



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

*ESTUDIO DE LOS MODELOS DE INTERACCIÓN
ENTRE DOS MOLÉCULAS HELICOIDALES TIPO ADN*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

FÍSICO

PRESENTA

JOSÉ INÉS ANDRADE GANDARILLA

DIRECTOR DE TESIS: DR. JORGE RAMÓN SOTO MERCADO



2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

Datos del alumno

Apellido paterno: Andrade
Apellido materno: Gandarilla
Nombre(s): José Inés
Teléfono: 54267264
Universidad Nacional Autónoma de México
Física

Datos del tutor

Grado: Doctor
Nombre(s): Jorge Ramón
Apellido paterno: Soto
Apellido materno: Mercado

Datos del sinodal 1

Grado: Doctor
Nombre(s): Juan Carlos
Apellido paterno: Alonso
Apellido materno: Huitron

Datos del sinodal 2

Grado: Doctor
Nombre(s): José Ruben
Apellido paterno: Alfaro
Apellido materno: Molina

Datos del sinodal 3

Grado: Maestría en Ciencias
Nombre(s): Alicia
Apellido paterno: Zarzosa
Apellido materno: Pérez

Datos del sinodal 4

Grado: Maestría en Ciencias
Nombre(s): Jordi Iñaki
Apellido paterno: Austrich
Apellido materno: Senosian

Datos del trabajo escrito

Título: "Estudio de los modelos de interacción entre dos moléculas helicoidales tipo ADN"
Número de páginas: 43
Año: 2006

Dedicatoria

A Lety

Mi inseparable compañera,
que con su ardua labor me ha permitido seguir soñando

A Eduardo

Pequeña luz en mi camino que iluminó toda mi vida

A mis padres

Como un tributo a sus esfuerzos y pesares

A mis hermanos

Por mantener las muestras de apoyo y cariño que nos unen

A mis amigos

Para continuar con esas noches de vela arreglando el mundo

Y a todos aquellos que no aparecen aquí pero
siguen presentes en esta labor cotidiana llamada vida.

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Jorge Ramón Soto Mercado su tiempo y apoyo en la elaboración de esta tesis, que sin dudarlo, no se hubiera concluido sin la guía que nunca escatimó.

Agradezco al Maestro Jordi Iñaki y a todos los integrantes del Laboratorio de Cibernética el haber compartido su espacio y momentos de convivencia.

Índice general

1. Introducción	3
1.1. Interacciones macromoleculares	3
1.2. El ADN	4
1.3. Ecuación de Poisson-Boltzmann (EPB)	6
2. EPB para simetría cilíndrica	9
2.1. Deducción de la ecuación de Poisson-Boltzmann para coordenadas cilíndricas y distribución de carga uniforme en la superficie.	9
2.2. Solución numérica de la ecuación de Poisson-Boltzmann usando el método del disparo.	12
2.2.1. El método del disparo	12
2.2.2. Solución de la ecuación no lineal	15
2.3. Solución numérica de la ecuación lineal de Poisson-Boltzmann (Modelo de Debye-Hückel)	16
2.4. Análisis de resultados	18
3. Solución de EPB con software libre	23
3.1. APBS (Adaptative Poisson-Boltzmann Solver)	23
3.1.1. Método del elemento finito y mutirejillas	24
3.2. Cálculo del potencial del ADN en tres dimensiones	24
4. Perspectivas y conclusiones	28

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	2
A. Algoritmos utilizados	34

Capítulo 1

Introducción

1.1. Interacciones macromoleculares

Hoy en día uno de los retos principales para la nanotecnología es el ensamblado de componentes de dimensiones moleculares que formarán parte de dispositivos nanoelectrónicos, nanorobots, computadoras cuánticas, etc. Una de las propuestas para la solución a este reto es el autoensamble. El auto ensamble de dispositivos electrónicos basados en nanotubos de carbono mediado por moléculas de ADN [1] nos motivó a estudiar las interacciones de macromoléculas inmersas en soluciones electrolíticas.

Los nanotubos de carbono (NTC) han surgido como prometedores bloques de construcción para la nanofabricación de dispositivos y sensores electrónicos. La integración exitosa de NTC en tales dispositivos requiere del depósito controlado en lugares bien definidos y contactos eléctricos apropiados a los conductores de metal. Existen varios métodos para lograr esto: crecimiento direccional de tubos, alineación por fuerzas mecánicas, alineación por campos magnéticos y eléctricos y autoensamble.

En el artículo [1] se reporta un método de dos pasos para el autensamblado de nanotubos de carbono de una sola capa depositados entre electrodos de oro. Se utiliza la hibridación entre secuencias de ADN complementarias

cortas localizadas sobre contactos de metal y sobre los nanotubos de carbono de una sola capa. La técnica permite la producción simple de cientos de estos dispositivos con propiedades de transistor de un solo electrón. Las características eléctricas dependen fuertemente de la existencia del grupo de enlace químico y son controladas por el transporte a través de estos grupos.

En este trabajo obtendremos una de las variables más importantes para el cálculo de las interacciones entre moléculas: el potencial electrostático. Con tal objetivo, en el capítulo dos utilizamos algoritmos computacionales basados en el método del disparo para resolver la ecuación lineal y no lineal de Poisson-Boltzmann en una dimensión, basados en un modelo cilíndrico del ADN, sumergido en una solución fisiológica 1:1 de NaCl. Posteriormente en el capítulo tres haremos el cálculo tridimensional del potencial electrostático utilizando software libre APBS (Adaptative Poisson-Boltzmann Solver).

1.2. El ADN

El ADN está constituido de ácidos nucleicos denominados nucleótidos, formados por una base nitrogenada, un grupo fosfato y un azúcar llamada desoxirribosa. Las bases nitrogenadas contienen la información genética y los azúcares y los fosfatos tienen una función estructural. Estos últimos, además son los que contribuyen mayormente al potencial electrostático del polinucleótido.

Las bases son dos purinas, la guanina (G) y la adenina (A), y dos pirimidinas, la citosina (C) y la timina (T). Para formar el nucleótido se une una base al carbón 1' del azúcar y un fosfato al carbón 5' de la misma. En la figura 1.1 podemos observar una citosina y una adenina formando un nucleótido.

Los nucleótidos se unen entre sí por una unión fosfodiéster entre el carbono 5' de un nucleótido y el carbono 3' del siguiente. El ADN está formado por dos cadenas unidas entre sí por puentes de hidrógeno, entre las bases de las cadenas; éstas sólo pueden unirse por pares de bases, una adenina con

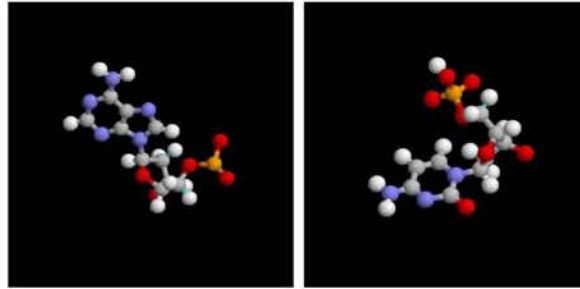


Figura 1.1: Nucleótidos formados por adenina y citosina respectivamente .

una timina y una citosina con una guanina.

Las dos cadenas se unen de una forma helicoidal con un eje común, las bases se encuentran hacia el eje de la molécula y los azúcares y fosfatos hacia el exterior de la misma [2].

Sus dimensiones son 20Å de diámetro, 34Å de largo por vuelta completa que contiene aproximadamente 10 pares de bases, y 3,4Å de separación base a base [3], como se muestra en la figura 1.2.

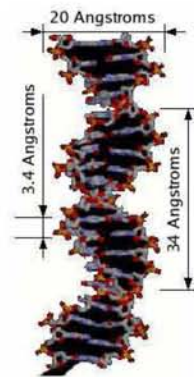


Figura 1.2: Dimensiones del ADN

Nuestro interés radica en el estudio de una de las hélices de la figura 1.1 y de sus propiedades electrostáticas. Estas hélices fueron obtenidos de dato

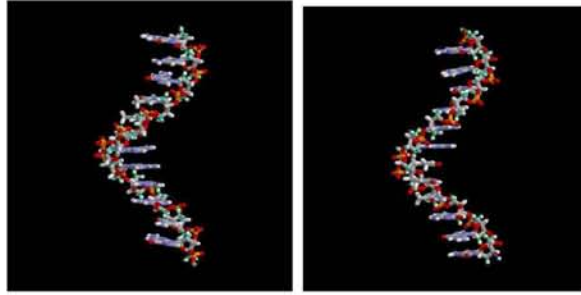


Figura 1.3: Una helice de ADN, cadena A y cadena B, respectivamente de los archivos en formato PDB obtenidos por resonancia nuclear magnética [4, 5] y renderizados con el programa Rasmol [6].

1.3. Ecuación de Poisson-Boltzmann (EPB)

El comportamiento de un campo electrostático se puede describir por dos ecuaciones diferenciales

$$\nabla \cdot E = 4\pi\rho \quad (1.1)$$

y

$$\nabla \times E = 0 \quad (1.2)$$

La última ecuación es equivalente a que E es el gradiente de una función escalar, el potencial escalar ϕ ,

$$E = -\nabla\phi \quad (1.3)$$

Las ecuaciones 1.1 y 1.3 se pueden combinar en una ecuación diferencial parcial para la función $\phi(r)$:

$$\nabla^2 \phi(r) = -4\pi\rho(r) \quad (1.4)$$

A la ecuación 1.4 se le llama la ecuación de Poisson [10].

Esencialmente todos los modelos electrostáticos usados para estudiar las macromoléculas están basados en la ecuación de Poisson. Estos difieren entre sí por su descripción tanto de la distribución de carga de la macromolécula como del medio que la rodea [7, 8, 9].

Como las macromoléculas no están disueltas en agua destilada, sino sumergidas en soluciones salinas diluidas, en su entorno se acumulará una distribución de iones de carga contraria a su carga superficial llamada distribución de contraiones. La densidad de contraiones o iones móviles la modelaremos con la distribución de Boltzmann:

$$\rho^m = \sum_i C_i^\infty (z_i q) e^{-\frac{z_i q U}{kT}} \quad (1.5)$$

C_i^∞ es la concentración de iones al infinito, z_i es el número de cargas de la especie, k es la constante de Boltzmann, T la temperatura, q la carga del protón. La distribución de Boltzmann nos indica la densidad de aniones acumulados donde el potencial es positivo y la densidad de cationes donde el potencial es negativo. Cuando ésta se incorpora a la ecuación de Poisson se forma la ecuación de Poisson-Boltzmann (EPB) para la electrostática de medios continuos,

$$\nabla \cdot (\epsilon(r) \nabla U) = -4\pi \sum_i C_i^\infty (z_i q) e^{-\frac{z_i q U}{kT}} - 4\pi\rho^f \quad (1.6)$$

donde ρ^f representa las fuentes de cargas fijas del sistema.

Para calcular las interacciones que caracterizan las respuestas de un sistema biológico a campos electrostáticos, se puede resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann directamente por métodos numéricos como el de elemen-

to finito adaptativo, que se ejemplifica en el capítulo 3. Ciertos sistemas (proteínas cuasiesféricas, virus de formas simétricas, etc) se pueden resolver con métodos simples al suponer simetrías sencillas, en particular en el capítulo 2 modelamos el ADN suponiendo que tiene una simetría cilíndrica.

Capítulo 2

Ecuación de Poisson-Boltzmann (EPB) en simetría cilíndrica.

2.1. Deducción de la ecuación de Poisson-Boltzmann para coordenadas cilíndricas y distribución de carga uniforme en la superficie.

En esta sección deduciremos la ecuación de Poisson-Boltzmann en una dimensión para una macromolécula con simetría cilíndrica. Nuestro modelo consiste en un cilindro con distribución de carga uniforme inmerso en una solución fisiológica de cloruro de sodio (NaCl). En este tipo de solución se sabe que las propiedades electrostáticas del ADN están descritas por una simetría de este tipo con parámetros de longitud de Debye [11] de aproximadamente 7 \AA a $T = 300 \text{ K}$, una constante dieléctrica del solvente $\epsilon \approx 80$ y una densidad de carga superficial σ constante [12].

La ecuación de Poisson-Boltzmann más general tiene la siguiente forma (ver ec. 1.6)

$$\nabla \cdot (\epsilon(r) \nabla U) = -4\pi\rho^m - 4\pi\rho^f \quad (2.1)$$

donde, como ya se mencionó al final del capítulo 1, el primer término de segundo miembro ρ^m nos indica la fuente de carga de los contraiones o iones móviles y el segundo término ρ^f la fuente de carga fija de la macromolécula.

Así mismo, la densidad de carga de los iones móviles sigue una distribución de Boltzmann de la forma de la ec. 1.1.

La constante dieléctrica estará dada como $\epsilon(r) = \epsilon$, por ser un medio dieléctrico homogéneo con ϵ constante en el solvente, y como $\rho^f = 0$ en una región fuera de la de la macromolécula, la EPB queda expresada como :

$$\nabla^2 U = -\frac{4\pi}{\epsilon} \sum_i C_i^\infty (z_i q) e^{-\frac{z_i q U}{kT}} \quad (2.2)$$

Tratándose de un cilindro infinito con densidad superficial uniforme, el potencial sólo dependerá de la coordenada radial y la Ecuación de Poisson-Boltzmann (EPB) se reduce a una ecuación diferencial ordinaria unidimensional de la forma:

$$\frac{d^2 U}{dr^2} + \frac{1}{r} \frac{dU}{dr} = -\frac{4\pi}{\epsilon} \rho^m \quad (2.3)$$

Ahora transformamos la ecuación 2.3 a una forma canónica. Primero introduzcamos las siguientes constantes:

i) el potencial reducido

$$\phi = \frac{qU}{kT} \quad (2.4)$$

y

ii) la longitud reducida

$$x = K_d r \quad (2.5)$$

donde

$$K_d = \left(\frac{4\pi}{\epsilon k T} \sum_i C_i^\infty z_i^2 q^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2.6)$$

es la constante de Debye, relacionada con la longitud de Debye por $\lambda_D = \frac{1}{K_D}$

Con el fin de simplificar aún más la ecuación diferencial y sin pérdida de generalidad, consideremos una solución electrolítica 1:1 de NaCl cuyas concentraciones son $C_1^\infty = \frac{1}{2}$, y $C_2^\infty = \frac{1}{2}$.

En este caso la distribución de iones móviles de Cl y Na es

$$\rho^m = \frac{1}{2}(z_1 q) e^{-z_1 \phi} + \frac{1}{2}(z_2 q) e^{+z_2 \phi} \quad (2.7)$$

y si $z_1 = z_2 = z$

$$\rho^m = -z q \operatorname{senh}(\phi) \quad (2.8)$$

y por lo tanto de 2.6

$$K_D^2 = \frac{4\pi}{\epsilon k T} (z^2 q^2) \quad (2.9)$$

Considerando que $z = \pm 1$ para los iones Na^+ , Cl^- , finalmente la ecuación 2.3 se reduce a la forma canónica buscada,

$$\left(\frac{d^2 \phi}{dx^2} + \frac{1}{x} \frac{d\phi}{dx} \right) = \operatorname{senh} \phi \quad (2.10)$$

Esta es una ecuación diferencial ordinaria no lineal que se resuelve con las condiciones a la frontera adecuadas, como pueden ser las densidades de carga σ en la superficie y al infinito, σ en la superficie se obtiene de la discontinuidad de las componentes normales del campo eléctrico.

Cuando $\sinh(\phi) \sim \phi$, obtenemos la ecuación lineal de Poisson-Boltzmann (LPBE)

$$\left(\frac{d^2\phi}{dx^2} + \frac{1}{x} \frac{d\phi}{dx}\right) = \phi \quad (2.11)$$

la cual tiene solución analítica en términos de las funciones modificadas de Bessel de primera y segunda clase [13, 14] y es conocida como la teoría de Debye-Hückel de soluciones electrolíticas [17, 16].

2.2. Solución numérica de la ecuación de Poisson Boltzmann usando el método del disparo.

2.2.1. El método del disparo

El método del disparo permite resolver ecuaciones diferenciales unidimensionales con condiciones a la frontera. Es un método híbrido compuesto de un método de solución de ecuaciones diferenciales ordinarias con condiciones iniciales y otro de búsqueda de raíces. Entre los métodos más populares para solucionar ecuaciones diferenciales están los de la familia de Runge-Kutta, que arrancan por sí mismos y se identifican por un orden, RK_n , en donde n nos indica el error global $O(h^n)$ del cálculo. Entre los métodos de búsqueda de raíces existe uno similar al método de Newton pero que discretiza la derivada y se utiliza cuando ésta no se conoce explícitamente, llamado método de la secante [15]. En los cálculos de esta tesis utilizaremos el método de la secante y $RK4$.

La forma en que se resuelve la ecuación diferencial con este método es la siguiente: supongamos que nos dan el siguiente tipo de condiciones a la frontera

$$\left. \frac{\partial \phi}{\partial x} \right|_a \quad (2.12)$$

y

$$\left. \frac{\partial \phi}{\partial x} \right|_b \quad (2.13)$$

evaluadas en el punto inicial $x = a$ y final $x = b$. Como desconocemos $\phi(a)$ escogemos un valor de entrada que llamaremos $\phi_\delta(a)$; con este valor (el primer disparo) resolvemos la ecuación diferencial desde a hasta b y en este último punto obtenemos

$$\left. \frac{\partial \phi_\delta}{\partial x} \right|_b = \phi'_\delta(b) \quad (2.14)$$

que en general no coincide con la condición de frontera deseada $\phi'(b)$.

La idea del método del disparo es encontrar la delta apropiada que asegure que

$$f(\delta) = \phi'_\delta(b) - \phi'(b) = 0 \quad (2.15)$$

El método de la secante nos da un método iterativo para lograr lo anterior cuando se desconoce $f'(\delta)$. Pero se necesita hacer un segundo disparo. Para esto tomamos un segundo valor de entrada para $\phi(a)$ que llamaremos $\phi_{\delta+\epsilon}(a)$ (el segundo disparo) y resolvemos la ecuación diferencial para éste, por lo que nuevamente obtenemos

$$\left. \frac{\partial \phi_{\delta+\epsilon}}{\partial x} \right|_b = \phi'_{\delta+\epsilon}(b) \quad (2.16)$$

Ahora se calculan las siguientes dos diferencias

$$f_0 = \phi'_\delta(b) - \phi'(b) \quad (2.17)$$

$$f_1 = \phi'_{\delta+\epsilon}(b) - \phi'(b) \quad (2.18)$$

Es de esperarse que cuando se tenga la δ adecuada $f_0 - f_1$ será cercana a cero o menor que una tolerancia Δ dada.

Pero si no es el caso, el método de la secante nos permite encontrar el siguiente paso en forma iterativa. Haciendo $x_n = \phi_\delta(a)$,

$$x_{n+1} = x_n - \frac{f_1}{f_1 - f_0}(x_n - x_{n-1}) \quad (2.19)$$

que si lo comparamos con el método de Newton

$$x_{n+1} = x_n - \frac{f_1}{f'_n} \quad (2.20)$$

vemos que en este caso usamos una aproximación para la función $f'(\delta)$ de la forma

$$f'(\delta) = \frac{f_1 - f_0}{x_n - x_{n-1}} \quad (2.21)$$

Y ahora los dos potenciales de arranque para realizar los disparos son

x_n y x_{n+1} . Esto se repite en un ciclo iterativo hasta llegar a la tolerancia deseada [15].

2.2.2. Solución de la ecuación no lineal

Para resolver la ecuación no lineal 2.10 utilizando el método del disparo primero se separa en dos ecuaciones diferenciales de primer orden, de la siguiente manera :

$$\frac{dy_1}{dx} = y_2 \quad (2.22)$$

$$\frac{dy_2}{dx} = \sinh y_1 - \frac{1}{x} y_2 \quad (2.23)$$

donde

$$y_1 = \phi \quad (2.24)$$

Este sistema es el que resolvemos con las siguientes condiciones de frontera: en la posición inicial $x_0 = 1$, posición final $x_f = 6$, densidad de carga inicial en la superficie $\sigma = -12$ [19] y $\sigma = 0$, donde consideramos a 6 longitudes de Debye como la distancia donde nuestro potencial reducido se hace cercano (infinito). Con esto buscamos $\phi(x = 1)$ con una tolerancia de $D = 1 \times 10^{-6}$.

La solución que obtuvimos está dada en la figura 2.1.

El procedimiento de búsqueda de la solución se complicó ya que por tratarse de una ecuación diferencial no lineal el resultado es muy sensible a la selección del potencial inicial de entrada. A diferencia de la aproximación de Debye-Hückel, la solución no lineal es válida para puntos cercanos a la superficie del cilindro porque la distribución de los iones móviles está mejor descrita por el $\sinh\phi(x)$ que por $\phi(x)$. Es en estas regiones donde se encuentra la mayor cantidad de contraiones [18] y los modelos de carga

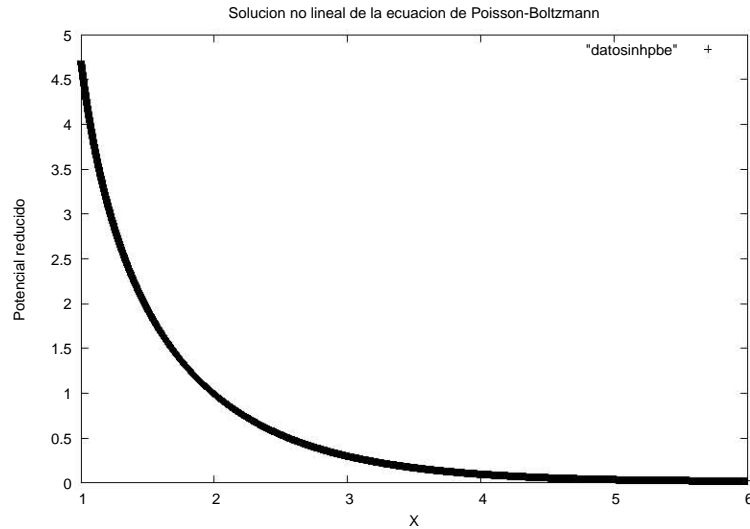


Figure 2.1: Grafica de la solución no lineal de la ecuación de Poisson-Boltzmann

desnuda están hechos o comparados con la solución asintótica no lineal [19]. De nuestros resultados obtenemos $\phi(x = 1) = 4.70888895$ (ver figura 2.1).

Ahora vamos a hacer una comparación de nuestro cálculo con la ecuación lineal. Como la ecuación lineal y no lineal deben coincidir en la región asintótica al modelo de Debye-Huckel, tomamos los resultados obtenidos en esa región como condiciones iniciales para encontrar la solución para la ecuación lineal de Poisson-Boltzmann (LPBE) y así poder comparar los modelos adecuadamente.

2.3. Solución numérica de la ecuación lineal de Poisson-Boltzmann (Modelo de Debye-Hückel)

En esta sección se resuelve la ecuación lineal de Poisson-Boltzmann utilizando los resultados que se obtuvieron en la sección anterior con la finalidad de empatar en la región asintótica la solución lineal con la no lineal. De esta

manera, se obtendría la carga efectiva desnuda para el modelo lineal.

La manera de resolver el problema es considerando el valor de la solución en la región asintótica, primero se resuelve la ecuación en el intervalo para x desde $x=4$ hasta $x=6$, que vamos a considerar como región asintótica, (ver el algoritmo 3), tomando como condiciones iniciales los valores en $x=4$ de la solución no lineal en esa región: a 4.0 longitudes de Debye, el potencial reducido obtenido es de 0.09773868, y la carga inicial de -0.10512752. Se realiza la integración de la ecuación 2.11 hacia adelante (4-6) y hacia atrás (1-4). El resultado se presenta en la figura 2.2.

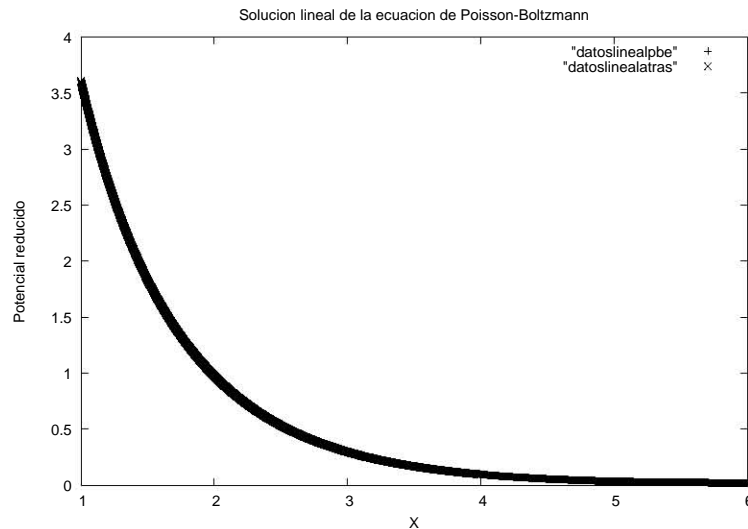


Figure 2.2: Grafica de la solución lineal de la ecuación de Poisson-Boltzmann

De los datos obtenidos (ver figura 2.2), el potencial encontrado en la superficie es $\phi(x = 1) = 3.60792997$ y la $\sigma = -5.15795999$.

Podemos hacer una comparación de los potenciales obtenidos de los modelos no lineal y lineal que se muestra en la figura 2.3.

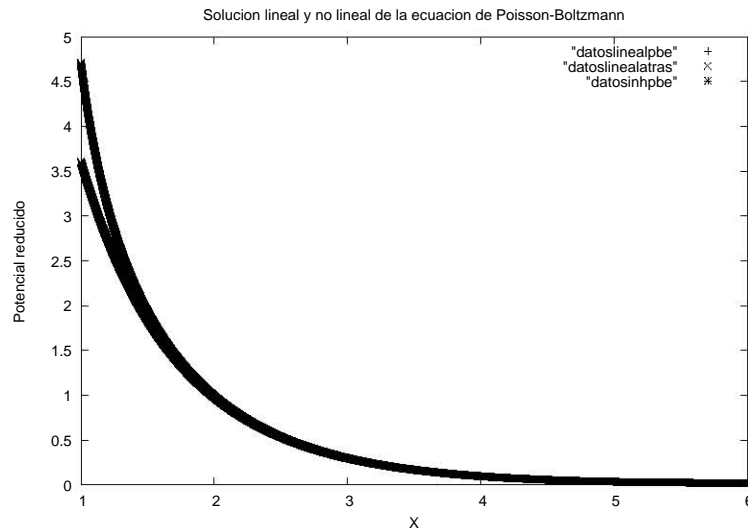


Figure 2.3: Comparación de las soluciones lineal y no lineal de la ecuación de Poisson-Boltzmann.

Además, de la ecuación 2.7, podemos obtener la densidad de los contraiones de Cl y de Na una vez que hemos encontrado el potencial como función de x . Tal comportamiento se muestra en la figura 2.4 y la figura 2.5 para la solución no lineal y en la figura 2.7 y la figura 2.8 para la solución lineal. La figura 2.6 muestra la densidad de los iones Na en el intervalo $y = 0$ y $y = 2$ donde se observa que la concentración al infinito tiene un valor de $1/2$.

2.4. Análisis de resultados

El uso del método de disparo tuvo que realizarse con mucho cuidado ya que en la solución no lineal un pequeño cambio en el potencial reducido indeterminaba la solución, dando valores positivos o negativos muy grandes para pequeños cambios en el potencial de inicio. De hecho, la indeterminación se daba en valores de décimas del valor del potencial reducido, por lo que se tuvo que probar a ensayo y error el potencial reducido que estuviera más

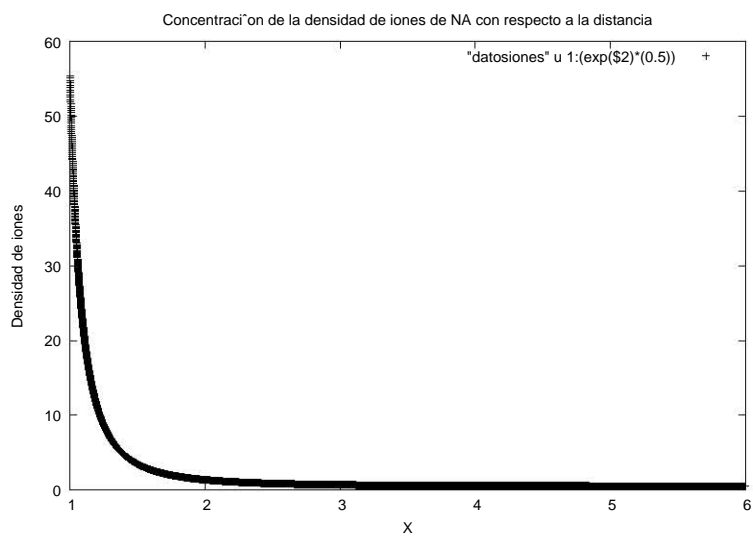


Figure 2.4: Densidad de iones Na para la soluci3n no lineal.

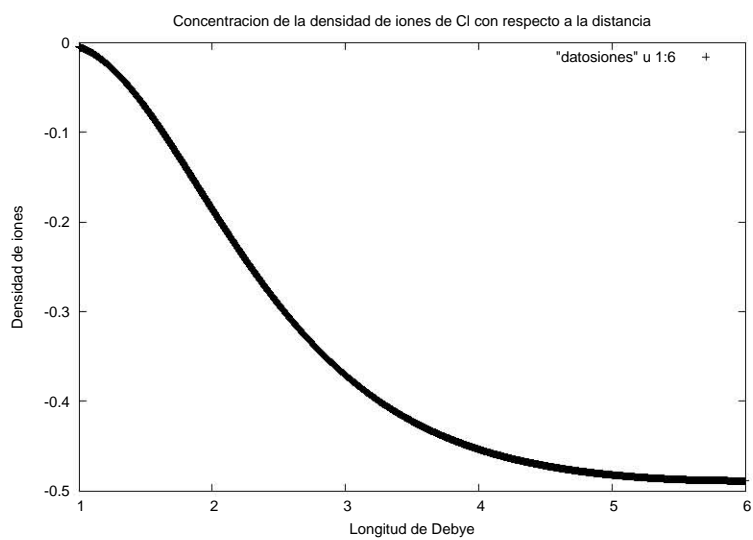


Figure 2.5: Densidad de iones Cl para la soluci3n no lineal

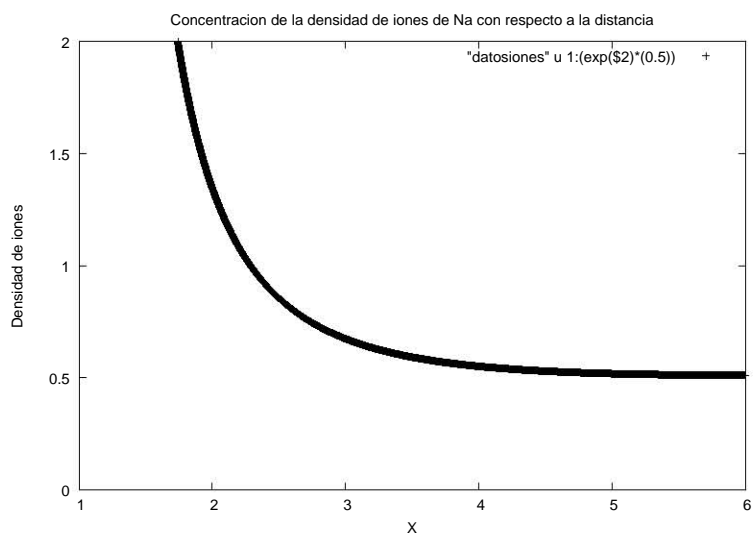


Figure 2.6: Acercamiento de la grafica 2.4

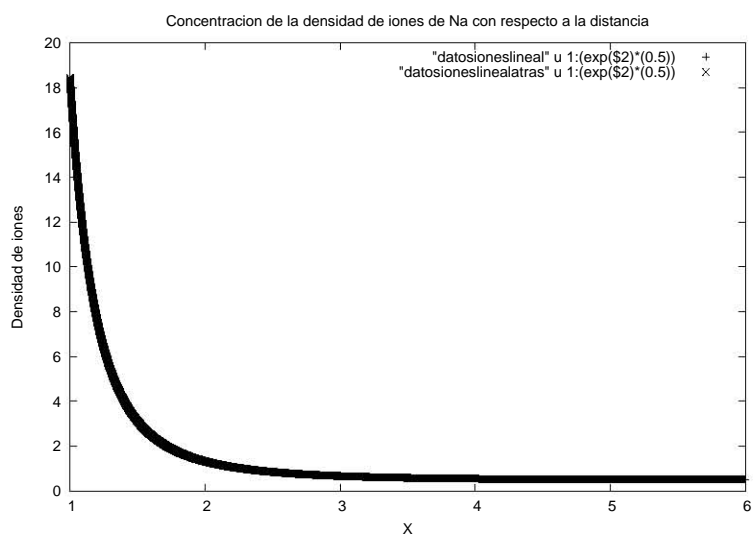


Figure 2.7: Densidad de iones Na para la solución lineal

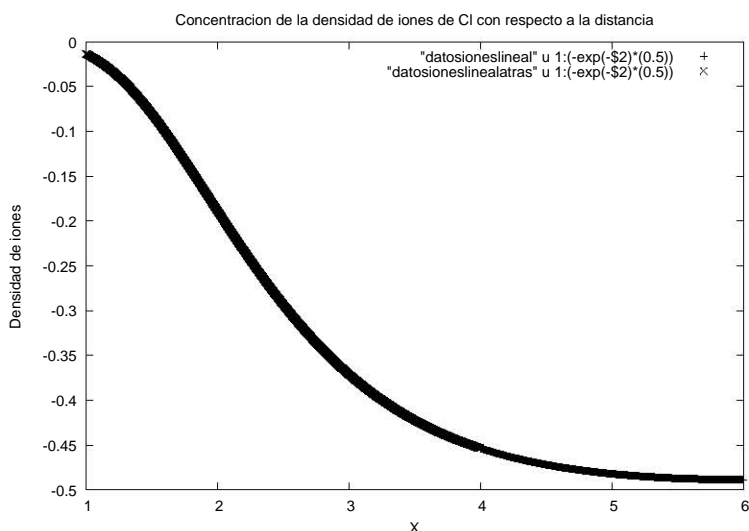


Figure 2.8: Densidad de iones Cl para la soluci3n lineal

cercano a la soluci3n de la ecuaci3n. Cuando encontramos ese valor de 4.7, se pudo utilizar adecuadamente el algoritmo para encontrar la soluci3n que en este caso fue de 4.70888895.

Si observamos el valor del potencial para la soluci3n no lineal y la lineal, la soluci3n lineal subestima la carga de la macromol3cula en la superficie. Se puede observar que esta 3ltima es casi la mitad de la carga en la superficie para el modelo m3s realista no lineal, por lo que para una carga de esta magnitud, la soluci3n lineal no da un resultado satisfactorio para regiones cercanas a la superficie de menos de 2 longitudes de Debye, que en nuestro caso ser3a para distancias menores a 14 angstroms. Sin embargo, para valores mayores a 3ste, la soluci3n lineal aproxima bien el valor que da la soluci3n no lineal, que se considera describe mejor el comportamiento del potencial reducido y en general del sistema. Este comportamiento tambi3n es observado por Chapot [19], por lo que se considera que el m3todo de disparo como m3todo de soluci3n a la ecuaci3n diferencial de Poisson-Boltzmann lineal y no lineal, permite conocer con bastante precisi3n el comportamiento del

sistema. Esta forma de solución no se encuentra reportado en la literatura sobre el tema, por lo que consideramos es una aportación de esta tesis a las distintas formas que ya existen de solución de la ecuación.

Obsevamos en las gráficas de concentración iónica que la solución no lineal, la mejor representación del modelo cercano a la superficie, predice una concentración mayor de iones de Na en la vecindad de la superficie, y a menos de dos longitudes de Debye, 14 angstroms, se encuentran la mayoría de esos iones. Es este hecho el que reduce la carga efectiva del polímero por exactamente la capa de contraiones formada a su alrededor [20]. Para el Cl observamos que no existe prácticamente gran concentración de estos iones en la vecindad de la superficie ni siquiera en las seis longitudes de Debye consideradas en el modelo.

Sin embargo, el modelo lineal predice un comportamiento de la concentración de los contraiones menor en la superficie para los iones de Na, y una gran cantidad, comparada con la solución no lineal, de iones de Cl. Esto es debido a que el modelo predice una caída menor de potencial y una menor carga en la superficie.

Las diferencas entre ambos modelos para la concentración de carga son importantes si se observa cerca de la superficie. A distancias mayores de dos longitudes de Debye, si bien no son parecidas si siguen un comportamiento asintótico par el Na que pueden predecir comportamientos similares, no así para el Cl.

Capítulo 3

Solución de la ecuación Poisson-Boltzmann utilizando herramientas de software libre.

3.1. APBS (Adaptative Poisson-Boltzmann Solver)

Existen diferentes algoritmos para resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann (ec. 2.1). De los algoritmos ya existentes mostraremos el uso del APBS (Adaptative Poisson-Boltzmann Solver) [22] que utiliza multirejillas y elemento finito para resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann en un sistema de macromoléculas cuyos datos pueden obtenerse por resonancia magnética nuclear o difracción de rayos x [4]. El programa calcula potenciales electrostáticos, energías y fuerzas en el sistema. Para visualizar los resultados del cálculo, usaremos el programa VMD (Visual Molecular Dynamics) que permite visualizar, animar y analizar en tres dimensiones sistemas biomoleculares [24].

En esta sección, lo que se haremos será tomar un archivo pdb del banco de datos de proteínas (PDB) [4] obtenido por resonancia magnética, lo que nos permite visualizar los hidrógenos contenidos en la macromolécula, elementos

que no se encuentran presentes en los archivos obtenidos por difracción de rayos x. Con esta muestra aislamos la molecula de ADN, utilizando el programa RASMOL [6] y se restringen los átomos asociados con cada una de las cadenas. De esta manera podemos obtener dos archivos de las cadenas aisladas del ADN. Estos son los elementos suficientes para calcular las cargas y los potenciales en APBS.

3.1.1. Método del elemento finito y mutirejillas

El método del elemento finito ofrece la posibilidad de colocar el esfuerzo computacional en regiones específicas del dominio del problema. Las mallas del elemento finito están compuestos de triángulos o tetraedros que están unidos por sus bordes y vértices (ver figura 3.1B). La solución se construye por funciones polinomiales que se asocian con vértices de la malla (ver figura 3.1C) y no son cero sobre un conjunto pequeño de figuras vecinas. La precisión de la solución se puede aumentar en áreas específicas aumentando el número de vértices con un refinamiento simple. El número de vértices generalmente aumenta en la vecindad del refinamiento simple (ver figura 3.1E) y no en el dominio del problema. Esta capacidad de aumentar localmente la resolución de la solución se llama “adaptatividad” y es la principal fortaleza del método de elemento finito adaptativo aplicado a la ecuación de Poisson-Boltzmann. Las multirejillas pueden emplearse en regiones donde se desee un resultado fino necesarios para resolver el problema en cuestión.

3.2. Cálculo del potencial del ADN en tres dimensiones

Ahora vamos a resolver la EPB no lineal por el método APBS para el sistema ADN completo al interior y exterior de la macromolécula.

La muestra de ADN escogida tiene una carga $q = -22$, y tanto la hélice

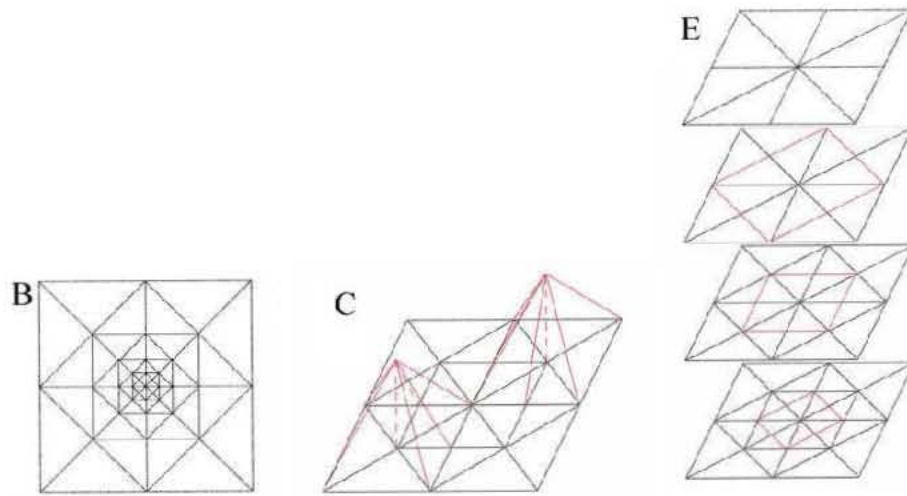


Figura 3.1: Esquemas de discretización y jerarquías usadas para resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann [21].

A como la B poseen una carga superficial neta correspondiente a la mitad de la carga total del ADN. El medio en el que está inmerso nuestro sistema corresponde a una solución fisiológica de NaCl, con una molaridad de 0.1M., a temperatura $T = 298^{\circ}K$.

En las Figuras 3.2 y 3.3 presentamos la representación tridimensional del potencial calculado. Como esperábamos, ahora el potencial corresponde al efecto conjunto de todas las fuentes que conforman al ADN (donde no es válido el principio de superposición ya que la EPB es no lineal). Observamos que la aproximación de Manning [20] de la teoría de los contraiones, con una distribución helicoidal, es correcta ya que el potencial tiene una forma estrictamente helicoidal cuyas mayores contribuciones provienen de las cargas correspondientes a los fosfatos. Respecto a las hélices A y B sus potenciales electrostáticos resultan ser complementarios al igual que sus estructuras. Este es el hecho principal que se aprovecha para el ensamblado de nanocircuitos ya que permite que dos hélices complementarias sumergidas en una solución

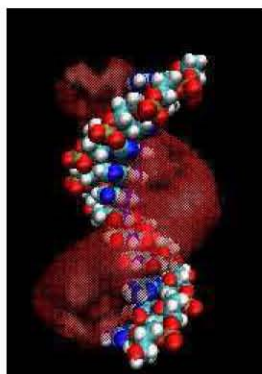


Figura 3.2: Potencial de la hélice A simple

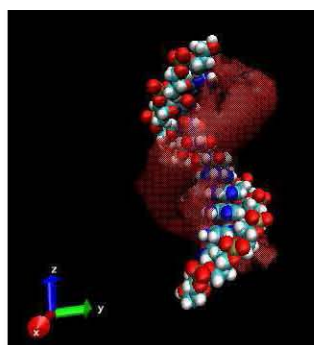


Figura 3.3: Potencial de la hélice B simple

fisiológica puedan unirse, al existir el potencial electrostático entre sí. Algo que hay que tomar en cuenta es que esta aproximación es válida para separaciones suficientemente grandes entre las hélices como para despreciar las fuerzas de enlace químico. A distancias del orden de angstroms hay que usar aproximaciones mecánico-cuánticas para modelar los enlaces de puente de hidrógeno que son los que concretan el ensamblado y mantienen estables las estructuras de ADN de doble hélice, aspecto que no se considera en nuestro estudio.

Capítulo 4

Perspectivas y conclusiones

Es posible ampliar este estudio para observar el comportamiento del sistema con diferentes concentraciones en el soluto, con otras longitudes de Debye y con cargas mayores o menores en la superficie. Además, es posible considerar nuevas configuraciones geométricas para distintas macromoléculas y con una gran cantidad de átomos y caracterizarlas de acuerdo al comportamiento electrostático, lo cual implicaría la realización de algoritmos más potentes.

El APBS utilizado aquí con un sólo procesador, es decir, de manera secuencial, puede instalarse en plataformas de multiprocesadores para resolver la ecuación en forma paralela y estudiar ensambles de estructuras macromoleculares con miles de componentes, para producir imágenes coloreadas de acuerdo al potencial electrostático con aplicaciones en medicina y para evaluar energías biomoleculares.

Consideramos de gran relevancia la electrostática en la biofísica molecular la cual influye en varios aspectos de las reacciones bioquímicas. La evaluación de las propiedades electrostáticas de las proteínas y los ácidos nucleicos es una práctica común en la investigación del estudio de la estructura y función biomolecular. De todos los modelos, la ecuación de Poisson-Boltzmann tiene un papel primordial en el estudio de la electrostática biomolecular, por lo que

dicho modelo seguirá jugando un papel crucial en el desarrollo de nuevas técnicas de cálculo numérico y, en especial, la técnica del elemento finito con técnicas de cómputo paralelo permitirán aprovechar los recursos de supercómputo para determinar las propiedades electrostáticas de grandes sistemas biológicos que contengan millones de átomos. Este modelo también se está usando en el desarrollo de métodos de simulación de dinámica molecular [21] y es de esperar que se abran nuevos campos interdisciplinarios en esta área en donde la física juegue el papel que le corresponde históricamente.

Para el cálculo de la energía de interacción electrostática entre dos macromoléculas, existe un modelo que permite calcularlas si ya se conoce la densidad de carga superficial y el potencial electrostático: la teoría de DLVO (llamada así en honor a Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek). Esta teoría ha sido generalizada por D. Chapot, L. Boquet y E. Trizac [19, 27]. Aquí el solvente se describe como un dieléctrico continuo con permitividad ϵ .

Bibliografía

- [1] Hazani, Miron, et al. DNA-mediated self-assembly of carbon nanotube-based electronic devices. *Chemical Physics Letters* 391 (2004) 389-392 .
- [2] Peña, Carlos E., et al. Toxicología ambiental. Evaluación de riesgos y restauración ambiental. Tomado el 21 de diciembre de 2005 de: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c1-1-1-3.htm>
- [3] Lehninger A. Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona, España. 1972. 1117 p.
- [4] H.M.Berman, J.Westbrook, Z.Feng, G.Gilliland, T.N.Bhat, H.Weissig, I.N.Shindyalov, P.E.Bourne "The Protein Data Bank" *Nucleic Acids Research* 2000, 28, 235-242. Con dirección electrónica: <http://www.rscb.org/pdb>
- [5] H. M. Berman, W. K. Olson, D. L. Beveridge, J. Westbrook, A. Gelbin, T. Demeny, S.-H. Hsieh, A. R. Srinivasan, and B. Schneider. (1992) The Nucleic Acid Database: A Comprehensive Relational Database of Three-Dimensional Structures of Nucleic Acids. *Biophys. J.*, 63, 751-759.
- [6] R. Sayle, H.J. Bernstein. RasMol Molecular Renderer. Version 2.7.3 Enero 2005. Tomado de <http://www.umass.edu/microbio/rasmol/getras.htm> el 25 de Noviembre de 2005.

- [7] Sharp, Kim A., Honig Barry. Electrostatic Interactions in Macromolecules: Theory and applications. *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 1990. 19:301-32.
- [8] B. Jayaram, K. A. Sharp, B. Honig. The electrostatic potential of B-DNA. *Biopolymers*. Vol. 28, 975-993 (1989).
- [9] D. Stigter. Evaluation of the counterion condensation theory of polyelectrolytes. *Biophysical Journal*. Volume 69. August 1995, 380-388.
- [10] Jackson, David John, *Classical electrodynamics*. 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc. USA. 1975. pp. 42.
- [11] Notas de la Dra. Susan Lea Baron tomadas de <http://www.physics.sfsu.edu/~lea/courses/grad/debye.PDF> el día 28 de Febrero de 2006 sobre la longitud de Debye.
- [12] Kornyshev A.A., Leikin, S. Electrostatic interaction between long, rigid helical macromolecules at all interaxial angles. *Physical Review*. 2000, vol. 62. Num. 2. pp. 2576-2596.
- [13] Wagner, Katrina, et al. Analytical Debye-Huckel Model for Electrostatic Potentials around Dissolved DNA. *Biophysical Journal*, Vol 73, 21-30 (1997)
- [14] A.J.M. Garret, L. Poladian. *Refined Derivation, exact solutions, and singular limits of the Poisson-Boltzmann equation*. Academic Press, Inc. 1988
- [15] Pang, Tao. *An introduction to Computational physics*. Cambridge University Press. United Kingdom. 2003.
- [16] R. M. Dowben. *General Physiology: a molecular approach*. Harper & Row . N.Y., 1969.

- [17] A.J. Baid. Chemical equilibrium. Harper & Row. N.Y. 1966.
- [18] P. Varnai, K. Zakrzewska. DNA and its counterions: a molecular dynamics study. *Nucleic Acids Research*, 2004, Vol. 32, No. 14, 4269-4280.
- [19] D. Chapot, L. Bocquet, E. Trizac. Electrostatic potential around charged finite rodlike macromolecules: nonlinear Poisson-Boltzmann theory. *Journal of Colloid and Interface Science*. 285 (2005) 609-618.
- [20] G. S. Manning. Counterion condensation on elical charge lattice. *Macromolecules* 2001, 34, 4650-4655.
- [21] N. A. Baker. Poisson-Boltzmann Methods for Biomolecular Electrostatics. *Methods in Enzymology*. Volume 383 , 2004, Pages 94-118. Numerical Computer Methods, Part D
- [22] Baker NA, Sept D, Joseph S, Holst MJ, McCammon JA. Electrostatics of nanosystems: application to microtubules and the ribosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10037-10041 2001.
- [23] Muestra bdna.pdb tomada de <http://chemistry.gsu.edu/glactone/index.shtml> el 14 de Enero de 2005.
- [24] Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, K., "VMD - Visual Molecular Dynamics", *J. Molec. Graphics*, 1996, vol. 14, pp. 33-38.
- [25] Dolinsky TJ, Nielsen JE, McCammon JA, Baker NA. PDB2PQR: an automated pipeline for the setup, execution, and analysis of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic Acids Research* 32 W665-W667 (2004). Con dirección electrónica <http://agave.wustl.edu/pdb2pqr/server.html>
- [26] M.A. Miteva, P. Tufféry and B. O. Villoutreix. PCE: web tools to compute protein continuum electrostatics. *Nucleic Acids Research*, 2005, Vol. 33.

- [27] D. Chapot, L. Bocquet, E. Trizac. Interaction between charged anisotropic macromolecules: Application to rod-like polyelectrolytes. *Journal of chemical physics*. Volume 120, number 8. February 2004.

Apéndice A

Algoritmos utilizados

Algorithm 1 Algoritmo para resolver la ecuación no lineal de Poisson-Boltzmann

```
#include <stdio.h>
#include <math.h>
#define NMAX 10001
#define g1(y1,y2,t) (y2)
#define g2(y1,y2,t) (sinh(y1)-(1/t)*y2)/*ecuacion diferencial no lineal */
main()
{
int i,n;
double dl=1e-6, e1,ye, logx;
double dk11,dk21,dk12,dk22,dk13,dk23,dk14,dk24;
double x,xl,xu,dx,h,yl,yu,x0,x1,x2,d,y1,y2,f0,f1;
double y[2][NMAX];
double phi;
/* Inicializacion del problema */
n = NMAX;
d = 1;
```

```

x1 =1; //punto inicial, condicion a la frontera
xu = 6; // punto final de potencial 0 en LD, condicion a la frontera
phi=exp(-xu)/xu;//para comparar con
h = (xu-x1)/(n-1);
y1 = -12; // carga inicial, condicion a la frontera
x0 =4.7; // potencial de inicio, propuesta de arranque
dx = 1e-6; //incremento en X
x1 = x0+dx;
y[1][0] = y1;
f1=1;
/* la busqueda de la raiz por el metodo de la secante */
while (fabs(d)>d1)
{
/* el calculo de Runge-Kutta para la primera solucion de prueba */
y[0][0] = x0;
for (i = 0; i < n-1; ++i)
{
x = x1+h*(i+1);
y1 = y[0][i];
y2 = y[1][i];
dk11 = h*g1(y1,y2,x);
dk21 = h*g2(y1,y2,x);
dk12 = h*g1((y1+dk11/2), (y2+dk21/2), (x+h/2));
dk22 = h*g2((y1+dk11/2), (y2+dk21/2), (x+h/2));
dk13 = h*g1((y1+dk12/2), (y2+dk22/2), (x+h/2));
dk23 = h*g2((y1+dk12/2), (y2+dk22/2), (x+h/2));
dk14 = h*g1((y1+dk13), (y2+dk23), (x+h));
dk24 = h*g2((y1+dk13), (y2+dk23), (x+h));
y[0][i+1] = y[0][i]+(dk11+2*(dk12+dk13)+dk14)/6;
y[1][i+1] = y[1][i]+(dk21+2*(dk22+dk23)+dk24)/6;

```

```

}
f0=y[1][n-1];
/* el calculo de Runge-Kutta para la segunda solucion de prueba */
y[0][0] = x1;
for (i = 0; i < n-1; ++i)
{
x = x1+h*(i+1);
y1 = y[0][i];
y2 = y[1][i];
dk11 = h*g1(y1,y2,x);
dk21 = h*g2(y1,y2,x);
dk12 = h*g1((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
dk22 = h*g2((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
dk13 = h*g1((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
dk23 = h*g2((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
dk14 = h*g1((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
dk24 = h*g2((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
y[0][i+1] = y[0][i]+(dk11+2*(dk12+dk13)+dk14)/6;
y[1][i+1] = y[1][i]+(dk21+2*(dk22+dk23)+dk24)/6;
}
f1 = y[1][n-1];
d = f1-f0;
x2 = x1-f1*(x1-x0)/d;
x0 = x1;
x1 = x2;
}
for (i = 0; i < n; ++i)
{
x =x1+h*i;
ye=y[0][i]*(exp(x));

```

Algorithm 2 Algoritmo para resolver la ecuación lineal de Poisson-Boltzmann

```

logx=log(fabs(y[0][i]*x));
printf(" %16.8lf%16.8lf%16.8lf%16.8lf\n", x,y[0][i],y[1][i],logx);
}
}
#include <stdio.h>
#include <math.h>
#define NMAX 10001
#define g1(y1,y2,t) (y2)
#define g2(y1,y2,t) (y1-(1/t)*y2)/*ecuacion diferencial lineal */
main()
{
int i,n;
double dl=1e-6, e1,ye, logx;
double dk11,dk21,dk12,dk22,dk13,dk23,dk14,dk24;
double x,xl,xu,dx,h,y1,yu,x0,x1,x2,d,y1,y2,f0,f1;
double y[2][NMAX];
double phi;
/* Inicializaci3n del problema */

n = NMAX;
d = 1;
xl =4; //punto inicial, condici3n a la frontera
xu = 1; // punto final de potencial 0 en LD, condici3n a la frontera
h = (xu-xl)/(n-1);
y1 =-0.10512752 ; // carga inicial
x0 = 0.09773868 ; // potencial de inicio aqui queda fijo
dx = 1e-6; //incremento en X

```

```

x1 = y1+dx;//es lo que se va a cambiar
y[0][0] =x0; //potencial de inicio fijo
f1=1;
{
/* el calculo de Runge-Kutta */
y[1][0] = y1;//la carga de inicio
for (i = 0; i < n-1; ++i)
{
x = x1+h*(i+1);
y1 = y[0][i];
y2 = y[1][i];
dk11 = h*g1(y1,y2,x);
dk21 = h*g2(y1,y2,x);
dk12 = h*g1((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
dk22 = h*g2((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
dk13 = h*g1((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
dk23 = h*g2((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
dk14 = h*g1((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
dk24 = h*g2((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
y[0][i+1] = y[0][i]+(dk11+2*(dk12+dk13)+dk14)/6;
y[1][i+1] = y[1][i]+(dk21+2*(dk22+dk23)+dk24)/6;
}
f0=y[1][n-1];
f1 = y[1][n-1];
d = f1-f0;
x2 = x1-f1*(x1-x0)/d;
x0 = x1;
x1 = x2;
}
for (i = 0; i < n; ++i)

```

Algorithm 3 Algoritmo para encontrar la región asintótica de la solución lineal de la ecuación Poisson-Boltzmann

```

    {
    x =xl+h*i;
    ye=y[0][i]*(exp(x));
    logx=log(fabs(y[0][i]*x));
    printf("%16.8lf%16.8lf%16.8lf%16.8lf\n", x,y[0][i],y[1][i],logx);

    }
}
#include <stdio.h>
#include <math.h>
#define NMAX 10001
#define g1(y1,y2,t) (y2)
#define g2(y1,y2,t) (y1-(1/t)*y2)/*ecuacion diferencial no lineal */
main()
{
int i,n;
double dl=1e-6, e1,ye, logx;
double dk11,dk21,dk12,dk22,dk13,dk23,dk14,dk24;
double x,xl,xu,dx,h,y1,yu,x0,x1,x2,d,y1,y2,f0,f1;
double y[2][NMAX];
double phi;
/* Inicialización del problema */

n = NMAX;
d = 1;
xl =4; //punto inicial, condiciÃ³n a la frontera
xu = 6; // punto final de potencial 0 en LD, condiciÃ³n a la fronter

```

```

//phi=0.1;
phi=exp(-xu)/xu;//para comparar con
h = (xu-xl)/(n-1);
y1 =-1 ; // carga inicial
x0 = 0.09773868 ; // potencial de inicio aqui queda fijo
dx = 1e-6; //incremento en X
x1 = y1+dx;//es lo que se va a cambiar
y[0][0] =x0; //potencial de inicio fijo
//e1=1e-1;//que tanto se parece a la condiciÃ³n de frontera
f1=1;
/* la búsqueda de la raiz por el metodo de la secante */
while (fabs(d)>d1)
{
/* el calculo de Runge-Kutta para la primera solución de prueba */
y[1][0] = y1;//la carga de inicio
for (i = 0; i < n-1; ++i)
{
x = x1+h*(i+1);
y1 = y[0][i];
y2 = y[1][i];
dk11 = h*g1(y1,y2,x);
dk21 = h*g2(y1,y2,x);
dk12 = h*g1((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
dk22 = h*g2((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
dk13 = h*g1((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
dk23 = h*g2((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
dk14 = h*g1((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
dk24 = h*g2((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
y[0][i+1] = y[0][i]+(dk11+2*(dk12+dk13)+dk14)/6;
y[1][i+1] = y[1][i]+(dk21+2*(dk22+dk23)+dk24)/6;

```

```

    }
f0=y[1][n-1];
/* f0 = y[0][n-1]-phi;*/
/* el calculo de Runge-Kutta para la segunda solución de prueba */
y[1][0] = x1;//aqui modifica la pendiente
for (i = 0; i < n-1; ++i)
    {
    x = x1+h*(i+1);
    y1 = y[0][i];
    y2 = y[1][i];
    dk11 = h*g1(y1,y2,x);
    dk21 = h*g2(y1,y2,x);
    dk12 = h*g1((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
    dk22 = h*g2((y1+dk11/2),(y2+dk21/2),(x+h/2));
    dk13 = h*g1((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
    dk23 = h*g2((y1+dk12/2),(y2+dk22/2),(x+h/2));
    dk14 = h*g1((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
    dk24 = h*g2((y1+dk13),(y2+dk23),(x+h));
    y[0][i+1] = y[0][i]+(dk11+2*(dk12+dk13)+dk14)/6;
    y[1][i+1] = y[1][i]+(dk21+2*(dk22+dk23)+dk24)/6;
    }
f1 = y[1][n-1];
d = f1-f0;
x2 = x1-f1*(x1-x0)/d;
x0 = x1;
x1 = x2;
}
for (i = 0; i < n; ++i)
    {
    x =x1+h*i;

```

```
ye=y[0][i]*(exp(x));  
logx=log(fabs(y[0][i]*x));  
printf(" %16.81f %16.81f %16.81f %16.81f\n", x,y[0][i],y[1][i],logx);  
  
}  
}
```