para cadenas únicas de WCDs de la familia BI y AI, a las cuales llamamos reglas normales, lo cual es válido sin importar la clase NtC de dichos fragmentos de cadena única. Existen sus excepciones, pero son muy pocas. Esto nos revela que las nuevas regularidades de formación que hemos encontrado para los fragmentos mínimos de dúplex, cdDMPs, son sólo válidas para estos, debido a otras interacciones que los estabilizan, incluyendo la combinación existente de clases conformacionales entre dDMPs complementarios.

#### 4.3.1. Problemas suscitados en la reproducción de estructuras viables con la metodología empleada

Se ha visto ya en el capítulo de Resultados 3 que el funcional PBE ha fallado en la reproducción de las características conformacionales de algunos de los cdDMPs considerados, cabe resaltar que esto no sucedió en el estudio realizado a SPBs separados. En específico, alrededor del 37% de las estructuras estudiadas han resultado después de las optimizaciones realizadas con PBE en conformaciones no viables, con posición mutua de los pares de bases apilados con un gran ángulo Roll no visto en estructuras experimentales, el cual no es compatible con la continuación de nucleótidos que conforman la doble hélice, en adición, en algunos casos se han formado enlaces de hidrógeno artificiales entre las bases apiladas.

Estos resultados pueden explicarse con la falta de consideración completa de las interacciones de dispersión por parte de dicho funcional. La necesidad de encontrar una metodología que pudiésemos emplear para el estudio de estas distintas conformaciones de dúplex nos llevó a realizar optimizaciones con el funcional M05-2X, funcional recomendado para el estudio de biomoléculas cuyas interacciones de stacking sean importantes [27, 28].

Además de reproducir estructuras de dúplex viables para las distintas conformaciones estudiadas, del análisis realizado al funcional M05-2X se tuvo que este reprodujo todas las características de los SPBs separados de las NtCs consideradas -igual que PBE y MP2-. Estos resultados nos dieron luz verde para emplear esta metodología en todos nuestros estudios, de los cuales hemos podido establecer nuevas afirmaciones para las regularidades de formación de los dúplex cuyas cadenas presentan distintas clases conformacionales.

Sin embargo, no todas las características geométricas de las estructuras obtenidas con M05-2X son buenas, ya que hay presencia de distancias interatómicas muy cortas entre algunos átomos de las bases apiladas de la misma cadena, pues sobreestima las interacciones de stacking. Esto no es exclusivo al funcional M05-2X, en otros estudios realizados con cálculos *ab initio* más rigurosos, considerando la correlación de los electrones y empleando un conjunto bastante amplio de funciones de onda básicas, también se conduce a conformaciones de dDMPs y cdDMPs con distancias cortas inaceptables entre algunos átomos de las bases [12, 43].

Para eliminar estos mencionados contactos cortos se implementaron distintas rutas de cálculos, encontrándose que en el caso de optimizar estructuras con el funcional M05-2X, y poste-

riormente con el funcional PW91-ulg<sup>2</sup>, se tienen conformaciones viables correspondientes a las regularidades encontradas -y en varios casos reproduciendo las características de las estructuras iniciales experimentales-, además de eliminar los contactos cortos producidos por el funcional M05-2X (sin cambiar los parámetros geométricos de estas) y presentando energía más favorable que en el caso de emplear otra ruta.

De esta manera, se propone la implementación de optimizaciones empleando el funcional M05-2X, y posteriormente el funcional PW91-ulg para la eliminación de distancias interatómicas muy cortas entre los átomos de las bases apiladas, en aquéllos estudios en donde se consideren fragmentos de dúplex que presenten dDMPs de clases conformacionales distintas a las familias BI y AI, con objeto de elucidar sus regularidades de formación.

Aunque en la mayoría de casos, el funcional M05-2X ha reproducido buenas estructuras, hay pocos casos en los que no lo ha hecho. Estos se presentan en la Tabla 4.6, los cuales pueden explicarse debido a la falta de stacking considerable en al menos una de las cadenas, lo cual nos muestra que para las conformaciones que presentan poca o nula superposición entre las bases apiladas de ambas cadenas esta metodología no es viable; sin embargo, el funcional PBE sí lo es en dichos casos.

Tabla 4.6: *Clases NtCs y superposiciones en los dúplex experimentales estudiados cuyas optimizaciones con el funcional M05-2X condujeron a estructuras no viables con continuación de nucleótidos.*

NDB ID	cdDMP	Experimental		PBE		M05-2X	
		S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC	S(Å <sup>2</sup> )	NtC
5EZF	dCpdG:	0.00	BA01*	<b>2.90</b>	BA05*	0.00	/
	dCpdG	0.00	BB07*	0.00	BB07(ε)	0.00	/
5ET9	dCpdG:	0.59	BA05*	<b>2.58</b>	BB00*	0.00	/
	dCpdG	0.00	BB04	0.00	BB04	0.00	/
NA1970	d5CMpdG:	0.00	AB03			0.94	/
	dCpdG	0.53	AB01			0.00	/
NA2706	d5HCpdG:	0.13	AB01	0.00	BB00*	0.00	/
	dCpdG	0.44	AB03	0.57	BB00*	0.06	/
NA2719	d5CMpdG:	0.00	AB01	2.05	/	0.00	/
	dCpdG	1.27	BB00*	0.00	/	0.00	/
NA1984	d5HCpdG:	0.00	AB01	0.00	/	0.00	/
	dCpdG	1.54	BB00*	1.72	/	0.10	/

/ Dúplex que ha resultado en una conformación no viable. \*Clase NtC que tiene mínimos de energía para SPB separado. Se han marcado con color verde aquéllas superposiciones no normales de los dDMPs experimentales. En adición, se encuentran distinguidos con negrita las superposiciones que cambiaron de regla después de las optimizaciones realizadas al respectivo dúplex.

<sup>2</sup>Donde *ulg* hace referencia a la corrección universal que trata de describir las fuerzas de dispersión de London (atracción de vdW), las cuales son responsables de atracciones de largo-alcance críticas en sistemas biológicos y que DFT convencional falla en reproducir, agregando un término de dispersión en la energía y cuya base es el campo de fuerzas universal UFF [29].

Nótese que hay dos estructuras que sí presentan una notable superposición en una de sus cadenas, sin embargo, tienen una base modificada (5mC y 5-hmC) en la posición 5' del dDMP complementario, lo cual indica que la falta de reproducibilidad de una estructura viable no fue la metodología empleada, sino la estructura misma.

Otro punto importante a considerar es la obtención de grupos amino (-NH<sub>2</sub>) no planos en las bases nitrogenadas Gua, Ade y Cyt de todos los cdDMPs optimizados en este trabajo. Esto no es un resultado nuevo, ya se ha observado en otros estudios, y es llamado piramidalización de grupos amino. Dicho comportamiento cambia cuando los grupos aminos participan en la formación de enlaces de hidrógeno con átomos de oxígeno de la base complementaria, pues estos enlaces aplanan al -NH<sub>2</sub>.

Finalmente, de los cálculos realizados con los campos de fuerzas AMBER, se ha observado y constatado que estos no siempre reproducen buenas estructuras de dúplex, pues en ocasiones originan desviaciones en las torsiones, las cuales MC tiene que corregir y ha podido hacerlo efectivamente; mientras que en otras conformaciones la posición mutual de las bases no es aceptable (semejante al caso de resultados de PBE). Sin embargo, hay resultados de MC en los que se ha podido llegar a los mismos mínimos de energía partiendo de estructuras experimentales y de estructuras previamente optimizadas con AMBER, pero no podemos asegurar que el tiempo de cálculos ha sido reducido en este segundo caso. Por otro lado, para las optimizaciones llevadas a cabo a dDMPs separados, el uso del campo de fuerzas AMBER ha dado la posibilidad de obtener cadenas únicas con buena posición de las bases apiladas y reglas normales.

En general, estos resultados nos indican que dichos campos de fuerza AMBER (BSC1, OL15 y ff99) no son viables para todo tipo de conformaciones y necesitan un ajuste en sus parámetros si se quiere una reproducción de todas las interacciones presentes en el ADN y con ello la obtención de regularidades de formación del mismo.

#### 4.4. Implicaciones del estudio realizado a cdDMPs con bases modificadas

Como se ha mencionado anteriormente, la inserción de distintos grupos funcionales a las bases nitrogenadas suceden durante distintos procesos biológicos importantes a considerar y estudiarse. Por ello, se han elegido dúplex conteniendo una de las siguientes bases modificadas: 5-metilcitosina (5mC), 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), 8-oxoguanina (8-oxoG) o 2-Aminopurina (2AP).

Para el estudio de estas estructuras es necesario considerar no sólo las bases implicadas y la secuencia de sus nucleósidos, sino también las clases conformacionales que presentan sus cadenas complementarias.

De los resultados presentados en la Sección 3.3, y resumidos en las Tablas 4.3, 4.4 y 4.5, podemos hacer las siguientes consideraciones:

\* La estructura cuya secuencia de nucleósidos presenta una base 8-oxoG en conformación *anti* y pares normales de WC, la cual es resultado de la oxidación de mutaciones llevadas a cabo durante la síntesis del ADN, tiene ambas cadenas de la clase BB01 con reglas normales de superposición. Esto implica que el cambio en la base nitrogenada Guanina no cambia la clase conformacional ni las reglas de superposición, lo cual ya se ha observado en otros estudios. La principal implicación de esto es la dificultad que presentan las proteínas en reconocer este cambio y corregirlo, ya que cuando se cambia la conformación se pueden reparar las modificaciones durante procesos de eliminación de errores en el ADN. Es importante mencionar que la base 8-oxoG tiene la posibilidad de transición a una conformación de nucleósido *syn*, con lo cual hay otras interacciones.

\* Los dos cdDMPs estudiados con diferente secuencia de nucleósidos, con una base 2AP, en las estructuras experimentales muestran reglas normales de superposición con ambas cadenas de la NtC BB00, lo cual hace difícil de distinguir la presencia de esta base modificada; sin embargo, después de las optimizaciones realizadas sólo la estructura de secuencia dApd2PR:dTpdT presenta reglas de superposición normales. Por otro lado, la estructura d2PRpdA:dTpdT ha resultado en dos mínimos diferentes con las metodologías empleadas, de los cuales uno de ellos no corresponde con las regularidades de formación encontradas para dúplex con bases nitrogenadas canónicas. Esto da pauta a la conclusión de que la presencia de esta base modificada, 2AP, requiere de ciertas interacciones con su entorno (incluyendo las bases apiladas arriba y debajo de la misma) que estabilicen la conformación, con lo cual, en el caso de no existir estas, puede ser identificado este cambio y ser reparado. En adición, la identificación de esta modificación es importante ya que 2AP tiene la posibilidad de formar enlaces de hidrógeno con la base Citosina, lo cual tiene efectos mutagénicos.

\* La base 5mC, un marcador de la cadena madre (o molde) surgido al metilar las bases Citosinas, es realizado durante la síntesis de ADN para marcar dónde hay error e indicar qué bases son necesarias eliminar (donde no hay 5mC). Del estudio realizado a conformaciones con esta importante base modificada, tenemos estructuras con las secuencias dGpd5CM:dGpdC y d5CMdpdG:dCpdG. Después de las optimizaciones realizadas sólo una de las estructuras dGpd5CM:dGpdC presenta regularidades de formación como las estructuras de misma secuencia pero sin bases metiladas. Sin embargo, la otra estructura de misma secuencia resultó en una conformación con superposiciones que no hemos podido explicar. Mientras que las dos estructuras de secuencia d5CMdpdG:dCpdG presentan conformaciones no mostradas en todos los dúplex normales estudiados, donde una de ellas va a un mínimo con cadenas BB00 y reglas normales, en tanto que la restante no conduce a cdDMPs viables con ninguna de las metodologías empleadas.

Dados estos resultados, podemos decir que debido a que las estructuras con la base 5mC en la posición 5' presentan distintas clases conformacionales con respecto a las que se tienen en dúplex sin metilar, i.e con Citosinas normales, se tienen distintas interacciones con las proteínas y por ende estas pueden ser distinguidas, además de que estas necesitan específicas interacciones para estabilizarse. Por otro lado, para los casos en donde la base metilada 5mC se encuentra en la posición 3' la diferenciación entre las estructuras metiladas y no metiladas surge en la distinción exclusiva del grupo metil y no de la clase conformacional que presenten.

\* En cuanto a la base modificada 5-hmC, propuesta como intermediario en la desmetilación del ADN, se estudiaron dos estructuras con las secuencias dTpd5HC:dGpdA y d5HCpdG:dCpdG, ninguna de las cuales presenta reglas esperadas para dichas secuencias y conformaciones, además, después de las optimizaciones realizadas, la primera de ellas resultó en dos mínimos diferentes de los cuales ninguno corresponde con las regularidades encontradas para dúplex con misma conformación y de bases canónicas; mientras que la segunda no dió alguna estructura viable con ninguna de las metodologías empleadas. Esto nos demuestra que este tipo de base modificada puede ser distinguida de las Citosinas normales, reconociendo la conformación de los dDMPs y el grupo funcional extra.

De acuerdo con Renciuik et al. [77], la posición 5' de la citosina modificada, 5-hmC o 5mC, es un lugar ideal para codificar información epigenética, ya que la estructura helicoidal no se modifica, y las polimerasas no pueden distinguir 5-hmC y 5-mC de la citosina no modificada, así, las primeras no son mutagénicas. Sin embargo, dados los resultados presentados, sí se puede modificar la estructura del dúplex cuando se tiene estas bases en la posición 5', son necesarias ciertas interacciones para estabilizarlo, llámense interacciones de apilamiento debido a la demás secuencias de nucleótidos, o a la conformación de las cadenas en cuestión.



## Capítulo 5

# Conclusiones

*We can judge our progress by the courage of our questions and the depth of our answers, our willingness to embrace what is true rather than what feels good.*

CARL SAGAN

El estudio realizado a esqueletos azúcar-fosfato, neutralizados con iones de sodio, SPB-Na<sup>+</sup>, empleando distintas metodologías de Mecánica Cuántica (MC) y campos de fuerzas AMBER, ha permitido dividir a las clases conformacionales de dDMPs (NtCs) que conforman hélices dobles derechas con nucleósidos en conformación *anti* en dos grupos: 1) clases NtCs con torsiones del esqueleto azúcar-fosfato cercanas a las de los mínimos locales de energía del fragmento SPB separado y, 2) aquéllas que tienen torsiones del SPB muy diferentes de los mínimos de energía para un fragmento de SPB separado.

Esta conclusión tiene importantes implicaciones, pues el esqueleto azúcar-fosfato juega un papel muy importante en la formación de la estructura del ADN, y se ha encontrado anteriormente que aquéllas conformaciones que tienen mínimos de energía para SPBs separados presentan reglas normales de superposición de bases vecinas, semejantes a las que muestran estructuras de las familias AI y BI [9, 12].

En adición, se ha encontrado que las clases consideradas pueden variar cierto conjunto de ángulos de torsión y cambiar así a una conformación de otra NtC, sin afectar la estabilidad de la doble hélice. Este cambio puede surgir si las interacciones con su entorno lo requiere, pues no hay una barrera energética grande para que suceda, dicha peculiaridad aparece tanto en NtCs del primer grupo como del segundo. Y se ha comprobado en los resultados obtenidos de las optimizaciones realizadas a fragmentos mínimos de dúplex, cdDMPs-Na<sup>+</sup>.

A continuación se presentan las clases conformacionales clasificadas en los dos grupos mencionados, así como las NtCs a las que pueden moverse de ser necesario o debido a efectos externos. Además, se especifican entre paréntesis las torsiones que han variado y han resultado en conjunto de torsiones no clasificadas ni reportadas.

▪ **Primer Grupo de NtCs**

- $BB00 \rightarrow BB00, BA05$
- $AA00 \rightarrow AA00, AA09, BA05$
- $AA01 \rightarrow AA01, AA05$
- $BB07 \rightarrow BB07, BB07(\epsilon), BB07(\delta_1), BB07(\epsilon\beta), IC05$
- $BB01 \rightarrow BB00$
- $BA01/BA05 \rightarrow BA01/BA05, BB00$
- $BB12 \rightarrow BB12, BA09$
- $BA09 \rightarrow BA09, BB12$
- $AB02 \rightarrow AB02, AB02(\zeta\beta)$
- Subclase X  $\rightarrow$  Subclase X

▪ **Segundo Grupo de NtCs**

- $BB02 \rightarrow BB02(\zeta\alpha\beta)$
- $BB04 \rightarrow BB00, BB07(\epsilon\beta), BB04(\epsilon\zeta\alpha\beta)$
- $BB13 \rightarrow BB12$
- $BB15 \rightarrow BB00, BB02(\zeta\alpha\beta)$
- $BA08 \rightarrow BB00, BA05, OP10$
- $BA16 \rightarrow BA16(\zeta\beta), BA16(\epsilon\alpha\beta)$

Sabemos que este estudio no contiene una lista exhaustiva de todas las clases NtCs reportadas [6], sin embargo, las estructuras seleccionadas son consideradas como ejemplos de NtCs suficientemente pobladas compatibles con dúplex de Watson-Crick. En adición, nos han permitido hacer generalizaciones para las reglas de superposición como regularidades de formación para dúplex con estas conformaciones.

Se ha llegado a las siguientes conclusiones y reglas para las regularidades de formación, y por ende de superposición de las bases vecinas, para los dúplex cuyas cadenas se encuentren en conformación de alguna de las clases estudiadas:

1) Aquéllos fragmentos mínimos de dúplex cuyos dDMPs tengan la misma clase conformacional presentan reglas normales de superposición como las formas BI y AI.

2) En el caso de las estructuras donde un dDMP es del primer grupo y el complementario del segundo grupo se tienen reglas diferentes, en donde la cadena cuya conformación es del primer grupo presenta una notable superposición sin importar la secuencia de nucleósidos, mientras que en la cadena complementaria cuya clase es del segundo grupo muestra una superposición despreciable.

3) Finalmente, los dúplex cuyas cadenas complementarias presenten clases conformacionales del mismo grupo, en específico del primero, tienen una mayor superposición entre las bases apiladas del dDMP cuya NtC es más favorable y es casi despreciable en el dDMP complementario,

---

esta regla es válida sin importar la secuencia de los nucleósidos en cada cadena.

Estas reglas son válidas también para aquellas conformaciones que contienen una de las bases modificadas: 5-metilcitosina (5mC), 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), 8-oxoguanina (8-oxoG) o 2-Aminopurina (2AP).

El análisis realizado a fragmentos mínimos de dúplex, y a fragmentos de SPBs, ha permitido encontrar una nueva clase conformacional no reportada antes, la cual corresponde con mínimos de energía para SPB separado y hemos llamado *Subclase X*.

De los cálculos realizados a dDMPs-Na<sup>+</sup>, los cuales son las unidades más pequeñas que se repiten en la cadena única de ADN, con conformaciones de distintas clases NtCs, se tiene que siguen siendo válidas para estos fragmentos separados las reglas normales de superposición que muestran las cadenas de dúplex de Watson-Crick, aún cuando sean de distintas clases conformacionales. Esto prueba que las reglas que hemos encontrado y propuesto en este trabajo sólo son válidas para dúplex, en donde las interacciones entre cadenas complementarias los estabiliza.

Los cálculos realizados a SPBs-Na<sup>+</sup> extraídos de hélices dobles izquierdas de ADN-Z han esclarecido el motivo de la poca estabilidad de dichas conformaciones y la necesidad de otras interacciones para poder mantenerse.

Se ha encontrado que la clase conformacional ZZ1S, la cual considera dDMPs de secuencia Pyr(*anti*)-Pur(*syn*), tiene mínimos de energía para SPBs separados; mientras que para las dos NtCs estudiadas que consideran dDMPs de secuencia Pur(*syn*)-Pyr(*anti*), ZZS1 y ZZS2, no sucede esto.

Se propone al funcional M05-2X para estudiar fragmentos de la doble hélice de ADN, pues reproduce la mayoría de características geométricas de SPBs separados, dDMPs y cdDMPs. Resultando en estructuras viables y energéticamente más favorables. En el caso de obtener con esta metodología estructuras con distancias interatómicas muy cortas entre los átomos de las bases apiladas, se propone el uso del funcional PW91-ulg para eliminarlos. Esta ruta de cálculos, con la combinación de ambos funcionales, arroja estructuras con energías más favorables que las de otras rutas, y permite obtener regularidades de formación de las conformaciones en cuestión.



## Apéndice A

# Primeras pruebas realizadas: problemas en la reproducción de todas las interacciones estabilizadoras de la doble hélice de ADN

*Science, my lad, is made up of mistakes, but they  
are mistakes which it is useful to make, because  
they lead little by little to the truth.*

JULES VERNE

Durante la realización de este trabajo de investigación se presentaron distintos problemas en la reproducción de las características geométricas de las conformaciones a estudiar. La metodología empleada en estudios anteriores (cálculos DFT con los funcionales PBEPBE y PW91PW91 con la base 6-31G\*) no considera todas las interacciones necesarias para estabilizar las estructuras de nuestro interés.

Los primeros problemas se presentaron al realizar optimizaciones a fragmentos mínimos de dúplex, cdDMPs, con la base modificada 5-metilcitosina (5mC); sin embargo, estos problemas no han sido exclusivos a conformaciones con bases modificadas, sino que, en general, se suscitaban para casi todas las estructuras estudiadas cuyas cadenas se encuentran en conformación de distinta clase NtC.

Aquí se exponen algunos de los resultados obtenidos de estructuras no viables, cuya distorsión no permite la continuidad de la hélice doble. Como consecuencia de esto, se exhibe el análisis de nuevos funcionales a emplear, así como las rutas de cálculos que nos han permitido obtener una mejor reproducción de la gran mayoría de características de las estructuras experimentales.

### A.1. Dúplex de ADN-B con la base 5-Metilcitosina

La metilación del ADN, proceso importante para marcar regiones con errores que necesitan ser reparados o para activar y/o silenciar genes, usualmente ocurre metilando la citosina de los dinucleósidos CpG. Por ello, como objeto de estudio se trataron de analizar fragmentos mínimos de dúplex con las secuencias dGpd5CM:dGpdC y dCpdG:d5CMpdG.

Los cdDMPs fueron optimizados con los funcionales PBE y PW91; sin embargo, no se obtuvieron buenos resultados ya que las estructuras optimizadas presentaron distorsión en la posición mutual de los pares de bases apilados, con una gran inclinación entre los mismos y con la formación de enlaces de hidrógeno entre las bases apiladas. Para corroborar si estas interacciones artificiales fueron debido a la presencia de la base 5mC, se eliminó el grupo metil de la misma, teniendo de esta manera sólo bases canónicas. Sin embargo, se obtuvo la misma distorsión en la estructura, tal como se puede observar en la Figura A.1.

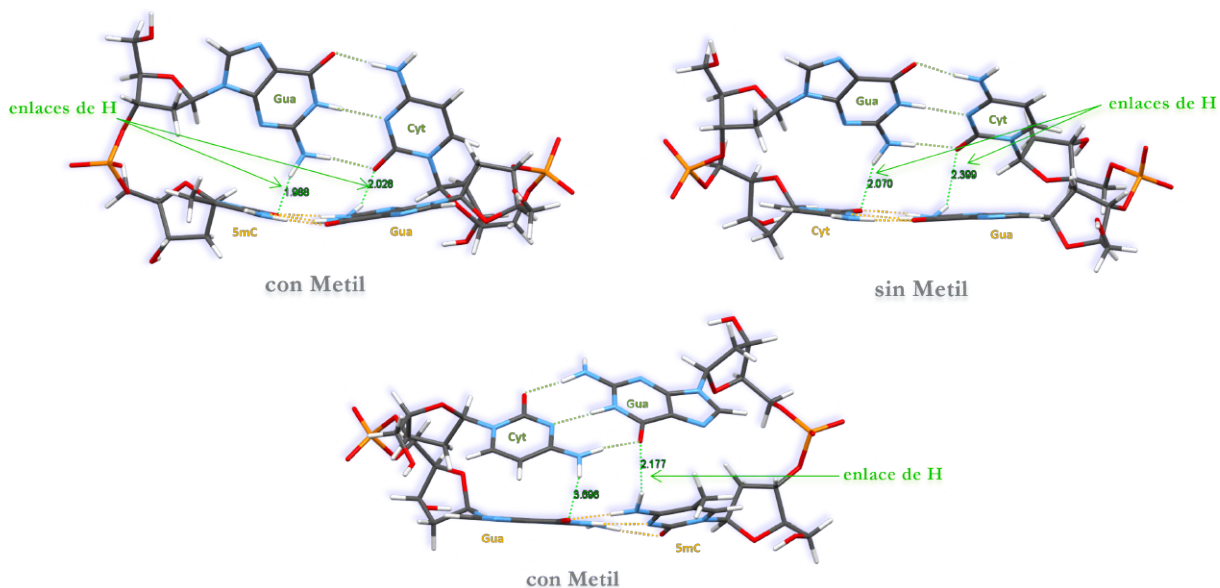


Figura A.1: Conformaciones de fragmentos cdDMPs optimizados con DFT y con el campo de fuerzas AMBER. Se puede observar la posición mutual de los pares de bases con una gran inclinación entre los mismos, así como la formación de enlaces de hidrógeno entre las bases apiladas. (ARRIBA) Estructuras dGpd5CM:dGpdC optimizadas con el funcional PBE/PBE, derecha: con la base 5mC, izquierda: previo a la optimización se ha eliminado el grupo metil de 5mC. (ABAJO) Estructura dCpdG:d5CMpdG optimizada con el campo de fuerzas ff99.

La distorsión de dichas conformaciones se obtuvo con las diferentes rutas de cálculos, en las cuales se combinaron optimizaciones de MC y MM. Resultando en todos los casos en estructuras no viables.

El análisis de las estructuras experimentales nos permitió identificar ciertas características de la misma. Una cadena se encontraba en conformación del tipo-BI y la complementaria en conformación del tipo-BII; además, el dDMP-BI presentaba una notable superposición entre sus bases apiladas, mientras que en el dDMP-BII esta era despreciable, independientemente de la secuencia de los nucleósidos en cuestión. Por lo cual, se decidió comenzar con un caso más general para poder comprender, y saber qué ruta de cálculos emplear, para este tipo de dúplex con 5mC.

Así, comenzó el estudio a conformaciones con cadenas de distinta clase NtC, comenzando con aquéllas cuyas características geométricas fueron parecidas a las de la primera estructura en cuestión, con la única diferencia de tener sólo bases canónicas.

## A.2. Rutas de cálculos empleados con distintas metodologías en la estructura (dCpdG)<sub>2</sub> con conformación BA01:BB07

La primer estructura estudiada de cdDMP con cadenas complementarias de distinta clase NtC fue el fragmento (dCpdG)<sub>2</sub>, cuyas cadenas de las clases BA01:BB07 presentan una superposición normal entre los anillos de sus bases apiladas. No se tuvo ningún problema en la reproducción de una estructura viable con cálculos DFT empleando los funcionales PBE y PW91; sin embargo, se obtuvo un cambio en las reglas de superposición, tal como se ha mencionado y analizado en la Sección 3.2.2.1.

A fin de comprobar si el cambio en la superposición de las bases de la cadena BA01, las cuales muestran un notable traslape en las estructuras optimizadas, se debió a la metodología empleada, se realizó una serie de cálculos con distintos funcionales y conjuntos de funciones de bases -así como la combinación de variadas rutas de cálculos-. Esto permitió constatar que dichas regularidades no dependen de la metodología, sino de la conformación de las cadenas del dúplex estudiado.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de los cálculos de optimización realizados con las distintas metodologías empleadas, de las cuales algunas son referentes a funcionales que consideran dispersión D3, y también con la consideración de variados conjuntos de funciones de bases (unos más extendidos y exactos que otros).

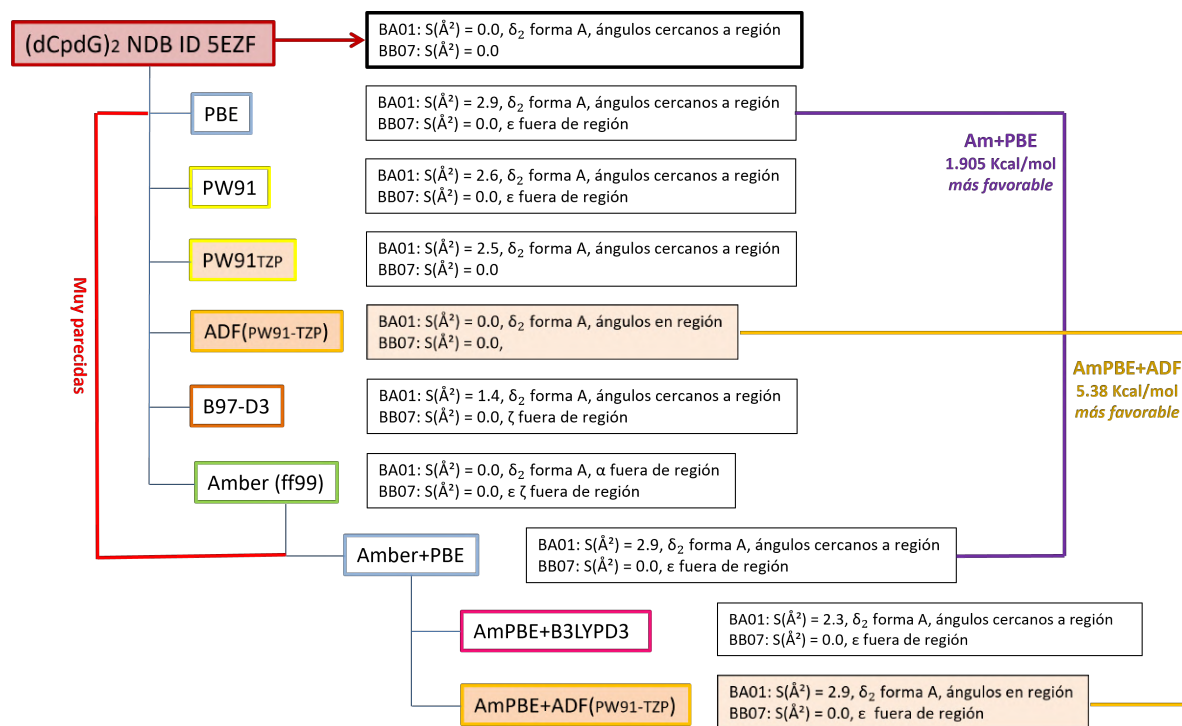
Cabe mencionar que la mayoría de resultados que presentan una superposición de reglas normales en ambas cadenas corresponden a estructuras no viables con una gran distorsión en la posición mutua de los pares de bases apilados, sólo el cálculo realizado con el paquete ADF ha resultado en una buena conformación. En adición, tienen una energía más favorable los resultados que cambian el stacking en la cadena BA01.

Ángulos de torsión y área de superposición entre los anillos de las bases de estructuras experimental y optimizadas de (dCpdG)<sub>2</sub>, con una cadena en conformación de la clase NtC BA01 y la complementaria de la clase BB07.

cdDMPs	$\delta 1$	$\varepsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta 2$	S(Å <sup>2</sup> )
(dCpdG: dCpdG) <sub>1</sub>	141	200	241	288	156	53	<b>90</b>	0.00
(dCpdG: dCpdG) <sub>2</sub>	144	167	267	221	260	41	79	0.00
(dCpdG: dCpdG) <sub>3</sub>	138	215	287	280	163	47	80	<b>2.90</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>2</sub>	142	201	281	284	162	48	80	<b>2.35</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>3a</sub>	138	198	264	297	172	57	82	0.00
(dCpdG: dCpdG) <sub>4</sub>	137	219	288	279	163	47	80	<b>2.64</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>4a</sub>	139	215	287	279	163	47	80	<b>2.75</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>4tii</sub>	140	215	286	281	163	48	81	<b>2.47</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>5</sub>	132	191	263	283	174	52	83	0.00
(dCpdG: dCpdG) <sub>6ii</sub>	141	195	281	287	163	48	79	<b>1.37</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>9</sub>	82	184	279	295	171	46	85	0.00
(dCpdG: dCpdG) <sub>8</sub>	135	183	256	281	177	45	90	0.00
(dCpdG: dCpdG) <sub>3</sub>	138	216	286	281	163	47	80	<b>2.90</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>7</sub>	142	200	282	285	162	47	80	<b>2.29</b>
(dCpdG: dCpdG) <sub>5</sub>	136	219	286	283	162	48	81	<b>2.85</b>

<sup>1)</sup> Fragmento mínimo inicial extraído del dúplex NDB ID 5EZF; <sup>2)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN (funcional M05-2X); <sup>3)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN (funcional PBE); <sup>3a)</sup> estructura optimizada con el funcional PBE calculando las frecuencias vibracionales en cada paso de optimización; <sup>4)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN (funcional PW91); <sup>4a)</sup> estructura optimizada con el funcional PW91 calculando las frecuencias vibracionales en cada paso de optimización; <sup>4tii)</sup> estructura optimizada con el funcional PW91 y la base TZP; <sup>5)</sup> estructura optimizada con ADF (funcional PW91); <sup>6ii)</sup> estructura optimizada con el programa GAUSSIAN usando la corrección de dispersión (funcional B97D3); <sup>7)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN usando la corrección de dispersión (funcional B3LYP-D3); <sup>8)</sup> estructura optimizada con el programa AMBER16 (campo ff99); <sup>9)</sup> estructura optimizada con el campo de fuerzas CHARMM.

A continuación se muestra un diagrama con las distintas rutas de cálculos empleadas en la optimización de la geometría de esta estructura. Se presenta un resumen de las características geométricas de las conformaciones obtenidas en cada caso, así como notas de las energías de dichas estructuras.



### A.3. Análisis de funcionales y rutas de cálculos a emplear en el estudio de cdDMPs

Durante el estudio de los fragmentos mínimos de dúplex presentando diferentes conformaciones entre ambas cadenas complementarias, el cual se comenzó con el caso particular de las secuencias  $(dCpdG)_2$  y  $(dGpdC)_2$  -cuyas cadenas complementarias del tipo BI y BII muestran distintas reglas de superposición-, se presentaron distintos problemas con la metodología empleada en estudios anteriores. Al realizar optimizaciones con los funcionales PBE y PW91 se obtuvieron estructuras irreales con la presencia de enlaces de hidrógeno entre las bases apiladas, y, por ende, posiciones mutuales de pares de bases casi perpendiculares entre sí. Un ejemplo de estos resultados puede observarse en la Figura A.2.

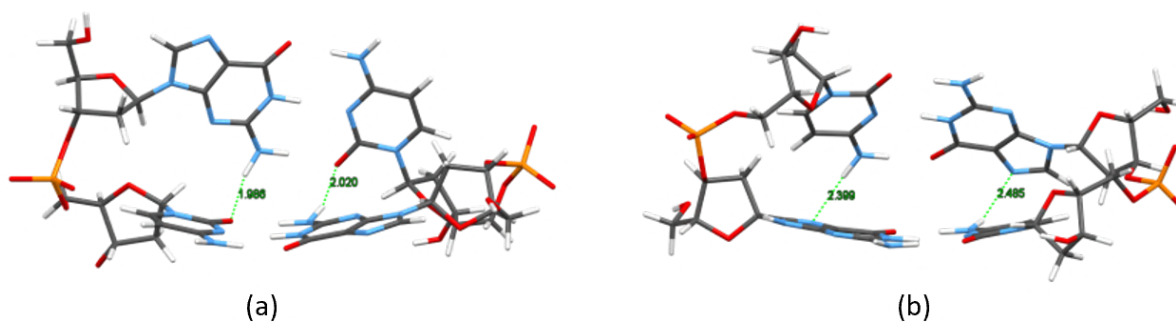


Figura A.2: Conformaciones de  $(dGpdC)_2$  optimizadas con el funcional PBE/PBE por distintas rutas de cálculos, con ambas cadenas en conformación BA05:BB07. Se puede observar una posición mutua de los pares de bases con un ángulo Roll grande entre los mismos, además de la formación de un enlace de hidrógeno entre las bases apiladas de cada cdDMP. (a) Resultado obtenido para la estructura experimental. (b) Resultado obtenido para el cdDMP previamente optimizado con el funcional M05-2X.

Este tipo de problemas, en donde los cálculos de optimización efectuados con el funcional PBE han resultado en estructuras irreales, con una gran inclinación entre los pares de bases apilados y con formación de enlaces de hidrógeno artificiales, se presentaron en la mayoría de conformaciones estudiadas en este trabajo.

Dichos resultados nos llevaron a la búsqueda de una nueva metodología que reprodujera todas las características e interacciones de estas estructuras, pues los funcionales PBE y PW91 dan prioridad a la formación de enlaces de hidrógeno y no toman en cuenta algunas interacciones entre las bases apiladas.

Leyendo en la literatura se pudo encontrar referencias al funcional M05-2X [26], funcional -junto con PWB6K- especialmente recomendado para investigar sistemas biológicos grandes en donde las interacciones de stacking/apilamiento jueguen un rol importante [27, 28]. De esta manera, se comenzó una serie de pruebas con dicho funcional a las diferentes conformaciones de interés.

Al realizar las optimizaciones con M05-2X, funcional que incluye un porcentaje de HF para el exchange (pues es un funcional meta-híbrido-GGA), se obtuvo la reproducción de todas las características geométricas de las estructuras experimentales consideradas, incluyendo las regiones de los ángulos de torsión para cada una de las cadenas complementarias, así como la superposición de sus bases apiladas. Un ejemplo de estos resultados se puede observar en la siguiente tabla.

Ángulos de torsión y área de superposición de los anillos de las bases,  $S(\text{Å}^2)$ , de estructuras iniciales y optimizadas de  $(dGpdC)_2$  con una cadena en con formación de la NtC BB07 y la cadena complementaria de la clase BA05.

cdDMPs	$\delta_1$	$\varepsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$S(\text{Å}^2)$
(dGpdC: dGpdC) <sup>1</sup>	145	<b>261</b>	<b>142</b>	291	<b>151</b>	41	157	<b>0.00</b>
(dGpdC: dGpdC) <sup>4</sup>	108	191	276	317	151	49	<b>88</b>	2.11
(dGpdC: dGpdC) <sup>4</sup>	136	274	156	285	131	46	123	<b>0.61</b>
(dGpdC: dGpdC) <sup>4</sup>	145	186	277	296	163	58	<b>81</b>	3.92
(dGpdC: dGpdC) <sup>5</sup>	150	275	153	289	141	44	133	<b>0.03</b>
(dGpdC: dGpdC) <sup>5</sup>	144	176	267	290	173	52	77	1.36
(dGpdC: dGpdC) <sup>6</sup>	137	272	156	285	134	45	126	<b>0.52</b>
(dGpdC: dGpdC) <sup>6</sup>	145	190	277	292	165	56	<b>89</b>	3.81
(dGpdC: dGpdC) <sup>7</sup>	134	269	160	288	138	43	126	<b>0.55</b>
(dGpdC: dGpdC) <sup>7</sup>	142	191	280	293	168	52	<b>96</b>	3.88

<sup>1)</sup> Estructura inicial extraída del dúplex NDB ID BDL078; <sup>4)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN empleando el funcional M06-2X; <sup>5)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN empleando el funcional PBE y la corrección de dispersión a DFT con damping Becke-Johnson (PBE-D3(BJ)); <sup>6)</sup> estructura optimizada con GAUSSIAN empleando el funcional M05-2X; <sup>7)</sup> estructura optimizada con ADF empleando el funcional PW91-ulg.

Sin embargo, en la mayoría de las estructuras optimizadas se obtuvieron distancias interatómicas muy cortas entre algunos de los átomos de los anillos de las bases apiladas, véase la Figura A.3. A pesar de ser estructuras viables, con buena posición mutua de sus pares de bases apilados y con una reproducción en las regularidades de formación de dichas conformaciones, este tipo de contactos es un resultado irreal; por ello, nos vimos en la necesidad de buscar una ruta de cálculos adecuada que reprodujese todas las características de las conformaciones a estudiar, y que además fuesen estructuras «reproducibles, reales y viables».

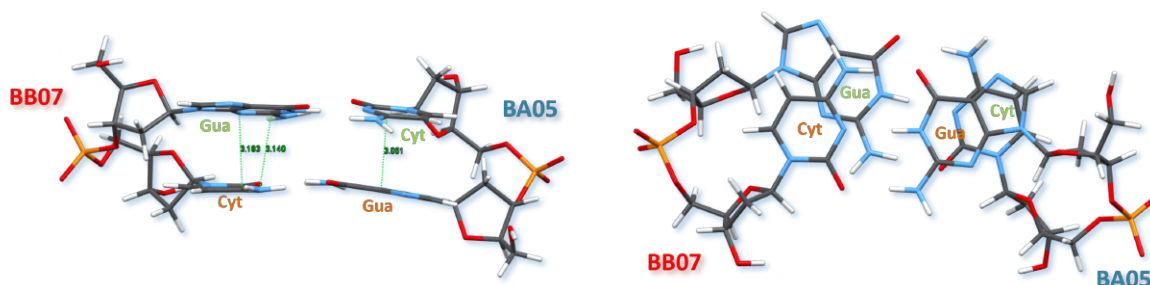


Figura A.3: Estructura  $(dGpdC)_2$  optimizada con el funcional M05-2X, cuyas cadenas se encuentran en conformación BB07:BA05. Las dos proyecciones muestran una buena posición mutua de los pares de bases apilados y la superposición de las bases, siendo normal en la cadena  $dGpdC$ -BA05, mientras que en la cadena BB07 esta es despreciable. Se han marcado las distancias interatómicas cortas entre los átomos de los anillos de las bases.

De esta manera, se comenzaron cálculos con el funcional PW91-ulg [25, 29] en el paquete ADF 2018, funcional que incluye dispersión empleando un término extra de la forma de funcional de bajo-gradiente para  $E_{disp}$  y cuya base es el campo de fuerzas universal UFF, a las conformaciones previamente optimizadas con M05-2X que presentaron contactos cortos.

Del análisis realizado a todas las estructuras optimizadas siguiendo esta ruta de cálculos se ha podido constatar que el funcional PW91-ulg reproduce todas las características geométricas de las conformaciones optimizadas con M05-2X, pero además elimina las distancias interatómicas cortas presentes en las mismas. En las siguientes tablas se presentan como ejemplo de ello los resultados obtenidos para dos estructuras estudiadas cuyas cadenas corresponden a distintas clases NtCs.

*Ángulos de torsión y área de superposición de los anillos de las bases,  $S(\text{Å}^2)$ , de estructuras iniciales y optimizadas de dApdC:dGpdT con la cadena dApdC de la clase BB00 y la cadena dGpdT de la NtC BB12.*

cdDMPs	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$S(\text{Å}^2)$	
(dApdC: dGpdT)	132	195	254	344	166	<b>3</b>	148	2.42	← NDB ID UDJ060
(dApdC: dGpdT)	145	188	276	295	163	57	85	3.68	← M05-2X
(dApdC: dGpdT)	144	191	269	264	70	168	157	<b>0.94</b>	← PW91-ulg (desp. M05)
(dApdC: dGpdT)	143	188	279	296	166	56	89	3.51	
(dApdC: dGpdT)	140	191	273	266	71	170	152	<b>1.1</b>	

*Ángulos de torsión y área de superposición de los anillos de las bases,  $S(\text{Å}^2)$ , de estructuras iniciales y optimizadas de dTpdT:dApdA con la cadena dTpdT de la Subclase X y la cadena dApdA de la NtC BB00.*

cdDMPs	$\delta_1$	$\epsilon$	$\zeta$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta_2$	$S(\text{Å}^2)$	
(dTpdT: dApdA)	129	194	<b>217</b>	<b>28</b>	<b>122</b>	<b>352</b>	147	0.66	← NDB ID 5F9I
(dTpdT: dApdA)	148	192	185	19	93	49	115	0	← M05-2X
(dTpdT: dApdA)	144	190	189	23	94	46	111	0	← PW91-ulg (desp. M05)
(dTpdT: dApdA)	143	168	266	300	194	53	144	1.91	

En la Figura A.4 se puede observar que al realizar optimización con el funcional PW91-ulg a la estructura obtenida con M05-2X, este da como resultado una conformación cuya diferencia radica sólo en la distancia entre las bases apiladas, pues se reproducen las demás características geométricas de la estructura optimizada con M05-2X, en específico, las torsiones y las superposiciones entre los anillos de las bases apiladas.

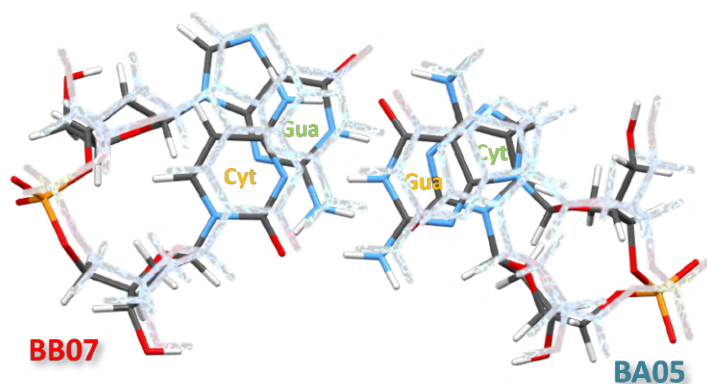


Figura A.4: Conformaciones  $(dGpdC)_2$  optimizadas, con ambas cadenas de las clases BB07: BA05. Se puede observar que ambas estructuras presentan las mismas torsiones y superposición entre las bases apiladas. (fig. nítida) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. (fig. blanca) Estructura obtenida con el funcional PW91-ulg del cdDMP previamente optimizado con M05-2X.

Otro ejemplo de estos resultados se presenta en la Figura A.5, la cual muestra el cambio en el valor de la distancia h-Rise entre los pares apilados después de optimizar con PW91-ulg la conformación obtenida con M05-2X (eliminando los contactos cortos), así como la reproducción de los demás parámetros geométricos de dicha estructura inicial.

Del análisis de todos los resultados obtenidos con esta ruta de cálculos (optimización con PW91-ulg a estructuras previamente calculadas con M05-2X,  $M05-2X + PW91-ulg$ ), se ha podido constatar que esta no sólo reproduce las características geométricas importantes de las estructuras experimentales -con distancias interatómicas aceptables-, permitiéndonos encontrar regularidades de formación de las mismas, sino que también resulta en mínimos con energías más favorables que cualquier otra ruta empleada (diferencia de más de 3kcal/mol).

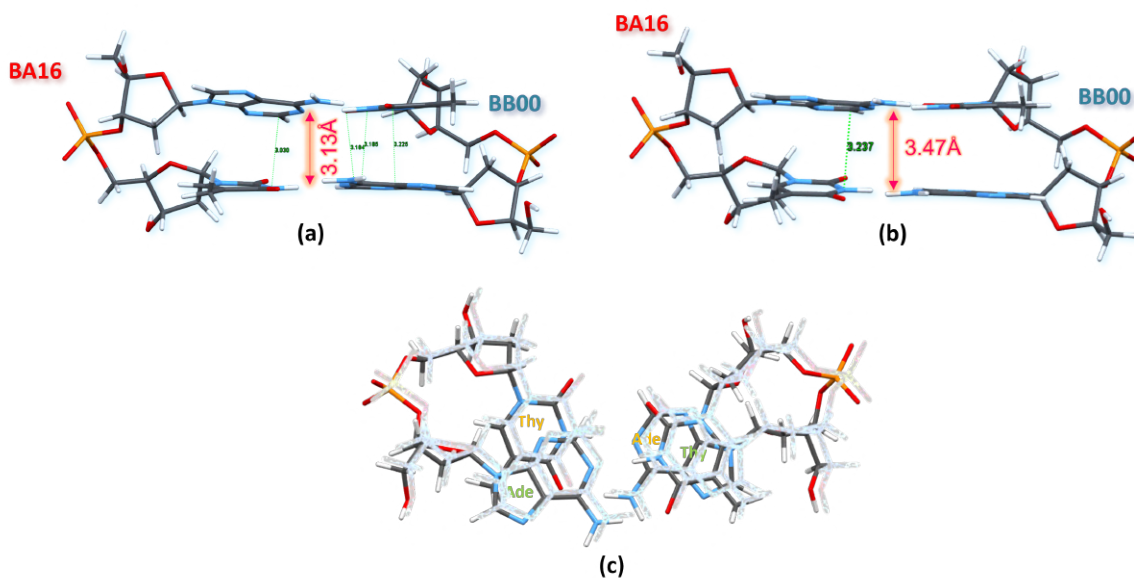


Figura A.5: Conformaciones  $(dApdT)_2$  optimizadas, con una cadena en conformación de la clase BA16 y la complementaria de BB00. Se muestra el cambio en la distancia *h-Rise* entre ambas optimizaciones. Se puede observar una reproducción de las torsiones y superposiciones de las bases apiladas por parte de PW91-ulg. (a) Estructura optimizada con el funcional M05-2X. (b) Estructura obtenida con el funcional PW91-ulg del cdDMP previamente optimizado con M05-2X. (c) Conformaciones obtenidas con ambos funcionales, fig. nítida: resultado de M05-2X, fig. blanca: resultado de PW01-ulg.

## Apéndice B

# Tablas de empaquetamiento de los anillos de los azúcares en algunas de las estructuras estudiadas

Tabla B.1: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA01 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dCpdG(BA01):dCpdG(BB07).*

Método		P <sub>1,2</sub>		$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>	
<b>dCpdG BA01 (5EZF)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		153	40	38	35	C2'-endo	C4'-exo
	cdDMP	165	46	29	37	C2'-endo	C4'-exo
	cdDMP <sup>2</sup>	165	44	28	37	C2'-endo	C4'-exo
PBE	dDMP	157	108	25	46	C2'-endo	C1'-exo
	dDMP <sup>3</sup>	166	37	27	38	C2'-endo	C4'-exo
	dDMP <sup>4</sup>	165	28	26	36	C2'-endo	C3'-endo
M05	cdDMP <sup>3</sup>	163	55	31	40	C2'-endo	C4'-exo
- 2X	dDMP	159	47	29	41	C2'-endo	C4'-exo
PW91	cdDMP	159	19	26	35	C2'-endo	C3'-endo
- ulg	cdDMP <sup>3</sup>	164	47	28	36	C2'-endo	C4'-exo
	dDMP	144	18	29	35	C1'-exo	C4'-endo
PW91 (ADF)	dDMP	144	18	29	35	C2'-endo	C3'-endo
	dDMP <sup>4</sup>	151	21	27	36	C2'-endo	C3'-endo
ff99	cdDMP	159	4	31	31	C2'-endo	C3'-endo
<b>dCpdG BB07 (5EZF)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		148	133	48	32	C2'-endo	C1'-exo
	cdDMP	147	170	42	33	C2'-endo	C2'-endo
PBE	cdDMP <sup>2</sup>	140	168	42	33	C1'-exo	C2'-endo
	dDMP <sup>4</sup>	103	162	42	36	O4'-endo	C2'-endo
M05-2X	cdDMP <sup>3</sup>	150	169	43	34	C2'-endo	C2'-endo
PW91	cdDMP	141	160	45	35	C1'-exo	C2'-endo
- ulg	cdDMP <sup>3</sup>	152	170	42	32	C2'-endo	C2'-endo
PW91 (ADF)	dDMP <sup>4</sup>	127	166	45	33	C1'-exo	C2'-endo
ff99	cdDMP	124	135	49	42	C1'-exo	C1'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5EZF. <sup>2</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PBEPBE. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PW91(ADF).

Tabla B.2: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB04 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dCpdG(BA05):dCpdG(BB04).*

Método		P <sub>1,2</sub>		$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>	
<b>dCpdG BA05 (5ET9)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		188	125	36	38	C3'-exo	C1'-exo
PBE	cdDMP	139	143	35	41	C1'-exo	C1'-exo
	dDMP	168	152	33	40	C2'-endo	C2'-endo
PW91/ <i>TZP</i>	cdDMP	165	141	30	40	C2'-endo	C1'-exo
	ff99	138	132	41	42	C1'-exo	C1'-exo
<b>dCpdG BB04 (5ET9)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		159	191	41	38	C2'-endo	C3'-exo
PBE	cdDMP	165	184	37	31	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP	162	163	28	36	C2'-endo	C2'-endo
M05-2X	dDMP	156	135	26	45	C2'-endo	C1'-exo
PW91/ <i>TZP</i>	cdDMP	165	182	37	32	C2'-endo	C3'-exo
	ff99	140	182	43	29	C1'-exo	C3'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5ET9.

Tabla B.3: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA01 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dGpdC(BA01):dGpdC(BB07).*

Método		P <sub>1,2</sub>		$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>	
<b>dGpdC BA01 (5ET9)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		125	76	38	41	C1'-exo	O4'-endo
PBE	cdDMP	187	71	27	38	C3'-exo	C4'-exo
	dDMP	169	67	30	40	C2'-endo	C4'-exo
M05	cdDMP	171	84	31	45	C2'-endo	O4'-endo
- 2X	dDMP <sup>2</sup>	165	166	38	35	C2'-endo	C2'-endo
<b>dGpdC BB07 (5ET9)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		146	159	48	41	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP	173	144	37	38	C2'-endo	C1'-exo
PBE	dDMP	178	145	36	38	C2'-endo	C2'-endo
	dDMP <sup>3</sup>	141	148	48	40	C1'-exo	C2'-endo
M05	cdDMP	141	137	45	44	C1'-exo	C1'-exo
	dDMP	141	145	49	42	C1'-exo	C2'-endo
- 2X	dDMP <sup>3</sup>	141	144	49	43	C1'-exo	C1'-exo
B97	dDMP <sup>3</sup>	137	153	49	40	C1'-exo	C2'-endo
- D3	dDMP <sup>4</sup>	177	148	36	38	C2'-endo	C2'-endo
	ff99	131	135	48	42	C1'-exo	C1'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5ET9. <sup>2</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el funcional PBEPBE.

Tabla B.4: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07).*

Método		P <sub>1,2</sub>		$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>	
<b>dGpdC BA05 (BDL078)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		<b>64</b>	<b>48</b>	<b>13</b>	<b>31</b>	<b>C4'-exo</b>	<b>C4'-exo</b>
PBE	cdDMP	176	14	33	38	C3'-exo	C3'-endo
	cdDMP <sup>2</sup>	164	135	30	40	C2'-endo	C1'-exo
	dDMP	8	14	36	31	C3'-endo	C3'-endo
PBE <i>D3-BJ</i>	cdDMP	186	29	30	35	C3'-exo	C3'-endo
M05 - 2X	cdDMP	171	93	32	45	C2'-endo	O4'-endo
	dDMP <sup>3</sup>	169	75	31	42	C2'-endo	O4'-endo
M06-2X	cdDMP	173	81	31	45	C2'-endo	O4'-endo
PW91- <i>ulg</i>	cdDMP <sup>2</sup>	178	102	31	42	C2'-endo	O4'-endo
PW91(ADF)	cdDMP	130	25	21	36	C1'-exo	C3'-endo
PW91	cdDMP <sup>4</sup>	166	135	30	40	C2'-endo	C1'-exo
<b>dGpdC BB07 (BDL078)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		<b>156</b>	<b>178</b>	<b>51</b>	<b>47</b>	<b>C2'-endo</b>	<b>C2'-endo</b>
PBE	cdDMP	182	151	37	35	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>2</sup>	132	141	48	40	C1'-exo	C1'-exo
	dDMP	180	148	36	37	C2'-endo	C2'-endo
PBE <i>D3-BJ</i>	cdDMP	157	148	41	39	C2'-endo	C2'-endo
M05 - 2X	cdDMP	133	135	46	43	C1'-exo	C1'-exo
	dDMP	171	143	37	40	C2'-endo	C1'-exo
M06-2X	cdDMP	132	131	46	44	C1'-exo	C1'-exo
PW91- <i>ulg</i>	cdDMP <sup>2</sup>	137	140	44	41	C1'-exo	C1'-exo
PW91(ADF)	cdDMP	138	171	46	33	C1'-exo	C2'-endo
PW91	cdDMP <sup>4</sup>	133	137	48	41	C1'-exo	C1'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex BDL078. <sup>2</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X.

<sup>3</sup>Estructura obtenida calculando las *frecuencias vibracionales* en cada paso de optimización. <sup>4</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional M05-2X y posteriormente con el funcional PW91-*ulg*.

Tabla B.5: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dGpdC(BA05):dGpdC(BB07).*

Método	P <sub>1,2</sub>	$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>			
<b>dGpdC BA05 (BDL084)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>	<b>130</b>	<b>42</b>	<b>33</b>	<b>38</b>	<b>C1'-exo</b>	<b>C4'-exo</b>	
PBE	cdDMP <sup>2</sup>	176	16	33	38	C2'-endo	C3'-endo
	cdDMP	176	15	33	38	C2'-endo	C3'-endo
	cdDMP <sup>3</sup>	175	15	33	38	C2'-endo	C3'-endo
	dDMP	169	66	30	39	C2'-endo	C4'-exo
M05-2X	dDMP	169	75	31	41	C2'-endo	O4'-endo
M06-2X	cdDMP	173	82	31	45	C2'-endo	O4'-endo
ff99	cdDMP	172	29	31	32	C2'-endo	C3'-endo
<b>dGpdC BB07 (BDL084)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>	<b>146</b>	<b>164</b>	<b>44</b>	<b>37</b>	<b>C2'-endo</b>	<b>C2'-endo</b>	
PBE	cdDMP <sup>2</sup>	181	151	37	35	C3'-exo	C2'-endo
	cdDMP	181	148	37	36	C3'-exo	C2'-endo
	cdDMP <sup>3</sup>	181	147	37	37	C3'-exo	C2'-endo
	dDMP	179	149	36	37	C2'-endo	C2'-endo
M05-2X	dDMP	173	144	37	39	C2'-endo	C1'-exo
M06-2X	cdDMP	132	130	46	44	C1'-exo	C1'-exo
ff99	cdDMP	130	132	48	42	C1'-exo	C1'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex BDL084. <sup>2</sup>Estructura obtenida calculando las frecuencias vibracionales en cada paso de optimización. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el campo de fuerzas ff99.

Tabla B.6: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BA05 y BB04 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dTpdT(BA05):dApdA(BB04).*

Método	P <sub>1,2</sub>	$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>			
<b>dTpdT BA05 (NA2122)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>	<b>130</b>	<b>42</b>	<b>33</b>	<b>38</b>	<b>C1'-exo</b>	<b>C4'-exo</b>	
PBE	cdDMP	168	67	29	40	C2'-endo	C4'-exo
	dDMP	159	54	34	38	C2'-endo	C4'-exo
M05-2X	cdDMP	162	71	31	43	C2'-endo	C4'-exo
	dDMP	158	48	32	39	C2'-endo	C4'-exo
PW91-ulg	cdDMP	166	101	31	39	C2'-endo	O4'-endo
	cdDMP <sup>2</sup>	161	67	29	39	C2'-endo	C4'-exo
PW91	cdDMP <sup>3</sup>	166	68	30	40	C2'-endo	C4'-exo
<b>dApdA BB04 (NA2122)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>	<b>146</b>	<b>164</b>	<b>44</b>	<b>37</b>	<b>C2'-endo</b>	<b>C2'-endo</b>	
PBE	cdDMP	173	133	36	43	C2'-endo	C1'-exo
	dDMP	173	136	33	42	C2'-endo	C1'-exo
M05-2X	cdDMP	166	136	38	45	C2'-endo	C1'-exo
	dDMP	150	136	43	45	C2'-endo	C1'-exo
PW91-ulg	cdDMP	153	165	41	34	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>2</sup>	168	128	35	41	C2'-endo	C1'-exo
PW91	cdDMP <sup>3</sup>	171	133	36	43	C2'-endo	C1'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex NA2122. <sup>2</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PW91PW91 y posteriormente con el funcional PW91-ulg. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PW91-ulg.

Tabla B.7: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BB00 y BB07 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dTpdT(BB00):dApdA(BB07).*

Método		P <sub>1,2</sub>		$\nu_{max1,2}$		Empaquetamiento <sub>05',3'</sub>	
<b>dTpdT BB00 (PD0192)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		156	151	37	42	C2'-endo	C2'-endo
PBE	cdDMP	164	92	32	40	C2'-endo	O4'-endo
	dDMP	160	54	34	38	C2'-endo	C4'-exo
	dDMP <sup>2</sup>	160	54	34	38	C2'-endo	C4'-exo
M05 - 2X	cdDMP	163	77	31	41	C2'-endo	O4'-endo
	cdDMP <sup>3</sup>	163	78	32	43	C2'-endo	O4'-endo
PBE <i>D3-BJ</i>	dDMP	165	138	35	39	C2'-endo	C1'-exo
PW91	dDMP	160	55	34	38	C2'-endo	C4'-exo
<b>dApdA BB07 (PD0192)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		164	176	41	38	C2'-endo	C2'-endo
PBE	cdDMP	173	191	34	34	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP	175	179	32	34	C2'-endo	C2'-endo
M05 - 2X	cdDMP	172	180	35	34	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>3</sup>	169	184	36	34	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP	168	184	35	33	C2'-endo	C3'-exo

P y  $\nu_{max}$  en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex PD0192. <sup>2</sup>Resultado obtenido de dDMP previamente optimizado con el funcional M05-2X. <sup>3</sup>Resultado obtenido de dúplex previamente optimizado con el funcional PBEPBE.

Tabla B.8: *Empaquetamiento de los anillos de azúcar de las cadenas BB12 y BB02 de los cdDMP y dDMP optimizados del dúplex dApdC(BB12):dGpdT(BB02).*

Método		P <sub>1,2</sub>		ν <sub>max1,2</sub>		Empaquetamiento <sub>5',3'</sub>	
<b>dApdC BB12 (5GUN)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		<b>143</b>	<b>162</b>	<b>37</b>	<b>38</b>	<b>C1'-exo</b>	<b>C2'-endo</b>
PBE	cdDMP	166	181	36	39	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>2</sup>	168	204	35	36	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP	175	176	30	34	C2'-endo	C2'-endo
M05 - 2X	cdDMP	163	158	37	38	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>3</sup>	146	158	41	40	C2'-endo	C2'-endo
	dDMP	167	165	34	37	C2'-endo	C2'-endo
PW91 - ulg	cdDMP	150	170	35	35	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>4</sup>	167	156	36	38	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>3</sup>	137	148	42	39	C1'-exo	C2'-endo
	cdDMP <sup>5</sup>	145	156	39	36	C2'-endo	C2'-endo
	dDMP	148	170	34	34	C2'-endo	C2'-endo
PW91(ADF)	cdDMP <sup>4</sup>	163	150	37	37	C2'-endo	C2'-endo
PW91	cdDMP	168	205	35	36	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>6</sup>	173	172	34	35	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>2</sup>	173	172	35	37	C2'-endo	C2'-endo
OL15	cdDMP	138	149	44	42	C1'-exo	C2'-endo
<b>dGpdT BB02 (5GUN)</b>							
INI ( <i>experimental</i> ) <sup>1</sup>		<b>177</b>	<b>196</b>	<b>38</b>	<b>38</b>	<b>C2'-endo</b>	<b>C3'-exo</b>
PBE	cdDMP	153	188	42	42	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>2</sup>	143	164	42	37	C1'-exo	C2'-endo
	dDMP	147	196	43	38	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP <sup>4</sup>	151	206	41	42	C2'-endo	C3'-exo
M05 - 2X	cdDMP	153	202	43	43	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>3</sup>	161	186	43	37	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP	155	194	43	39	C2'-endo	C3'-exo
PW91 - ulg	cdDMP	179	210	36	38	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>4</sup>	159	200	41	41	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>3</sup>	157	177	42	36	C2'-endo	C2'-endo
	cdDMP <sup>5</sup>	159	187	42	35	C2'-endo	C3'-exo
	dDMP	150	208	42	34	C2'-endo	C3'-exo
PW91(ADF)	cdDMP <sup>4</sup>	155	197	41	40	C2'-endo	C3'-exo
PW91	cdDMP	143	162	42	37	C1'-exo	C2'-endo
	cdDMP <sup>6</sup>	150	197	42	42	C2'-endo	C3'-exo
	cdDMP <sup>2</sup>	153	195	41	42	C2'-endo	C3'-exo
OL15	cdDMP	153	179	42	36	C2'-endo	C2'-endo

P y ν<sub>max</sub> en grados (°). <sup>1</sup>Estructura inicial extraída del dúplex 5GUN. <sup>2</sup>Previamente optimizado con M05-2X y PW91-ulg. <sup>3</sup>Previamente optimizado con OL15. <sup>4</sup>Previamente optimizado con M05-2X. <sup>5</sup>Previamente optimizado con OL15 y M05-2X. <sup>6</sup>Previamente optimizado con PW91-ulg.

# Bibliografía

*La frase más exitante que se puede  
oír en la ciencia, la que anuncia  
nuevos descubrimientos, no es ¡Eureka!  
(¡Lo encontré!), sino «Es extraño»...*

ISAAC ASIMOV

- [1] 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, no. 9, 98, 2018.
- [2] V. Poltev, V. M. Anisimov, V. Dominguez, A. Deriabina, E. Gonzalez, D. Garcia, V. Vázquez-Báez, and F. Rivas. Current problems in computer simulation of variability of three-dimensional structure of dna. In L. Mammino, D. Ceresoli, J. Maruani, and E. Brandas, editors, *Advances in Quantum Systems in Chemistry, Physics, and Biology*, volume 32 of *Progress in Theoretical Chemistry and Physics*, pages 233–253. Springer, Cham, 2020.
- [3] V. Poltev, V. M. Anisimov, V. Dominguez, E. Gonzalez, A. Deriabina, D. Garcia, F. Rivas, and N. Polteva. Biologically important conformational features of dna as interpreted by quantum mechanics and molecular mechanics computations of its simple fragments. *Journal of Molecular Modeling*, 24, no. 2, pp. 46(1-12), 2018.
- [4] Y. Tanaka, O. Nureki, H. Kurumizaka, S. Fukai, S. Kawaguchi, M. Ikuta, J. Iwahara, T. Okazaki, and S. Yokoyama. Crystal structure of the cenp-b protein-dna complex: the dna-binding domains of cenp-b induce kinks in the cenp-b box dna. *EMBO J.*, 20, no. 23, 6612, 2001.
- [5] P. Cech, J. Kukul, J. Cern'ý, B. Schneider, and D. Svozil. Automatic workflow for the classification of local dna conformations. *BMC Bioinformatics*, 14, no. 1, pp. 1-14, 2013.
- [6] J. Cern'ý, P. Božíková, J. Svoboda, and B. Schneider. A unified dinucleotide alphabet describing both rna and dna structures. *Nucleic Acids Research*, 48, issue 11, pp. 6367-6381, 2018.
- [7] Verónica Domínguez Benítez. Estudio mecánico cuántico de regularidades de formación de estructuras de hélices dobles diferentes del modelo de watson-crick. Tesis de Maestría, FCFM, BUAP, Julio 2017.
- [8] H. M. Berman, W. K. Olson, D. I. Beveridge, J. Westbrook, A. Gelbin, T. Demeny, S. H. Hsieh, A. R. Srinivasan, and B. Schneider. The nucleic acid database. a comprehensive

- relational database of three-dimensional structures of nucleic acids. *Biophysical Journal*, 63, No. 3, pp. 751-759, 1992.
- [9] V. I. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, A. Deriabina, E. Gonzalez, A. Jurkiewicz, A. Leś, and N. Polteva. Dft study of b-like conformations of deoxydinucleoside monophosphates containing gua and/or cyt and their complexes with na<sup>+</sup> cation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 25, pp. 563-571, 2008.
- [10] V. I. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, A. Deriabina, E. Gonzalez, D. Garcia, F. Rivas, A. Jurkiewicz, and A. Leś and N. Polteva. Dft study of minimal fragments of nucleic acid single chain for explication of sequence dependence of dna duplex conformation. *Journal of Molecular Structure THEOCHEM*, 912, pp. 53-59, 2009.
- [11] V. I. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, T. Van Mourik, A. Deriabina, E. González, M. Padua, D. García, F. Rivas, and N. Polteva. Dft study of polymorphism of the dna double helix at the level of dinucleoside monophosphates. *International Journal of Quantum Chemistry*, 110, pp. 2548-2559, 2010.
- [12] V. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, D. García, C. Sánchez, 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, no. 6, pp. 640-650, 2014.
- [13] A. Herbert, J. Alfken, Y. G. Kim, I. S. Mian, K. Nishikura, and A. Rich. A z-dna binding domain present in the human editing enzyme, double-stranded rna adenosine deaminase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, no. 16, pp. 8421-8426, 1997.
- [14] T. Schwartz, J. Behlke, K. Lowenhaupt, U. Heinemann, and A. Rich. Structure of the dlm-1-z-dna complex reveals a conserved family of z-dna-binding proteins. *Nature structural biology*, 8, no. 9, pp. 761-765, 2001.
- [15] A. J. Wang, G. J. Quigley, F. J. Kolpak, G. Van Der Marel, J. H. Van Boom, and A. Rich. Left-handed double helical dna: variations in the backbone conformation. *Science*, 211, no. 4478, pp. 171-176, 1981.
- [16] S. Karthik, P. K. Mandal, A. Thirugnanasambandam, and N. Gautham. Crystal structures of disordered z-type helices. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 38, no. 4, pp. 279-293, 2019.
- [17] M. Munzel, D. Globisch, T. Bruckl, M. Wagner, V. Welzmler, S. Michalakis, M. Muller, M. Biel, and T. Carell. Quantification of the sixth dna base hydroxymethylcytosine in the brain. *Angewandte Chemie International Edition*, 49, no. 31, pp. 5375-5377, 2010.
- [18] E. Kriukiene, Z. Liutkeviciute, and S. Klimasauskas. 5-hydroxymethylcytosine-the elusive epigenetic mark in mammalian dna. *Chemical Society Reviews*, 41, no. 21, pp. 6916-6930, 2012.
- [19] J. C. Slater. The theory of complex spectra. *Physical Review*, 34, no. 10, pp. 1293-1322, 1929.

- [20] J. C. Slater. Molecular energy levels and valence bonds. *Physical Review*, 38, no. 6, pp. 1109-1144, 1931.
- [21] J. C. Slater. Atomic shielding constants. *Physical Review*, 36, no. 1, pp. 57-64, 1930.
- [22] J. P. Perdew, A. Ruzsinszky, J. Tao, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, and G. I. Csonka. Prescription for the design and selection of density functional approximations: More constraint satisfaction with fewer fits. *The Journal of chemical physics*, 123, no. 6, pp. 062201-1(9), 2005.
- [23] Verónica Domínguez Benítez. Estudios de conformaciones de fragmentos mínimos de la hélice doble de adn. Tesis de Licenciatura, FCFM, BUAP, Noviembre 2014.
- [24] J.P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof. Generalized gradient approximation made simple. *Physical review letters*, 77, no. 18, pp. 3865, 1996.
- [25] 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. *Physical review B*, 46, no. 11, pp. 6671-6687, 1992.
- [26] 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, no. 2, pp. 364-382, 2006.
- [27] Y. Zhao and D. G. Truhlar. Density functionals for noncovalent interaction energies of biological importance. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 3, no. 1, pp. 289-300, 2007.
- [28] Y. Zhao and D. G. Truhlar. How well can new-generation density functional methods describe stacking interactions in biological systems? *Physical Chemistry Chemical Physics*, 7, no. 14, pp. 2701-2705, 2005.
- [29] H. Kim, J. M. Choi, and W. A. Goddard III. Universal correction of density functional theory to include london dispersion (up to lr, element 103). *The journal of physical chemistry letters*, 3, no. 3, pp. 360-363, 2012.
- [30] T. Tsuzuki and H. P. Luthi. Interaction energies of van der waals and hydrogen bonded systems calculated using density functional theory: Assessing the pw91 model. *Journal of Chemical Physics*, 114, pp. 3949-3957, 2001.
- [31] Van der Wijst, C. F. Guerra, M. Swart, and F. M. Bickelhaupt. Performance of various density functionals for the hydrogen bonds in dna base pairs. *Chemical Physics Letters*, 426, pp. 415-421, 2006.
- [32] J. Spomer, P. Jurecka, and P. Hobza. Interaction energies of hydrogen-bonded nucleic acid base pairs. *Journal of the American Chemical Society*, 13, pp. 1245-1257, 2004.
- [33] M. J. Frisch, et al G. W. Trucks, and D. J. Fox. *Gaussian 09, Revision D.01*. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.

- [34] G. T. Te Velde, F. M. Bickelhaupt, E. J. Baerends, C. Fonseca Guerra, S. J. van Gisbergen, and J. G. Snijders and T. Ziegler. *Chemistry with ADF*, 2001.
- [35] D.A. Case, T.A. Darden, III T.E. Cheatham, C.L. Simmerling, J. Wang, R.E. Duke, R. Luo, K.M. Merz, D.A. Pearlman, M. Crowley, R.C. Walker, W. Zhang, B. Wang, S. Hayik, A. Roitberg, G. Seabra, K.F. Wong, F. Paesani, X. Wu, S. Brozell, V. Tsui, H. Gohlke, L. Yang, C. Tan, J. Mongan, V. Hornak, G. Cui, P. Beroza, D.H. Mathews, C. Schafmeister, W.S. Ross, and P.A. Kollman. *AMBER 9*. University of California, San Francisco.
- [36] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, and D. M. Ferguson and P. A. Kollman. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 117, no. 19, pp. 5179-5197, 1995.
- [37] T. E. Cheatham III, P. Cieplak, and P. A. Kollman. A modified version of the cornell et al. force field with improved sugar pucker phases and helical repeat. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 16, no. 4, pp. 845-862, 1999.
- [38] J. Wang, P. Cieplak, and P. A. Kollman. How well does a restrained electrostatic potential (resp) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *Journal of computational chemistry*, 21, no. 12, pp. 1049-1074, 2000.
- [39] A. Pérez, I. Marchán, D. Svozil, J. Sponer, T. E. Cheatham, C. A. Laughton, and M. Orozco. Refinement of the amber force field for nucleic acids: improving the description of  $\alpha/\gamma$  conformers. *Biophysical journal*, 92, no. 11, pp. 3817-3829, 2007.
- [40] Xiang-Jun Lu and Wilma K. Olson. 3dna: a software package for the analysis, rebuilding and visualization of three-dimensional nucleic acid structures. *Nucleic Acids Research*, 31, no. 17, 2003.
- [41] B. Schneider, P. Božíková, I. Necasová, P. Cech, D. Svozil, and J. Cerný. A dna structural alphabet provides new insight into dna flexibility. *Acta Crystallographica Section D: Structural Biology*, 74, no. 1, pp. 52-64, 2018.
- [42] V. I. Poltev, V. M. Anisimov, V. I. Danilov, D. García, 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, pp. 69-75, 2011.
- [43] V. Poltev, V. M. Anisimov, C. Sanchez, A. Deriabina, E. Gonzalez, D. Garcia, F. Rivas, and N. Polteva. Analysis of the conformational features of watson-crick duplex fragments by molecular mechanics and quantum mechanics methods. *Biophysics*, 61, no. 2, pp. 217-226, 2016.
- [44] D. Svozil, J. Kalina, M. Omelka, and B. Schneide. Dna conformations and their sequence preferences. *Nucleic Acids Research*, 36, pp. 3690-3706, 2008.
- [45] E. Girard, T. Prangé, AC Dhaussy, E. Migianu-Griffoni, M. Lecouvey and JC Chervin, M. Mezouar, R. Kahn, and R. Fourme. Adaptation of the base-paired double-helix molecular architecture to extreme pressure. *Nucleic Acids Research*, 35, no. 14, 4800, 2007.

- [46] P. K. Mandal, G. W. Collie, S. C. Srivastava, B. Kauffmann, and I. Huc. Structure elucidation of the pribnow box consensus promoter sequence by racemic dna crystallography. *Nucleic Acids Research*, 44, no. 12, 5936, 2016.
- [47] M. Shatzky-Schwartz and N. D. Arbuckle, M. Eisenstein, D. Rabinovich and A. Bareket-Samish, T-E. Haran, B. F. Luisi, and Z. Shakked. X-ray and solution studies of dna oligomers and implications for the structural basis of a-tract-dependent curvature. *Journal of Molecular Biology*, 267, no. 3, pp. 595-623, 1997.
- [48] R. E. Dickerson, D. Goodsell, and M. L. Kopka. Mpd and dna bending in crystals and in solution. *Journal of molecular biology*, 256, no. 1, pp. 108-125, 1996.
- [49] X. Shui, L. McFail-Isom, G. G. Hu, and L. D. Williams. The b-dna dodecamer at high resolution reveals a spine of water on sodium. *Biochemistry*, 37, no. 23, 8341, 1998.
- [50] B. G. Feuerstein, N. Pattabiraman, and L. J. Marton. Spermine-dna interactions: a theoretical study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83, no. 16, pp. 5948-5952, 1986.
- [51] F. J. Acosta-Reyes, J. A. Subirana, J. Pous and R. Sánchez-Giraldo, N. Condom, R. Baldini, L. Malinina, and J. L. Campos. Polymorphic crystal structures of an all-at dna dodecamer. *Biopolymers*, 103, no. 3, 123, 2015.
- [52] W. K. Olson, A. V. Colasanti, Y. Li, W. Ge, G. Zheng, and V. B. Zhurkin. Dna simulation benchmarks as revealed by x-ray structures. In J. Sponer and F. Lankas, editors, *Computational Studies of RNA and DNA*, pages 235–257. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2006.
- [53] A. V. Colasanti, Y. Li, G. Singh, X. J. Lu, and W. K. Olson. Insights into dna helical transitions found in protein-dna complexes. In M. Bansal and N. Srinivasan, editors, *Biomolecular Forms and Functions, A Celebration of 50 Years of the Ramachandran Map*, pages 230–246. World Scientific Publishing, Co. Pte. Ltd., Singapore, 2013.
- [54] T. I. Yusufaly, Y. Li, G. Singh, and W. K. Olson. Arginine-phosphate salt bridges between histones and dna: Intermolecular actuators that control nucleosome architecture. *The Journal of chemical physics*, 141, no. 16, 165102, 2014.
- [55] T. Y. Huang, C. K. Chang, Y. F. Kao, C. H. Chin, C. W. Ni, H. Y. Hsu, N. J. Hu, L. C. Hsieh, S. H. Chou, I R. Lee, and M. H. Hou. Parity-dependent hairpin configurations of repetitive dna sequence promote slippage associated with dna expansion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114, no. 36, pp. 9535-9540, 2017.
- [56] H. Qiu, J. C. Dewan, and N. C. Seeman. A dna decamer with a sticky end: the crystal structure of d-cgacgatcgt. *Journal of Molecular Biology*, 267, no. 4, pp. 881-898, 1997.
- [57] P. Redondo, J. Prieto, I. G. Munoz, A. Alibés, F. Stricher, L. Serrano, J. P. Cabaniols, F. Daboussi, S. Arnould, C. Perez, P. Duchateau, F. Paques, F. J. Blanco, and G. Montoya. Molecular basis of xeroderma pigmentosum group c dna recognition by engineered meganucleases. *Nature*, 456, no. 7218, pp. 107-111, 2008.

- [58] F. Coste, W. Shepard, and C. Zelwer. Description of ordered solvent molecules in a platinated decanucleotide duplex refined at 1.6a resolution against experimental mad phases. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 58, no. 3, pp. 43-440, 2002.
- [59] K. K. Swinger, K. M. Lemberg, Y. Zhang, and P. A. Rice. Flexible dna bending in hu-dna cocrystal structures. *The EMBO Journal*, 22, no. 14, pp. 3749-3760, 2003.
- [60] P. Konig, R. Giraldo, L. Chapman, and D. Rhodes. The crystal structure of the dna-binding domain of yeast rap1 in complex with telomeric dna. *Cell*, 85, no. 1, pp. 125-136, 1996.
- [61] B. S. Chevalier, T. Kortemme, M. S. Chadsey, D. Baker, R. J. Monnat, and B. L. Stoddard. Design, activity, and structure of a highly specific artificial endonuclease. *Molecular Cell*, 10, no. 4, pp. 895-905, 2002.
- [62] I. G. Munoz, J. Prieto, S. Subramanian, J. Coloma, P. Redondo, M. Villate, N. Merino, M. Marenchino, M. D Abramo, F. L. Gervasio, S. Grizot, F. Daboussi, J. Smith, I. Chion-Sotinel, F. Paques, P. Duchateau, A. Alibés, F. Stricher, L. Serrano, F. J. Blanco, and G. Montoya. Molecular basis of engineered meganuclease targeting of the endogenous human rag1 locus. *Nucleic Acids Research*, 39, no. 2, pp. 729-743, 2011.
- [63] M. K. Swan, R. E. Johnson, L. Prakash, and S. Prakash and A. K. Aggarwal. Structure of the human rev1-dna-dntp ternary complex. *Journal of molecular biology*, 390, no. 4, pp. 699-709, 2009.
- [64] S. Prakash, R. E. Johnson, and L. Prakash. Eukaryotic translesion synthesis dna polymerases: specificity of structure and function. *Annu. Rev. Biochem.*, 74, pp. 317-353, 2005.
- [65] C. R. Simmons, F. Zhang, J. J. Birktoft, X. Qi, D. Han, Y. Liu, R. Sha, H. O. Abdallah, C. Hernandez, Y. P. Ohayon, N. C. Seeman, and H. Yan. Construction and structure determination of a three-dimensional dna crystal. *Journal of the American Chemical Society*, 138, no. 31, pp. 10047-10054, 2016.
- [66] Y. Hao, M. Kristiansen, R. Sha, J. J. Birktoft, C. Hernandez, C. Mao, and N. C. Seeman. A device that operates within a self-assembled 3d dna crystal. *Nature chemistry*, 9, no. 8, pp. 824-827, 2017.
- [67] A. P. Bird and A. P. Wolffe. Methylation-induced repression-belts, braces, and chromatin. *Cell*, 99, no. 5, pp. 451-454, 1999.
- [68] V. Valinluck, H. H. Tsai, D. K. Rogstad, A. Burdzy, A. Bird, and L. C. Sowers. Oxidative damage to methyl-cpg sequences inhibits the binding of the methyl-cpg binding domain (mbd) of methyl-cpg binding protein 2 (mecp2). *Nucleic acids research*, 32, no. 14, pp. 4100-4108, 2004.
- [69] S. S. David, V. L. O Shea, and S. Kundu. Base-excision repair of oxidative dna damage. *Nature*, 447, no. 7147, pp. 941-950, 2007.
- [70] J. Riemer and S. Kins. Axonal transport and mitochondrial dysfunction in alzheimers disease. *Neurodegenerative diseases*, 12, no. 3, pp. 111-124, 2013.

- [71] C. Henchcliffe and M. F. Beal. Mitochondrial biology and oxidative stress in parkinson disease pathogenesis. *Nature clinical practice Neurology*, 4, no. 11, pp. 600-609, 2008.
- [72] S. Ayala-Pena. Role of oxidative dna damage in mitochondrial dysfunction and huntingtons disease pathogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, pp. 102-110, 2013.
- [73] K. Negishi, T. Bessho, and H. Hayatsu. Nucleoside and nucleobase analog mutagens. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 318, no. 3, pp. 227-238, 1994.
- [74] D. H. Persing, L. McGinty, and C. W. Adams. Mutational specificity of the base analogue, 2-aminopurine, in *escheichica coli*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 83, no. 1, pp. 25-37, 1981.
- [75] I. W. Caras, M. A. MacInnes, D. H. Persing, P. Coffino, and D. W. Martin Jr. Mechanism of 2-aminopurine mutagenesis in mouse t-lymphosarcoma cells. *Molecular and Cellular Biology*, 2, no. 9, pp. 1096-1103, 1982.
- [76] J. A. Theruvathu, Y. W. Yin, B. M. Pettitt, and L. C. Sowers. Comparison of the structural and dynamic effects of 5-methylcytosine and 5-chlorocytosine in a cpg dinucleotide sequence. *Biochemistry*, 52, no. 47, pp. 8590-8598, 2013.
- [77] D. Renciuk, O. Blacque, M. Vorlickova, and B. Spingler. Crystal structures of b-dna dodecamer containing the epigenetic modifications 5-hydroxymethylcytosine or 5-methylcytosine. *Nucleic Acids Research*, 41, no. 21, pp. 9891-9900, 2013.
- [78] L. Lercher, M. A. McDonough, A. H. El-Sagheer, A. Thalhammer, S. Kriaucionis, T. Brown, and C. J. Schofield. Structural insights into how 5-hydroxymethylation influences transcription factor binding. *Chemical Communications*, 50, no. 15, pp. 1794-1796, 2014.
- [79] J. Zalesák, M. Lourdin, L. Krejci, J. F. Constant, and M. Jourdan. Structure and dynamics of dna duplexes containing a cluster of mutagenic 8-oxoguanine and abasic site lesions. *Journal of molecular biology*, 426, no. 7, pp. 1524-1538, 2014.
- [80] A. Dallmann, L. Dehmel, T. Peters, C. Mugge, C. Griesinger, J. Tuma, and N. P. Ernsting. 2-aminopurine incorporation perturbs the dynamics and structure of dna. *Angewandte Chemie International Edition*, 49, no. 34, pp. 5989-5992, 2010.
- [81] S. C. Ha, D. Kim, H. Y. Hwang, A. Rich, Y. G. Kim, and K. K. Kim. The crystal structure of the second z-dna binding domain of human dai (zbp1) in complex with z-dna reveals an unusual binding mode to z-dna. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, no. 52, pp. 20671-20676, 2008.
- [82] H. Jiao, L. Wachsmuth, S. Kumari, R. Schwarzer, J. Lin, R. O. Eren, A. Fisher, R. Lane, G. R. Young, G. Kassiotis, W. J. Kaiser, and M. Pasparakis. Z-nucleic-acid sensing triggers zbp1-dependent necroptosis and inflammation. *Nature*, 580, no. 7803, pp. 391-395, 2020.
- [83] G. Wang, L. A. Christensen, and K. M. Vasquez. Z-dna-forming sequences generate large-scale deletions in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, no. 8, pp. 2677-2682, 1982.

- 
- [84] S. Karthik, P. K. Mandal, A. Thirugnanasambandam, and N. Gautham. Crystal structures of disordered z-type helices. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 38, no. 4, pp. 279-293, 2019.
- [85] P. K. Mandal, A. R. Chandrasekaran, B. R. Madhanagopal, S. Venkadesh, and N. Gautham. Ring crystals of oligonucleotides: Growth stages and x-ray diffraction studies. *Journal of crystal growth*, 354, no. 1, pp. 20-26, 2012.