

Estructura de Ácidos Nucleicos

Agosto de 2007

Introducción

En este último tema del taller de modelado, usaremos RasMol para estudiar los ácidos nucleicos. Iniciaremos el estudio conociendo sus unidades básicas los nucleótidos y después pasaremos a revisar los niveles secundario y terciario de la estructura del DNA y RNA. Durante esta revisión, aprenderás algunas instrucciones de RasMol para crear animaciones.

Para este tema debes descargar el archivo Moléculas06.zip y guardarlo en **Mis documentos**. Una vez guardado, busca el archivo en **Mis documentos** y desempaca la carpeta **Moléculas06** en **Mis documentos**. También en **Mis documentos**, crea una carpeta que tenga por nombre tus apellidos seguidos de la palabra Nucleicos (ejemplo **González Moreno Nucleicos**), esta será tu carpeta de trabajo, en la cual debes grabar todas las imágenes que se te pida que guardes durante esta sesión.

Nucleótidos

Abre el archivo **DNAB.pdb**, que está en **Moléculas06**. Este es un modelo de la forma B de la doble hélice del DNA, la más común, vista a lo largo del eje longitudinal. Como puedes ver la hélice tiene simetría 10, que corresponde al número de nucleótidos que se encuentran en cada vuelta. Escribe en la línea de comandos:

```
restrict a9:a
```

```
zoom 300
```

Si tu computadora no tiene capacidad para hacer zoom 300, utiliza el mayor que te permita. Con esta instrucción se selecciona el nucleótido de adenosina número nueve de la cadena A y se oculta el resto de la molécula. En esta imagen es fácil observar que los planos perpendiculares de la Adenina y la Ribosa están en conformación *anti*, lo más alejados posible. También puedes ver la conformación 2'-*endo* de la Desoxirribosa, característica del DNA B. Guarda la imagen generada en tu carpeta de trabajo en formato **GIF** y nombre **AB**.

Repite el ejercicio para la Timina 12 de la cadena B (**t12:b**) la Citosina 10 de la cadena A (**c10:a**) y la Guanina 11 de la cadena B (**g11:b**). Todas ellas muestran los mismos rasgos. Guarda las imágenes en tu carpeta de trabajo con nombres **TB**, **CB** y **GB**, todas en formato **GIF**.

Al terminar cierra el archivo y abre **DNAZ.pdb** que está en la misma carpeta. Este modelo corresponde a la forma Z del DNA, que es muy rara. ¿Qué simetría presenta la hélice? ¿Cuántos nucleótidos hay en cada vuelta?

Una característica de la forma de DNAZ, es que casi no hay nucleótidos de Adenina o Timina. Escribe en la línea de comandos:

```
restrict g11:e
```

```
zoom 300
```

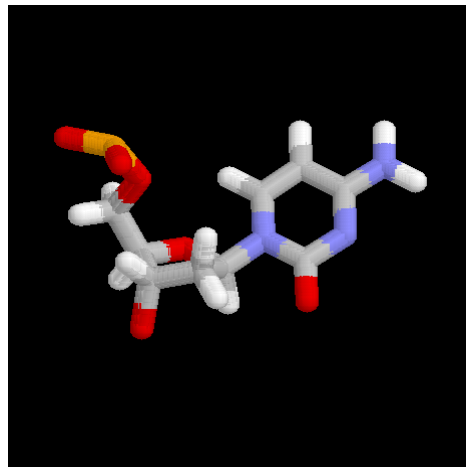
Se selecciona el nucleótido de guanosina número 11 de la cadena E y se oculta el resto de la moléculas. En esta imagen se observa que la conformación del nucleótido es *syn*, el plano del anillo está sobre el plano de la desoxirribosa, y el anillo de desoxirribosa tiene conformación 3'-*endo*. Ambas características diferentes a las de DNA B. Guarda la imagen generada en tu carpeta de trabajo, con formato **GIF** y nombre **GZ**.

Repite el ejercicio para la Citosina 10 de la cadena D (**c10:d**), debes obtener una imagen semejante a la figura de la derecha. ¿Cómo son las conformaciones del nucleótido y del anillo de desoxirribosa?

Guiones para visualización

Para fines del ejercicio, supón que la imagen que obtuviste es la mejor que podrías hacer y además de guardarla como archivo de imagen, también deseas guardar la rutina que la generó, para eso se usan los guiones o **scripts** de RasMol.

Para poder usar los scripts es necesario cambiar un poco la forma como hemos trabajado hasta ahora. Antes de continuar minimiza Rasmol.



Primero, crearemos en el escritorio de Windows un Acceso directo a RasMol. Haz *clik derecho* en cualquier sitio libre del escritorio. En el menú que se abre haz *clik* **Nuevo - Acceso directo**. Aparece una ventana de dialogo, haz *clik* **Examinar** y busca en la computadora el archivo **rw32b2a.exe** que es el programa de RasMol, y haz *clik* botón **Abrir**. De vuelta en la ventana de diálogo haz *clik* botón **Siguiente**. En la nueva ventana se presenta el nombre del acceso directo, borra el que está, escribe RasMol y haz *clik* finalizar. En el escritorio queda el icono del acceso directo; para arrancar RasMol basta hacer doble clic sobre el icono.

Ahora hay que modificar el acceso directo para poder grabar y leer los scripts. Haz *clik derecho* sobre el icono del acceso directo y en el menú que se abre haz *clik* **Propiedades**. Aparece otra ventana de diálogo con las propiedades del acceso directo, en ella busca el cuadro de texto **Iniciar en:**, borra el contenido y escribe **C:\Mis documentos\carpeta de trabajo**. En lugar de “**carpeta de trabajo**”, escribe el nombre de la carpeta que creaste en **Mis documentos**, con tus apellidos. Para terminar haz *clik* **Aplicar** y *clik* **Aceptar**. El programa buscara los archivos para leer en la carpeta **Mis documentos** y guardará las salidas ahí mismo, con eso ya estamos listos para crear y usar scripts.

Restaura RasMol y escribe en la línea de comandos:

```
write script nucleotido.scr
```

Cierra RasMol y arráncalo usando el acceso directo del escritorio. Escribe en la línea de comandos:

```
Script nucleotido.scr
```

Se debe regenera la imagen exactamente como estaba. Los scripts sólo funcionan si todos los archivos se encuentran en la misma ubicación que cuando se generó el script.

También se pueden crear scripts en un editor de texto, escribiendo los comandos y guardándolos como archivos de sólo texto. Todos los comandos de RasMol se pueden usar como instrucciones en los scripts. Abre el Block de notas de Windows y escribe los comandos siguientes:

```
rotate x 45
refresh
rotate y 45
refresh
rotate z 45
```

Guarda el archivo en la carpeta **Mis documentos** con el nombre **mover.scr**. Ahora escribe en la línea de comandos:

```
mover.scr
```

La molécula adquiere una nueva orientación. Como este script no tiene definida ninguna molécula, actuará sobre la molécula activa en el momento que se le llame. Más adelante usaremos estos scripts para generar animaciones simples.

Estructura Primaria

Abre el archivo **DNAB.pdb** y rótaló 90° sobre el eje **X**. En la línea de comandos escribe:

```
restrict *a and backbone
```

Podrás ver la cadena continua de ribosa-fosfato-ribosa que forma el esqueleto covalente del DNA. Para identificar los residuos escribe en la línea de comandos:

```
select *a.p
label %n%r
color label green
```

Fácilmente puedes leer la secuencia de nucleótidos, anótala. Repite el ejercicio con la cadena B y anota la secuencia. ¿Como son las secuencias entre si? También puedes leer la secuencia con el comando **show sequence** en la ventana de comandos.

Restaura la molécula y marca ambas cadenas, como hiciste con las cadena individuales, con estas marcas puedes ver lo que significa que las cadenas son complementarias. Selecciona toda la molécula y cambia el color a **Group**. En esta imagen también se puede ver que las cadenas son antiparalelas. ¿Que color tiene el extremo 5'? Guarda la imagen generada en tu carpeta de trabajo, con formato **GIF** y nombre **DNAB**.

Abre el archivo **TRNA.pdb**. Esta es una molécula de RNA de transferencia de fenilalanina. Usa el comando **show sequence** para leer la secuencia. ¿Además del Uracilo, que otra diferencia encuentras, respecto del DNA?

Estructura Secundaria

El DNA es una molécula fibrosa de peso molecular elevado (hasta 10⁹ Dalton). En todas las células y la mayoría de los virus, está formada por dos cadenas de nucleótidos con secuencias complementarias. La complementariedad de las cadenas esta dada por

puentes de hidrógeno entre pares de bases, dos entre ADENINA y TIMINA (A=T), y tres entre GUANINA y CITOSINA (G=C), estos apareamientos no son los únicos posibles pero sí los más estables.

Apareamiento de Bases. Usando el comando **reset**, devuelve la imagen del DNA B, a su vista original. En la línea de comandos escribe:

```
restrict a9:a or t12:b
zoom 300
hbonds
color green
hbonds 10
```

Este es un par Adenina – Timina del DNA B, mostrando los dos enlaces por puente de hidrógeno en color verde. Rota la molécula, para que puedas ver que las dos bases están en un mismo plano. Cambia al modo de visualización **Spacefill**; observa que los átomos del enlace por puente de hidrógeno si están en contacto, pero la distancia entre ellos es mayor que la de los enlace covalentes. Abre el mismo archivo, en otra ventana de RasMol, y repite el ejercicio anterior pero con el par **c10:a – g11:b**. Mide la distancia entre los carbonos anoméricos de las desoxirribosas de los dos miembros de cada par de nucleótidos, los valores deben ser casi iguales. Repite la medida pero desde los átomos de fósforo, el resultado debe ser el mismo. Guarda las imágenes generadas en tu carpeta de trabajo con formato **GIF** y nombre **ATB** y **GCB**, respectivamente.

Cierra una de las ventanas y en la otra devuelve la imagen a su vista original y escribe en la línea de comandos

```
restrict (9:a or 12:b) or (10:a or 11:b)
select AT
color blue
select GC
color red
```

Estos son dos pares de nucleótidos consecutivos, presentados para que se note el giro de aproximadamente 36° que hay de uno al otro. Rota los pares de bases, para verlos de perfil, y cambia la visualización a Spacefill. Observa que la distancia entre ellos es pequeña, y permite las interacciones hidrófobas que estabilizan la estructura secundaria del DNA. Guarda la imagen generada en tu carpeta de trabajo con formato GIF y nombre **ParesB**.

Devuelve la imagen a su vista original, rótagla 90° sobre el eje X, cambia la visualización a **Spacefill** y el color a **Chain**, para que puedas observar más claramente la forma en que las cadenas giran una alrededor de la otra.

Animaciones

Para hacer más llamativo el estudio de la estructura de moléculas, probablemente lo mejor sea presentarlas en movimiento. Usando los scripts de RasMol se pueden crear animaciones sencillas en forma rápida.

Abre el Block de Notas de Windows y escribe las líneas siguientes 45 veces:

```
rotate y 2  
refresh
```

Guarda el archivo en la carpeta **Mis documentos\carpeta de trabajo**, con el nombre **y905.scr**. Regresa a RasMol y escribe en la línea de comandos:

```
script y905.scr
```

La molécula de DNA B debe girar sobre su eje vertical 90 grados. Además, el contraste de rojo y azul, sobre fondo negro, genera una ilusión de profundidad que da la apariencia de tercera dimensión.

Con este script cualquier molécula que esté en la ventana de RasMol rotará 90° en el sentido de las manecillas del reloj. Si queremos que el giro sea más rápido, usamos incrementos mayores, y para que sea más lento, menores de 2°. Para lograr un giro completo, podríamos escribir 180 veces la instrucción en un archivo, o crear otro script que llame a **y905.scr** cuatro veces, o más si deseamos más giros completos. Prepara un script de este tipo y ejecútalo desde la ventana de comandos. El método de scripts anidados permite crear animaciones muy elaboradas a partir de segmentos simples.

Cierra el archivo y abre el **DNAZ.pdb**. Usando las instrucciones que aprendiste para el DNA B, visualiza en ventanas diferentes los pares de nucleótidos que se enlistan a continuación; mide las distancias que mediste para el DNA B y compáralas entre si y con las de la forma B.

```
c12:d - g9:e, g11:d – c10:e y c10:d – g11:e
```

Guarda las imágenes generadas en tu carpeta de trabajo, en formato **GIF** y nombres **CGZ1**, **GCZ** y **CGZ2** respectivamente. ¿Cuál es la mayor diferencia en las distancias, respecto del DNA B?

Ahora, visualiza los pares de bases superpuestos usando la secuencia de comandos siguiente:

```
restrict (12:d or 9:e) or (11:d or 10:e)  
select 12:d or 9:e  
color blue  
select 11:d or 10:e  
color red
```

Y en otra ventana visualiza los siguientes:

```
restrict (10:d or 11:e) or (11:d or 10:e)  
select 10:d or 11:e
```

color blue

select 11:d or 10:e

color red

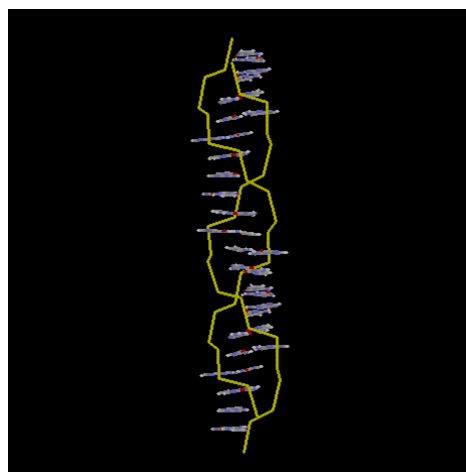
Guarda las imágenes generadas en tu carpeta de trabajo, con nombre **ParesZ1** y **ParesZ2**, en formato **GIF**. ¿Son iguales los giros en los dos casos ilustrados? ¿Qué conclusión puedes elaborar con este resultado?

Devuelve la imagen a su vista original, róta la 90° sobre el eje X, cambia la visualización a **Spacefill** y el color a **Chain**, para que puedas observar más claramente la forma en que las cadenas giran una alrededor de la otra. Como ya pudiste notar, la dirección de giro de las espirales es contraria a la de las manecillas del reloj, por eso se dice que el DNA Z es izquierdo.

Otros dicen que se llama así por la apariencia del esqueleto continuo. Selecciona el esqueleto y cambia la representación a **backbone**. La imagen será semejante a la figura de la derecha. Puedes ver con claridad la forma en zig-zag del esqueleto.

Aplica el script de rotación que elaboraste para el DNA B, observa la gran diferencia que hay entre las dos moléculas.

Cierra el DNA Z y abre el archivo **RNA.pdb**. Busca un par de nucleótios en la zona de doble hélice de la molécula y prepara una imagen como las que hiciste para los DNA y mide los mismos parámetros. ¿A quien se parece más la doble hélice del RNA? ¿Como son las conformaciones de los nucleótios y la desoxirribosa en el RNA? Guarda la imagen generada en tu carpeta de trabajo, con formato **GIF** y nombre **ParRNA**.



Estructura Terciaria

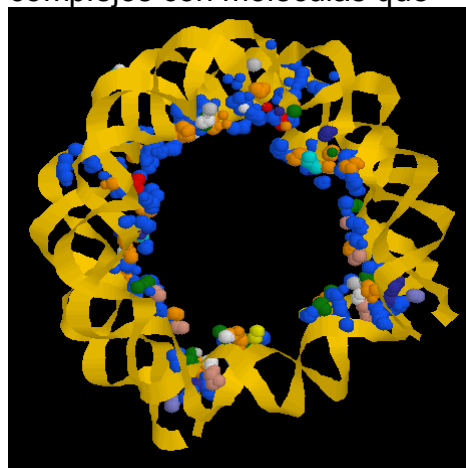
La estructura terciaria del DNA, implica la formación de complejos con moléculas que no son ácidos nucleicos, normalmente proteínas.

Abre el archivo **1AOI.pdb** que contiene la estructura de cristal de un nucleosoma. Selecciona las histonas, coloréalas como **Chain** y cambia la visualización a **Spacefill**. Ahora selecciona el DNA (**select nucleic**) visualízalo en modo **Cartoons**, con color **Chain**. Son claramente visibles las dos vueltas de DNA alrededor del núcleo de histonas. Escribe en la línea de comandos:

restrict within (4.0,nucleic)

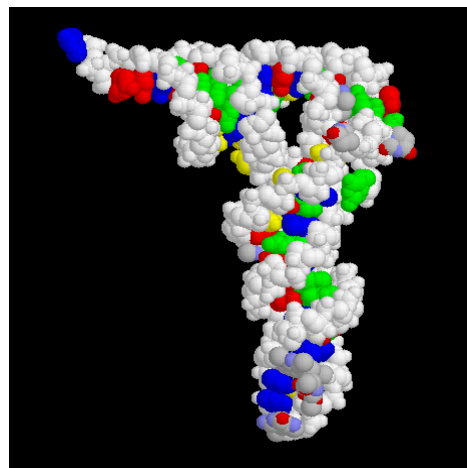
select protein

color amino



Debes obtener una figura semejante a la de la página anterior. ¿Según el esquema de coloración empleado, qué tipo de aminoácidos están en contacto con el DNA? Escribe un script que te permita reproducir esta vista del nucleosoma y cierra el archivo.

Frente al nucleosoma, la estructura terciaria del RNA de transferencia es muy simple. Abre nuevamente el archivo **RNAT.pdb** y visualízalo en formato **Spacefill**. Selecciona los nucleótidos de Adenina (**A**) y coloréalos de azul, el uracilo (**U**) coloréalo de rojo, los de Guanina (**G**) verdes y los de Citosina (**C**) amarillos. Selecciona el esqueleto y coloréalo de blanco. El resultado debe ser semejante a la figura de la derecha.



Como puedes ver, las bases transformadas, que siguen teniendo color **CPK**, en su mayoría no se aparean y se concentran principalmente en el brazo del anticodón, desde la bisagra. También casi en toda la molécula, las bases quedan hacia el interior de la doble hélice, lejos del agua, no así en el asa del anticodón, ahí están expuestas, como debe ser para poder interactuar con el RNA mensajero.

Ejecuta el script de rotación con el RNA, para probar que realmente funciona con cualquier molécula.

Ahora abre el archivo **Nucleicos.doc** que está en la carpeta **Moléculas06** y resuélvelo; al terminar guárdalo en la carpeta de trabajo con tus imágenes y comprime la carpeta. Envía el archivo comprimido, adjunto a un correo electrónico dirigido a:

bioquimica_esm@yahoo.com.mx

El mensaje debe tener como asunto **Ácidos Nucleicos**, e incluir el **nombre y grupo** de quien lo envía, y el nombre y contenido del archivo adjunto.

Existen muchas cosas más que puedes aprender mediante la visualización molecular, pero el tiempo y los recursos disponibles, no son suficientes para estudiar todo en este taller, te aconsejamos que trates de avanzar por tu cuenta, nosotros siempre estaremos en la mejor disposición de apoyarte.

!Adelante y Mucha Suerte!