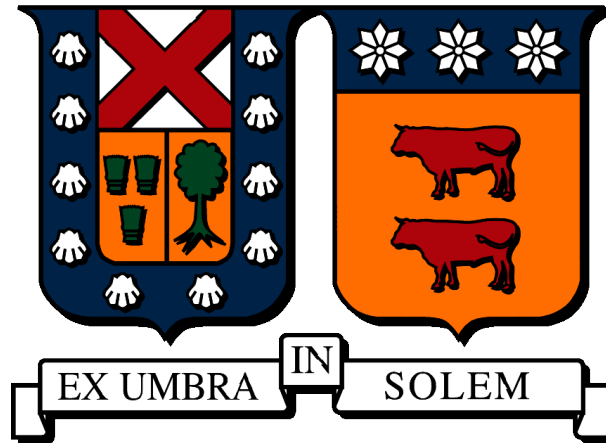


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA MECÁNICA

VALPARAÍSO-CHILE



“ELECTROSTÁTICA DE VIRUSES ICOSAÉDRICOS”

WILLY WILLCOV KEVIN MENACHO NACHO

TESIS DE GRADO PARA OPTAR AL GRADO DE:
MAGISTER EN CIENCIAS DE INGENIERÍA MECÁNICA
Y AL TÍTULO DE:
INGENIERO CIVIL MECÁNICO

PROFESOR GUÍA: PH.D. CHRISTOPHER COOPER V.

PROFESOR GUÍA: PH.D. HORACIO V. GUZMAN

PROFESOR CO-REFERENTE: PH.D. SERGIO PANTANO

PROFESOR CO-REFERENTE: PH.D. ALEJANDRO PACHECO

ENERO, 2025



UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

TITULO DE LA TESIS:

“ELECTROSTÁTICA DE VIRUSES ICOSAÉDRICOS”

AUTOR:

WILLY WILLCOV KEVIN MENACHO NACHO

TRABAJO DE TESIS, presentado en cumplimiento parcial de los requisitos para el Grado de Magíster en Ciencias de Ingeniería Mecánica de la Universidad Técnica Federico Santa María.

Dr. Christopher Cooper V.

Dr. Horacio V. Guzman

Dr. Sergio Pantano

Dr. Alejandro Pacheco

Valparaíso, Chile. Enero de 2025

Agradecimientos

A mi familia, que ha sido mi pilar fundamental en todo este camino. A mis padres, por su amor incondicional, su constante apoyo y por enseñarme, desde temprana edad, el valor del esfuerzo, la dedicación y la educación. Gracias por siempre creer en mí y brindarme la fortaleza necesaria para seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles.

A mis hermanas, por ser mis compañeras y amigas, por compartir mis alegrías y preocupaciones, por su apoyo constante y por estar siempre ahí, con su cariño y consejos. A mi sobrina, por su risa y su energía, que me recuerdan la importancia de mantener la alegría y la esperanza en todo momento.

A esa persona especial, cuyo apoyo, paciencia y comprensión fueron esenciales durante todo este proceso. Su motivación constante y su capacidad de estar a mi lado en los momentos más exigentes han sido una fuente inagotable de inspiración. Este logro también es suyo.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis profesores guía, Dr. Christopher Cooper Villagrán y Dr. Horacio V. Guzmán, por su invaluable orientación, dedicación y confianza. Su experiencia y consejos no solo me ayudaron a superar los retos de este trabajo, sino también a crecer profesional y personalmente. Agradezco el espacio que me brindaron para desarrollar mis ideas y el respaldo constante en cada etapa del proyecto.

Asimismo, mi más sincero reconocimiento aL Dr. Sergio Pantano y Dr. Alejandro Pacheco, co-referentes de esta tesis, por su tiempo, análisis crítico y valiosa retroalimentación. Sus observaciones y sugerencias fortalecieron significativamente la calidad de este trabajo, contribuyendo de manera importante a mi formación académica.

A todos ustedes, mi más profundo agradecimiento por ser parte fundamental en la culminación de este logro

Resumen

La interacción entre el ARN y las proteínas es fundamental en numerosos procesos biológicos, como la regulación de la expresión génica, el ensamblaje y desensamblaje de nucleocápsides virales. Desarrollar modelos precisos para estudiar estas interacciones resulta esencial para comprender la física subyacente y explotar su potencial en aplicaciones biotecnológicas. En este estudio, nos enfocamos en el componente electrostático de estas interacciones mediante la ecuación no lineal de Poisson-Boltzmann, un modelo continuo que, aunque no captura detalles atómicos, permite calcular potenciales de campo medio y energías libres con alta precisión utilizando recursos computacionales modestos.

Presentamos un análisis termodinámico en el que determinamos la orientación más probable de una cadena de ARN al interactuar con superficies proteicas con geometría icosaédrica, plana y esférica, basadas en el virus del mosaico del tabaco (STMV, por sus siglas en inglés). Este enfoque se centra en cómo las propiedades geométricas y la densidad de carga influyen en la afinidad de unión y las configuraciones espaciales óptimas del ARN en confinamiento. Nuestro principal caso de estudio es la nucleocápside viral, donde la estructura interna del ARN sigue siendo un tema de debate. Los resultados ofrecen una representación más realista basada en propiedades físicas, integrándose con modelos estructurales previos basados únicamente en información de pares de bases.

Exploramos dos escenarios: uno con áreas constantes y densidades de carga homogéneas, y otro con áreas variables y densidades de carga no homogéneas. En el primer escenario, la energía de unión atractiva mostró una relación lineal con el grosor del cápside, siendo la simetría 3 la que presentó interacciones más intensas, seguida por las simetrías 2 y 5, mientras que las geometrías esférica y plana resultaron menos atractivas. En el segundo escenario, las energías de unión fueron mayores, y la simetría 5 lideró las interacciones más intensas, seguida por las simetrías 3 y 2, evidenciando cómo las variaciones geométricas y de carga afectan las configuraciones óptimas del ARN.

Este estudio destaca la importancia del balance entre geometría, densidad de carga y confinamiento en las interacciones ARN-proteína. Además de aportar conocimiento fundamental sobre estas interacciones que gobiernan estos complejos biológicos, los hallazgos abren nuevas oportunidades en nanobiotecnología, diseño de cápsides virales artificiales e ingeniería molecular. Estos resultados sientan las bases para futuros desarrollos en aplicaciones biotecnológicas y biología sintética.

Palabras clave – Poisson-Boltzmann, Viruses icosaedricos, Fuerzas electrostáticas, interacción

ARN-proteína

Abstract

The interaction between RNA and proteins is fundamental to numerous biological processes, such as gene expression regulation, the assembly, and disassembly of viral nucleocapsids. Developing accurate models to study these interactions is essential for understanding the underlying physics and leveraging their potential in biotechnological applications. In this study, we focus on the electrostatic component of these interactions using the nonlinear Poisson-Boltzmann equation, a continuous model that, while not capturing atomic details, enables the calculation of mean-field potentials and free energies with high accuracy using modest computational resources.

We present a thermodynamic analysis to determine the most probable orientation of an RNA strand interacting with protein surfaces with icosahedral, planar, and spherical geometries, based on the satellite tobacco mosaic virus (STMV). This approach examines how geometric properties and charge density influence binding affinity and the optimal spatial configurations of RNA under confinement. Our primary case study is the viral nucleocapsid, where the internal structure of RNA remains a topic of debate. The results provide a more realistic representation based on physical properties, integrating with previous structural models based solely on base pair information.

We explored two scenarios: one with constant areas and homogeneous charge densities, and another with variable areas and non-homogeneous charge densities. In the first scenario, attractive binding energy showed a linear relationship with capsid thickness, with symmetry 3 presenting the most intense interactions, followed by symmetries 2 and 5, while spherical and planar geometries were less attractive. In the second scenario, binding energies were higher, with symmetry 5 leading the most intense interactions, followed by symmetries 3 and 2. This highlighted how geometric and charge variations influence RNA's optimal configurations.

This study emphasizes the importance of balancing geometry, charge density, and confinement in RNA-protein interactions. In addition to enriching fundamental knowledge about these interactions governing biological complexes, the findings open new opportunities in nanobiotechnology, the design of artificial viral capsids, and molecular engineering. These results lay the groundwork for future developments in biotechnological applications and synthetic biology.

Keywords – Poisson-Boltzmann, Icosahedral viruses, Electrostatic forces, RNA-protein interaction, RNA-protein interactions

Índice

1. Introducción	1
2. Objetivos	2
2.1. Objetivo General	2
2.2. Objetivos Específicos	2
3. Marco Teórico	3
3.1. ARN: estructura y función	3
3.2. Proteínas: Estructura y función	4
3.3. Interacciones RNA-Proteínas	5
3.4. Electroestática en un medio dieléctrico	7
3.5. Ecuación de Poisson-Boltzmann	8
3.5.1. Uso de la Ecuación de Poisson-Boltzmann en Simulaciones Moleculares	9
3.5.2. Solución Numérica de la Ecuación de Poisson-Boltzmann	10
3.6. Energías y Ciclos Termodinámicos de un sistema	12
3.6.1. Energía de Coulomb	12
3.6.2. Energía de Solvatación	13
3.6.3. Energía Libre de Unión E_b	15
4. Metodología	16
4.1. Software de calculo computacional APBS	16
4.1.1. Introducción al Método de Solución de APBS	17
4.1.2. Discretización y Diferencias Centradas	18
4.2. Tipos de Condiciones de Frontera en APBS	18
4.2.1. Interfaces y Transiciones Dieléctricas	19
4.2.2. Métodos Iterativos para la Resolución de Ecuaciones	19
4.3. Geometría y Orientación del Sistema ARN- Superficie	20
4.3.1. Orientación del ARN	22
4.3.2. Generación de Superficies	23
4.3.2.1 Simetría Plana	24
4.3.2.2 Simetría Esférica	26
4.3.2.3 Simetrías Icosaédricas	28
4.3.3. Consideraciones respecto al grosor del cápside viral	31
4.4. Escenarios a considerar	33
5. Resultados y Discusión	35
5.1. Escenario 1: Área constante	35
5.1.1. Modelado del sistema RNA-cápside	35
5.1.2. Exploración del Comportamiento RNA-Cápside	37
5.2. Escenario 2: Área variable	58
5.2.1. Modelado del sistema RNA-cápside	58
5.2.2. Exploración del Comportamiento RNA-Cápside	60
6. Conclusiones	81

A. Apéndice	88
A.1. Tablas de los casos analizados	88
A.2. Parámetros de ejecución de APBS	94

Índice de tablas

1.	Tabla de los valores de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas constantes, para cada segmento en las diferentes simetrías, representados en la barra de color de la figura 17. Los valores están expresados en [KJ/mol] y permiten visualizar cómo la geometría influye en las zonas atractivas y cómo estas varían según la simetría. La distribución de las energías refleja las diferencias en los patrones de interacción atractiva a través de las diversas configuraciones geométricas.	40
2.	Tabla de distribución de las posiciones dentro de cada segmento de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas constantes, para las distintas simetrías. En esta tabla se muestra el número de posiciones con energía de unión negativa dentro de cada intervalo de energía, junto con el porcentaje calculado a partir del total de posiciones (2701), lo cual permite normalizar los datos y facilitar su comparación entre los diferentes simetrías o escenarios.	40
3.	Tabla que muestra la suma total de las energías de unión atractiva por segmento y por simetría de cada posición del escenario de áreas constantes. En esta tabla se muestra la energía total de unión por segmento para cada simetría, facilitando la observación de cómo la energía total varía entre los segmentos de cada simetría, especialmente a medida que la energía de unión atractiva aumenta, datos expresados en [KJ/mol].	41
4.	Número de posiciones compartidas entre pares de simetrías, donde ambas presentan energías de unión atractivas, para el escenario de áreas constantes. Los valores diagonales representan el total de posiciones atractivas para cada simetría, mientras que los valores fuera de la diagonal corresponden a las coincidencias entre pares de simetrías.	45
5.	Porcentaje de posiciones compartidas entre pares de simetrías, del escenario áreas constantes, calculado con base en el número total de posiciones posibles (2701). Estos valores permiten comparar la similitud relativa entre las distintas simetrías en términos de energías de unión atractivas.	45
6.	Número de posiciones (#) identificadas en las simulaciones para las distintas simetrías, del escenario áreas constantes. Las columnas muestran las posiciones con energía de unión atractiva mínima ($E_{b_{neg}}$), las que superan el 50% del rango de nucleótidos que interactúan (# Nts), las que se encuentran por debajo del 50% del rango de las distancias mínimas promedio (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio que interactúan. Además, se incluyen las posiciones de solapamiento entre energías y nucleótidos (# $E_b Nts$), energías y distancias mínimas (# $E_b dmin$), energías y beads (# $E_b Beads$), y aquellas que cumplen simultáneamente las cuatro condiciones (# All).	51

7.	Porcentaje de posiciones (%) respecto al total de 2701 casos simulados, normalizado a partir de los valores de la tabla 6, del escenario áreas constantes. Se muestran los porcentajes para las posiciones con energía de unión atractiva mínima ($E_{b_{neg}}$), las que superan el 50% del rango de nucleótidos (# Nts), las que están por debajo del 50% del rango de distancias mínimas (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio. También se indican los porcentajes de las posiciones que solapan energías con nucleótidos (# Eb Nts), energías con distancias mínimas (# Eb dmin), energías con beads (# Eb Beads), y aquellas que cumplen las cuatro condiciones simultáneamente (# All).	52
8.	Tabla de los valores de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas variables, para cada segmento en las diferentes simetrías, representados en la barra de color de la figura 32. Los valores están expresados en [KJ/mol] y permiten visualizar cómo la geometría influye en las zonas atractivas y cómo estas varían según la simetría. La distribución de las energías refleja las diferencias en los patrones de interacción atractiva a través de las diversas configuraciones geométricas.	63
9.	Tabla de distribución de las posiciones dentro de cada segmento de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas variables, para las distintas simetrías. En esta tabla se muestra el número de posiciones con energía de unión negativa dentro de cada intervalo de energía, junto con el porcentaje calculado a partir del total de posiciones (2701), lo cual permite normalizar los datos y facilitar su comparación entre los diferentes simetrías o escenarios.	63
10.	Tabla que muestra la suma total de las energías de unión atractiva por segmento y por simetría de cada posición del escenario de áreas variables. En esta tabla se muestra la energía total de unión por segmento para cada simetría, facilitando la observación de cómo la energía total varía entre los segmentos de cada simetría, especialmente a medida que la energía de unión atractiva aumenta, datos expresados en [KJ/mol].	64
11.	Número de posiciones compartidas entre pares de simetrías, donde ambas presentan energías de unión atractivas, para el escenario de áreas variables. Los valores diagonales representan el total de posiciones atractivas para cada simetría, mientras que los valores fuera de la diagonal corresponden a las coincidencias entre pares de simetrías.	68
12.	Porcentaje de posiciones compartidas entre pares de simetrías, del escenario áreas variables, calculado con base en el número total de posiciones posibles (2701). Estos valores permiten comparar la similitud relativa entre las distintas simetrías en términos de energías de unión atractivas.	69
13.	Número de posiciones (#) identificadas en las simulaciones para las distintas simetrías, del escenario áreas variables. Las columnas muestran las posiciones con energía de unión atractiva mínima ($E_{b_{neg}}$), las que superan el 50% del rango de nucleótidos que interactúan (# Nts), las que se encuentran por debajo del 50% del rango de las distancias mínimas promedio (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio que interactúan. Además, se incluyen las posiciones de solapamiento entre energías y nucleótidos (# Eb Nts), energías y distancias mínimas (# Eb dmin), energías y beads (# Eb Beads), y aquellas que cumplen simultáneamente las cuatro condiciones (# All).	74

14.	Porcentaje de posiciones (%) respecto al total de 2701 casos simulados, normalizado a partir de los valores de la tabla 13, del escenario áreas variables. Se muestran los porcentajes para las posiciones con energía de unión atractiva mínima ($E_{b_{neg}}$), las que superan el 50% del rango de nucleótidos (# Nts), las que están por debajo del 50% del rango de distancias mínimas (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio. También se indican los porcentajes de las posiciones que solapan energías con nucleótidos (# Eb Nts), energías con distancias mínimas (# Eb dmin), energías con beads (# Eb Beads), y aquellas que cumplen las cuatro condiciones simultáneamente (# All).	75
15.	Distancia de corte del icosaedro y esfera para cada caso, (*) este escenario tiene consideraciones extras para aproximar mejor a un área constante	88
16.	Cantidad de beads para cada caso	89
17.	Carga por bead para cada caso	90
18.	Carga superficial σ para cada caso	91
19.	Posición del ARN en la que es más probable que se encuentre, del escenario de Área Constante	92
20.	Posición del ARN en la que es más probable que se encuentre, del escenario de Área Variable	92
21.	Resumen de parámetros calculados para el segmentos mínimo y el promedio respecto a todas las posiciones con energía de unión atractiva para el escenario 1.	93
22.	Resumen de parámetros calculados para el segmento mínimo y el promedio respecto a todas las posiciones con energía de unión atractiva para el escenario 2.	93

Índice de figuras

1.	Estructura del ADN y ARN	3
2.	Esquemas de modelo solvente explícito e implícito.	6
3.	Tipos de superficies entre soluto y solvente [1]	7
4.	Ejemplificación del método de diferencias finitas con un esquema de las condiciones de frontera entre el soluto y el solvente., mostrando el mallado que se realiza en este método.	11
5.	(a) Ciclo de Solvatación, representa el proceso de incorporación de una molécula o ion en un solvente, con énfasis en las interacciones entre el soluto y las moléculas de solvente circundante. Este ciclo captura tanto la solvatación polar como la no polar. (b) Ciclo de Energía de Unión, Muestra cómo las interacciones electrostáticas afectan la energía libre de unión en un sistema molecular. Este ciclo es esencial para entender las energías de unión entre biomoléculas y sus entornos.	13
6.	Flujo de trabajo para cálculos electrostáticos biomoleculares utilizando el software APBS-PDB2PQR [2, 3]	17
7.	Esquema de las orientaciones del ARN sobre una superficie plana mostrando el eje en la que se encuentra el momento dipolar μ , con los ángulos de rotación α_{rot} que va de 0° a 360° e inclinación α_{tilt} que va de 0° a 180°	23
8.	Representación de la simplificación que se realiza para la generación de las superficies. (a) Forma biológica de la cápside viral del STMV ,(b) Forma simplificada de la cápside viral del STMV, (c) Definición de la distancia de corte (dcor)	24
9.	Esquema básico para la generación de superficies planas. (a) Determinación de la distancia máxima entre dos átomos del ARN_g . (b) Superficie plana rectangular generada a partir de la distancia máxima amplificada.	25
10.	Superficie esférica generada a partir del radio interno del STMV, del lado izquierdo se aprecia el cápside visualizado de manera ilustrativa y del lado derecho la simplificación lograda con beads.	27
11.	Esquema los tres ejes de simetría específicos. (a) Simetría 2: Representa los puntos donde dos planos de simetría se cruzan, formando un eje de simetría doble ,(b) Simetría 3: Corresponde a los puntos de intersección de tres planos de simetría, formando un eje triple ,(c) Simetría 5: Corresponde a los puntos de cinco planos que se intersectan en un eje quíntuple.	29
12.	(a) Representación ilustrativa del los aminoácidos aislados para una sola cara del icosaedro,(b) Visualización del proceso de sumatoria de cargas respecto al grosor del cápside,(c) Resultados obtenidos a partir del análisis del grosor del cápside viral.	33
13.	Esquema que muestra la relación entre la cantidad de beads respecto a la distancia de corte (dcor) del cápside viral, para las simetrías icosaédricas y esférica.	35
14.	Esquema que muestra el área a considerar de cada simetría y su relación con la cantidad de beads, para el escenario área constante considerando el ARN_g amplificado, a un grosor del cápside de 20 \AA	36

15. Esquemas representando las distintas simetrías para el escenario de áreas constantes, tomadas de referencias el ARN_g base, para un grosor del cápside de $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana base ,(b) Simetría esférica (Sim0), $dcor = 17 [\text{Å}]$,(c) Simetría 2 , $dcor = 20 [\text{Å}]$,(d) Simetría 3, $dcor = 16 [\text{Å}]$,(e) Simetría 5, $dcor = 28 [\text{Å}]$ 37
16. Mapeados de energía de unión, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas constantes, manteniendo la carga total en un valor de $76.22[e^-]$, usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g , el círculo rojo indica la posición con la energía mínima de unión. (a) Simetría plana, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$,(b) Simetría esférica (Sim0), $dcor = 39 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0635[e^-]$,(c) Simetría 2, $dcor = 44 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$,(d) Simetría 3, $dcor = 41 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$,(e) Simetría 5, $dcor = 52 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$ 38
17. Mapeados de energía de unión atractiva, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas constantes, manteniendo la carga total en un valor de $76.22[e^-]$, usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g amplificado, considerando un grosor del cápside de $20[\text{Å}]$, quitando la parte repulsiva de la figura 16, el círculo rojo la posición con la mínima energía de unión. (a) Simetría plana, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$,(b) Simetría esférica (Sim0), $dcor = 39 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0635[e^-]$, (c) Simetría 2, $dcor = 44 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$,(d) Simetría 3, $dcor = 41 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$,(e) Simetría 5, $dcor = 52 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$ 39
18. Distribución del número de posiciones en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas constantes, según lo mostrado en la figura 17 y resumido en la tabla 2. Cada gráfico presenta la cantidad de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g amplificado, considerando el grosor del cápside a $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana amplificada, (b) Simetría esférica, $dcor = 39 [\text{Å}]$, (c) Simetría 2, $dcor = 44 [\text{Å}]$, (d) Simetría 3, $dcor = 41 [\text{Å}]$, (e) Simetría 5, $dcor = 49 [\text{Å}]$ 42
19. Distribución del porcentaje de posiciones con respecto al total de 2701 casos, en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas constantes, según lo mostrado en la figura 17 y resumido en las tablas 1 y 2. Cada gráfico muestra el porcentaje de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g considerando el grosor del cápside a $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana amplificada, (b) Simetría esférica, $dcor = 39 [\text{Å}]$, (c) Simetría 2, $dcor = 44 [\text{Å}]$, (d) Simetría 3, $dcor = 41 [\text{Å}]$, (e) Simetría 5, $dcor = 49 [\text{Å}]$ 43
20. Esquemas que representan las energías atractivas mínimas en función de los ángulos de rotación (parte superior) e inclinación (parte inferior) para las cinco simetrías estudiadas en el escenario 1 (áreas constantes). Los ángulos de rotación varían de 0° a 360° y los de inclinación de 0° a 180° , tomando como referencia el RNA_g amplificado, considerando $20[\text{Å}]$ como grosor del cápside. En cada gráfica, la posición de mínima energía de unión está indicada con una línea segmentada verde. Las posiciones más probables para cada simetría son: (a) Simetría plana: $\alpha_{rot} = 225^\circ$, $\alpha_{ilt} = 70^\circ$; (b) Simetría esférica (sym 0): $\alpha_{rot} = 5^\circ$, $\alpha_{ilt} = 135^\circ$; (c) Simetría 2: $\alpha_{rot} = 195^\circ$, $\alpha_{ilt} = 60^\circ$; (d) Simetría 3: $\alpha_{rot} = 5^\circ$, $\alpha_{ilt} = 120^\circ$; (e) Simetría 5: $\alpha_{rot} = 275^\circ$, $\alpha_{ilt} = 115^\circ$ 44

21.	Esquemas que muestran las distancias mínimas promedio ($d_{Fosfato_{prom}}$) de los fosfatos del ARN al cápside para cada simetría evaluada, para el escenario de áreas constantes. Donde el círculo rojo resalta la posición con la energía mínima de unión atractiva, y el círculo lila señala el punto con la menor distancia promedio al ARN. Estos resultados reflejan la influencia de la cercanía en la intensidad de las interacciones, destacando la relación entre la geometría de la cápside y el posicionamiento del ARN.	47
22.	Esquemas que ilustran la cantidad de nucleótidos que se encuentran a una distancia de 25 [Å] desde los fosfatos del ARN para cada simetría analizada, del escenario áreas constantes. Donde el círculo rojo marca la posición de energía mínima y el círculo naranja identifica la región con el mayor número de nucleótidos considerando el radio de 25[Å]. Este análisis permite visualizar las regiones de mayor afinidad entre el ARN y la cápside, destacando la influencia de las geometrías en el ensamblaje.	48
23.	Esquemas que representan la cantidad promedio de beads de la cápside que interactúan con el ARN dentro de un radio de 25 [Å] desde cada fosfato, evaluados para cada simetría, del escenario áreas constantes. Donde el círculo rojo señala la posición de energía mínima, mientras que el círculo verde identifica el punto con el máximo número de beads considerando el radio de 25[Å]. Este análisis resalta cómo la proximidad y densidad de beads influyen en las interacciones locales y en la afinidad global del sistema ARN-cápside.	49
24.	Superposición de las áreas de interés, del escenario áreas constantes, derivadas de las figuras 17, 21, 22 y 23, considerando un margen del 50% para determinar las zonas con mayor probabilidad de configuraciones energéticamente favorables en el sistema ARN-cápside. Estas visualizaciones destacan las regiones prioritarias que optimizan los tiempos de simulación al enfocar el análisis en las zonas más prometedoras.	50
25.	Esquemas que muestran las posiciones más probables de los 10 nucleótidos más cercanos al cápside viral para cada simetría, para el escenario áreas constante, con la ubicación mas probable del ARN para cada simetría indicada en la esquina superior derecha. Estas representaciones permiten visualizar las áreas donde los nucleótidos interactúan más fuertemente con el cápside viral, en función de la mínima distancia promedio.	53
26.	Esquemas que ilustran las posiciones más probables, destacando los 10 nucleótidos que interactúan con la mayor cantidad de beads del cápside viral, para el escenario áreas constante, considerando un radio de 25 [Å] desde cada fosfato, con la ubicación mas probable del ARN para cada simetría indicada en la esquina superior derecha, permitiendo estudiar cómo la geometría de cada simetría afecta la interacción entre nucleótidos y beads en el sistema.	55
27.	Esquemas que muestran la variación de la energía mínima de unión al incrementar el grosor del cápside en (a) 5 [Å], (b) 10 [Å], (c) 15 [Å], y (d) 20 [Å], para el escenario de áreas variables. Para cada valor de grosor, se incluyen: (1) Mapeo de la energía de unión atractiva, (2) Gráfico polar de la energía mínima de unión en función de la rotación, (3) Gráfico polar de la energía mínima en función de la inclinación, (4) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la rotación, y (5) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la inclinación.	56

28. Gráficas correspondientes al escenario de áreas constantes, basadas en el RNA_g amplificado, que utiliza áreas constantes para cada grosor y simetría, basadas en la simetría plana maximizada y el ARN de mayor tamaño (ARN_g). (a) Energía mínima de unión y porcentaje de posiciones con interacción atractiva en función del grosor del cápside. (b) Energía mínima de unión junto con el valor esperado ponderado de la energía de unión, calculado mediante la ecuación 24, considerando la probabilidad de cada posición analizada. 57
29. Esquemas representando las distintas simetrías para el escenario de áreas variables, tomadas de referencias el ARN_g base, para un grosor del cápside de 20[Å]. (a) Simetría plana base ,(b) Simetría 2, dcor = 34 [Å] ,(c) Simetría 3, dcor = 34 [Å] ,(d) Simetría 5, dcor = 34 [Å] ,(e) Simetría 0, esférica, dcor = 34 [Å]. 59
30. Esquema que muestra el área a considerar de cada simetría y su relación con la cantidad de beads, para el escenario área variables considerando el ARN_g amplificado, a un grosor del cápside de 20 [Å]. 60
31. Mapeados de energía de unión, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas variables, manteniendo la carga total en un valor de 76.22[e⁻], usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g, el círculo rojo indica la posición con la energía mínima de unión. (a) Simetría plana, $q_{bead} = 0,0847[e^-]$; (b) Simetría esférica (sym 0), dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,0730[e^-]$; (c) Simetría 2, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,0938[e^-]$; (d) Simetría 3, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,1004[e^-]$; (e) Simetría 5, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,1449[e^-]$ 61
32. Mapeados de energía de unión atractiva, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas constantes, manteniendo la carga total en un valor de 76.22[e⁻], usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g amplificado, considerando un grosor del cápside de 20[Å], quitando la parte repulsiva de la figura 16, el círculo rojo la posición con la mínima energía de unión. (a) Simetría plana, $q_{bead} = 0,0847[e^-]$; (b) Simetría esférica, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,0730[e^-]$; (c) Simetría 2, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,0938[e^-]$; (d) Simetría 3, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,1004[e^-]$; (e) Simetría 5, dcor = 34 [Å], $q_{bead} = 0,1449[e^-]$ 62
33. Distribución del número de posiciones en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas variables, según lo mostrado en la figura 32 y resumido en la tabla 9. Cada gráfico presenta la cantidad de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g amplificado, considerando el grosor del cápside a 20[Å]. (a) Simetría plana amplificada ,(b) Simetría esférica, dcor = 34 [Å] ,(c) Simetría 2, dcor = 34 [Å] ,(d) Simetría 3, dcor = 34 [Å] ,(e) Simetría 5, dcor = 34 [Å]. 65
34. Distribución del porcentaje de posiciones con respecto al total de 2701 casos, en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas variables, según lo mostrado en la figura 32 y resumido en las tablas 8 y 9. Cada gráfico muestra el porcentaje de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g considerando el grosor del cápside a 20[Å]. (a) Simetría plana amplificada ,(b) Simetría esférica, dcor = 34 [Å] ,(c) Simetría 2, dcor = 34 [Å] ,(d) Simetría 3, dcor = 34 [Å] ,(e) Simetría 5, dcor = 34 [Å]. 66

35. Esquemas que representan las energías atractivas mínimas en función de los ángulos de rotación (parte superior) e inclinación (parte inferior) para las cinco simetrías estudiadas en el escenario de áreas constantes (color azul pastel) y en el escenario de áreas variables (color rosa pastel). Los ángulos de rotación varían de 0° a 360° y los de inclinación de 0° a 180° , tomando como referencia el RNA_g amplificado, considerando $20[\text{Å}]$ como grosor del cápside. Las posiciones más probables para cada simetría del escenario de áreas variables son: (a) Simetría plana, posición más probable: $\alpha_{rot} = 225^\circ$ y $\alpha_{tilt} = 70^\circ$; (b) Simetría esférica (sym 0), posición más probable: $\alpha_{rot} = 5^\circ$ y $\alpha_{tilt} = 135^\circ$; (c) Simetría 2, posición más probable: $\alpha_{rot} = 195^\circ$ y $\alpha_{tilt} = 60^\circ$; (d) Simetría 3, posición más probable: $\alpha_{rot} = 5^\circ$ y $\alpha_{tilt} = 120^\circ$; (e) Simetría 5, posición más probable: $\alpha_{rot} = 215^\circ$ y $\alpha_{tilt} = 90^\circ$ 67
36. Esquemas que muestran las distancias mínimo promedio ($d_{Fosfato_{prom}}$) de los fosfatos del ARN al cápside para cada simetría evaluada, para el escenario áreas variables. Donde el círculo rojo resalta la posición con la energía mínima de unión atractiva, y el círculo lila señala el punto con la menor distancia promedio al ARN. Estos resultados reflejan la influencia de la cercanía en la intensidad de las interacciones, destacando la relación entre la geometría de la cápside y el posicionamiento del ARN. 70
37. Esquemas que ilustran la cantidad de nucleótidos que se encuentran a una distancia de $25 [\text{Å}]$ desde los fosfatos del ARN para cada simetría analizada, del escenario áreas variables. Donde el círculo rojo marca la posición de energía mínima y el círculo naranja identifica la región con el mayor número de nucleótidos considerando el radio de $25[\text{Å}]$. Este análisis permite visualizar las regiones de mayor afinidad entre el ARN y la cápside, destacando la influencia de las geometrías en el ensamblaje. 71
38. Esquemas que representan la cantidad promedio de beads de la cápside que interactúan con el ARN dentro de un radio de $25 [\text{Å}]$ desde cada fosfato, evaluados para cada simetría, del escenario áreas variables. Donde el círculo rojo señala la posición de energía mínima, mientras que el círculo verde identifica el punto con el máximo número de beads considerando el radio de $25[\text{Å}]$. Este análisis resalta cómo la proximidad y densidad de beads influyen en las interacciones locales y en la afinidad global del sistema ARN-cápside. 72
39. Superposición de las áreas de interés, del escenario áreas variables, derivadas de las figuras 32, 36, 37 y 38, considerando un margen del 50% para determinar las zonas con mayor probabilidad de configuraciones energéticamente favorables en el sistema ARN-cápside. Estas visualizaciones destacan las regiones prioritarias que optimizan los tiempos de simulación al enfocar el análisis en las zonas más prometedoras. 73
40. Esquemas que muestran las posiciones más probables de los 10 nucleótidos más cercanos al cápside viral para cada simetría, para el escenario áreas variable, con la ubicación de cada simetría indicada en la esquina superior derecha. Estas representaciones permiten visualizar las áreas donde los nucleótidos interactúan más fuertemente con el cápside viral, en función de la mínima distancia promedio. 76

41.	Esquemas que ilustran las posiciones más probables, destacando los 10 nucleótidos que interactúan con la mayor cantidad de beads del cápside viral, para el escenario áreas variables, considerando un radio de 25 [Å] desde cada fosfato. La ubicación de cada simetría está indicada en la esquina superior derecha, permitiendo estudiar cómo la geometría de cada simetría afecta la interacción entre nucleótidos y beads en el sistema.	77
42.	Esquemas que muestran la variación de la energía mínima de unión al incrementar el grosor del cápside en (a) 5 [Å], (b) 10 [Å], (c) 15 [Å], y (d) 20 [Å], para el escenario de áreas variables. Para cada valor de grosor, se incluyen: (1) Mapeo de la energía de unión atractiva, (2) Gráfico polar de la energía mínima de unión en función de la rotación, (3) Gráfico polar de la energía mínima en función de la inclinación, (4) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la rotación, y (5) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la inclinación.	78
43.	Gráficas correspondientes al escenario de áreas variables, basadas en el RNA _g amplificado, que utiliza áreas constantes para cada grosor y simetría, basadas en la simetría plana maximizada y el ARN de mayor tamaño (ARN _g). (a) Energía mínima de unión y porcentaje de posiciones con interacción atractiva en función del grosor del cápside. (b) Energía mínima de unión junto con el valor esperado ponderado de la energía de unión considerando la probabilidad de cada posición analizada.	79
44.	Ejemplo de archivo de entrada para apbs, calculando la Energía de Solvatación para un fragmento de archivo pqr. (a) Cálculo de la energía electrostática para la molécula de ARN en un entorno de disolvente. (b) Cálculo de la energía electrostática para el ARN en el vacío y cálculo de la Energía de Solvatación para el sistema.	94

1. Introducción

La interacción entre los ácidos ribonucleicos (ARN) y las proteínas desempeña un papel fundamental en una amplia gama de procesos biológicos, como la regulación de la expresión génica, el ensamblaje de complejos ARN-proteína y la formación de cápsides virales. Estas interacciones, determinadas en gran medida por fuerzas electrostáticas, son esenciales para la estabilidad estructural y la funcionalidad de numerosos complejos biológicos. Sin embargo, su modelado y predicción a nivel molecular representan un desafío significativo debido a la complejidad intrínseca de estos sistemas.

Entre las herramientas más efectivas para estudiar las interacciones electrostáticas en sistemas biológicos se encuentra la ecuación no lineal de Poisson-Boltzmann (NLPB). Este enfoque permite calcular los potenciales electrostáticos y las energías libres de interacción en sistemas complejos, utilizando una descripción continua del medio solvente. Aunque no alcanza una resolución atómica del entorno, la NLPB ofrece una representación precisa de las interacciones electrostáticas con un costo computacional reducido, lo que la convierte en una herramienta ideal para el estudio de sistemas de alta complejidad, como las nucleocápsides virales.

El presente estudio aplica la ecuación NLPB para modelar la interacción entre el ARN y superficies de geometría icosaédrica, plana y esférica, similares a las de cápsides virales. En particular, el análisis se centra en la componente polar de la energía libre de interacción entre el ARN y la superficie proteica, evaluando cómo las características geométricas y la orientación del ARN afectan la afinidad de unión. Este enfoque estático permite examinar de manera sistemática cómo la simetría influye en la posición y conformación óptima del ARN dentro del complejo ARN-proteína.

Para ello, se lleva a cabo un mapeo exhaustivo de configuraciones posibles, explorando variaciones en la rotación, inclinación y posición del ARN con respecto a la superficie proteica. Este trabajo no solo busca identificar la configuración más estable electrostáticamente, sino también integrar esta metodología con modelos estructurales basados en la secuencia y los pares de bases del ARN, con el objetivo de generar predicciones más realistas sobre su organización espacial en las nucleocápsides.

En última instancia, los resultados de este estudio contribuirán a una comprensión más profunda de los mecanismos que regulan las interacciones ARN-proteína en sistemas virales, así como a la mejora de herramientas computacionales para la investigación en biología molecular.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Estudiar las interacciones electrostáticas entre el ARN y el cápside viral, comprendiendo cómo la simetría del virus influye en la afinidad de unión y la orientación del ARN respecto a la superficie proteica.

2.2. Objetivos Específicos

Los objetivos específicos de este trabajo son

- Revisar el estado del arte sobre las interacciones electrostáticas entre ácidos nucleicos y proteínas, con énfasis en sistemas virales.
- Desarrollar y simular un modelo electrostático basado en la ecuación no lineal de Poisson-Boltzmann para describir la interacción entre el ARN y el cápside viral.
- Implementar un programa computacional para calcular la energía libre de unión entre el ARN y la proteína, considerando diferentes configuraciones espaciales.
- Realizar un análisis sistemático de la orientación del ARN respecto a la superficie proteica mediante variaciones en la rotación e inclinación, evaluando su impacto en la energía de interacción.
- Explorar cómo la variación en el área superficial del cápside y la distribución de carga por unidad afectan la afinidad de unión entre el ARN y la proteína.
- Investigar la influencia de la simetría del cápside viral en la posición y conformación óptima del ARN que maximiza la afinidad electrostática.
- Visualizar y analizar las configuraciones y energías de interacción mediante herramientas gráficas, facilitando la interpretación de los resultados obtenidos.

3. Marco Teórico

3.1. ARN: estructura y función

El ácido ribonucleico (ARN) es un polímero de nucleótidos que juega un papel fundamental en la expresión génica y en diversos procesos biológicos. Similar al ADN, el ARN está compuesto por una pentosa (ribosa), un grupo fosfato y cuatro bases nitrogenadas: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y uracilo (U). Sin embargo, la presencia de ribosa en lugar de desoxirribosa confiere al ARN una mayor reactividad química y flexibilidad estructural, características esenciales para su función biológica diversa.

El ARN se clasifica como un polianión, ya que posee múltiples cargas negativas debido a los grupos fosfato presentes en su esqueleto de azúcar-fosfato. Estas cargas negativas, que se encuentran distribuidas a lo largo de toda su estructura, hacen que el ARN interactúe de manera significativa con cationes y proteínas cargadas positivamente. Esta propiedad electrostática es crucial para su estabilidad y funcionalidad en entornos biológicos.

La estructura primaria del ARN es una cadena simple de nucleótidos, que debido a la presencia del grupo hidroxilo (-OH) en el carbono 2 de la ribosa, como se observa en la figura 1, introduce cambios significativos respecto al ADN. Este grupo funcional limita la formación de la clásica doble hélice tipo B, y en su lugar, el ARN adopta una conformación de hélice sencilla tipo A en sus regiones apareadas, donde las bases complementarias (A-U y G-C) establecen enlaces de hidrógeno [4].

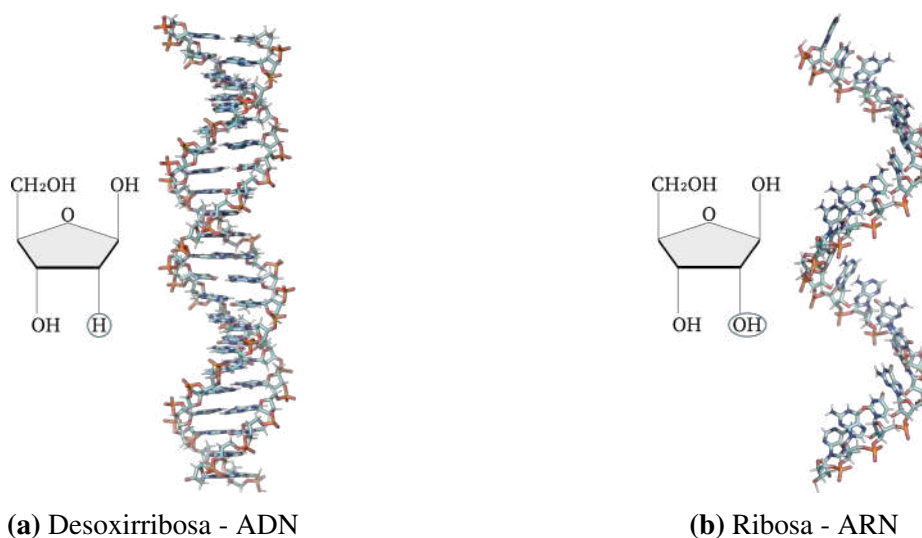


Figura 1: Estructura del ADN y ARN

Más allá de su estructura, el ARN puede adoptar configuraciones tridimensionales complejas.

Las regiones complementarias de una misma molécula permiten la formación de doble hélices internas, horquillas y bucles, que estabilizan la estructura. Estas propiedades estructurales son esenciales para la interacción molecular, especialmente en su rol como catalizador y en el reconocimiento molecular [5].

En los virus, el ARN desempeña un papel doble como material genético y como agente estructural. En muchos virus, el ARN está empaquetado junto con proteínas en un complejo conocido como nucleocápside o cápside viral. Estos complejos ARN-proteína son esenciales para el ensamblaje y la estabilidad del material genético viral dentro del virión. La capacidad del ARN para plegarse y adoptar múltiples conformaciones le permite interactuar de manera versátil con las proteínas, influyendo en la formación de estructuras virales específicas, como en los virus de simetría icosaédrica, donde la disposición del ARN juega un rol crucial en la estabilidad y función del virus [6, 7]

Dado que el ARN es una molécula altamente dinámica, su interacción con proteínas en sistemas biológicos está sujeta a una variedad de fuerzas, entre las que las interacciones electrostáticas desempeñan un papel preponderante. Estas interacciones son particularmente relevantes en entornos confinados, como en las cápsides virales, donde el ARN debe adoptar una conformación óptima que minimice la energía libre del sistema, asegurando la estabilidad del complejo [8].

3.2. Proteínas: Estructura y función

Las proteínas son heteropolímeros compuestos por aminoácidos, los cuales se enlazan mediante enlaces peptídicos para formar cadenas polipeptídicas. Cada proteína tiene un plegamiento específico que define su estructura tridimensional y, por ende, su función biológica [9]. Estas estructuras pueden dividirse en cuatro niveles: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria, siendo estas últimas dos las más relevantes para sus interacciones moleculares.

Los aminoácidos que conforman las proteínas poseen cadenas laterales con propiedades químicas específicas, algunas de las cuales son hidrofóbicas, hidrofílicas, cargadas positivamente o negativamente. Estas propiedades permiten que las proteínas interactúen con otros componentes biomoleculares, como ácidos nucleicos, membranas celulares y otras proteínas. La electrostática juega un rol fundamental en estas interacciones, especialmente en sistemas complejos donde las cargas superficiales de las proteínas y su entorno determinan la estabilidad y funcionalidad de las mismas [10].

En el contexto de este trabajo, se analiza la relevancia de las proteínas como actores clave en interacciones biomoleculares, particularmente aquellas con ARN, debido a su capacidad de formar complejos dinámicos que dependen tanto de interacciones electrostáticas como de la

complementariedad estructural.

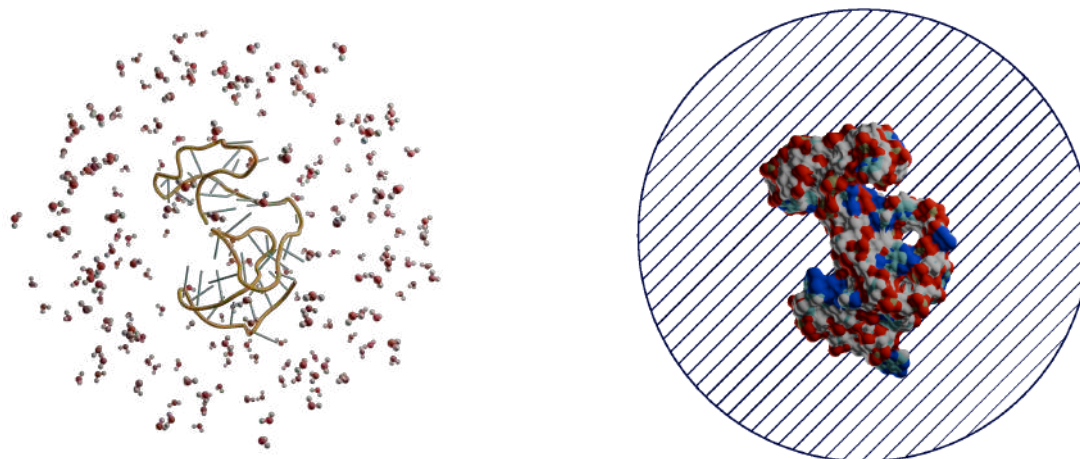
3.3. Interacciones RNA-Proteínas

En la modelación de la electrostática para la solvatación de biomoléculas, existen dos enfoques generales para representar la interacción entre la molécula y su entorno solvente: el modelo de solvente explícito y el modelo de solvente implícito. El modelo explícito describe detalladamente cada molécula de solvente que rodea a la biomolécula, tal como se muestra en la Figura 2a. Si bien este enfoque entrega una representación precisa del solvente, con todas sus interacciones moleculares, es altamente costoso en términos computacionales debido a la necesidad de considerar cada molécula de solvente con todos sus grados de libertad y luego integrar sobre ellos para obtener cantidades energéticas de interés. Este costo es prohibitivo, especialmente en el caso de biomoléculas grandes o sistemas de múltiples biomoléculas en el mismo solvente [11, 12].

Por otro lado, el modelo de solvente implícito representa al solvente como un medio continuo polarizable en lugar de modelar cada molécula individualmente. Este enfoque, ampliamente utilizado en simulaciones computacionales, busca capturar el comportamiento promedio de las fluctuaciones del solvente, lo que simplifica drásticamente los cálculos electrostáticos. En este trabajo, se emplea el modelo de Poisson-Boltzmann (PB), que utiliza una representación del solvente como una región con una constante dieléctrica característica y considera a los iones móviles siguiendo una distribución de Boltzmann [13]. Este modelo permite obtener resultados confiables con un costo computacional considerablemente menor que el modelo explícito y es ideal para sistemas complejos de biomoléculas grandes, como se muestra en la Figura 2b.

Sin embargo, es importante destacar que los modelos de solvente explícito, a pesar de su alto costo computacional, son indispensables cuando se requiere un muestreo estadístico detallado para analizar fenómenos dinámicos a nivel molecular. Por el contrario, los modelos de solvente implícito son más adecuados para cálculos estáticos o estudios de equilibrio en la interacción biomolecular [14].

En este contexto, el modelo PB es particularmente ventajoso para describir interacciones electrostáticas en complejos RNA-proteína debido a su balance entre precisión y eficiencia computacional, entre las aproximaciones al modelo PB se encuentra el modelo Generalized Born (GB) [15], que simplifica los cálculos al aproximar los efectos del solvente implícito de forma más eficiente. Aunque GB es una técnica útil en ciertos contextos, este trabajo se enfoca en el uso directo del modelo PB, que ofrece un balance más adecuado entre precisión y eficiencia para los sistemas analizados.



(a) Solvente explícito

(b) Solvente Implícito

Figura 2: Esquemas de modelo solvente explícito e implícito.

En ambos casos, las superficies entre el soluto y el solvente juegan un papel crucial en la definición de la frontera entre las regiones dieléctricas del sistema. La Figura 3 muestra los diferentes tipos de superficies que se consideran en la disolución de un soluto: La superficie 3a considera a la superficie como todo lo que se encuentra por la región cubierta por el radio atómico de los átomos. La superficie 3b es la superficie accesible por el solvente (SAS), la cual se genera a través de seguir la trayectoria que tiene el centro de una probeta del tamaño de una molécula de agua ($\sim 1.4 \text{ \AA}$) la cual rueda a lo largo de la proteína. Para la modelación de la frontera de todas formas se ocupa la superficie excluyente de solvente 3c, la cual es la superficie más cercana que puede llegar la probeta que rueda a lo largo de la proteína. En el modelo implícito, generalmente se utiliza la SES, la cual es la superficie más cercana a la que puede llegar una molécula de agua que “rueda” sobre los radios de Van der Waals de los átomos del soluto [1, 16].

El modelo de solvente implícito basado en la ecuación de Poisson-Boltzmann (PBE) es comúnmente utilizado para describir el potencial electrostático medio y las energías de solvatación en sistemas biomoleculares. Esta aproximación permite modelar el solvente como un medio continuo con una permitividad relativa definida, sin la necesidad de representar de manera explícita cada molécula de solvente. La región del solvente se describe con la ecuación de Poisson-Boltzmann linealizada, mientras que el interior de la biomolécula se describe con la ecuación de Poisson [17].

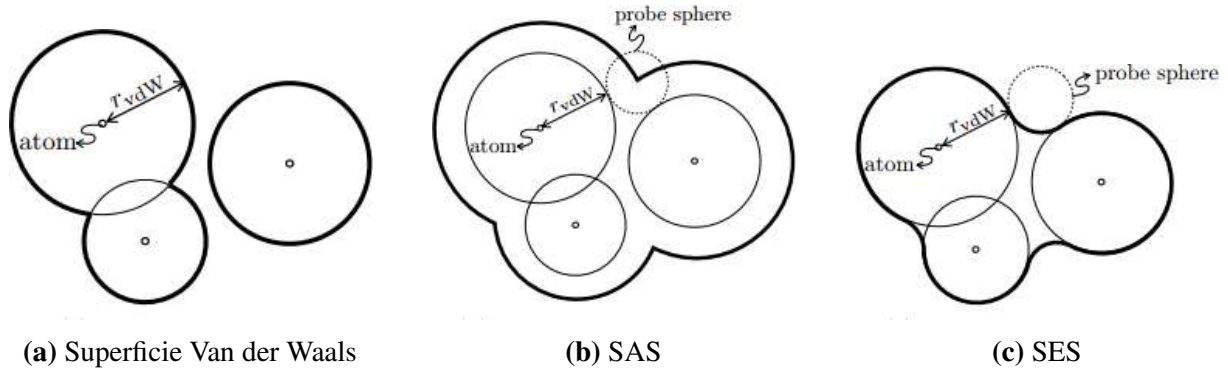


Figura 3: Tipos de superficies entre soluto y solvente [1]

Este enfoque proporciona una representación eficiente en términos de costo computacional, lo que permite su uso en sistemas de gran escala como membranas celulares y cápsidas virales, donde los modelos explícitos serían demasiado complejos y prohibitivos. Aunque los modelos implícitos son menos precisos que los explícitos, han demostrado ser útiles en aplicaciones biológicas debido a su balance entre precisión y eficiencia computacional [18].

3.4. Electroestática en un medio dieléctrico

La electroestática se rige por la Ley de Gauss en su forma integral, como se muestra en la ecuación (1):

$$\oint_S \mathbf{E} \cdot d\mathbf{S} = \frac{q_{\text{enc}}}{\epsilon_0}, \quad (1)$$

Donde \mathbf{E} es el campo eléctrico, q_{enc} la carga encerrada, y ϵ_0 es la permitividad del vacío. Esta ley también puede expresarse en forma diferencial utilizando el teorema de la divergencia:

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0}, \quad (2)$$

donde ρ es la densidad volumétrica de carga eléctrica.

El campo eléctrico \mathbf{E} es irrotacional en electroestática, lo que implica que puede describirse mediante un potencial electrostático ϕ tal que $\mathbf{E} = -\nabla\phi$. Por lo tanto, la ecuación (2) puede reescribirse como:

$$\nabla^2\phi = -\frac{\rho}{\epsilon_0}, \quad (3)$$

Que es una ecuación de Poisson. La solución general de esta ecuación para un medio en vacío puede expresarse de manera integral:

$$\phi(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int_{\Omega} \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\Omega'. \quad (4)$$

Donde Ω denota el volumen de integración sobre el espacio en el que se distribuye la carga $\rho(\mathbf{r}')$. En presencia de un medio dieléctrico, el campo eléctrico induce una polarización en el material. Esta polarización, representada por la densidad de dipolos \mathbf{P} , introduce una modificación en el campo. El potencial electrostático debido a una distribución de dipolos se expresa como:

$$\tilde{\phi}(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int_{\Omega} \mathbf{P}(\mathbf{r}') \cdot \nabla' \left(\frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \right) d\Omega'. \quad (5)$$

Sumando las contribuciones de las cargas libres y de la polarización, se obtiene:

$$\tilde{\phi}(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int_{\Omega} \frac{\rho(\mathbf{r}') + \nabla' \cdot \mathbf{P}(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\Omega'. \quad (6)$$

El término $(\rho - \nabla \cdot \mathbf{P})$ puede interpretarse como una distribución de carga efectiva, lo que nos lleva a la siguiente expresión para el desplazamiento eléctrico \mathbf{D} :

$$\mathbf{D} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P}. \quad (7)$$

Si asumimos que el material dieléctrico es isotrópico y lineal, la polarización \mathbf{P} puede expresarse como una relación proporcional con el campo eléctrico \mathbf{E} , donde el factor de proporcionalidad es la susceptibilidad eléctrica χ_e :

$$\mathbf{P} = \epsilon_0 \chi_e \mathbf{E}. \quad (8)$$

A partir de esta relación se define la permitividad del medio dieléctrico como:

$$\epsilon = \epsilon_0 (1 + \chi_e), \quad (9)$$

lo que finalmente nos lleva a la expresión macroscópica de la ecuación de Poisson para un medio dieléctrico:

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\rho}{\epsilon} \quad \Rightarrow \quad \nabla^2 \phi(\mathbf{r}) = -\frac{\rho}{\epsilon}. \quad (10)$$

3.5. Ecuación de Poisson-Boltzmann

La ecuación de Poisson-Boltzmann surge de una modificación de la ecuación de Poisson en un medio dieléctrico, donde se incluyen tanto las cargas fijas como las cargas móviles. El potencial electrostático $\phi(\mathbf{r})$ en presencia de un campo de cargas distribuidas puede ser descrito por la ecuación de Poisson:

$$\nabla^2 \phi(\mathbf{r}) = -\frac{\rho(\mathbf{r})}{\epsilon(\mathbf{r})}, \quad (11)$$

donde $\rho(\mathbf{r})$ es la densidad de carga y $\epsilon(\mathbf{r})$ es la constante dieléctrica del medio. En un sistema biológico, el soluto (e.g. proteína) y el solvente (e.g. agua y iones) tienen propiedades dieléctricas diferentes. En el solvente, los iones móviles generan una distribución de carga que puede describirse utilizando una estadística de Boltzmann, resultando en la siguiente forma para la ecuación de Poisson-Boltzmann no lineal:

$$\nabla^2 \phi(\mathbf{r}) = -\frac{1}{\epsilon} \left(\rho_f(\mathbf{r}) + \sum_{j=1}^M q_j c_j^\infty \left(e^{\phi q_j / k_B T} - e^{-\phi q_j / k_B T} \right) \right), \quad (12)$$

Donde $\rho_f(\mathbf{r})$ representa las cargas fijas, definido como $\rho(\mathbf{r}) = \rho_f(\mathbf{r}) + \rho_m(\mathbf{r})$, donde ρ_m representa las contribuciones de carga debido a los iones en solución (p.ej., las cargas de los átomos de la proteína) y el segundo término describe la distribución de iones móviles en el solvente, con q_j la carga del ion tanto positivo como negativo, c_j^∞ su concentración, k_B la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta. La ecuación 12 puede ser reescrita de la forma siguiente:

$$\nabla^2 \phi(\mathbf{r}) = -\frac{1}{\epsilon} \left(\rho_f(\mathbf{r}) + 2 \sum_{j=1}^M q_j c_j^\infty \sinh \left(\frac{q_j \phi(\mathbf{r})}{k_B T} \right) \right), \quad (13)$$

Donde el uso de *sinh* en lugar de una forma exponencial permite capturar los efectos de ambos tipos de iones (positivos y negativos, o contraiones) de manera completa.

3.5.1. Uso de la Ecuación de Poisson-Boltzmann en Simulaciones Moleculares

La ecuación de Poisson-Boltzmann (PB) es ampliamente utilizada en simulaciones moleculares para modelar la interacción electrostática en sistemas con interfaces dieléctricas, como proteínas inmersas en un solvente iónico. En estos escenarios, la interfaz dieléctrica se produce debido a la diferencia en la permitividad entre el soluto (e.g., una macromolécula como una proteína) y el solvente (e.g., agua con iones). Este contraste dieléctrico afecta la distribución del potencial electrostático y, por ende, la energía y las fuerzas que gobiernan las interacciones moleculares.

En sistemas biológicos, la PBE permite describir cómo los iones móviles en el solvente interactúan con las cargas fijas de la macromolécula. Esto es crucial para entender procesos como la unión de ligandos, la estabilidad estructural de proteínas y las interacciones entre biomoléculas.

La ecuación PB es particularmente valiosa para calcular la energía libre de solvatación y los efectos de apantallamiento electrostático en sistemas complejos.

Debido a la complejidad de las geometrías involucradas y la no linealidad de la PBE en presencia de altas concentraciones de iones o fuertes campos eléctricos, las simulaciones moleculares suelen emplear esta ecuación para obtener una descripción más precisa de los fenómenos electrostáticos. En este contexto, métodos numéricos avanzados son esenciales para resolver la PBE en dominios con geometrías irregulares y múltiples interfaces dieléctricas.

3.5.2. Solución Numérica de la Ecuación de Poisson-Boltzmann

La solución numérica de la ecuación de Poisson-Boltzmann (PBE) es crucial para modelar la interacción de cargas en medios dieléctricos, especialmente en sistemas biológicos, entre los programas más utilizados para resolver la PBE en aplicaciones de biofísica esta APBS, DelPhi, CHARMM, AMBER, MEAD, entre otros [2, 19, 20, 21, 22]. La PBE completa, que es no lineal, requiere métodos especializados para su resolución. Aunque el método linealizado de Poisson-Boltzmann (LPBE) se puede resolver directamente, la PBE completa necesita técnicas iterativas como los métodos de Newton, que empiezan con una solución inicial y la mejoran iterativamente resolviendo ecuaciones lineales asociadas.

En este trabajo, se utiliza el software APBS [2] para abordar la ecuación de Poisson-Boltzmann. APBS implementa diversas técnicas de discretización para resolver la PBE, entre ellas:

- **Método de Diferencias Finitas (FD):** Este método resuelve la PBE en una malla cartesiana tridimensional no uniforme. Aunque es popular por su simplicidad y facilidad de implementación, su principal limitación es la falta de control sobre la colocación de incógnitas en el dominio de solución. La malla cartesiana puede resultar ineficaz para representar cargas puntuales y para modelar adecuadamente la interfaz entre el soluto y el solvente. Además, las condiciones de contorno al infinito son difíciles de manejar, lo que puede afectar la precisión del modelo en regiones alejadas del soluto. La malla cartesiana también puede aumentar significativamente el número de incógnitas en toda la malla si se desea mejorar la resolución en regiones específicas, lo que puede ser computacionalmente costoso. A pesar de estas limitaciones, el método de diferencias finitas ha demostrado ser eficaz en muchas aplicaciones prácticas debido a su robustez y adaptabilidad. Su capacidad para ser implementado en sistemas computacionales de alto rendimiento lo convierte en una opción atractiva para modelar sistemas biológicos complejos. Además, se han desarrollado mejoras, como el uso de métodos de refinamiento de malla adaptativos y condiciones de contorno artificiales, que han incrementado la precisión y reducido el costo computacional. Estas características hacen del método FD una herramienta valiosa y

ampliamente utilizada para resolver la PBE en una amplia gama de escenarios.

- **Método de Elementos Finitos (FE):** Utiliza mallas de triángulos o tetraedros para discretizar el dominio. La principal ventaja del método de elementos finitos es su capacidad para adaptar la malla localmente, permitiendo un refinamiento en áreas de interés sin afectar tanto a otras partes del dominio. Esto resulta en matrices dispersas con menos valores no cero en comparación con el método de diferencias finitas y es especialmente útil para problemas con geometrías complejas.

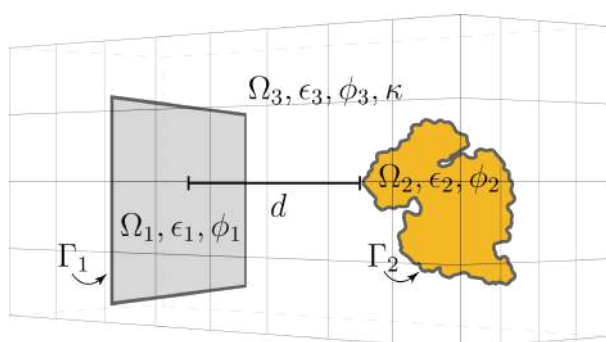


Figura 4: Ejemplificación del método de diferencias finitas con un esquema de las condiciones de frontera entre el soluto y el solvente., mostrando el mallado que se realiza en este método.

El método elegido para resolver la PBE completa en esta investigación será el método de diferencias finitas aplicado a la versión no lineal de la ecuación, dado que la no linealidad desempeña un papel crucial en la representación precisa de las interacciones moleculares en sistemas biológicos. Estudios recientes han demostrado que la aproximación lineal de la PBE puede ser insuficiente en sistemas con alta densidad de carga o en condiciones de baja fuerza iónica, donde los efectos no lineales se vuelven significativos. Por ejemplo, investigaciones han revelado que las soluciones obtenidas con la ecuación linealizada presentan desviaciones importantes respecto a las soluciones completas de la PBE en geometrías biomoleculares complejas, lo que puede afectar el cálculo de propiedades como la energía libre electrostática y el potencial electrostático en zonas críticas [23, 24, 25].

Además, se ha demostrado que la no linealidad es esencial para capturar adecuadamente la exclusión iónica y otros fenómenos relacionados con la estructura del solvente, particularmente cerca de superficies altamente cargadas, como las observadas en ácidos nucleicos y proteínas [23, 25]. En este contexto, el método no lineal mejora significativamente la precisión al incluir estos efectos de manera explícita. Por otro lado, investigaciones adicionales destacan la utilidad de enfoques híbridos que combinan diferencias finitas con métodos de contorno para resolver problemas no lineales en geometrías complejas, permitiendo un balance óptimo entre precisión y eficiencia computacional [25].

Finalmente, los límites de la ecuación linealizada también han sido evaluados, confirmando que su aplicabilidad se restringe a sistemas con campos eléctricos bajos en relación con la constante de apantallamiento de Debye. Por ello, optar por el modelo no lineal resulta crucial para evitar errores significativos en los cálculos [24, 26]. Estas consideraciones refuerzan la elección del método no lineal de diferencias finitas como una herramienta fundamental en esta investigación para la descripción detallada de los sistemas moleculares estudiados.

3.6. Energías y Ciclos Termodinámicos de un sistema

Los ciclos termodinámicos proporcionan un marco fundamental para entender cómo las energías se transforman en procesos moleculares, como la interacción de cargas y la solvatación. La Figura 5 ilustra dos ciclos termodinámicos relevantes en nuestro estudio. El ciclo a la izquierda, Ciclo de Solvatación, representa cómo una molécula se incorpora a un solvente y cómo las interacciones con el solvente afectan la energía del sistema. El ciclo a la derecha, Ciclo de Energía de Unión, ilustra cómo las interacciones de las cargas afectan la energía libre de unión en un sistema molecular.

3.6.1. Energía de Coulomb

La energía de Coulomb describe la contribución energética de las interacciones electrostáticas entre cargas eléctricas en un sistema molecular. Esta energía se calcula usando la ley de Coulomb y se define como:

$$E_{coulomb} = \frac{1}{2} \sum_i \sum_j \frac{q_i q_j}{\epsilon_0 \epsilon_m |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} \quad (14)$$

donde q_i y q_j son las cargas de las partículas i y j , respectivamente, r_i y r_j son sus posiciones, ϵ_0 es la constante dieléctrica del vacío, que tiene un valor de $8,8542 \times 10^{-12} [C^2/Nm^2]$, y ϵ_m es la constante dieléctrica relativa para el agua, cuyo valor es 80, adimensional. Este concepto se ilustra en la Figura 5b, que explica cómo estas energías se integran en el cálculo de la energía libre de unión.

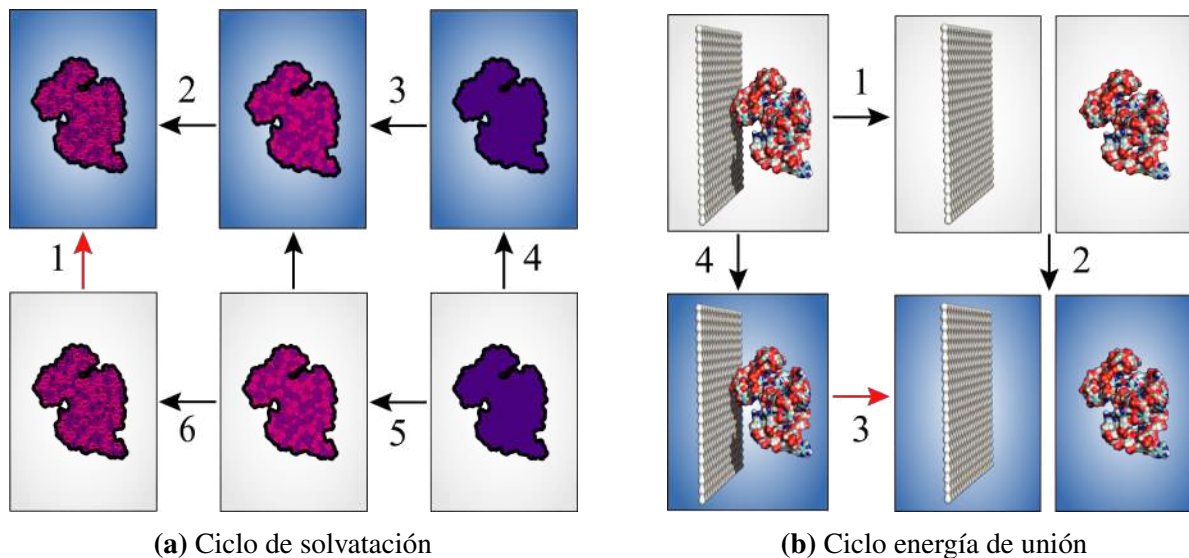


Figura 5: (a) Ciclo de Solvatación, representa el proceso de incorporación de una molécula o ion en un solvente, con énfasis en las interacciones entre el soluto y las moléculas de solvente circundante. Este ciclo captura tanto la solvatación polar como la no polar. (b) Ciclo de Energía de Unión, Muestra cómo las interacciones electrostáticas afectan la energía libre de unión en un sistema molecular. Este ciclo es esencial para entender las energías de unión entre biomoléculas y sus entornos.

3.6.2. Energía de Solvatación

La energía de solvatación se refiere a la energía asociada con el proceso de incorporar una molécula o ion en un solvente, lo que implica las interacciones entre la molécula y las moléculas del solvente circundante. Los métodos PB proporcionan energías de solvatación polar y, por lo tanto, deben complementarse con modelos de solvatación no polar para ofrecer una visión completa de las interacciones soluto-solvente biomoleculares. La solvatación no polar generalmente está asociada con la inserción del soluto no cargado en el solvente. Existen muchos modelos de solvatación no polar disponibles; sin embargo, el trabajo de Levy et al. [27] y Wagoner et al. [28] han demostrado la importancia de los modelos de solvente implícito no polar que incluyen el tratamiento de términos de dispersión atractiva soluto-solvente.

- **Componente polar:** Es el resultado de cargar el soluto en un solvente con dieléctricos heterogéneos y móviles, como en los pasos 2 y 6 del ciclo en la Figura 5a. Se calcula como:

$$\Delta_{solv}^{polar} G = \Delta_2 G - \Delta_6 G \quad (15)$$

La contribución polar incluye términos de auto-interacción que dependen de parámetros de discretización, como el espaciado de la grilla. Es esencial asegurarse de que se utilicen

configuraciones idénticas en ambos pasos del ciclo (como en los pasos 2 y 6 de la Figura 5a) para evitar errores de cálculo. Dado que este espaciado influye en la precisión de las simulaciones, debe ser seleccionado de manera que sea adecuado para el tamaño y la distribución de los átomos en el sistema, especialmente en sistemas orgánicos.

En el contexto de sistemas biomoleculares y simulaciones moleculares, la energía de solvatación es una contribución importante para comprender la estabilidad y las interacciones en un entorno acuoso, la cual puede ser calculada por la ecuación PB la cual es una ecuación diferencial parcial elíptica no lineal [29, 30, 31, 32] que tiene la forma:

$$\nabla \cdot (\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{r}) \nabla \phi(\mathbf{r})) - \kappa^2(\mathbf{r}) \sinh\left(\frac{q\phi(\mathbf{r})}{k_B T}\right) = -4\pi\rho_f(\mathbf{r}), \quad (16)$$

Donde $\phi(\mathbf{r})$ es el potencial electrostático en la posición \mathbf{r} , $\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{r})$ es la permitividad dieléctrica dependiente de la posición, κ es el parámetro relacionado con la longitud de Debye, q es la carga del ion, k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta y $\rho_f(\mathbf{r})$ representa las cargas fijas, Esta ecuación describe cómo el potencial eléctrico varía debido a la distribución de cargas fijas y móviles en un medio dieléctrico. El funcional de la energía libre $G[\phi]$ mide la energía asociada a la distribución del campo eléctrico en el sistema, está definido como:

$$G[\phi] = \int \left[\frac{\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{r})}{2} |\nabla \phi(\mathbf{r})|^2 + \rho_f(\mathbf{r})\phi(\mathbf{r}) + \frac{2k_B T}{q} \cosh\left(\frac{q\phi(\mathbf{r})}{k_B T}\right) \right] d\mathbf{r}. \quad (17)$$

Donde cada sumando se interpreta de la siguiente manera, el primer sumando es la interacción entre la densidad de carga fija y el potencial eléctrico, lo cual representa el campo de reacción. El segundo sumando representa la energía almacenada en el campo eléctrico debido al medio dieléctrico, esta relacionado con los efectos en la frontera dieléctrica. El tercer sumando esta relacionado a la contribución osmótica de los iones móviles en el sistema. Para obtener la fuerza $F_i[\phi]$, se deriva la energía libre $G[\phi]$ on respecto a una posición r_i cuyo resultado es el siguiente.

$$F_i[\phi_{react}] = -\frac{1}{4\pi} \int_{\Omega} \left\{ \frac{\partial \rho_f(x)}{\partial r_i} \phi(x) + \frac{1}{2} \frac{\partial \boldsymbol{\varepsilon}(x)}{\partial r_i} [\nabla \phi(x)]^2 + \sum_m c_m \frac{\partial e^{-\beta V_m(x)}}{\partial r_i} \left[e^{-\beta q_m \phi(x)} - 1 \right] \right\} dx \quad (18)$$

Donde se mantienen las contribuciones del campo de reacción, la frontera dieléctrica y el efecto osmótico, explicados anteriormente, además se considera al potencial electrostático ϕ_{react} , el cual es la resta entre el potencial obtenido considerando la proteína disuelta, con el potencial con la proteína en el vacío, donde unicamente influye la interacción de Coulomb entre cargas.

$$\phi_{react} = \phi_{total} - \phi_{coulomb}$$

Donde ϕ_{react} representa la componente polar del potencial electrostático, obtenida restando la contribución del potencial de Coulomb y ($\phi_{coulomb}$) de la energía total (ϕ_{total}).

- **Componente no polar:** Representa efectos como la formación de cavidades y dispersión soluto-solvente, asociados a los pasos 3 a 5 de la figura 5a. Su contribución es omitida en este trabajo, dado que el enfoque está en las interacciones polares por uso del modelo del solvente implícito.

3.6.3. Energía Libre de Unión E_b

La energía libre de unión, E_b , también conocida como la diferencia en la energía libre de Gibbs de unión (ΔG), es una medida termodinámica que describe la variación en la energía libre de un sistema al pasar de dos estados diferentes: uno donde las moléculas están aisladas y otro donde las moléculas están unidas o interaccionan entre sí. En el contexto de sistemas biomoleculares, la energía libre de unión se utiliza para cuantificar la estabilidad de una asociación molecular, como la formación de un complejo entre dos biomoléculas, como proteínas y ARN. La Figura 5b resume los pasos del ciclo involucrado, dando lugar a la expresión para esta energía:

$$\Delta_{union}G = -\Delta_3G = \Delta_4G - \Delta_1G - \Delta_2G \quad (19)$$

Donde Δ_1G : Energía de Coulomb en el vacío, Δ_2G : Energías de solvatación de las moléculas individuales, Δ_4G : Energía de solvatación de las moléculas como complejo.

Estas energías proporcionan información clave sobre la configuración más probable y la estabilidad de complejos biomoleculares.

4. Metodología

4.1. Software de calculo computacional APBS

APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) es un software de código abierto diseñado para resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann, ampliamente utilizado en la modelización de interacciones electrostáticas en sistemas biológicos a nivel molecular [2]. Este solver es especialmente útil en el cálculo de energías y fuerzas electrostáticas en sistemas de soluto-solvente utilizando modelos de solvente implícito. APBS emplea el método de diferencias finitas (FDM) para aproximar la solución de las ecuaciones diferenciales parciales y calcular las fuerzas sobre cada átomo, o sobre toda la molécula, mediante interpolación de “splines” de cuarto grado en la interfaz. Además, soporta el uso de superficies moleculares, lo que permite calcular la energía libre de unión.

Una funcionalidad adicional relevante de APBS es PDB2PQR [3], una herramienta integrada que facilita la conversión de archivos de coordenadas moleculares en formato PDB (Protein Data Bank) a archivos en formato PQR, los cuales incluyen información adicional sobre la carga atómica y el radio atómico. Este proceso de conversión se realiza a partir de un campo de fuerza, el cual es un conjunto de parámetros y funciones matemáticas utilizadas para modelar las interacciones entre átomos y moléculas en simulaciones computacionales. Los campos de fuerza asignan parámetros como cargas parciales, radios atómicos, y otros valores relacionados con la estructura y la dinámica de las moléculas. Estos parámetros son fundamentales para realizar cálculos de interacciones electrostáticas y, en el caso de APBS, para la correcta representación de las cargas y tamaños atómicos que se utilizarán en la resolución de la ecuación de Poisson-Boltzmann.

APBS se ha consolidado como una herramienta potente en biofísica computacional, ofreciendo flexibilidad en la resolución de problemas complejos de electrostática y un soporte robusto para la simulación de biomoléculas y materiales en un entorno acuoso.

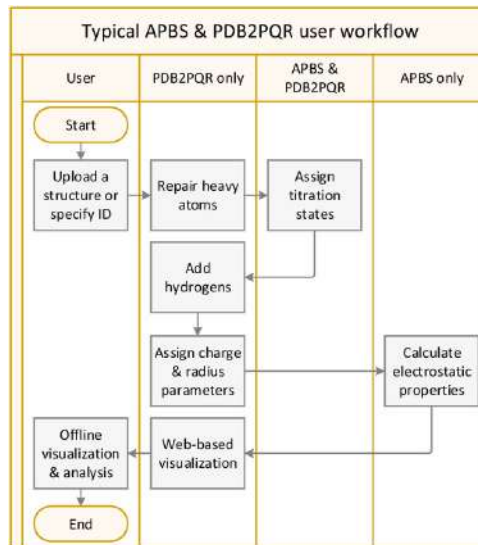


Figura 6: Flujo de trabajo para cálculos electrostáticos biomoleculares utilizando el software APBS-PDB2PQR [2, 3]

4.1.1. Introducción al Método de Solución de APBS

El software Adaptive Poisson-Boltzmann Solver (APBS) es una herramienta ampliamente utilizada en biofísica computacional para resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann (PB), que describe el comportamiento del potencial electrostático en sistemas biológicos, incluyendo proteínas, ácidos nucleicos y complejos macromoleculares en solución. La ecuación de PB combina la teoría del campo medio con el modelo continuo del solvente, proporcionando una aproximación efectiva para calcular interacciones electrostáticas en presencia de un medio dieléctrico heterogéneo y un entorno iónico.

En su forma general, la ecuación de Poisson-Boltzmann se expresa como:

$$\nabla \cdot (\epsilon(\mathbf{r}) \nabla \phi(\mathbf{r})) - \kappa^2(\mathbf{r}) \sinh(\phi(\mathbf{r})) = -4\pi\rho(\mathbf{r}), \quad (20)$$

En ausencia de contribuciones iónicas (es decir, $\kappa = 0$), esta ecuación se reduce a la ecuación de Poisson estándar. En sistemas donde la densidad de carga de los iones es significativa, la ecuación se vuelve no lineal debido al término hiperbólico $\sinh(\phi(\mathbf{r}))$, que modela la distribución de iones en un medio continuo bajo el supuesto de Boltzmann.

El enfoque principal de APBS es la discretización de esta ecuación utilizando métodos numéricos, lo que permite resolver problemas complejos en sistemas de alta dimensionalidad.

4.1.2. Discretización y Diferencias Centradas

La resolución de la ecuación de Poisson-Boltzmann requiere métodos numéricos para manejar la complejidad de los sistemas biológicos. Como se ha mencionado APBS utiliza principalmente el método de diferencias finitas para discretizar el dominio continuo en una malla tridimensional regular. Las derivadas parciales se aproximan mediante diferencias centradas, lo que implica que las ecuaciones se expresan en términos de los valores del potencial en los puntos vecinos de la malla.

Para una malla tridimensional, la discretización de la ecuación de Poisson-Boltzmann se describe como:

Para la discretización de la ecuación en tres dimensiones, la ecuación de Poisson-Boltzmann se aproxima como:

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} \approx \frac{\phi_{i+1,j,k} - 2\phi_{i,j,k} + \phi_{i-1,j,k}}{\Delta x^2} + \frac{\phi_{i,j+1,k} - 2\phi_{i,j,k} + \phi_{i,j-1,k}}{\Delta y^2} + \frac{\phi_{i,j,k+1} - 2\phi_{i,j,k} + \phi_{i,j,k-1}}{\Delta z^2}. \quad (21)$$

Aquí, $\phi_{i,j,k}$ representa el valor del potencial electrostático en el nodo (i, j, k) de la malla tridimensional, y $\Delta x, \Delta y, \Delta z$ son los tamaños de celda en cada dirección.

Este esquema de diferencias centradas de segundo orden garantiza una buena precisión en la aproximación de las derivadas, a la vez que mantiene la estabilidad numérica. El archivo de entrada de APBS especifica parámetros fundamentales, como el tamaño de la malla (dime 513 513 513), la resolución de las celdas (grid 0.25 0.25 0.25) y el método de interpolación para las cargas (chgm sp12). Más detalles sobre estos parámetros se presentan en el apéndice (Figura 44).

4.2. Tipos de Condiciones de Frontera en APBS

- **Condiciones de Dirichlet:** En los cálculos de APBS, las condiciones de frontera son típicamente del tipo Dirichlet, es decir, se asigna un valor específico al potencial electrostático en los bordes de la malla. Para los sistemas biológicos, por ejemplo, estas condiciones a menudo representan el potencial a una distancia suficientemente grande de la estructura, donde la influencia del sistema es despreciable (o la carga externa se aproxima a un valor constante).

- **Condiciones en la Frontera Externa (Lejana):** Aunque la ecuación PB es no lineal, en la práctica se establecen condiciones de frontera Dirichlet en la región externa utilizando aproximaciones lineales para simplificar la representación del potencial lejos de la región del soluto. Esto se hace, por ejemplo, utilizando un potencial de Coulomb o un modelo de campo eléctrico a distancia.
- **Condiciones para la Superficie Soluta-Solvente:** En el caso de los problemas donde hay interfaces entre la proteína o molécula (soluta) y el solvente, las condiciones en la frontera se aplican en la superficie de la molécula, donde el potencial debe cumplir con la continuidad física en la interfaz. Esto se basa en el hecho de que el potencial debe ser continuo a través de la superficie del soluto, y el gradiente normal del potencial está relacionado con la densidad de carga a través de la ecuación PB no lineal.
- **Aproximaciones de Condiciones de Frontera para Sistemas Complejos:** En sistemas más complejos, como aquellos con geometrías irregulares, la malla de cálculo se adapta utilizando aproximaciones de carga efectiva para modelar la interacción entre el soluto y el solvente a distancias largas, lo que se traduce en condiciones Dirichlet que pueden ser definidas a partir de cálculos previos o de un modelo aproximado.
- **Condiciones Internas:** En la región interna de la malla, donde se calcula el campo electrostático dentro de la molécula, se asume que el potencial es continuo y cumple con las leyes de conservación de carga. En estos casos, las condiciones de frontera se imponen según la distribución de carga interna y las propiedades dieléctricas de la molécula.

4.2.1. Interfaces y Transiciones Dieléctricas

En las regiones cercanas a la interfaz ARN-soluta, se modelan transiciones entre diferentes valores de permitividad dieléctrica. Las propiedades dieléctricas del ARN y el solvente se representan mediante superficies moleculares suaves (`srfm smol`) para una mejor precisión. La interpolación de splines se utiliza en estas superficies para calcular el potencial electrostático.

En estas regiones, la densidad de carga depende tanto del potencial como de la concentración de iones, lo que introduce una no linealidad en las ecuaciones. APBS actualiza iterativamente la densidad de carga y el potencial para garantizar la consistencia.

4.2.2. Métodos Iterativos para la Resolución de Ecuaciones

Para resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann (PB), que es no lineal, APBS emplea un enfoque iterativo. Debido a la naturaleza no lineal de la ecuación, los métodos directos no son prácticos, y en su lugar se utilizan métodos iterativos combinados con técnicas de multigrad para asegurar

la convergencia eficiente.

- **Resolución Iterativa de la Ecuación No Lineal:** El proceso comienza con una aproximación inicial del potencial, generalmente un valor cero o un campo electrostático en una forma aproximada. Luego, la ecuación PB no lineal se resuelve de manera iterativa utilizando una variante del método de Newton-Raphson para actualizar el valor del potencial en cada paso. A medida que se avanza en la iteración, el sistema no lineal se vuelve cada vez más cercano a la solución exacta.
- **Método de Newton-Raphson:** El método de Newton-Raphson es uno de los métodos iterativos más comunes para resolver ecuaciones no lineales. En cada iteración, este método ajusta el valor del potencial en función de la derivada de la ecuación con respecto al potencial en el punto actual. La ecuación de Poisson-Boltzmann no lineal se resuelve de manera iterativa hasta que se alcanza un nivel de convergencia predeterminado, en el que el cambio en los valores del potencial se vuelve insignificante.
- **Uso de Multigrid para Mejorar la Convergencia:** Para acelerar la convergencia de las soluciones y mejorar la eficiencia computacional, APBS utiliza técnicas de multigrid. Este enfoque consiste en resolver el sistema en diferentes resoluciones de malla. Al comenzar con una malla más gruesa (resolución baja), se puede obtener una aproximación inicial rápida, que luego se refina a medida que se reduce la resolución de la malla. Este método permite reducir el número de iteraciones necesarias para alcanzar la solución, especialmente en regiones donde la solución varía rápidamente.
- **Combinación de Métodos:** El método de Newton-Raphson se combina con el enfoque de multigrid de manera eficiente. El método de Newton-Raphson se encarga de resolver la parte no lineal de la ecuación en cada nivel de la malla, mientras que el multigrid mejora la convergencia global del proceso, especialmente en sistemas grandes y complejos. La combinación de estos métodos permite a APBS resolver la ecuación de Poisson-Boltzmann no lineal de manera eficiente, incluso para sistemas biológicos de gran tamaño.

4.3. Geometría y Orientación del Sistema ARN- Superficie

En este estudio, se analizan las interacciones entre el ARN y el cápside viral del Satellite Tobacco Mosaic Virus (STMV), utilizando el modelo icosaédrico con identificador 4oq9 del Protein Data Bank (PDB). El STMV consta de 188 aminoácidos y un total de 134032 átomos, sin especificar si estos son pesados o ligeros, ya que se consideran todos. El análisis se centra en dos segmentos específicos de ARN asociados con este virus, los cuales han sido descritos previamente en la literatura [33].

El primer segmento, denominado ARN grande (ARN_g), corresponde a la secuencia completa del ARN del STMV, formada por 43 nucleótidos y un total de 1,378 átomos. Su secuencia es UGGAUCGAAGGUUAAACGAUCCGCUCCUCGCUUGAGCUUGAGG. El segundo segmento, conocido como ARN pequeño (ARN_p), representa una versión más corta con 16 nucleótidos, 514 átomos y la secuencia GACCCCAACGUGGGUC. Ambos segmentos fueron extraídos de la misma referencia [33].

En los virus, las interacciones entre el ARN y las proteínas virales son fundamentales para varios aspectos críticos del ciclo de vida viral. El ARN viral, al ser el material genético que lleva la información necesaria para la replicación y ensamblaje del virus, necesita interactuar de manera precisa con las proteínas del virus, como las del cápside. Estos complejos ARN-proteína desempeñan un papel esencial en la formación de ribonucleoproteínas (RNPs), estructuras que estabilizan el ARN y lo protegen de la degradación por nucleasas hostiles. Además, las proteínas del cápside viral facilitan el empaquetamiento del ARN en nuevas partículas virales durante la fase de ensamblaje [34, 35, 36, 37].

Estas interacciones también son clave en la regulación de la expresión génica viral. En ciertos casos, las proteínas del cápside pueden influir en la transcripción del ARN viral o en su traducción dentro de la célula huésped, de manera que optimicen las condiciones para la propagación viral. Las proteínas virales a menudo modulan las actividades celulares del huésped, desviando la maquinaria celular para su propio beneficio. Esta manipulación es crucial para la proliferación del virus, permitiendo que el ARN viral se replique y se empaquete eficientemente [38, 39, 40].

Más aún, las interacciones ARN-proteína también tienen un impacto significativo en la especificidad y eficacia de la infección. La conformación icosaédrica del cápside viral es esencial para mantener la estabilidad estructural del virus durante la transferencia del material genético a una célula huésped, y cualquier alteración en estas interacciones podría afectar la infectividad del virus o incluso desencadenar respuestas inmunológicas. El estudio detallado de estas interacciones proporciona información crítica que puede ser utilizada para desarrollar tratamientos antivirales específicos que inhiban la formación de los complejos ARN-cápside, interfiriendo así con el ciclo replicativo del virus y reduciendo su capacidad de infección [41, 42].

Este trabajo se enfoca en investigar cómo las diferentes orientaciones del ARN interactúan con superficies de geometrías variadas, como planas, esféricas e icosaédricas, y cómo estas configuraciones influyen en la energía libre de interacción. En particular, se busca analizar de manera detallada cómo las propiedades geométricas y espaciales del sistema ARN-superficie modulan las fuerzas involucradas en estas interacciones. Este análisis permitirá comprender mejor los factores que determinan la estabilidad y afinidad en estos sistemas complejos. A continuación, se presentan las características específicas del sistema estudiado.

4.3.1. Orientación del ARN

En el contexto del modelo de solvente implícito, la orientación del ARN con respecto a una superficie es un factor crucial para determinar las interacciones electrostáticas y, por ende, la energía libre total del sistema. Para calcular la energía libre total, se resuelve la ecuación de Poisson-Boltzmann (PB), y a partir de los resultados electrostáticos, se obtiene la distribución de probabilidad de las posibles orientaciones del ARN sobre la superficie.

La probabilidad de encontrar el sistema en un microestado específico, denotado como γ , está dada por la distribución de Boltzmann. Esta probabilidad depende de la energía libre total del sistema ΔG_{total} , como se expresa en la siguiente ecuación [43]:

$$P(\gamma) = \frac{\int_{\gamma} \exp\left(-\frac{\Delta G_{\text{total}}}{k_B T}\right) d\gamma}{\int_{\tau} \exp\left(-\frac{\Delta G_{\text{total}}}{k_B T}\right) d\tau} \quad (22)$$

Donde γ es el estado de interés y τ es el conjunto de todos los estados posibles. Aquí, k_B representa la constante de Boltzmann y T es la temperatura del sistema.

Para obtener la probabilidad de una orientación específica del ARN, se puede calcular la integral del numerador de la siguiente manera:

$$\int_{\gamma} \exp\left(-\frac{\Delta G_{\text{total}}}{k_B T}\right) d\gamma = \int \int \exp\left(-\frac{\Delta G_{\text{total}}}{k_B T}\right) d\alpha_{\text{rot}} d\alpha_{\text{tilt}} \quad (23)$$

En este caso, las orientaciones del ARN son descritas por dos ángulos: α_{rot} y α_{tilt} . El ángulo α_{rot} corresponde al ángulo de rotación del ARN alrededor de un eje fijo, que varía de 0° a 360° . Por su parte, el ángulo α_{tilt} define la inclinación del ARN con respecto a un vector normal a la superficie o un vector de referencia, variando de 0° a 180° . Estos ángulos se pueden visualizar en la Figura 7, donde se ilustra un esquema de las diferentes orientaciones del ARN sobre una superficie.

Es importante destacar que, en este modelo, el ARN se considera inmovilizado a una distancia constante de la superficie, representando un escenario donde se ha fijado mediante algún enlace o interacción de naturaleza físico-química. La distancia a la superficie dependerá del tamaño del enlace o la interacción que fije al ARN, típicamente en el rango de 2-4 [Å], en nuestro caso la distancia d mostrada en la figura 4 es fijada a 3[Å].

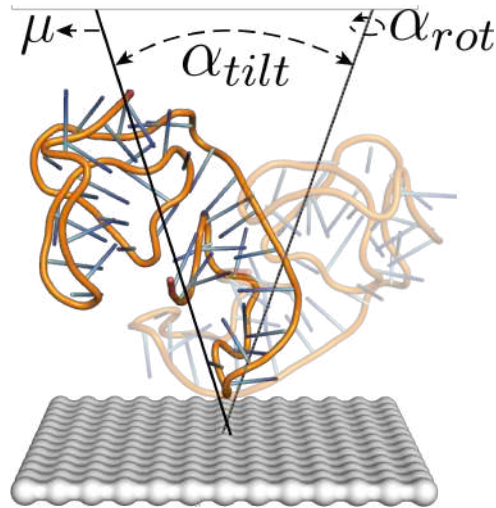


Figura 7: Esquema de las orientaciones del ARN sobre una superficie plana mostrando el eje en la que se encuentra el momento dipolar μ , con los ángulos de rotación α_{rot} que va de 0° a 360° e inclinación α_{tilt} que va de 0° a 180° .

De acuerdo con las ecuaciones 22 y 23, es posible calcular la distribución de probabilidades para diferentes orientaciones del ARN. La orientación más probable corresponde a aquella con la menor energía libre total, lo cual implica que el estado preferido es el que presenta la energía de interacción más baja. En términos físicos, esto significa que mientras más negativa sea la energía libre total, mayor será la probabilidad de que el ARN adopte esa orientación sobre la superficie.

4.3.2. Generación de Superficies

Para realizar un análisis de los ciclos termodinámicos asociados a la interacción entre el ARN y el cápside viral, es necesario simplificar la compleja geometría del sistema real. El cápside viral del STMV presenta una estructura icosaédrica que, si bien es representativa de su forma biológica, dificulta el análisis directo de las interacciones termodinámicas, debido a la cantidad elevada de átomos del STMV que se incluirían en las simulaciones, lo que deriva en un mayor costo computacional.

Por esta razón, se utiliza una aproximación basada en superficies simplificadas que mantienen las características geométricas esenciales, pero permiten un análisis más manejable desde el punto de vista computacional y termodinámico. Las superficies generadas se clasifican en tres categorías: *simetría plana*, *simetría esférica* y *simetrías icosaédricas*. Estas simplificaciones geométricas permiten reducir la complejidad del sistema y modelar los puntos representativos donde ocurren las interacciones entre el ARN y el cápside o las superficies, un ejemplo de esta simplificación en el caso de la simetría esférica se muestra en la figura 8.

Para representar estas interacciones, se emplean los denominados *beads*, que son esferas de

radio 1.908 [Å], estos beads forman las superficies deseadas, mostrando un ejemplo de esta simplificación en la figura 8b y, en función de ciertas consideraciones explicadas posteriormente, se realiza un recorte desde la base de la geometría hasta una cierta altura, a esta altura se la denomina distancia de corte (**dcor**), la cual podemos observar en la figura 8c, la cual a modo ilustrativo nos muestra dos posibles distancias de corte. Un último paso es asignar una carga eléctrica a cada bead, de esta forma preparamos la representación del cápside viral.

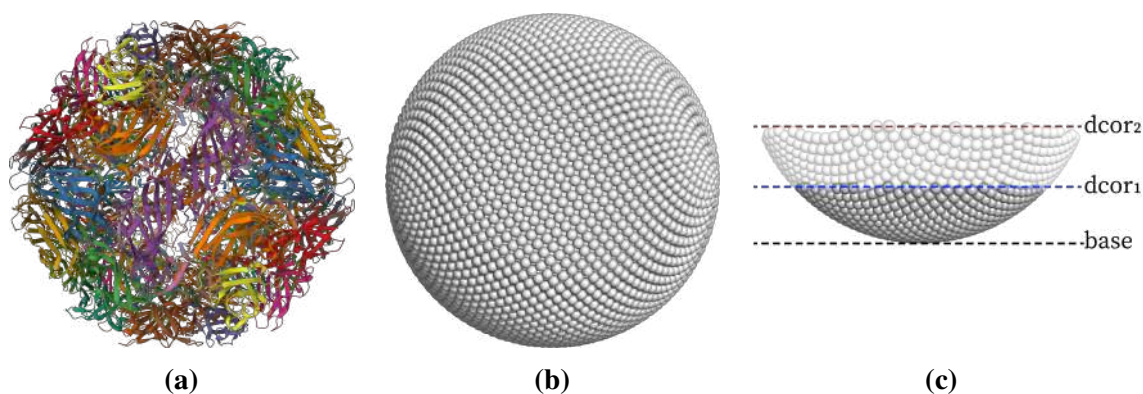


Figura 8: Representación de la simplificación que se realiza para la generación de las superficies. (a) Forma biológica de la a cápside viral del STMV ,(b) Forma simplificada de la a cápside viral del STMV, (c) Definición de la distancia de corte (dcor)

Como se a mencionado anteriormente tenemos las tres categorías de simetrías que se tomaron en cuenta para esta investigación, a continuación detallaremos los pasos realizados a cada una de estas para su simplificación y representación mediante beads.

4.3.2.1 Simetría Plana

La simetría plana representa una aproximación bidimensional del sistema, ideal para estudios donde se desea observar la interacción del ARN con superficies completamente extendidas. Esta simetría es particularmente útil para evaluar interacciones de adsorción y distribución del ARN en planos homogéneos.

Para generar la superficie plana, se tomó como referencia la distancia máxima entre dos átomos del ARN estudiado, tal como se muestra en la Figura 9a, Esta distancia máxima se divide entre el diámetro de los beads, lo que nos permite calcular la cantidad de beads de un lado de nuestra superficie, para finalmente generar la superficie plana cuadrada mostrada en la Figura 9b.

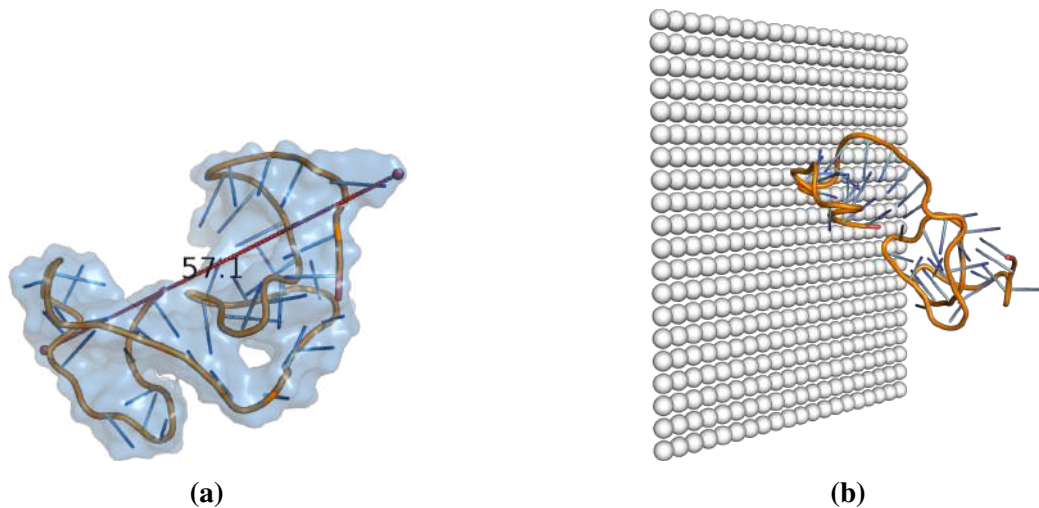


Figura 9: Esquema básico para la generación de superficies planas. (a) Determinación de la distancia máxima entre dos átomos del ARN_g. (b) Superficie plana rectangular generada a partir de la distancia máxima amplificada.

Para comprender mejor la influencia del área de la superficie plana en las interacciones, se escala la distancia máxima previamente calculada entre los átomos del ARN. Esta distancia se multiplica por un factor de escala, en nuestro caso tendremos dos tipos de consideraciones:

- Distancia máxima por 1.3, a la cual nos referiremos como **superficie plana base**.
- Distancia máxima por 2, lo que permite generar una superficie plana más grande con respecto a la primera, a esta consideración la llamaremos **superficie plana ampliada**.

El aumento del tamaño de la superficie tiene un impacto significativo en las interacciones entre el ARN y la superficie. Al multiplicar la distancia máxima entre los átomos del ARN por un factor de 1.3, garantizamos un margen adecuado para que el ARN interactúe con la superficie sin que las moléculas de ARN se vean limitadas a áreas pequeñas. Esto también permite una distribución más homogénea de las moléculas de ARN sobre la superficie, lo que puede influir positivamente en la formación de interacciones electrostáticas y la adsorción del ARN sobre la superficie.

Cuando se aumenta la distancia máxima por un factor de 2 (superficie plana ampliada), estamos ampliando aún más el área de interacción, lo que podría influir en la densidad relativa de los beads y, en consecuencia, en la energía de unión atractiva entre el ARN y la superficie. Este aumento del área genera un espacio más grande en el cual el ARN podría interactuar, pero también podría reducir la concentración de beads en un área dada. Es posible que, al mantener una densidad adecuada de beads alrededor del ARN, las interacciones sigan siendo efectivas, aunque más dispersas. Sin embargo, será necesario estudiar cómo este aumento del área afecta tanto a la densidad de beads como a las interacciones del ARN, ya que el mayor espacio disponible podría

modificar la orientación y la estructura del ARN, permitiendo una extensión más amplia de las moléculas y, potencialmente, alterando las interacciones entre el ARN y las proteínas asociadas a la superficie.

La diferencia de tamaños nos permite analizar el impacto del área en la interacción electrostática. Estas superficies son la base para posteriores comparaciones con las demás simetrías, por lo que tener claro cómo se generan y cómo influye el área en las interacciones es fundamental.

4.3.2.2 Simetría Esférica

La simetría esférica simplifica el cápside viral completo en una superficie tridimensional, permitiendo una representación isotrópica de la interacción entre el ARN y una superficie curva. A diferencia de las otras simetrías, en la simetría esférica no existe un eje definido de simetría, dado que la forma esférica es inherentemente homogénea en todas las direcciones. Esta simplificación es útil para capturar las características generales del cápside, mientras se reduce la complejidad asociada a su estructura detallada y se evita el uso de modelos más costosos computacionalmente, como los basados en una representación all-atom.

Una primera aproximación al cápside viral STMV es considerarlo como una esfera, ignorando su compleja simetría icosaédrica. Este modelo simplificado facilita la representación y el análisis, pero sigue proporcionando una descripción útil del comportamiento general del sistema. Este enfoque se puede entender como una aproximación coarse-grained (CG), en la cual se emplean unidades representativas como los beads (esferas de un tamaño dado) para reducir la cantidad de información a procesar.

En este caso, el radio interno del cápside viral, que es de 56 [Å], según datos de ViperPDB, se utiliza como base para calcular el área de la superficie esférica, resultando en un valor de 39408.14 [Å²], el siguiente paso es poblar con beads de la manera más ordenada y simétrica posible toda esta área, lo cual se logró con una cantidad de 3445 beads, lo que nos deja con una representación de 11.44 [Å²] por bead para esta simetría. El resultado de esta distribución de beads se muestra en la Figura 10.

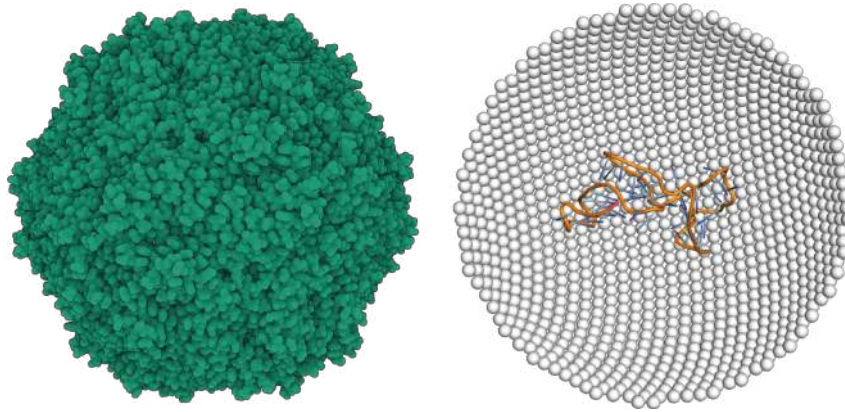


Figura 10: Superficie esférica generada a partir del radio interno del STMV, del lado izquierdo se aprecia el cápside visualizado de manera ilustrativa y del lado derecho la simplificación lograda con beads.

Este modelo es una representación más simplificada que la basada en la simetría icosaédrica, ya que no involucra la complejidad geométrica asociada a los ejes de simetría específicos (2-fold, 3-fold, y 5-fold) presentes en el cápside real. El siguiente paso es realizar ajustes para obtener una representación más fiel de la geometría del capsid viral que en este caso es una geometría icosaédrica.

El código implementado para distribuir los beads sobre la superficie de una esfera grande busca obtener una disposición simétrica y ordenada, evitando solapamientos entre beads. Para lograr esto, se utiliza un método basado en la secuencia de Fibonacci, que garantiza una distribución eficiente y homogénea de los puntos sobre la esfera.

La distribución de los puntos se realiza mediante el cálculo de las coordenadas esféricas (ϕ y θ) para cada bead, donde ϕ es el ángulo polar y θ es el ángulo azimutal. El índice de cada bead se ajusta de la forma $i + 0,5$ para mejorar la uniformidad de la distribución. La fórmula utilizada para calcular el ángulo polar ϕ es:

$$\phi = \arccos \left(1 - \frac{2i}{\text{num_points}} \right)$$

Este cálculo asegura que los puntos estén distribuidos a lo largo de la superficie de la esfera, evitando una acumulación cerca de los polos. Por otro lado, el ángulo azimutal θ se calcula de acuerdo con la fórmula:

$$\theta = \pi \left(1 + \sqrt{5} \right) \cdot i$$

Donde $\sqrt{5}$ proviene de la constante áurea, garantizando que los puntos no se amontonen en

ciertas áreas de la esfera y se distribuyan de manera equitativa.

Una vez que se han calculado los ángulos ϕ y θ , se realiza la conversión a coordenadas cartesianas utilizando las siguientes ecuaciones:

$$x = R \cdot \sin(\phi) \cdot \cos(\theta)$$

$$y = R \cdot \sin(\phi) \cdot \sin(\theta)$$

$$z = R \cdot \cos(\phi)$$

Donde R es el radio del cápside. Estas fórmulas permiten ubicar cada bead en la superficie de la esfera grande de forma precisa.

La distribución obtenida gracias a esta técnica es altamente simétrica, ya que la secuencia de Fibonacci y la constante áurea aseguran que los puntos estén distribuidos de manera homogénea, minimizando la posibilidad de solapamientos. Esta metodología es comúnmente utilizada en simulaciones y visualizaciones 3D, ya que permite una cobertura uniforme de la superficie esférica, lo cual es crucial para aplicaciones en las que se requiere una distribución precisa de objetos en una esfera.

Además, el cálculo del número de puntos necesarios para cubrir la superficie de la esfera se realiza en función de las áreas de la esfera y los beads. Este cálculo se expresa como:

$$\text{num_points} = \frac{4\pi R_{\text{esfera}}^2}{\pi r_{\text{bead}}^2}$$

Lo que permite determinar la cantidad de beads necesarias para cubrir de manera eficiente la esfera grande sin solapamientos y de la manera más simétrica posible.

4.3.2.3 Simetrías Icosaédricas

La geometría icosaédrica se aproxima mejor a la morfología real del cápside viral del STMV. Dado que el cápside presenta puntos de simetría característicos (2-fold, 3-fold y 5-fold), que se ajustan perfectamente con la geometría icosaédrica, lo cual la hace idónea para estudiar cómo las distintas orientaciones del ARN interactúan con estos puntos.

Para la generación de esta simetría, se consideró inicialmente el radio interno del cápside viral (56 [Å]). A continuación, se calculó la longitud de las aristas del icosaedro, necesaria para que el radio interno de la geometría sea igual a la del cápside, una vez calculada la arista (58.88 [Å]),

determinamos el área del icosaedro dando como resultado 30025.76 \AA^2 , poblamos esta área con beads de la manera más ordenada y simétrica posible, la cantidad necesaria para cubrir esta área es de 1962 beads, lo que da un área representativa por bead de 15.30 \AA^2 . Tras obtener la estructura icosaédrica completa, se procedió a rotarla para identificar las simetrías características 2-fold, 3-fold y 5-fold, las cuales se observan en la Figura 11.

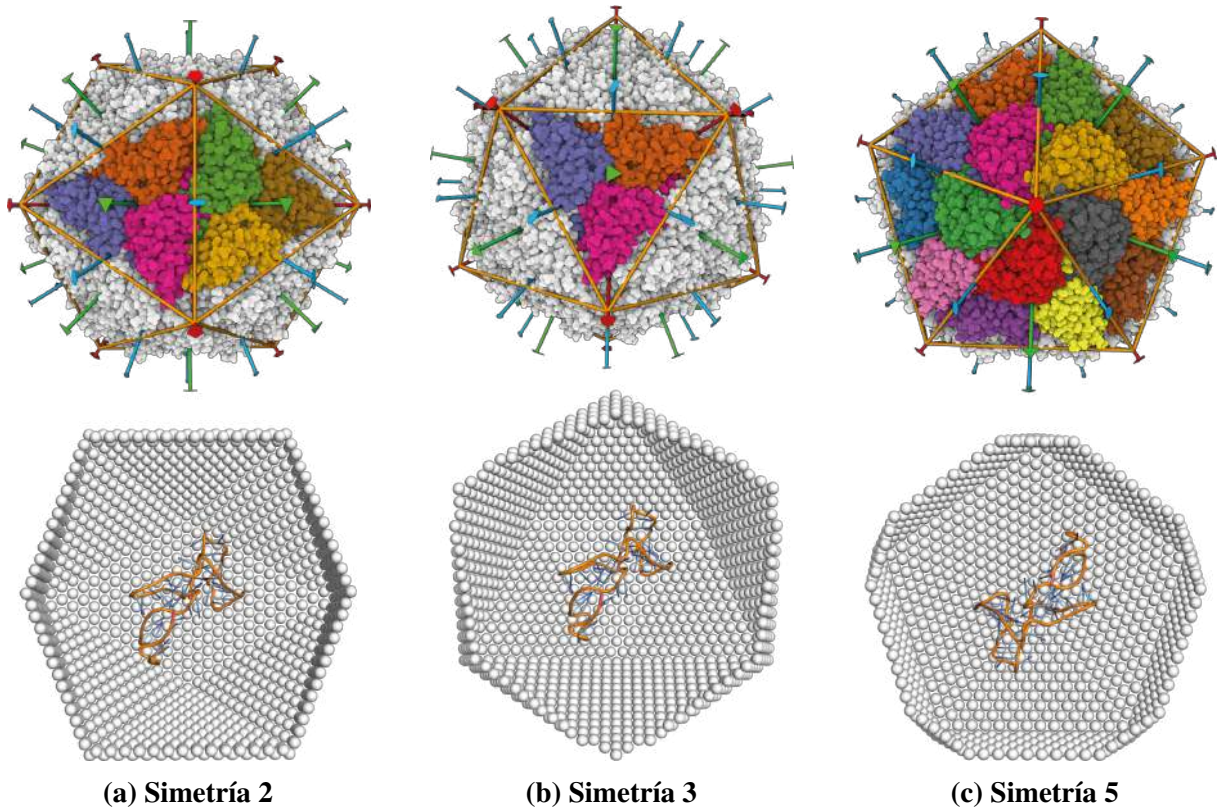


Figura 11: Esquema los tres ejes de simetría específicos. (a) Simetría 2: Representa los puntos donde dos planos de simetría se cruzan, formando un eje de simetría doble ,(b) Simetría 3: Corresponde a los puntos de intersección de tres planos de simetría, formando un eje triple ,(c) Simetría 5: Corresponde a los puntos de cinco planos que se intersectan en un eje quíntuple.

Estas simplificaciones geométricas permiten comparar la interacción del ARN con superficies que varían desde lo simple a lo complejo, facilitando el análisis termodinámico y la comprensión de los efectos de la geometría en la estabilidad del sistema, además de brindarnos mayor control al momento de tomar en cuenta áreas determinadas ya que al utilizar distancias de corte podremos generar distintas áreas para una misma simetría.

La generación de una geometría icosaédrica rellena por beads se llevó a cabo utilizando un enfoque basado en la estructura del icosaedro. Este proceso fue realizado con el objetivo de obtener una disposición ordenada y simétrica de los beads sobre la superficie icosaédrica, garantizando una distribución precisa y coherente de los puntos en la superficie. Un icosaedro es un poliedro compuesto por 12 vértices, 30 aristas y 20 caras triangulares. La disposición

geométrica de estos vértices se realiza utilizando la relación áurea ($\phi = \frac{1+\sqrt{5}}{2}$), lo cual garantiza una simetría perfecta en la estructura del icosaedro. Los vértices del icosaedro son inicialmente ubicados en una esfera de radio unitario y escalados para ajustarse al tamaño deseado de la cápside, en este caso, un radio de 56 Å. El código utiliza esta relación para generar las coordenadas de los vértices de forma precisa y balanceada.

La generación de la superficie icosaédrica se logra mediante una técnica de subdivisión, donde las caras del icosaedro son subdivididas en un número determinado de puntos. Cada cara triangular del icosaedro se divide en una malla de puntos, creando una superficie suave sobre la cual se distribuyen los beads. Este proceso se realiza interpolando puntos dentro de cada triángulo definido por los vértices de la cara, utilizando la interpolación lineal para calcular las coordenadas de los puntos intermedios. El número de divisiones por cara está determinado por el parámetro n_{points} , el cual se ajusta en función del tamaño de los beads y la densidad deseada de puntos.

Una vez generada la superficie icosaédrica, se distribuyen los beads sobre ella. El código proporciona un método para crear una disposición ordenada de los beads mediante el uso de un número definido de puntos en cada cara triangular, siguiendo la geometría de la superficie icosaédrica. Este proceso asegura que los beads estén distribuidas uniformemente en la superficie, maximizando el aprovechamiento del área disponible. Para garantizar que la distribución de los beads sea lo más simétrica posible, se aplican rotaciones y traslaciones a la geometría del icosaedro. Esto permite que la disposición de los beads se ajuste perfectamente a las simetrías del icosaedro, manteniendo un patrón de distribución regular y equidistante. Las rotaciones se realizan mediante matrices de rotación 3D sobre los ejes x , y y z , lo que permite rotar la estructura icosaédrica en tres dimensiones sin perder su simetría. Dependiendo de la simetría deseada, se aplican transformaciones específicas de traslación y rotación, lo que asegura que los beads estén distribuidas de manera ordenada en la superficie.

La clave para lograr una distribución ordenada y simétrica de los beads radica en la correcta subdivisión de las caras del icosaedro y la aplicación precisa de las transformaciones geométricas. El número de puntos en cada cara está determinado por la longitud de la arista del icosaedro y el tamaño de los beads. De esta manera, se asegura que los beads no se superpongan y que la distribución mantenga una alta regularidad. El código también emplea un algoritmo para generar las aristas del icosaedro, lo que contribuye a definir los límites entre las diferentes regiones de la superficie, garantizando que la malla de puntos sea consistente y no presente irregularidades. Al utilizar una malla densa y bien definida, los beads se colocan en posiciones específicas sobre la superficie icosaédrica, garantizando un alineamiento perfecto con la geometría subyacente.

El resultado de este proceso es una geometría icosaédrica de alta simetría, con una distribución de esferas que sigue de manera ordenada la superficie del icosaedro. Este enfoque asegura que los

beads estén posicionadas de forma regular, maximizando la eficiencia del espacio y manteniendo la estética y la simetría características de la geometría icosaédrica. En resumen, la combinación de la subdivisión geométrica precisa de las caras del icosaedro, las transformaciones de rotación y traslación aplicadas a la estructura y la distribución ordenada de los beads permite obtener una geometría icosaédrica rellena de beads de manera altamente ordenada y simétrica, adecuada para su uso para la simulación de cápsides virales.

4.3.3. Consideraciones respecto al grosor del cápside viral

Para realizar simulaciones precisas del cápside viral, es esencial considerar la carga total del mismo. El grosor del cápside influye directamente en la distribución de esta carga, lo que requiere un cálculo detallado. Para abordar este problema, se utilizó como punto de partida un archivo PDB correspondiente al STMV, el cual fue convertido una sola vez al formato PQR mediante la herramienta PDB2PQR [3]. En este proceso inicial, se aplicó el campo de fuerza AMBER, asignando las cargas parciales y radios atómicos a los átomos del cápside bajo condiciones estándar, considerando un pH de 7. Este archivo PQR obtenido contiene las coordenadas y las cargas atómicas del cápside, y se utiliza de manera constante a lo largo de las simulaciones. La suma de las cargas parciales de todos los átomos resultó en un valor total de 420 [e^-].

Es importante destacar que el pH influye significativamente en la carga de los componentes del cápside y del ARN. A pH 7, el ARN, que contiene grupos fosfato débiles, mantiene estos grupos protonados, lo que resulta en una carga negativa estable. Por otro lado, el cápside, que está compuesto principalmente por proteínas que incluyen grupos básicos como lisina y arginina, presenta una carga positiva. Esta carga positiva es fundamental para la interacción con el ARN negativo, ya que la afinidad electrostática entre ambos es elevada.

Cuando el pH aumenta, el entorno se vuelve más básico. En este caso, los grupos fosfato del ARN se mantienen desprotonados, lo que no altera significativamente la carga negativa del ARN, ya que estos grupos permanecen con una carga negativa incluso a pH altos. En cuanto al cápside, los grupos básicos de las proteínas (como la lisina y la arginina) pueden perder protones, reduciendo así su carga positiva. Esto disminuye la afinidad electrostática entre el ARN y el cápside, lo que podría afectar la estabilidad y las interacciones de unión del cápside con el material genético.

Por el contrario, cuando el pH disminuye y el entorno se vuelve más ácido, los grupos fosfato del ARN permanecen desprotonados y cargados negativamente, sin que la carga global del ARN se vea afectada significativamente. Sin embargo, en el caso del cápside, los grupos básicos de las proteínas estarán protonados, adquiriendo una carga positiva, lo que aumenta la afinidad electrostática entre el ARN y el cápside. Además, algunos grupos ácidos en el cápside, como el ácido glutámico o aspártico, pueden ganar protones, lo que disminuye su carga negativa,

haciendo que la superficie del cápside sea aún más positiva y favoreciendo la interacción con el ARN.

Aunque esta carga total describe globalmente al cápside viral, el impacto del grosor del mismo sobre la distribución de carga merece especial atención. En particular, se asume que los átomos ubicados en las regiones externas del cápside no interactúan de manera equivalente a los localizados en el interior. Estos últimos, cuyas “colas” están orientadas hacia el ARN, son responsables de interacciones directas con el material genético 12a. Por este motivo, se desarrolló un procedimiento para analizar las cargas totales en función del grosor del cápside [44, 45].

Dado que el STMV presenta una simetría icosaédrica, la carga total se distribuye uniformemente entre las 20 caras del icosaedro, resultando en una carga de aproximadamente $21 [e^-]$. Para validar este supuesto, se tomaron en cuenta los aminoácidos correspondientes al triángulo isósceles de una cara y se realizó la suma de las cargas atómicas. Los resultados confirmaron que la distribución es consistente, como se ilustra en la Fig. 12a, que muestra una de las caras aisladas junto con el valor de carga total obtenido.

Posteriormente, se definió un plano de referencia para mapear el grosor del cápside desde el interior hacia el exterior, estimándose un grosor total de $48 [\text{Å}]$, según se presenta en la Fig. 12b. Este plano fue desplazado progresivamente en pasos de $5 [\text{Å}]$, y en cada paso se calculó la carga acumulada de los átomos localizados por debajo del plano. La relación entre la carga acumulada y el grosor del cápside y , a partir de estos datos, se realizó una regresión lineal todo esto se representa en la Fig. 12c.

Para modelar la variación de la carga acumulada con respecto al grosor, multiplicando el valor de carga acumulada de una cara (derivado de la regresión) por las 20 caras del icosaedro, se determinó la carga total del cápside para diferentes valores de grosor. Este análisis se centró en grosores específicos de 5, 10, 15 y $20 [\text{Å}]$, seleccionados en función de su relevancia en las interacciones críticas entre el ARN y el cápside, que a su vez concuerdan con la distancia ocupada por las “colas”.

Además, se llevó a cabo un análisis de las áreas involucradas. Para aproximar el área total del cápside, se asumió una forma esférica con un radio de $56 [\text{Å}]$, obtenido de VIPERdb. Este área permitió calcular la carga proporcional al área del cápside y su redistribución en superficies planas, para ello distribuimos esta carga proporcional entre los 900 beads que componen la simetría plana. Este procedimiento nos proporciona la carga por bead, un valor crucial que se muestra en la Fig. 12c y que se utilizará como referencia para las simulaciones con superficies planas.

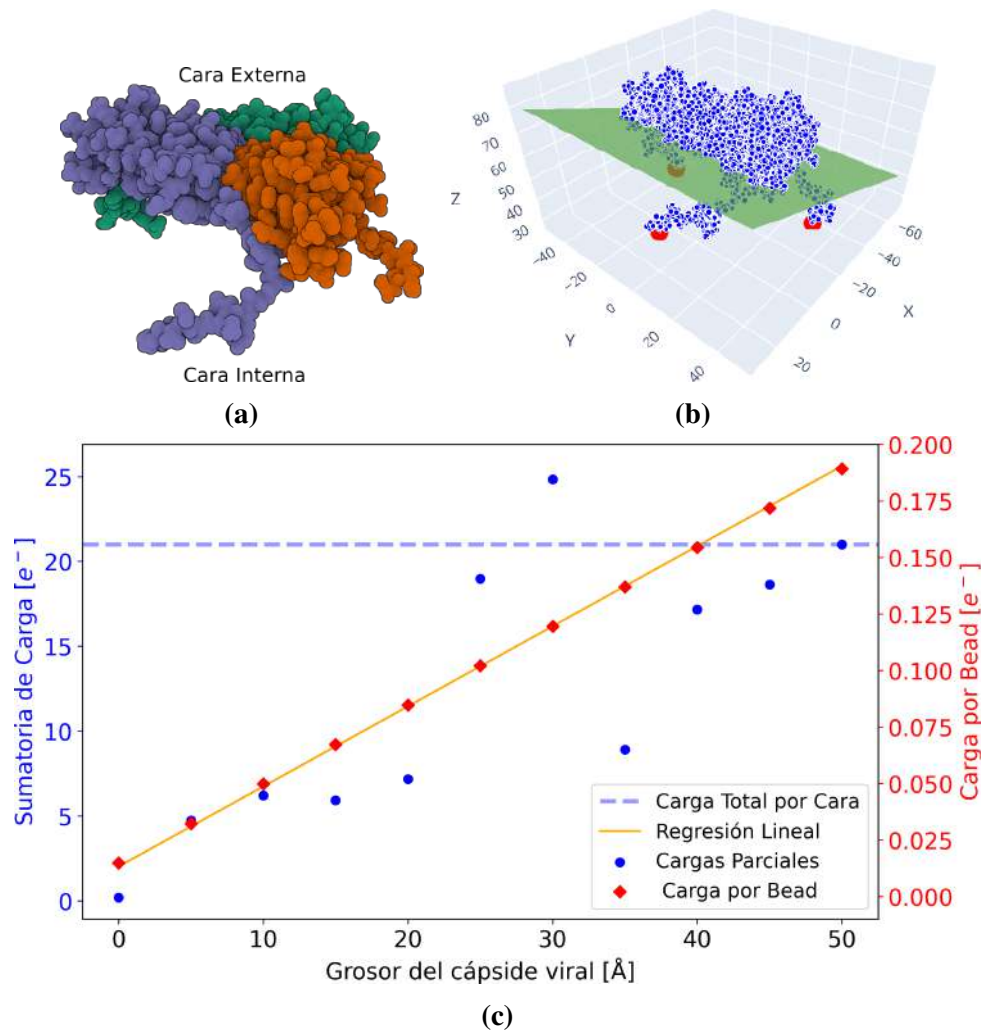


Figura 12: (a) Representación ilustrativa de los aminoácidos aislados para una sola cara del icosaedro, (b) Visualización del proceso de sumatoria de cargas respecto al grosor del cápside, (c) Resultados obtenidos a partir del análisis del grosor del cápside viral.

4.4. Escenarios a considerar

Como hemos mencionado el considerar la carga total constante es fundamental para nuestra investigación, por lo que ahora que tenemos el valor de la carga por bead, podemos cambiar con el área icosaedro moviendo la distancia de corte, esto con la idea de mantener el área constante independientemente de la simetría, lo que da origen al primer escenario que consideramos, denominado **área constante**. Al mantener el área constante entre las diferentes simetrías y sumado a que tenemos la carga total constante origina que la densidad de carga σ constante, ya que esta se define como área dividido entre carga total.

Esto nos lleva a plantearnos el escenario dos, ya que si por una parte estamos cambiando con la distancia de corte, que pasa si esta vez mantenemos la distancia de corte constante Fig. 13. Al

mantener una distancia de corte constante lograremos una variación del área entre las diferentes simetrías, al tener áreas variables tendremos distinta cantidad de beads, ahora bien, para mantener la premisa de que la carga total sea constante nos vemos en la obligación de cambiar las cargas por bead, esto garantiza que la carga total siga siendo constante, todas estas consideraciones dan lugar al llamado escenario de **área variable**. Estos dos escenarios propuestos aplicados a cada simetría, junto con el cambio de orientación del ARN nos brindaran un mejor entendimiento del rol que juega cada aspecto que estamos considerando, para poder entender y revisar el estado del arte sobre las interacciones electrostáticas.

En ambos escenarios, la carga total se mantiene constante, lo que asegura una base común para comparar los dos escenarios. En cada escenario se consideran tanto las superficies planas bases y las superficies planas amplificadas como punto de comparación con ambos tipos de ARN, así también se toma en cuenta el grosor del cápside viral STMV, esto generan distintos casos de un mismo escenario. Un resumen de los casos planteados se encuentra en las tablas 15, 16 y 17 del apéndice, los mismos serán explicados y detallados en la siguiente sección.

5. Resultados y Discusión

5.1. Escenario 1: Área constante

5.1.1. Modelado del sistema RNA-cápside

En este escenario, consideramos el área de la superficie plana, ya sea en su versión base o amplificada, como equivalente a la del icosaedro. Asumimos que el área representativa de cada bead en ambas simetrías es idéntica y, bajo este supuesto, contabilizamos la cantidad de beads presentes en la simetría plana. A continuación, igualamos esta cantidad de beads con la correspondiente en las simetrías icosaédricas. Para realizar esta comparación, utilizamos el gráfico mostrado en la figura 13, donde se determina la cantidad de beads en la superficie plana en el eje “Cantidad de Bead”, y luego se observa la distancia de corte a la que se encuentra esa cantidad de beads en las simetrías respectivas. Dado que las distancias de corte se miden en pasos de 1 [Å], seleccionamos el valor más cercano al deseado.

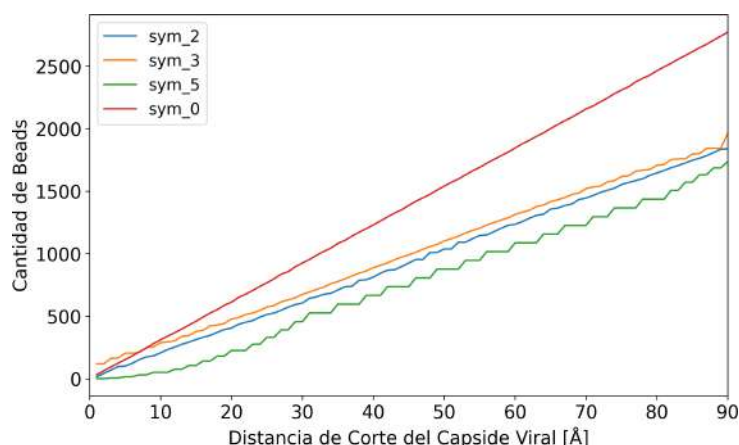


Figura 13: Esquema que muestra la relación entre la cantidad de beads respecto a la distancia de corte (dcor) del cápside viral, para las simetrías icosaédricas y esférica.

Para la simetría esférica (sym 0), el área representativa de cada bead disminuye, lo que implica la necesidad de un mayor número de beads. Esto obliga a realizar un ajuste para igualar la cantidad de beads con la de la simetría plana. La simetría 5 es particularmente sensible, ya que existe un cambio abrupto en la cantidad de beads entre distancias de corte. A pesar de esto, seleccionamos la distancia de corte más adecuada para el ajuste, estas distancias de corte están detalladas en la tabla 15, y la tabla 16 que muestra la cantidad de beads generadas por cada distancia de corte para todos los casos analizados, ambas en el anexo. Como resultado, obtenemos la gráfica presentada en la figura 14.

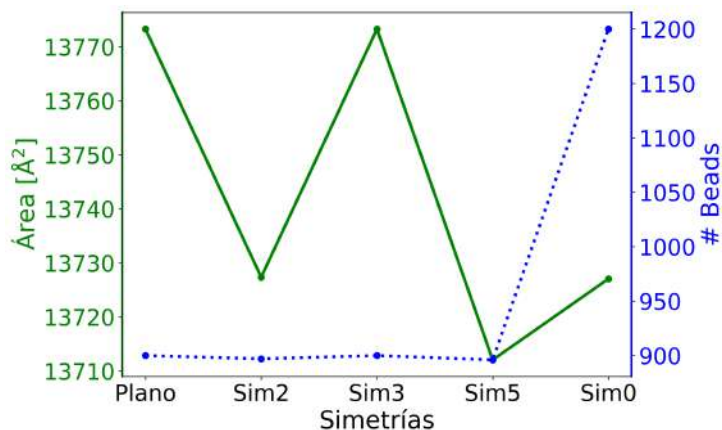


Figura 14: Esquema que muestra el área a considerar de cada simetría y su relación con la cantidad de beads, para el escenario área constante considerando el ARN_g amplificado, a un grosor del cápside de 20 [Å].

En la figura 14, se observa una leve variación entre las áreas, lo cual era esperado. De hecho, como mencionamos previamente, la simetría 5 es la más sensible, lo que se refleja claramente en la gráfica. Este comportamiento se debe a que el criterio de la distancia de corte limita la posibilidad de realizar un ajuste más preciso; no obstante, se tomo consideraciones especiales para poder satisfacer que el área sea lo más constante posible. A partir de estas consideraciones, obtenemos las simetrías que analizaremos, un ejemplo claro de esta variación de la distancia de corte se puede observar en en la figura 15, las cuales se obtuvieron con la herramienta de visualización molecular PyMol [46].

Finalmente, asignamos la carga por bead, obtenida del análisis del grosor del cápside del STMV, mostrado en la figura 12c. De esta forma, mantenemos constante la carga total, el detalle de las cargas por beads utilizadas para todos los casos se encuentra en la tabla 17. Dado que en este escenario las áreas permanecen casi constante, la densidad de carga superficial (σ), se mantiene de la misma manera, constante, a lo largo de los diferentes grosores considerados, los detalles de σ se encuentran en la tabla 18.

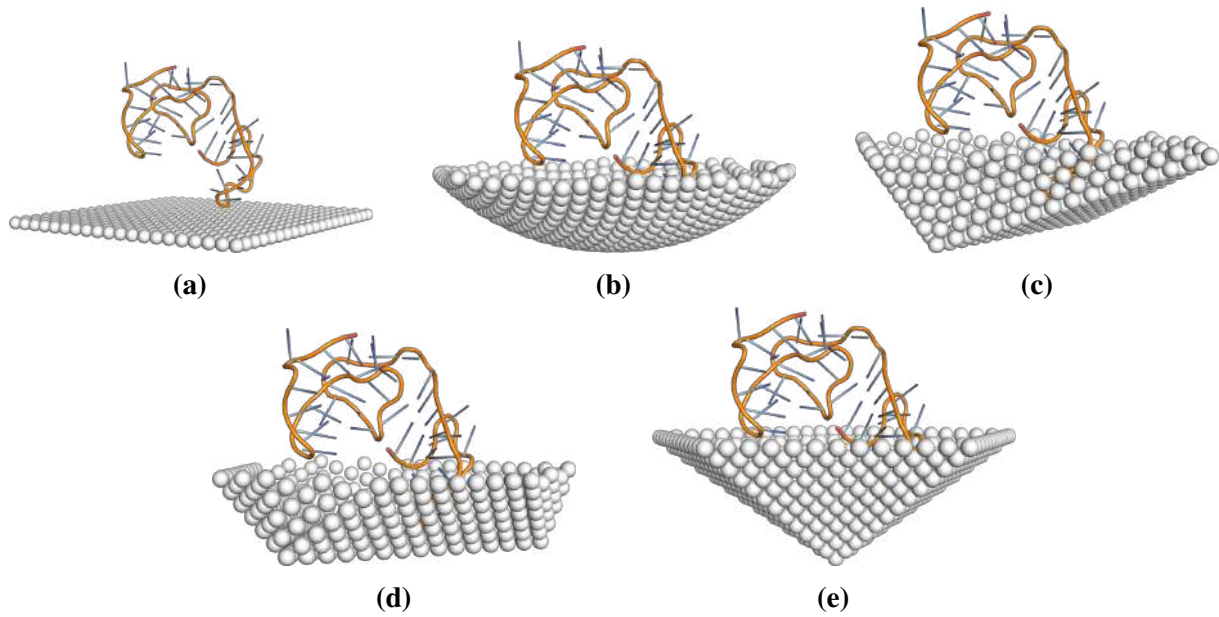


Figura 15: Esquemas representando las distintas simetrías para el escenario de áreas constantes, tomadas de referencias el ARN_g base, para un grosor del cápside de $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana base ,(b) Simetría esférica (Sim0), $dcor = 17 [\text{Å}]$,(c) Simetría 2 , $dcor = 20 [\text{Å}]$,(d) Simetría 3, $dcor = 16 [\text{Å}]$,(e) Simetría 5, $dcor = 28 [\text{Å}]$.

Este escenario toma como referencia la simetría plana, que se genera de distintas formas: a partir de la distancia máxima entre dos segmentos de ARN (RNA_g y RNA_p), ya sea en su consideración base o en la consideración amplificada. Esto genera cuatro casos que, a su vez, se modifican según el grosor del cápside del STMV (5, 10, 15 y $20 [\text{Å}]$), lo que da lugar a 16 casos de estudio. En cada uno de estos casos, el ARN se coloca en todas las orientaciones posibles (2701 orientaciones) y se procede a simular cada ensamble RNA-cápside.

5.1.2. Exploración del Comportamiento RNA-Cápside

Los resultados de estas simulaciones fueron estudiados y analizados para los 16 casos de este escenario, nos enfocamos en mostrar uno de estos casos a modo de ilustrar el análisis que se realiza para la totalidad de casos los cuales pueden ser visualizados en una interfaz de [Google Colab](#).

El caso que presentamos en esta sección es el del RNA_g , considerando la simetría plana amplificada, con un grosor de $20 [\text{Å}]$ del cápside de STMV. El resultado de las simulaciones nos brinda la energía de unión de este caso la cual se ilustra el mapeo realizado en la figura 16.

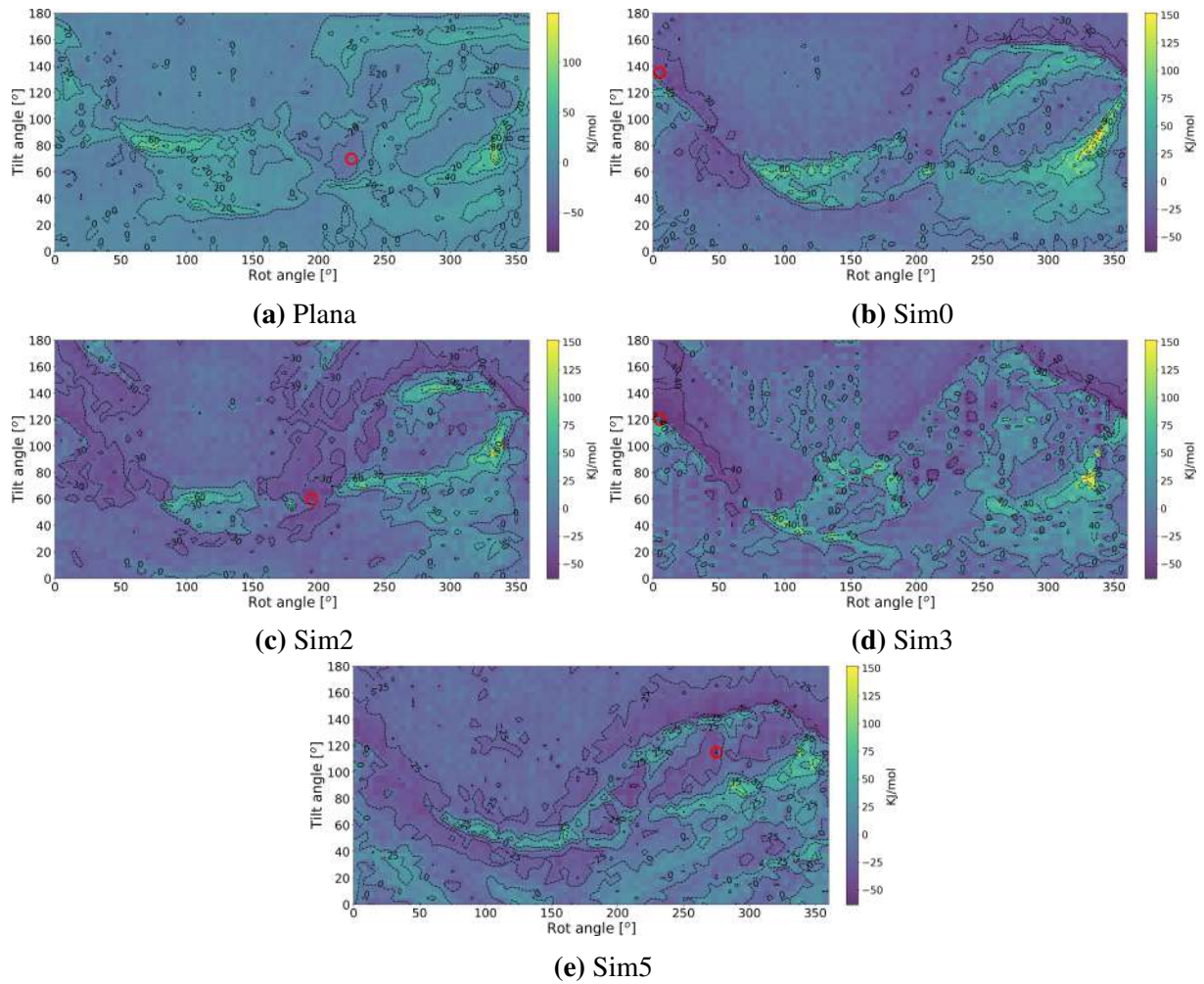


Figura 16: Mapeados de energía de unión, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas constantes, manteniendo la carga total en un valor de $76.22[e^-]$, usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g , el círculo rojo indica la posición con la energía mínima de unión. (a) Simetría plana, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$, (b) Simetría esférica (Sim0), $dcor = 39 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0635[e^-]$, (c) Simetría 2, $dcor = 44 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$, (d) Simetría 3, $dcor = 41 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$, (e) Simetría 5, $dcor = 52 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$.

Ahora bien, podemos observar que la energía de unión, pese a que el ARN tiene carga negativa y la superficie carga positiva, no muestra una interacción atractiva en todas las posiciones posibles. Este comportamiento resalta la complejidad de las interacciones electrostáticas en función de la geometría y orientación. Para profundizar en este análisis, descartamos las contribuciones de energía repulsiva y seccionamos la energía atractiva en cinco segmentos, permitiendo una evaluación más detallada. Los resultados de este análisis se presentan en las gráficas de la figura 17.

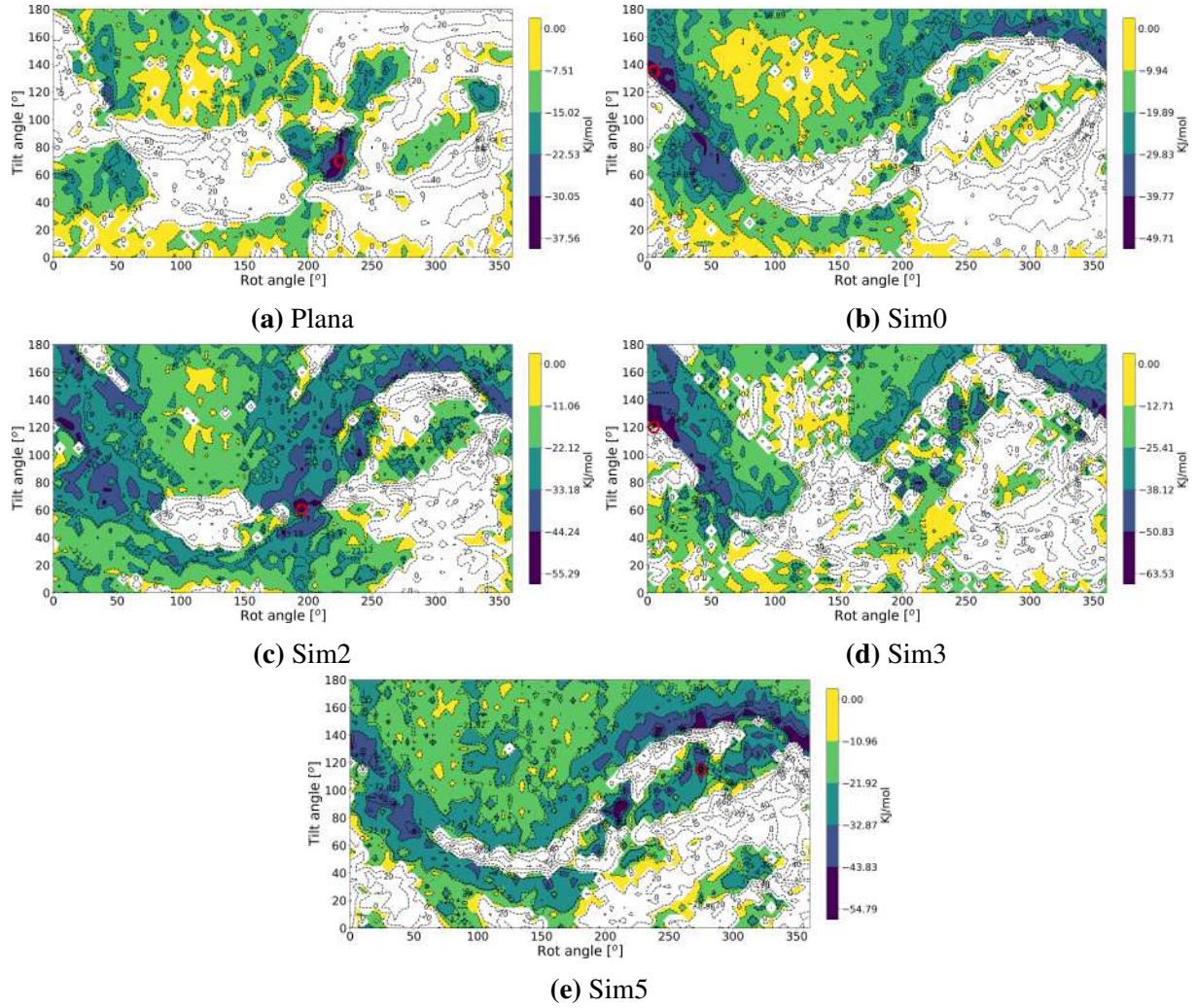


Figura 17: Mapeados de energía de unión atractiva, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas constantes, manteniendo la carga total en un valor de $76.22[e^-]$, usando como referencia la simetría plana amplificadas, usando como referencia el RNA_g amplificado, considerando un grosor del cápside de $20[\text{Å}]$, quitando la parte repulsiva de la figura 16, el círculo rojo la posición con la mínima energía de unión. (a) Simetría plana, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$, (b) Simetría esférica (Sim0), $d_{cor} = 39 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0635[e^-]$, (c) Simetría 2, $d_{cor} = 44 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,0847[e^-]$, (d) Simetría 3, $d_{cor} = 41 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$, (e) Simetría 5, $d_{cor} = 52 [\text{Å}]$, con $q_{bead} = 0,00847[e^-]$.

En la Figura 17, se observa que la geometría de cada simetría tiene un papel fundamental en las interacciones, ya que influye en las zonas atractivas y en cómo varía el valor de la energía mínima de unión. Este comportamiento depende de la simetría, como se resume en la Tabla 1, que presenta los valores de energía correspondientes a cada segmento para las distintas simetrías. Para facilitar la identificación de la cantidad de posiciones en cada segmento de la gráfica, realizamos un conteo, cuyos resultados se muestran en la Tabla 2. Para ver las posiciones en la que la energía de unión es mínima pueden revisar la tabla 19 del anexo.

Sim	0-20%	20-40%	40-60%	60-80%	80-100%
Plana	0.00→-7.51	-7.51→-15.02	-15.02→-22.53	-22.53→-30.05	-30.05→-37.56
Sim0	0.00→-9.94	-9.94→-19.89	-19.89→-29.83	-29.83→-39.77	-39.77→-49.71
Sim2	0.00→-11.06	-11.06→-22.12	-22.12→-33.18	-33.18→-44.24	-44.24→-55.29
Sim3	0.00→-12.71	-12.71→-25.41	-25.41→-38.12	-38.12→-50.83	-50.83→-63.53
Sim5	0.00→-10.96	-10.96→-21.92	-21.92→-32.87	-32.87→-43.83	-43.83→-54.79

Tabla 1: Tabla de los valores de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas constantes, para cada segmento en las diferentes simetrías, representados en la barra de color de la figura 17. Los valores están expresados en [KJ/mol] y permiten visualizar cómo la geometría influye en las zonas atractivas y cómo estas varían según la simetría. La distribución de las energías refleja las diferencias en los patrones de interacción atractiva a través de las diversas configuraciones geométricas.

Sim	0-20%	20-40%	40-60%	60-80%	80-100%	Sum
Plana	661 24.47	612 22.66	265 9.81	35 1.30	9 0.33	1582 58.57
Sim0	558 20.66	685 25.36	449 16.62	122 4.52	25 0.93	1839 68.09
Sim2	325 12.03	754 27.92	781 28.98	286 10.59	32 1.18	2178 80.64
Sim3	525 19.44	691 25.58	493 18.25	153 5.66	32 1.18	1894 70.12
Sim5	358 13.25	821 30.40	644 23.84	205 7.59	43 1.59	2071 76.68

Tabla 2: Tabla de distribución de las posiciones dentro de cada segmento de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas constantes, para las distintas simetrías. En esta tabla se muestra el número de posiciones con energía de unión negativa dentro de cada intervalo de energía, junto con el porcentaje calculado a partir del total de posiciones (2701), lo cual permite normalizar los datos y facilitar su comparación entre los diferentes simetrías o escenarios.

De la Tabla 1, se puede observar cómo están divididos los segmentos mostrados en la Figura 17. A partir de esto, se concluye que el orden de mayor energía de unión atractiva está encabezado por la simetría 3, seguida de la simetría 2, luego la simetría 5, luego la simetría 0, y finalmente la simetría plana. Por otro lado, al observar la Tabla 2, se nota una distinción en el orden de las posiciones con energía de unión atractiva, comparado con la Tabla 1. En esta tabla, la simetría 2 lidera en términos de cantidad de posiciones, seguida por la simetría 5, la simetría 3, la simetría 0 y, finalmente, la simetría plana. Además, se puede analizar cómo cambia la cantidad de posiciones en cada segmento: en el primer segmento (0-20%), la simetría plana tiene la mayor cantidad de posiciones con energía de unión negativa, seguida por la simetría esférica. En el segundo segmento (20-40%), la simetría 5 encabeza, seguida de la simetría 2. En el siguiente segmento (40-60%), la simetría 2 lidera, seguida de la simetría 5. En el segmento (60-80%), la simetría 2 sigue siendo predominante, seguida de la simetría 5. Finalmente, en el segmento (80-100%), la simetría 5 lidera, seguida de la simetría 2 y la simetría 3, las cuales tienen la misma cantidad de posiciones.

Es evidente que, cuando las energías de unión atractiva no son tan altas, no hay un orden estricto

en todos los segmentos. Sin embargo, a medida que la energía de unión atractiva aumenta, los valores tienden a seguir el orden observado en la Tabla 1 aunque no es exactamente el mismo ya que existe dos simetrías que no cumplen con esta premisa. A continuación, para cada segmento de las distintas simetrías, sumamos las energías de unión, cuyos resultados se presentan en la Tabla 3, con el objetivo de analizar el aporte total por segmento de cada simetría.

Sim	0-20%	20-40%	40-60%	60-80%	80-100%	Sum	Norm
Plana	-2671.87	-6645.80	-4745.40	-866.87	-266.89	-15196.84	0.31
Sim0	-3086.39	-10084.05	-10888.84	-4096.27	-1013.84	-29169.39	0.60
Sim2	-2054.72	-13072.13	-21236.28	-10659.08	-1462.62	-48484.84	1.00
Sim3	-3305.94	-13234.25	-15276.27	-6558.90	-1683.93	-40059.28	0.83
Sim5	-2208.11	-13689.99	-17161.39	-7635.26	-1974.19	-42668.97	0.88

Tabla 3: Tabla que muestra la suma total de las energías de unión atractiva por segmento y por simetría de cada posición del escenario de áreas constantes. En esta tabla se muestra la energía total de unión por segmento para cada simetría, facilitando la observación de cómo la energía total varía entre los segmentos de cada simetría, especialmente a medida que la energía de unión atractiva aumenta, datos expresados en [KJ/mol].

De la Tabla 3, como era de esperarse, el orden de la columna Sum coincide con el de la Tabla 1. Además, como se anticipaba, al haber un mayor número de posiciones en los segmentos con energía de unión atractiva más baja, la energía total de unión en esos segmentos es mayor, disminuyendo conforme se avanza hacia los segmentos de mayor energía. Ahora bien, al analizar cada segmento individualmente: en el primer segmento (0-20%), predomina la simetría 3, seguida de la simetría 0; en el segmento (20-40%), predomina la simetría 5, seguida de la simetría 3; en el segmento (40-60%), predomina la simetría 2, seguida de la simetría 5; en el segmento (60-80%), la simetría 2 sigue siendo predominante, seguida de la simetría 5; y en el segmento (80-100%), predomina la simetría 3, seguida de la simetría 5.

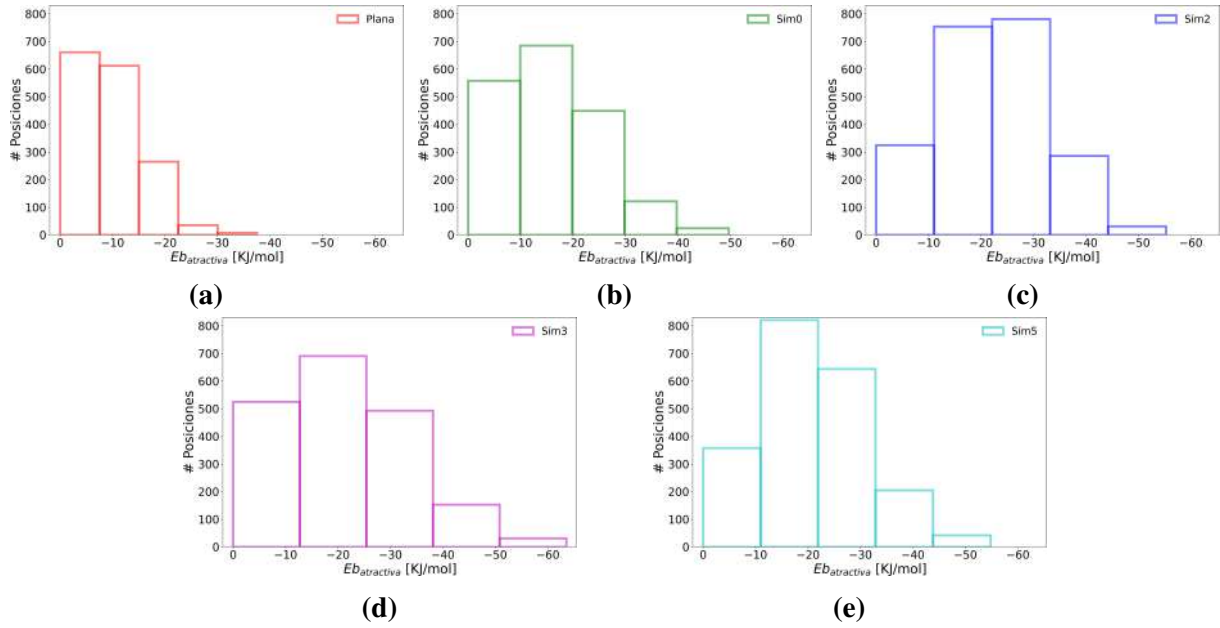


Figura 18: Distribución del número de posiciones en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas constantes, según lo mostrado en la figura 17 y resumido en la tabla 2. Cada gráfico presenta la cantidad de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g amplificado, considerando el grosor del cápside a 20[Å]. (a) Simetría plana amplificada, (b) Simetría esférica, dcor = 39 [Å], (c) Simetría 2, dcor = 44 [Å], (d) Simetría 3, dcor = 41 [Å], (e) Simetría 5, dcor = 49 [Å].

Es importante destacar que, en esta tabla, prevalece la simetría con el mayor número de beads en el segmento correspondiente, lo que tiene cierta relación con los valores de energía de unión atractiva, pero con un enfoque mayor hacia la cantidad de beads. Otro aspecto relevante es la representatividad de los segmentos. Sabemos que, mientras mayor sea la energía de unión atractiva, mayor será la probabilidad de encontrar el ARN en esa configuración. En este sentido, podríamos enfocarnos en los segmentos de 60% a 100%, ya que son los que presentan mayor coherencia entre los valores y el orden observado en las Tablas 1, 2 y 3.

Para facilitar la comparación de los datos presentados en las tablas 1 y 2, se generaron las gráficas mostradas en las Figuras 18 y 19.

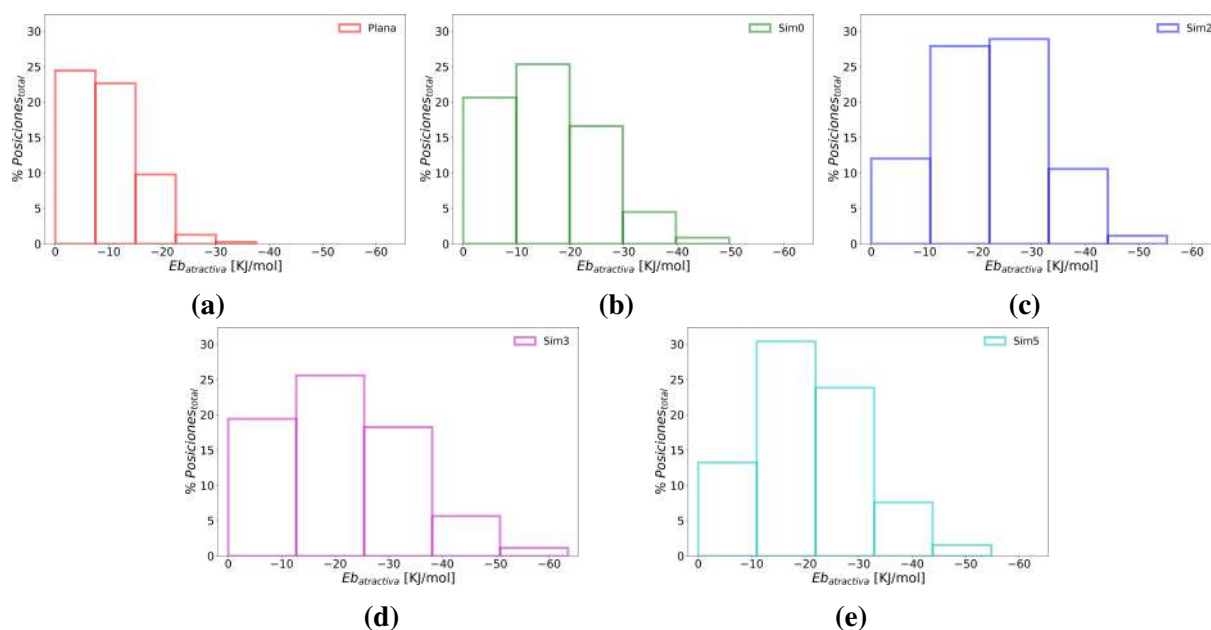


Figura 19: Distribución del porcentaje de posiciones con respecto al total de 2701 casos, en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas constantes, según lo mostrado en la figura 17 y resumido en las tablas 1 y 2. Cada gráfico muestra el porcentaje de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g considerando el grosor del cápside a $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana amplificada, (b) Simetría esférica, $d_{cor} = 39 [\text{Å}]$, (c) Simetría 2, $d_{cor} = 44 [\text{Å}]$, (d) Simetría 3, $d_{cor} = 41 [\text{Å}]$, (e) Simetría 5, $d_{cor} = 49 [\text{Å}]$.

Como se observa en las simetrías icosaédrica y esférica, generadas en referencia a la simetría plana, nos brindan los datos que muestran como la simetría esférica (sim0) tiene siempre valores menores. Esto se debe al confinamiento que experimenta el ARN, que en el caso de la simetría esférica es más “abierto” debido a la disposición de los beads, mientras que en las simetrías icosaédricas el confinamiento es más “cerrado”. Este comportamiento es consecuencia de la geometría de estas simetrías, lo que resulta en beads más cercanos en las simetrías icosaédricas que en la esférica. Esta proximidad genera interacciones atractivas más fuertes, lo cual está respaldado por los resultados obtenidos de las energías de unión atractiva.

Para profundizar en el análisis de las energías de unión atractivas, se generaron gráficas polares, como se muestra en la figura 20. Estas gráficas destacan la energía mínima asociada a cada ángulo de rotación e inclinación.

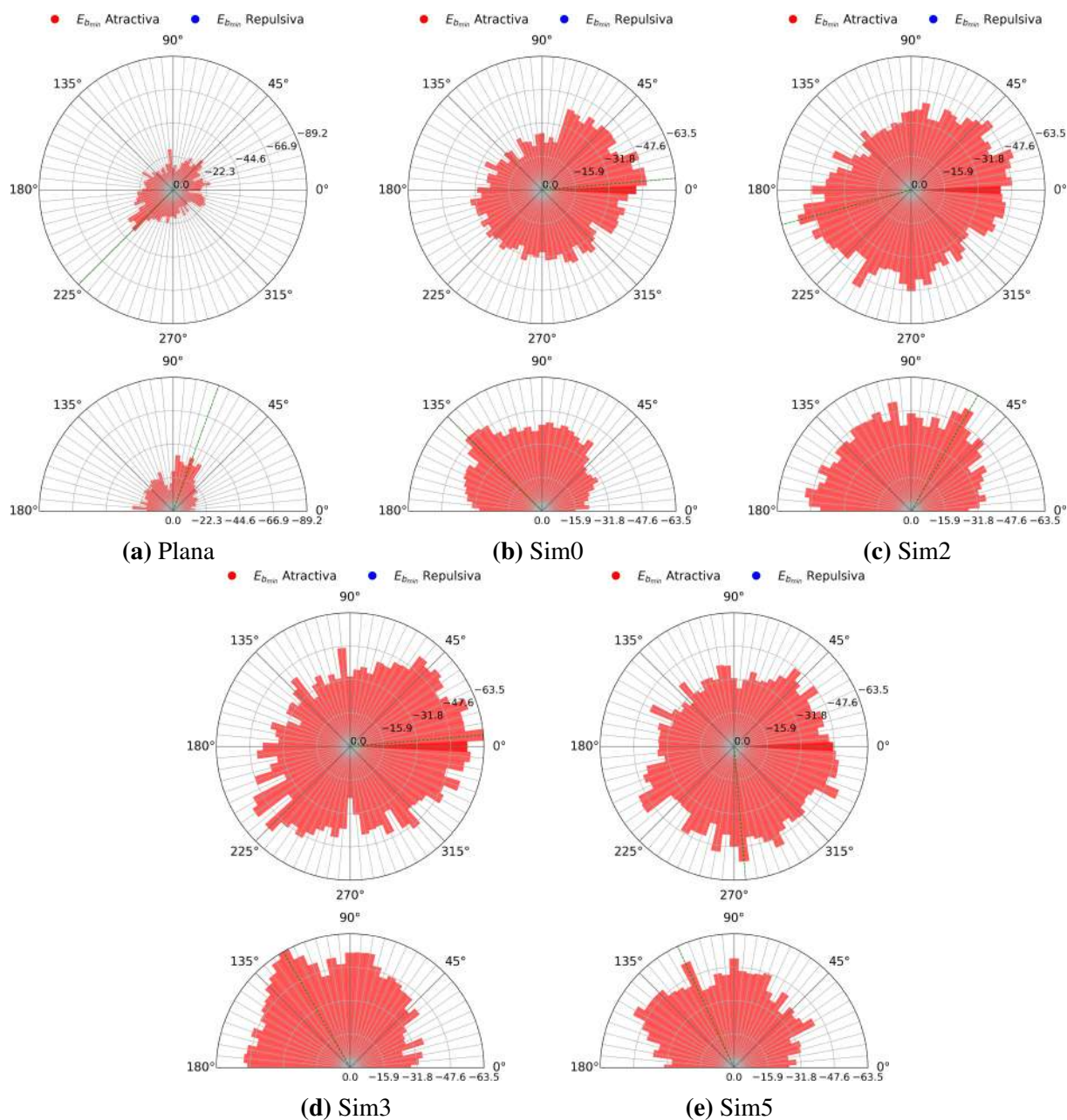


Figura 20: Esquemas que representan las energías atractivas mínimas en función de los ángulos de rotación (parte superior) e inclinación (parte inferior) para las cinco simetrías estudiadas en el escenario 1 (áreas constantes). Los ángulos de rotación varían de 0° a 360° y los de inclinación de 0° a 180°, tomando como referencia el RNA_g amplificado, considerando 20[Å] como grosor del cápside. En cada gráfica, la posición de mínima energía de unión está indicada con una línea segmentada verde. Las posiciones más probables para cada simetría son: (a) Simetría plana: $\alpha_{rot} = 225^\circ$, $\alpha_{ilt} = 70^\circ$; (b) Simetría esférica (sym 0): $\alpha_{rot} = 5^\circ$, $\alpha_{ilt} = 135^\circ$; (c) Simetría 2: $\alpha_{rot} = 195^\circ$, $\alpha_{ilt} = 60^\circ$; (d) Simetría 3: $\alpha_{rot} = 5^\circ$, $\alpha_{ilt} = 120^\circ$; (e) Simetría 5: $\alpha_{rot} = 275^\circ$, $\alpha_{ilt} = 115^\circ$.

El análisis de las gráficas polares revela la relación entre la energía de unión y las posiciones en el sistema. A partir de este análisis, podemos identificar la posición más probable y las zonas de rotación o inclinación que puedan llegar a ser relevantes, incluso mostrando los niveles máximos

de energía de unión atractiva, de esta manera se obtiene una nueva perspectiva en comparación con las gráficas presentadas en la figura 17, las posiciones mas probables para todos los casos simulados se encuentran resumidos en tabla 19 del anexo.

Para realizar una comparación entre las distintas simetrías, identificamos las posiciones en las que coinciden en tener energías de unión atractivas. Este análisis se llevó a cabo comparando primero la simetría plana con cada una de las otras (esférica e icosaédricas), luego la simetría esférica con las demás, y así sucesivamente, hasta cubrir todas las combinaciones. Los resultados se presentan en la tabla 4, donde se detalla el número de posiciones compartidas entre cada par de simetrías. Posteriormente, para normalizar estos resultados, calculamos el porcentaje de coincidencias con respecto al total de posibles posiciones (2701 para cada simetría), lo cual se muestra en la tabla 5. Este enfoque permite comparar de manera proporcional las similitudes entre las simetrías, independientemente del tamaño del conjunto total.

#	Plana	Sim0	Sim2	Sim3	Sim5
Plana	1582	1287	1387	1314	1240
Sim0		1839	1703	1472	1554
Sim2			2178	1663	1794
Sim3				1894	1536
Sim5					2071

Tabla 4: Número de posiciones compartidas entre pares de simetrías, donde ambas presentan energías de unión atractivas, para el escenario de áreas constantes. Los valores diagonales representan el total de posiciones atractivas para cada simetría, mientras que los valores fuera de la diagonal corresponden a las coincidencias entre pares de simetrías.

%	Plana	Sim0	Sim2	Sim3	Sim5
Plana	58.57	46.72	51.35	48.65	45.91
Sim0		68.09	63.05	54.50	57.53
Sim2			80.64	61.57	66.42
Sim3				70.12	56.87
Sim5					76.68

Tabla 5: Porcentaje de posiciones compartidas entre pares de simetrías, del escenario áreas constantes, calculado con base en el número total de posiciones posibles (2701). Estos valores permiten comparar la similitud relativa entre las distintas simetrías en términos de energías de unión atractivas.

A partir de las tablas 4 y 5, se puede observar que la simetría 2 presenta la mayor afinidad global entre las distintas simetrías, ya que comparte el mayor número de posiciones atractivas con las demás. Esto se confirma en la tabla 2, donde se evidencia que la simetría 2 alcanza hasta un 80% del total de posiciones con energías de unión atractivas. Este comportamiento puede atribuirse al hecho de que, al poseer un mayor número de posiciones atractivas, existe una mayor probabilidad de coincidencia con las posiciones atractivas de otras simetrías, estableciendo así una correlación significativa.

El análisis también destaca la importancia de las distancias entre los nucleótidos del ARN y los beads, ya que estas influyen directamente en la intensidad de la energía de unión atractiva. observaciones previas han demostrado que, a menor distancia entre los beads y los nucleótidos, mayor es la energía de unión atractiva; además, un incremento en el número de beads cercanos refuerza aún más esta interacción. Para profundizar en este comportamiento, se llevó a cabo un análisis detallado considerando la distancia mínima promedio entre los fosfatos de cada nucleótido del ARN y el cápside, así como el número promedio de beads con los que interactúa. Los resultados de este análisis se presentan en las figuras 21, 22 y 23.

Este enfoque se complementó evaluando la cantidad de nucleótidos que interactúan dentro de un radio específico alrededor de los fosfatos, generando una esfera como referencia. Se realizaron pruebas con diferentes radios, seleccionándose 25 [Å] como el valor óptimo debido a su capacidad para representar los resultados con mayor fidelidad, como se respalda en la referencia [47]. Este análisis integrado permite una comprensión más profunda de la afinidad posicional en el ensamblaje ARN-proteína, la cual se ilustra en detalle en la figura 22.

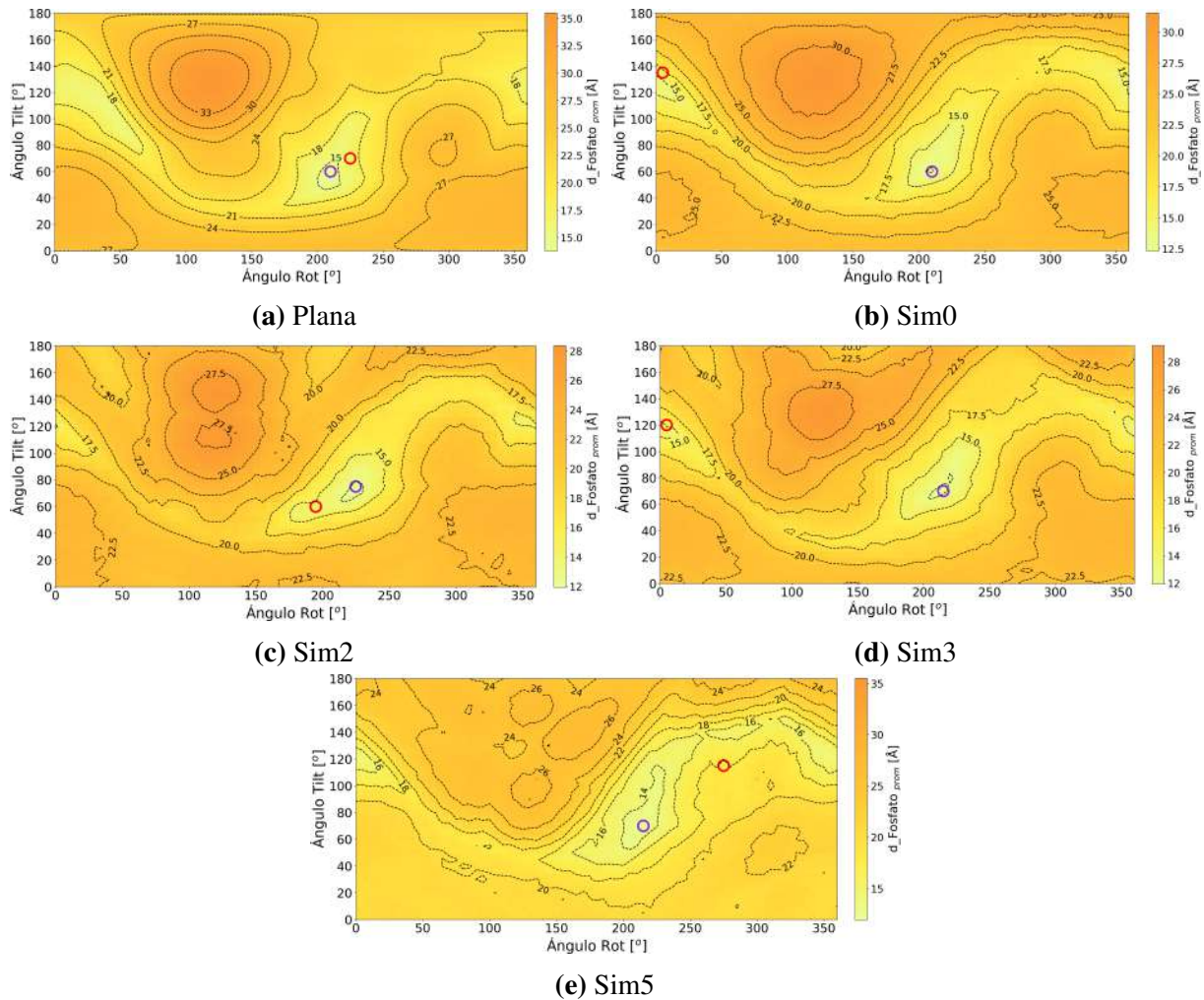


Figura 21: Esquemas que muestran las distancias mínimas promedio ($d_{Fosfato_{prom}}$) de los fosfatos del ARN al cápside para cada simetría evaluada, para el escenario de áreas constantes. Donde el círculo rojo resalta la posición con la energía mínima de unión atractiva, y el círculo lila señala el punto con la menor distancia promedio al ARN. Estos resultados reflejan la influencia de la cercanía en la intensidad de las interacciones, destacando la relación entre la geometría de la cápside y el posicionamiento del ARN.

Las figuras 17, 21, 22 y 23 presentan información crucial que permite optimizar los tiempos de simulación en estudios de interacción ARN-cápside. Estas imágenes identifican áreas clave asociadas con posiciones de mayor probabilidad de energía de unión, lo que reduce la necesidad de explorar configuraciones menos relevantes en el espacio de simulación.

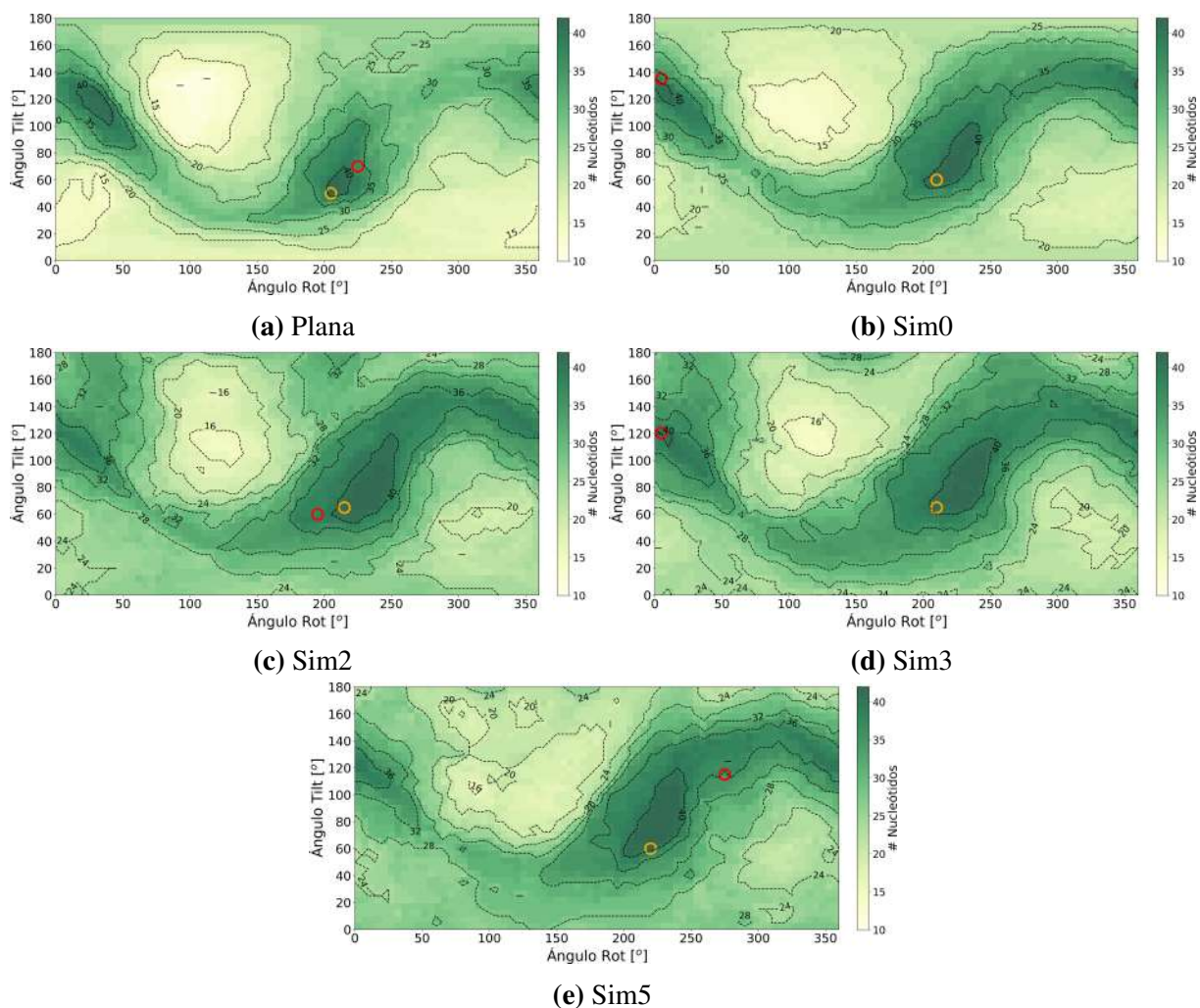


Figura 22: Esquemas que ilustran la cantidad de nucleótidos que se encuentran a una distancia de 25 [Å] desde los fosfatos del ARN para cada simetría analizada, del escenario áreas constantes. Donde el círculo rojo marca la posición de energía mínima y el círculo naranja identifica la región con el mayor número de nucleótidos considerando el radio de 25[Å]. Este análisis permite visualizar las regiones de mayor afinidad entre el ARN y la cápside, destacando la influencia de las geometrías en el ensamblaje.

En particular, las zonas con menor distancia mínima promedio están estrechamente relacionadas con las posiciones más probables de interacción favorable. De manera similar, las regiones con máxima interacción entre el ARN y los nucleótidos, así como aquellas con alta densidad de interacción con los beads, se superponen con las áreas donde es más probable encontrar configuraciones energéticamente favorables.

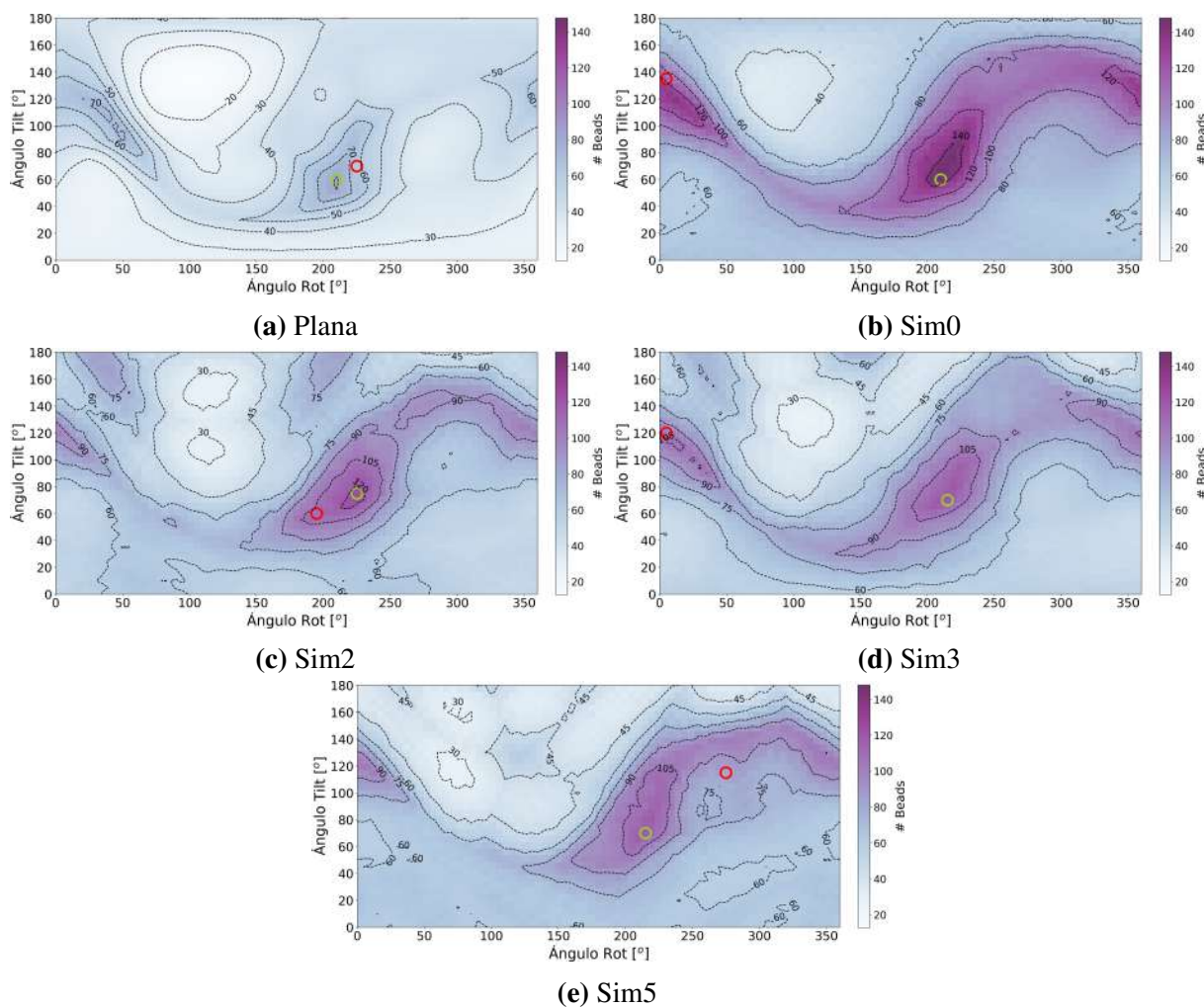


Figura 23: Esquemas que representan la cantidad promedio de beads de la cápside que interactúan con el ARN dentro de un radio de 25 [Å] desde cada fosfato, evaluados para cada simetría, del escenario áreas constantes. Donde el círculo rojo señala la posición de energía mínima, mientras que el círculo verde identifica el punto con el máximo número de beads considerando el radio de 25[Å]. Este análisis resalta cómo la proximidad y densidad de beads influyen en las interacciones locales y en la afinidad global del sistema ARN-cápside.

Al integrar estas regiones de interés en la figura 24, se delimitan con precisión las áreas críticas que concentran las condiciones más prometedoras para la estabilidad del sistema. Este análisis permite priorizar estas zonas y enfocar los cálculos únicamente en ellas, evitando un muestreo extensivo de todo el espacio de configuraciones posibles. Como resultado, este enfoque reduce significativamente los tiempos de simulación, optimiza el uso de recursos computacionales y mejora la eficiencia general en estudios de simulación molecular.

Este análisis preliminar no solo es una herramienta estratégica para reducir costos computacionales, sino también un paso fundamental hacia una caracterización más detallada de las interacciones específicas en el sistema ARN-cápside.

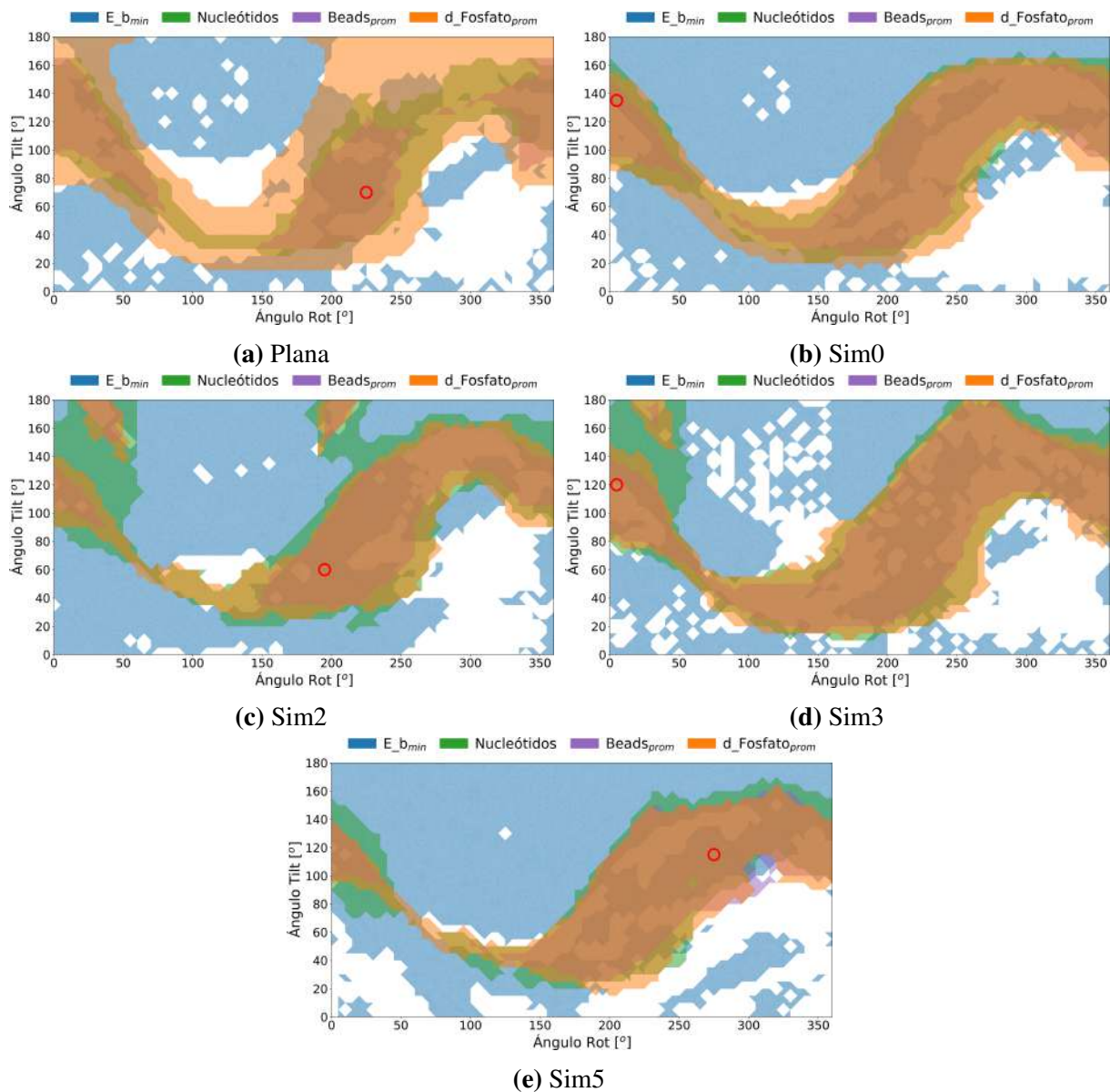


Figura 24: Superposición de las áreas de interés, del escenario áreas constantes, derivadas de las figuras 17, 21, 22 y 23, considerando un margen del 50% para determinar las zonas con mayor probabilidad de configuraciones energéticamente favorables en el sistema ARN-cápside. Estas visualizaciones destacan las regiones prioritarias que optimizan los tiempos de simulación al enfocar el análisis en las zonas más prometedoras.

De la figura 24 se identifican las posiciones que representan las áreas donde se superponen las regiones asociadas con las interacciones más significativas. Estas áreas incluyen: la energía atractiva mínima ($E_{b_{neg}}$), las distancias promedio mínimas ($d_{Fosfato_{prom}}$), el 50% del rango superior de los nucleótidos que interactúan, y el 50% del rango superior de la cantidad promedio de beads involucrados en la interacción.

Podemos distinguir una clara correlación entre estas áreas, siendo las más marcadas aquellas

que involucran los nucleótidos, las distancias promedio mínimas, y la cantidad promedio de beads. Esta correlación está intrínsecamente relacionada con la distancia de corte de 25 [Å] utilizada en las simulaciones. Las áreas de superposición coinciden predominantemente con las regiones de energía de unión más atractiva, es decir, las posiciones de mayor probabilidad de interacción favorable. Por el contrario, las posiciones que no se encuentran dentro de estas áreas de superposición corresponden a energías de unión menos atractivas, lo que refuerza la hipótesis de que las energías de unión más intensas se concentran en las regiones de solapamiento.

El análisis de estas superposiciones se detalla en la tabla 6, donde se presenta el conteo de las posiciones dentro de cada área individual (energía, nucleótidos, distancia mínima y cantidad de beads), así como el conteo de posiciones que muestran solapamiento entre pares de áreas (energía con nucleótidos, energía con distancias mínimas, y energía con beads). Finalmente, se incluye una columna que representa las posiciones que cumplen simultáneamente con las cuatro condiciones mencionadas.

Para complementar este análisis, en la tabla 7 se muestran los porcentajes normalizados de estas posiciones respecto al total de 2701 configuraciones evaluadas. Este promedio nos permite cuantificar la relevancia de las áreas de superposición y resaltar la predominancia de las regiones con mayor interacción atractiva. Estas tablas refuerzan la idea de que las energías de unión más intensas están intrínsecamente relacionadas con las áreas de solapamiento entre las distintas propiedades analizadas.

Sim	Eb_{neg}	Nts	dmin	Beads	$Eb Nts$	$Eb dmin$	$Eb Beads$	All
Plana	1582	800	1522	516	385	751	751	385
Sim 0	1839	938	1068	691	519	582	582	495
Sim 2	2178	1180	909	570	950	669	669	658
Sim 3	1894	1275	1179	859	860	734	734	716
Sim 5	2071	915	836	695	708	580	580	552

Tabla 6: Número de posiciones (#) identificadas en las simulaciones para las distintas simetrías, del escenario áreas constantes. Las columnas muestran las posiciones con energía de unión atractiva mínima (Eb_{neg}), las que superan el 50% del rango de nucleótidos que interactúan (# Nts), las que se encuentran por debajo del 50% del rango de las distancias mínimas promedio (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio que interactúan. Además, se incluyen las posiciones de solapamiento entre energías y nucleótidos (# $Eb||Nts$), energías y distancias mínimas (# $Eb||dmin$), energías y beads (# $Eb||Beads$), y aquellas que cumplen simultáneamente las cuatro condiciones (# All).

Como se observa en la tabla 7, la implementación de estas consideraciones puede reducir el total de posiciones simuladas en aproximadamente un 75%. Este resultado representa una mejora significativa en la optimización de los tiempos de simulación, permitiendo identificar de manera más eficiente las configuraciones más probables del sistema. El proceso se organiza en un

Sim	Eb_{neg}	Nts	dmin	Beads	$Eb Nts$	$Eb dmin$	$Eb Beads$	All
Plana	58.57	29.62	56.35	19.10	14.25	27.8	27.8	14.25
Sim 0	68.09	34.73	39.54	25.58	19.22	21.55	21.51	18.33
Sim 2	80.64	43.69	33.65	21.10	35.17	24.77	24.77	24.36
Sim 3	70.12	47.20	43.65	31.80	31.84	27.18	27.18	26.51
Sim 5	76.68	33.88	30.95	25.73	26.21	21.47	21.47	20.44

Tabla 7: Porcentaje de posiciones (%) respecto al total de 2701 casos simulados, normalizado a partir de los valores de la tabla 6, del escenario áreas constantes. Se muestran los porcentajes para las posiciones con energía de unión atractiva mínima (Eb_{neg}), las que superan el 50% del rango de nucleótidos (# Nts), las que están por debajo del 50% del rango de distancias mínimas (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio. También se indican los porcentajes de las posiciones que solapan energías con nucleótidos ($Eb||Nts$), energías con distancias mínimas ($Eb||dmin$), energías con beads ($Eb||Beads$), y aquellas que cumplen las cuatro condiciones simultáneamente (# All).

enfoque de refinamiento progresivo, comenzando con una evaluación más amplia y general (enfoque grueso) y avanzando hacia un análisis más detallado (enfoque fino). Según este enfoque, las configuraciones se priorizan en el siguiente orden: simetría 3, seguida de simetría 2, luego simetría 5, posteriormente simetría esférica, y finalmente simetría plana. Este orden coincide con los resultados que se muestran en la tabla 1.

Además, se realizó un análisis detallado de las posiciones más probables para cada simetría, considerando tanto las interacciones con los nucleótidos como las distancias mínimas promedio, tal como se ilustra en la figura 25. También se evaluó la cantidad de beads involucrados en las interacciones con cada nucleótido, información que se encuentra representada en la figura 26. Estas gráficas proporcionan una perspectiva más profunda sobre la influencia de la geometría y de los diez nucleótidos con mayor impacto en el sistema, permitiendo un entendimiento más completo de su distribución y comportamiento.

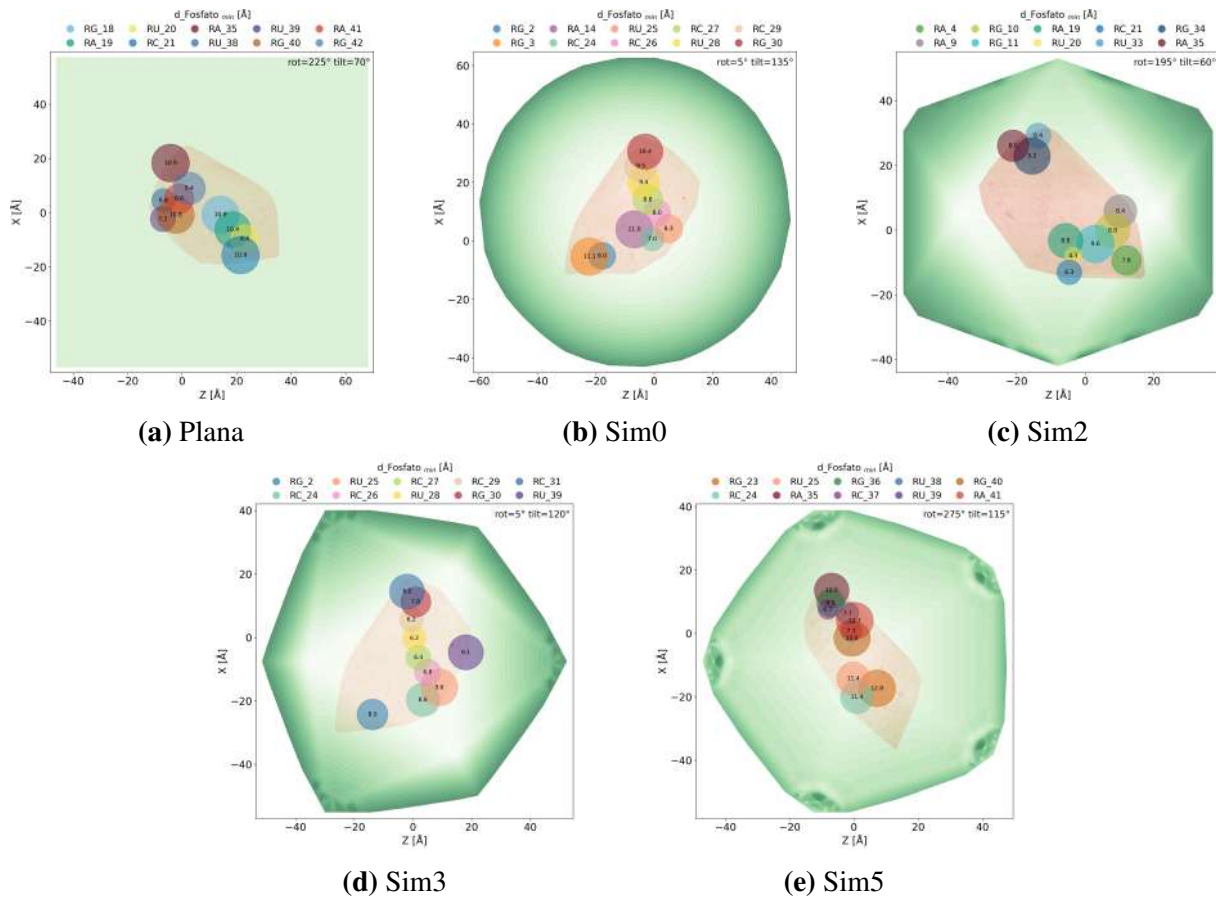


Figura 25: Esquemas que muestran las posiciones más probables de los 10 nucleótidos más cercanos al cápside viral para cada simetría, para el escenario áreas constante, con la ubicación mas probable del ARN para cada simetría indicada en la esquina superior derecha. Estas representaciones permiten visualizar las áreas donde los nucleótidos interactúan más fuertemente con el cápside viral, en función de la mínima distancia promedio.

La figura 25 muestra las posiciones más probables de los 10 nucleótidos más cercanos al cápside viral para cada simetría. En estas representaciones, cada nucleótido está identificado por un color único que se mantiene constante a través de todas las simetrías, facilitando la comparación entre ellas. La superficie del cápside viral se representa en verde, y su apariencia varía según la simetría considerada. Los nucleótidos se visualizan como esferas cuya posición refleja su proximidad al cápside viral; el diámetro de las esferas disminuye a medida que la distancia promedio entre el nucleótido y la superficie del cápside se reduce. Este cambio de tamaño está diseñado para transmitir una sensación de profundidad, considerando que la perspectiva es desde arriba: cuanto más cerca está el nucleótido de la superficie, más alejado parece estar de nuestro punto de vista. Además de identificar el “top 10” de nucleótidos más cercanos en la posición más probable, la figura permite comparar cómo varían las interacciones entre nucleótidos y cápside según la simetría. Esto ayuda a identificar qué nucleótidos están más cerca de la superficie y cuáles aparecen con mayor frecuencia en el “top 10”. Aunque la conformación del ARN permanece

constante, la cercanía con el cápside viral puede ser un factor determinante en las interacciones, subrayando la relevancia de estas variaciones entre simetrías.

A partir de las figuras 25 y 26, podemos observar que, en la simetría plana, la base de uracilo (RU) es la más influyente en la interacción con el cápside viral. En la simetría esférica, en cambio, la base que predomina es la citosina (RC). Para la simetría 2, el nucleótido más relevante es la adenina (RA), mientras que en las simetrías 3 y 5, la base predominante sigue siendo la citosina (RC), aunque la conformación de ARN no cambia, determinar la importancia de los nucleótidos cercanos es importante para comprender detalles sobre la influencia de los nucleótidos en las interacciones.

Es particularmente interesante que la simetría 2 muestra una estructura muy similar a la simetría plana, lo cual es inesperado, dado que se podría suponer que la simetría 3, que tiene una superficie plana en su base, sería la más parecida. Este hallazgo subraya la importancia del efecto de confinamiento del ARN dentro del cápside viral. Como se observó previamente, este confinamiento está estrechamente relacionado con la energía mínima de unión, lo que refuerza la idea de que las interacciones nucleotídicas están influenciadas no solo por la geometría de la simetría, sino también por el espacio disponible para el ARN dentro del cápside.

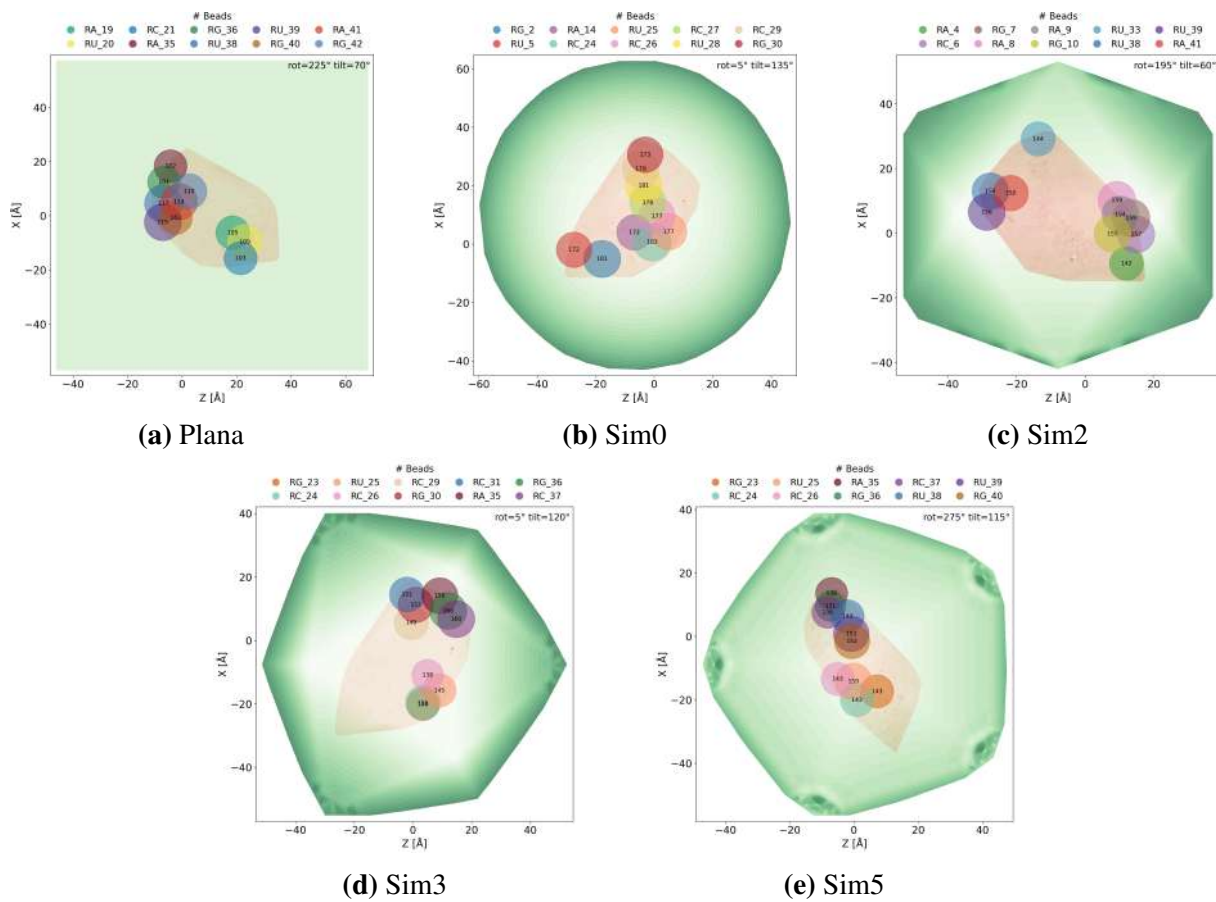


Figura 26: Esquemas que ilustran las posiciones más probables, destacando los 10 nucleótidos que interactúan con la mayor cantidad de beads del cápside viral, para el escenario áreas constante, considerando un radio de 25 [Å] desde cada fosfato, con la ubicación mas probable del ARN para cada simetría indicada en la esquina superior derecha, permitiendo estudiar cómo la geometría de cada simetría afecta la interacción entre nucleótidos y beads en el sistema.

Hasta este punto hemos realizado un análisis detallado de la configuración y las interacciones nucleotídicas en función de las diferentes simetrías. Sin embargo, para completar nuestra comprensión, es esencial considerar la influencia del grosor del cápside en estas interacciones. En la figura 27, mostramos cómo varía la energía mínima de unión al incrementar el grosor del cápside. Esta gráfica nos permitirá obtener una visión más completa del impacto que tiene el grosor del cápside sobre las interacciones con el ARN, revelando cómo un cambio en esta variable puede modificar significativamente el sistema.

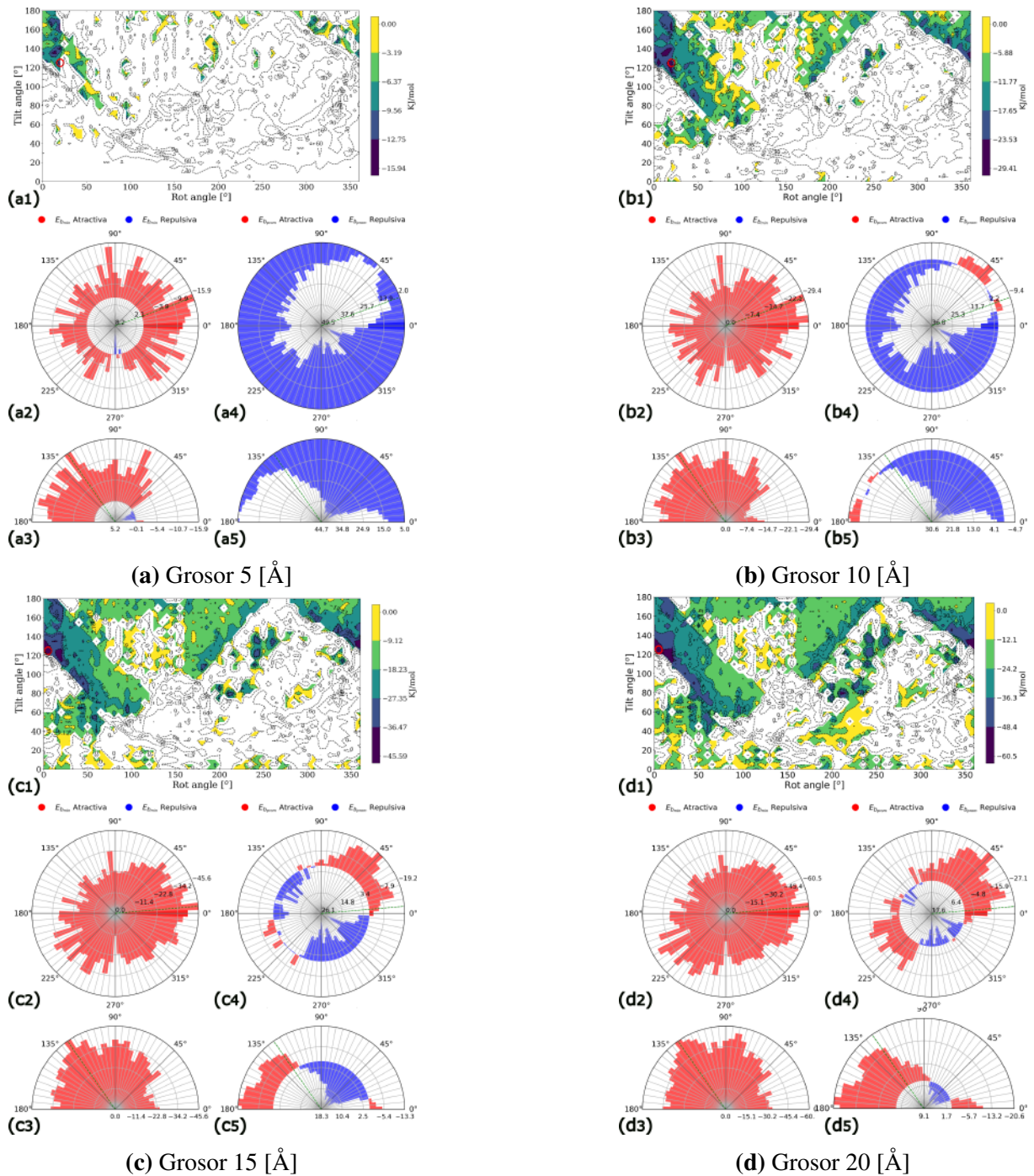


Figura 27: Esquemas que muestran la variación de la energía mínima de unión al incrementar el grosor del cápside en (a) 5 [Å], (b) 10 [Å], (c) 15 [Å], y (d) 20 [Å], para el escenario de áreas variables. Para cada valor de grosor, se incluyen: (1) Mapeo de la energía de unión atractiva, (2) Gráfico polar de la energía mínima de unión en función de la rotación, (3) Gráfico polar de la energía mínima en función de la inclinación, (4) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la rotación, y (5) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la inclinación.

De la figura 27, podemos observar que la energía de unión incrementa las áreas donde la

interacción es atractiva a medida que se considera un mayor grosor del cápside, esto debido a que la carga por bead aumenta para poder representar un mayor grosor del STMV. Aunque las energías mínimas de unión presentan un comportamiento relativamente similar con un incremento gradual, el análisis más claro proviene del promedio de la energía de unión (gráficas 4 y 5 en las gráficas mostradas en la figura 27). Esta gráfica muestra que, a un grosor de 5 [Å], predomina una energía repulsiva. Sin embargo, a medida que se incrementa el grosor, la energía promedio revela un aumento en las energías atractivas.

Resumiendo el comportamiento de la energía mínima de unión a medida que se incrementa el grosor presentamos la figura 28. Donde la figura 28a muestra la densidad de carga, los grosores, el valor de la energía de unión de la posición más probable y el porcentaje de posiciones donde la energía de unión es atractiva con respecto al total de posiciones analizadas. La figura 28b adicionalmente, muestra los valores esperados ponderados $\langle E_b \rangle$, en lugar del eje de porcentaje, el calculo de $\langle E_b \rangle$ se lo realiza usando la ecuación 24.

$$\langle E \rangle = \sum_{i=1}^N P_i E_i \quad (24)$$

Donde $\langle E \rangle$ es el valor esperado ponderado, P_i es la probabilidad del suceso en la posición i , E_i es el valor de la energía de unión en esa posición, y N es el número total de posiciones que en nuestro caso son 2701.

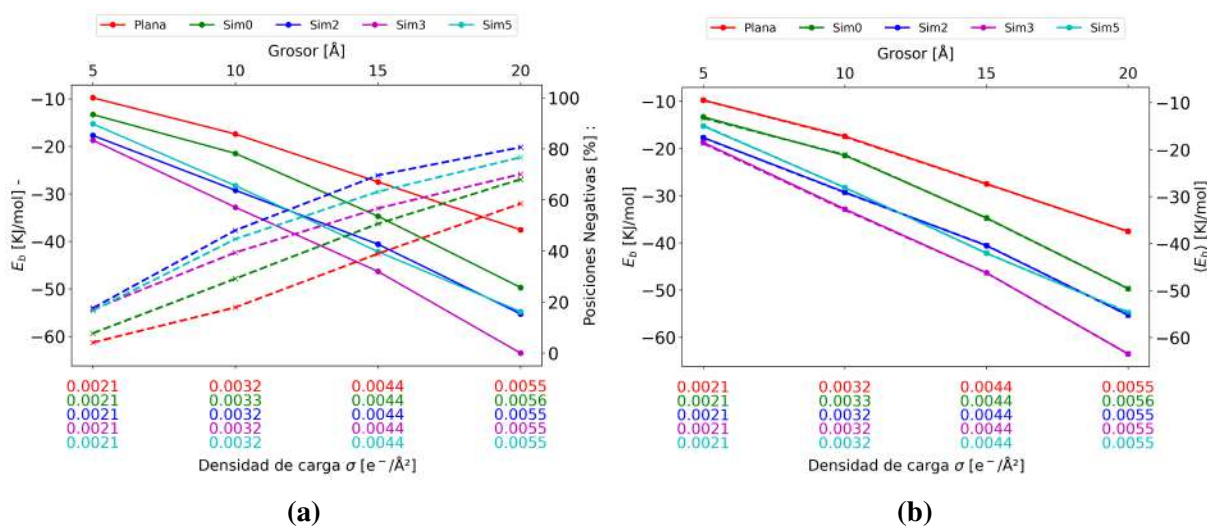


Figura 28: Gráficas correspondientes al escenario de áreas constantes, basadas en el RNA_g amplificado, que utiliza áreas constantes para cada grosor y simetría, basadas en la simetría plana maximizada y el ARN de mayor tamaño (ARN_g). (a) Energía mínima de unión y porcentaje de posiciones con interacción atractiva en función del grosor del cápside. (b) Energía mínima de unión junto con el valor esperado ponderado de la energía de unión, calculado mediante la ecuación 24, considerando la probabilidad de cada posición analizada.

En la figura 28, como anticipamos, la energía de unión atractiva aumenta en magnitud a medida que se incrementa el grosor del cápside. Observamos que la simetría 3, en todos los casos, presenta la energía de unión atractiva más fuerte, seguida por la simetría 2. Aunque para los grosores de 15 Å la energía de unión atractiva de la simetría 5 es más fuerte a la de la simetría 2, pero a un grosor de 20 Å la simetría 2 retoma el valor más atractivo de ambas. A continuación, en el orden de mayor a menor energía de unión atractiva, se encuentran la simetría esférica y, finalmente, la simetría plana. Este patrón se observa en ambas gráficas de la figura 28.

Si nos centramos en la figura 28b, notamos que los valores esperados ponderados coinciden exactamente con los obtenidos previamente. En contraste, al examinar la figura 28a, el orden de las simetrías cambia respecto al comportamiento de la energía mínima de unión. De menor a mayor porcentaje de posiciones con interacción atractiva, el orden es: simetría plana, simetría esférica, simetría 3, simetría 5 y, finalmente, simetría 2. Este orden es el mismo que observamos en la tabla 1, pero ahora se extiende a los diferentes grosores considerados. La única excepción a este orden se da para el grosor de 5 Å, donde se invierte el orden entre las simetrías 2, 5 y 3.

Es importante resaltar que, aunque la simetría 2 es la más similar a la simetría plana en términos de orientación del ARN (como se muestra en los análisis de las figuras 26 y 25), a nivel energético y en cuanto a los porcentajes de posiciones negativas, las diferencias son significativas. De hecho, la simetría 2 es más atractiva que la simetría plana en términos de energía de unión, mientras que, en cuanto a los porcentajes de posiciones negativas, la simetría 2 presenta muchos más puntos en interacción negativa que la simetría plana. No obstante, la posición del ARN dentro del cápside viral es la más parecida entre todas las simetrías.

Para comprender mejor el comportamiento de las interacciones entre el ARN y el cápside viral, y con el fin de explorar cómo varían las áreas de interacción, analizamos ahora el escenario 2, que tiene en cuenta áreas variables para cada simetría.

5.2. Escenario 2: Área variable

5.2.1. Modelado del sistema RNA-cápside

En este escenario, consideramos una distancia de corte fija para las simetrías esférica e icosaédricas. En particular, utilizamos una distancia de corte de 34 [Å], ya que esta coincide con la longitud a la aristas de la simetría 5. Con esta consideración, realizamos el corte para las simetrías esférica e icosaédricas. Los resultados de estos cortes generan las áreas variables que se pueden observar en la figura 29.

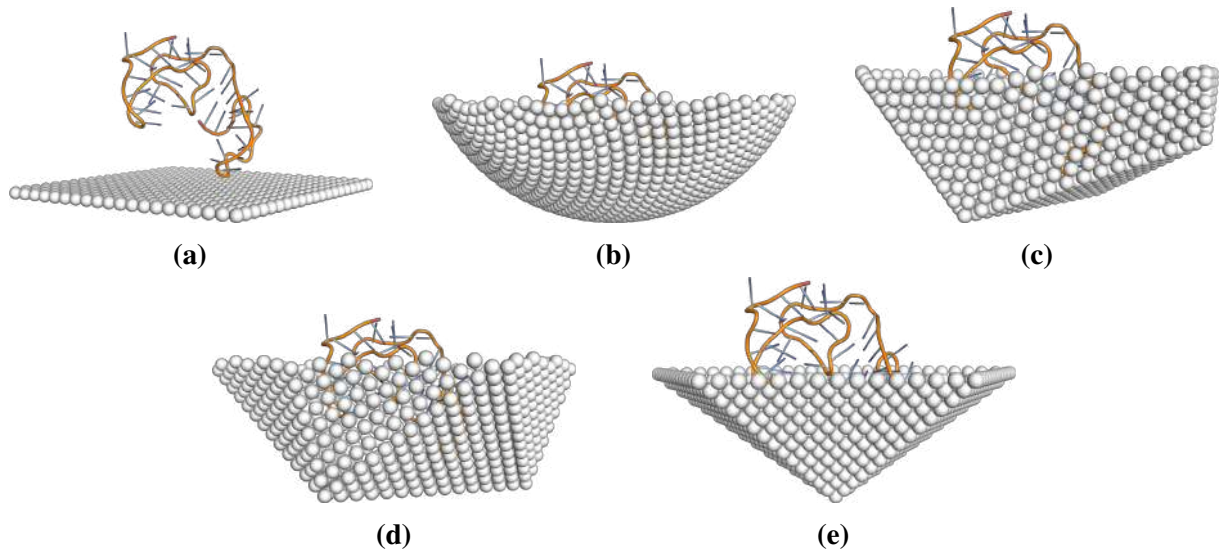


Figura 29: Esquemas representando las distintas simetrías para el escenario de áreas variables, tomadas de referencias el ARN_g base, para un grosor del cápside de $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana base, (b) Simetría 2, $dcor = 34 [\text{Å}]$, (c) Simetría 3, $dcor = 34 [\text{Å}]$, (d) Simetría 5, $dcor = 34 [\text{Å}]$, (e) Simetría 0, esférica, $dcor = 34 [\text{Å}]$.

En este escenario, como se observa en la figura 29, se utiliza la misma distancia de corte ($dcor$) para las simetrías esféricas e icosaédricas. Esto genera diferencias en el número de beads entre las simetrías, lo que resulta en una variación en las áreas correspondientes, los detalles de las distancias de corte y cantidad de beads para todos los casos se muestran en el anexo en las tablas 15 y 16. Al igual que en el escenario de áreas constantes, se mantiene la carga total constante para garantizar un punto de comparación coherente. Sin embargo, dado que el número de beads varía, es necesario ajustar las cargas asignadas a cada bead para conservar esta premisa, este ajuste se lo realiza a partir de mantener una carga total de $76.22 [e^-]$ al igual que en el escenario 1 y redistribuyendo esta carga con la nueva cantidad de beads, el detalle de las cargas por beads para todos los casos se los muestra en la tabla 17 del anexo. Este ajuste también considera el grosor del STMV, lo que significa que las cargas por bead se recalculan en función del grosor evaluado.

Como resultado de este ajuste, la densidad de carga superficial (σ) también varía, ya que una carga total constante, combinada con áreas variables, implica cambios en σ , detalle que se puede observar para todos los casos en la tabla 18 del anexo. La relación entre el área, el número de beads y las simetrías consideradas se presenta en la figura 30. Este escenario complementa al de áreas constantes, ya que permite analizar cómo las variaciones en las áreas, manteniendo constante la carga total, afectan las interacciones entre el ARN y el cápside viral.

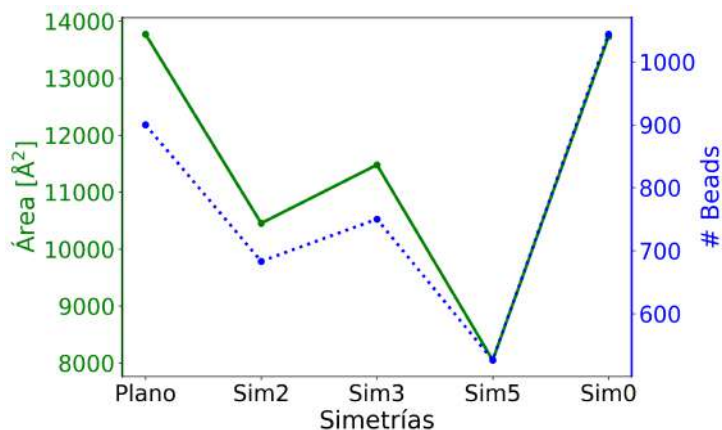


Figura 30: Esquema que muestra el área a considerar de cada simetría y su relación con la cantidad de beads, para el escenario área variables considerando el ARN_g amplificado, a un grosor del cápside de 20 [Å].

A diferencia del escenario de áreas constantes, este caso revela un cambio significativo en el número de beads y las áreas asociadas a cada simetría. Se observa una variación considerable en las áreas, que fluctúan entre 14,000 [Å²] y 8,000 [Å²], junto con una fluctuación aproximada de 600 beads. Estas variaciones refuerzan las premisas y consideraciones específicas planteadas para el escenario de áreas variables.

5.2.2. Exploración del Comportamiento RNA-Cápside

Como se ha evidenciado en el escenario 1, al mantener constante tanto el área de interacción como la densidad de carga, se logra una distribución de carga consistente que facilita un análisis claro y uniforme de las interacciones electrostáticas. Este enfoque permite comprender de manera precisa la influencia de las cargas en la afinidad de unión. En el escenario 2, al introducir una variación en el área de interacción, se permite explorar cómo las fluctuaciones en la densidad de carga afectan las interacciones entre el ARN y la superficie, brindando una perspectiva adicional que complementa los hallazgos del primer escenario. Este ajuste en el parámetro del área nos ofrece una oportunidad para evaluar el sistema desde una perspectiva dinámica, lo cual es valioso para un análisis más completo de las interacciones electrostáticas en distintos contextos de simetría y configuración geométrica.

Al igual que en el escenario 1, se generan 16 casos de estudio, de los cuales para mantener la consistencia respecto al otro escenario, se presentará el mismo caso el cual es el del RNA_g , considerando la simetría plana amplificada, con un grosor de 20 [Å] del cápside de STMV pero esta vez aplicando la metodología del escenario 2. Los resultados que se obtienen a partir de estas simulaciones son las energía de unión que se ilustran en mapeo realizado en la figura 31.

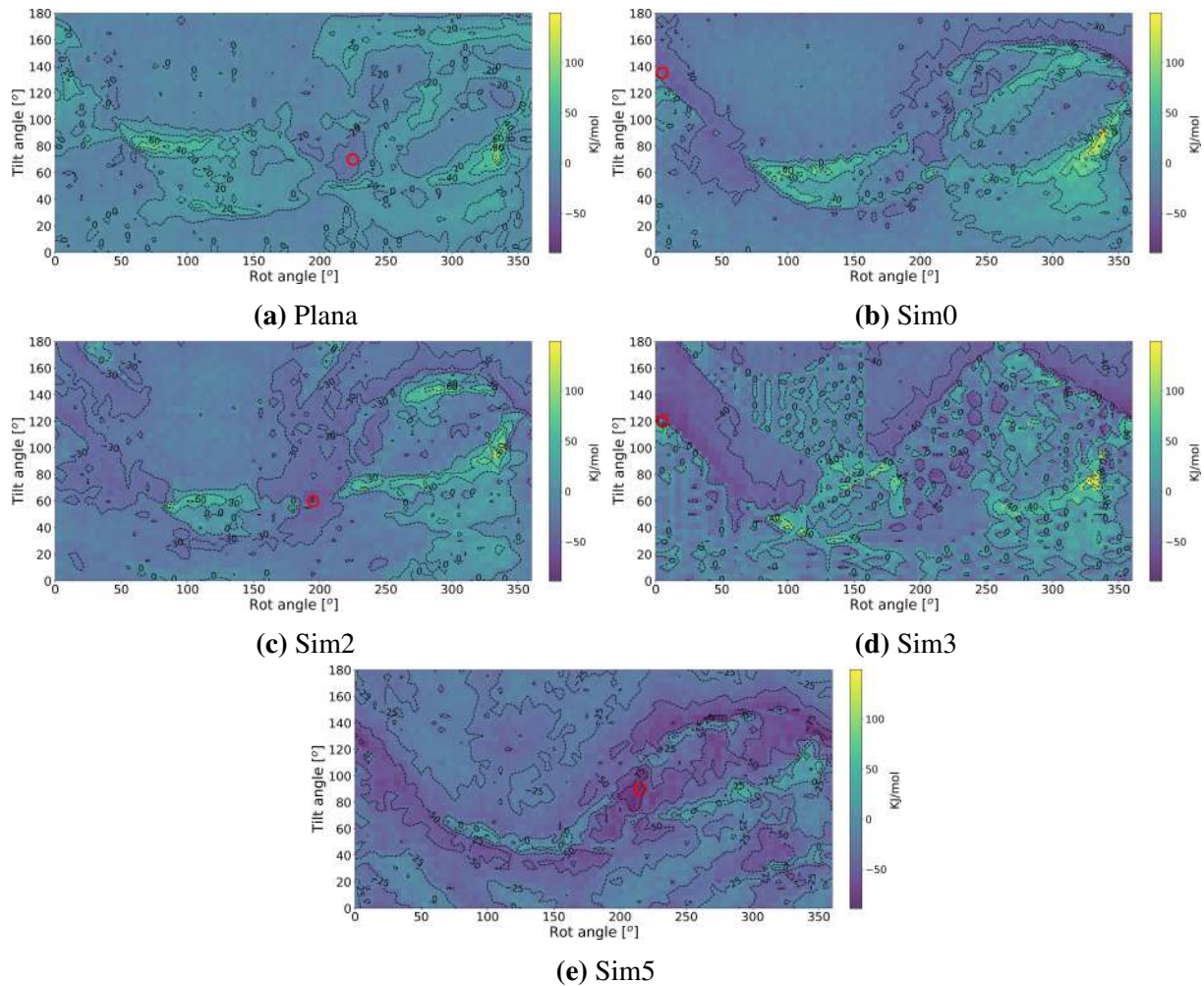


Figura 31: Mapeados de energía de unión, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas variables, manteniendo la carga total en un valor de $76.22[e^-]$, usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g , el círculo rojo indica la posición con la energía mínima de unión. (a) Simetría plana, $q_{bead} = 0,0847[e^-]$; (b) Simetría esférica (sym 0), $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,0730[e^-]$; (c) Simetría 2, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,0938[e^-]$; (d) Simetría 3, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,1004[e^-]$; (e) Simetría 5, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,1449[e^-]$.

Siguiendo con el análisis, en el escenario de área variable se observa que la energía de unión, similar al escenario 1, no siempre resulta atractiva en todas las posiciones, aunque el ARN mantiene su carga negativa y la superficie una carga positiva. Al permitir una variación en el área de interacción, se genera una fluctuación en la densidad de carga, lo que brinda una perspectiva adicional sobre cómo estas variaciones impactan la afinidad de unión. Para visualizar esto claramente, descartamos las contribuciones repulsivas y se realiza el gráfico de la energía atractiva en cinco segmentos, como se muestra en la figura 32

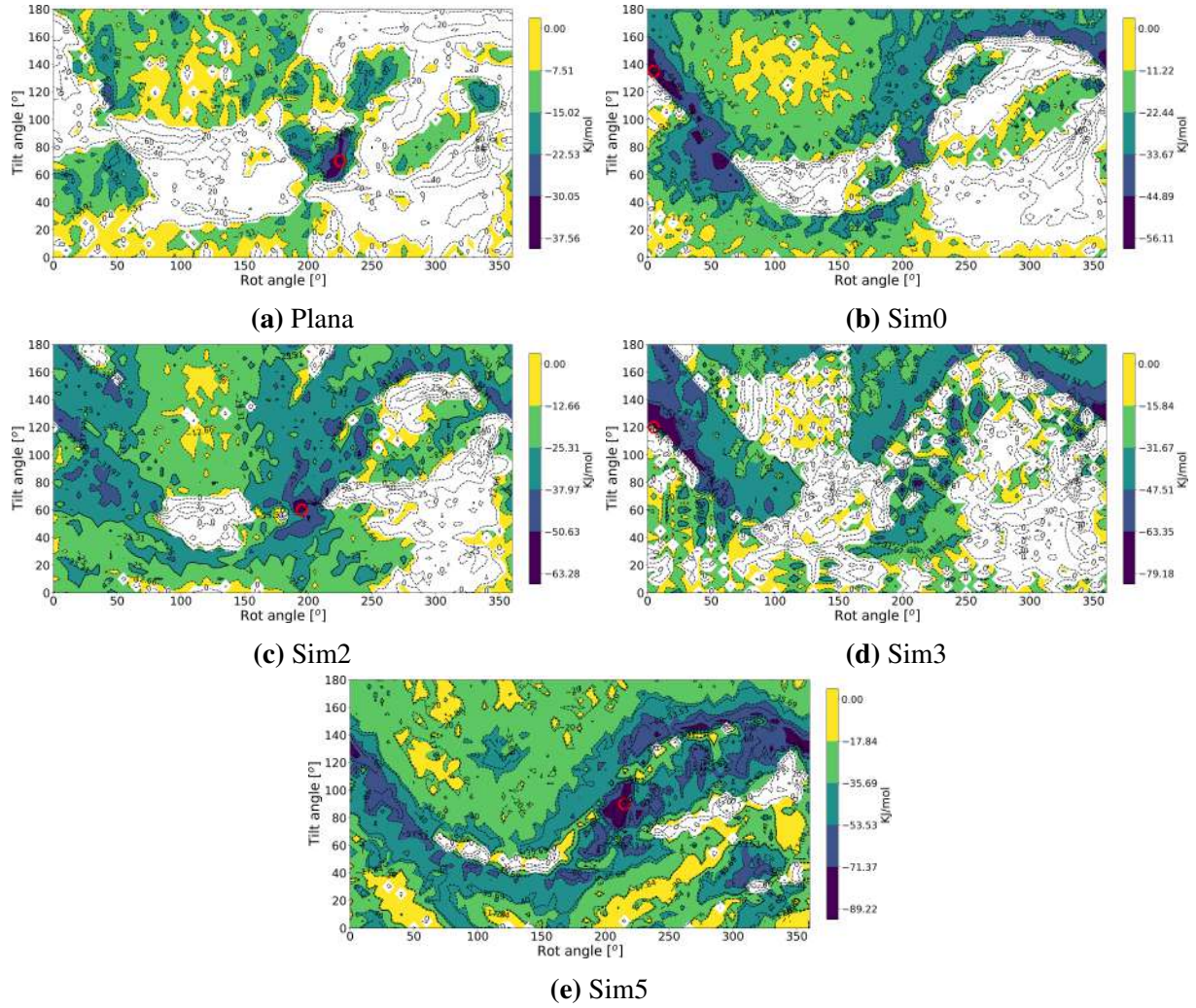


Figura 32: Mapeados de energía de unión atractiva, que representan las distintas simetrías para el escenario áreas constantes, manteniendo la carga total en un valor de $76.22[e^-]$, usando como referencia la simetría plana amplificada, usando como referencia el RNA_g amplificado, considerando un grosor del cápside de $20[\text{Å}]$, quitando la parte repulsiva de la figura 16, el círculo rojo la posición con la mínima energía de unión. (a) Simetría plana, $q_{bead} = 0,0847[e^-]$; (b) Simetría esférica, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,0730[e^-]$; (c) Simetría 2, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,0938[e^-]$; (d) Simetría 3, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,1004[e^-]$; (e) Simetría 5, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, $q_{bead} = 0,1449[e^-]$.

En la figura 32, se confirma que la geometría de cada simetría desempeña un papel crucial en las interacciones, como se observó en el escenario 1. Sin embargo, a diferencia de ese escenario, las magnitudes de las energías de unión atractiva son mas elevadas, los valores de energía de cada segmento de las distintas simetrías están resumidos en la tabla 8, como hemos realizado anteriormente para clarificar estos resultados realizamos un conteo de posiciones con las que cuenta cada uno de los cinco segmentos y después sacamos los porcentajes correspondientes resumiendo estos resultados en la tabla 9

Sim	0-20%	20-40%	40-60%	60-80%	80-100%
Plana	0.0→-7.51	-7.51→-15.02	-15.02→-22.53	-22.53→-30.05	-30.05→-37.56
Sim0	0.0→-11.22	-11.22→-22.44	-22.44→-33.67	-33.67→-44.89	-44.89→-56.11
Sim2	0.0→-12.66	-12.66→-25.31	-25.31→-37.97	-37.97→-50.63	-50.63→-63.28
Sim3	0.0→-15.84	-15.84→-31.67	-31.67→-47.51	-47.51→-63.35	-63.35→-79.18
Sim5	0.0→-17.84	-17.84→-35.69	-35.69→-53.53	-53.53→-71.37	-71.37→-89.22

Tabla 8: Tabla de los valores de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas variables, para cada segmento en las diferentes simetrías, representados en la barra de color de la figura 32. Los valores están expresados en [KJ/mol] y permiten visualizar cómo la geometría influye en las zonas atractivas y cómo estas varían según la simetría. La distribución de las energías refleja las diferencias en los patrones de interacción atractiva a través de las diversas configuraciones geométricas.

Sim	0-20%	20-40%	40-60%	60-80%	80-100%	Sum
Plana	661 24.47	612 22.66	265 9.81	35 1.30	9 0.33	1582 58.57
Sim0	501 18.55	801 29.66	529 19.59	182 6.74	35 1.30	2048 75.82
Sim2	364 13.48	908 33.62	769 28.47	197 7.29	14 0.52	2252 83.38
Sim3	505 18.70	604 22.36	605 22.40	208 7.70	41 1.52	1963 72.68
Sim5	412 15.25	1076 39.84	778 28.80	296 10.96	50 1.85	2612 96.70

Tabla 9: Tabla de distribución de las posiciones dentro de cada segmento de energía de unión atractiva, pertenecientes al escenario de áreas variables, para las distintas simetrías. En esta tabla se muestra el número de posiciones con energía de unión negativa dentro de cada intervalo de energía, junto con el porcentaje calculado a partir del total de posiciones (2701), lo cual permite normalizar los datos y facilitar su comparación entre los diferentes simetrías o escenarios.

En la Tabla 8, se presenta el orden de las simetrías según su energía de unión atractiva, donde la simetría 5 ocupa el primer lugar, seguida por las simetrías 3, 2, 0 y finalmente la simetría plana. Este orden contrasta con el escenario de áreas constantes, en el que la simetría 3 lideraba. Además, al analizar la Tabla 9, se observan diferencias en la cantidad de posiciones con energías de unión negativa entre las simetrías, mostrando que la simetría 5 tiene la mayor cantidad de posiciones, seguida de las simetrías 2, 0, 3 y plana, lo que nuevamente difiere respecto al escenario 1.

Un aspecto importante al segmentar las energías en intervalos es que, aunque el comportamiento de las simetrías en la mayoría de los segmentos mantiene similitudes con el escenario de áreas constantes, el segmento (80-100%) muestra un cambio significativo: la simetría esférica lidera, seguida de la simetría 5. Este comportamiento se puede atribuir al confinamiento más “abierto” del RNA en la simetría esférica, en comparación con las simetrías icosaédricas, donde el RNA queda más confinado y los beads están más próximos entre sí. A pesar de que la simetría esférica presenta un mayor número de beads en este segmento en particular, no alcanza energías de unión atractiva superiores a las de las simetrías icosaédricas. Este resultado destaca la importancia

de considerar la geometría del cápside viral —icosaédrica o esférica— en las simulaciones, ya que influye directamente en la distribución de las energías de unión. En conjunto, este cambio subraya cómo las áreas variables afectan de manera significativa los segmentos superiores en términos de energía de unión atractiva.

Al igual que en el escenario de áreas constantes, cuando las energías de unión atractiva son moderadas, no se observa un orden estrictamente definido en todos los segmentos. Sin embargo, para energías más altas, los valores tienden a aproximarse a un orden coherente con la Tabla 8, aunque ciertas simetrías no cumplen con este patrón de manera consistente, como sucede en ambos escenarios. Finalmente, la Tabla 10 presenta la suma de las energías de unión por segmento, permitiendo evaluar y comparar directamente el aporte energético de cada simetría bajo las condiciones de áreas variables.

Sim	0-20%	20-40%	40-60%	60-80%	80-100%	Sum	Norm
Plana	-2671.87	-6645.80	-4745.40	-866.87	-266.89	-15196.84	0.17
Sim0	-3265.08	-13537.62	-14508.84	-6910.33	-1669.25	-39891.13	0.45
Sim2	-2651.70	-17831.94	-23680.00	-8330.82	-693.55	-53188.02	0.60
Sim3	-4145.91	-14675.75	-23395.52	-11068.16	-2757.56	-56042.91	0.63
Sim5	-4673.68	-28774.30	-34077.08	-17862.56	-3789.24	-89176.85	1.00

Tabla 10: Tabla que muestra la suma total de las energías de unión atractiva por segmento y por simetría de cada posición del escenario de áreas variables. En esta tabla se muestra la energía total de unión por segmento para cada simetría, facilitando la observación de cómo la energía total varía entre los segmentos de cada simetría, especialmente a medida que la energía de unión atractiva aumenta, datos expresados en [KJ/mol].

De la Tabla 10, se observa que el orden de la columna Sum coincide con el de la Tabla 8, confirmando un patrón similar al observado en el escenario de áreas constantes en términos de energía total decreciente en los segmentos de mayor energía. Sin embargo, al analizar los segmentos individuales, se identifican diferencias importantes: en todos los segmentos, la simetría 5 predomina consistentemente, mientras que el segundo lugar varía entre las simetrías 2 y 3. Este comportamiento contrasta con el escenario de áreas constantes, donde la predominancia está más distribuida entre las diferentes simetrías.

Una observación clave es que, a diferencia del escenario de áreas constantes, aquí la simetría con mayor número de beads no necesariamente domina en los segmentos. Esto refuerza la influencia de las áreas variables en la distribución de las energías de unión atractiva y sugiere un cambio en la dinámica del confinamiento del RNA bajo estas condiciones, dando mayor importancia al concepto de confinamiento que sufre el ARN con las diferentes simetrías.

Las gráficas mostradas en las Figuras 33 y 34 permiten visualizar estas diferencias de manera clara, destacando el impacto de las áreas variables en la distribución de energías y la preeminencia de la simetría 5 en todos los segmentos.

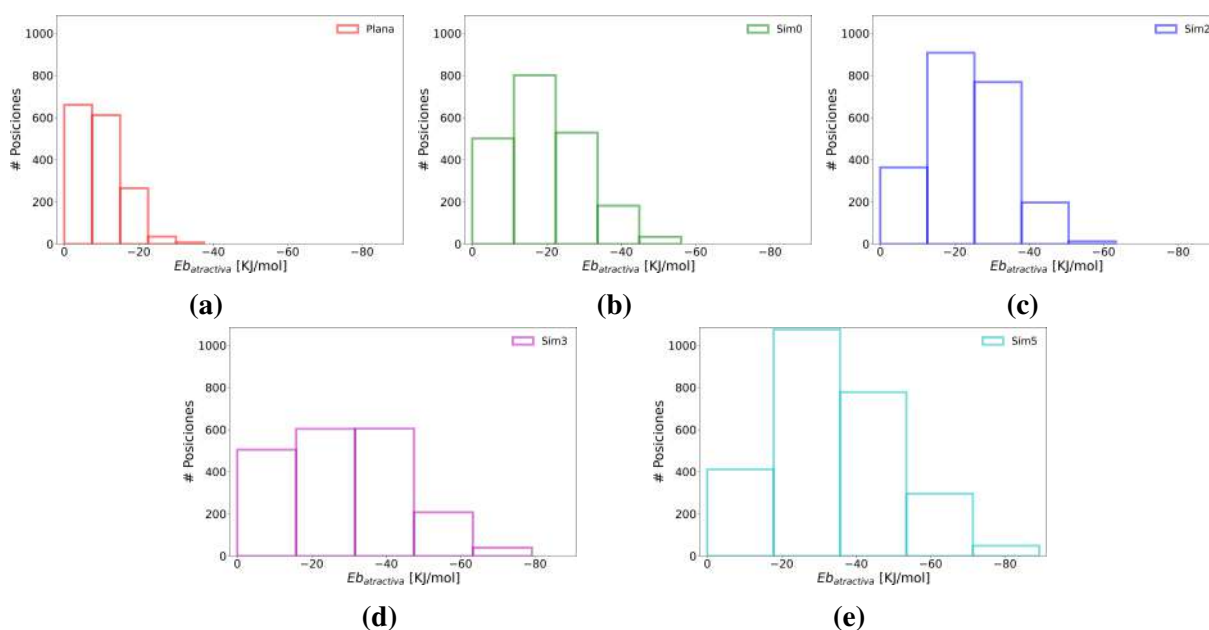


Figura 33: Distribución del número de posiciones en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas variables, según lo mostrado en la figura 32 y resumido en la tabla 9. Cada gráfico presenta la cantidad de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g amplificado, considerando el grosor del cápside a 20[Å] . (a) Simetría plana amplificada, (b) Simetría esférica, $d_{cor} = 34\text{ [Å]}$, (c) Simetría 2, $d_{cor} = 34\text{ [Å]}$, (d) Simetría 3, $d_{cor} = 34\text{ [Å]}$, (e) Simetría 5, $d_{cor} = 34\text{ [Å]}$.

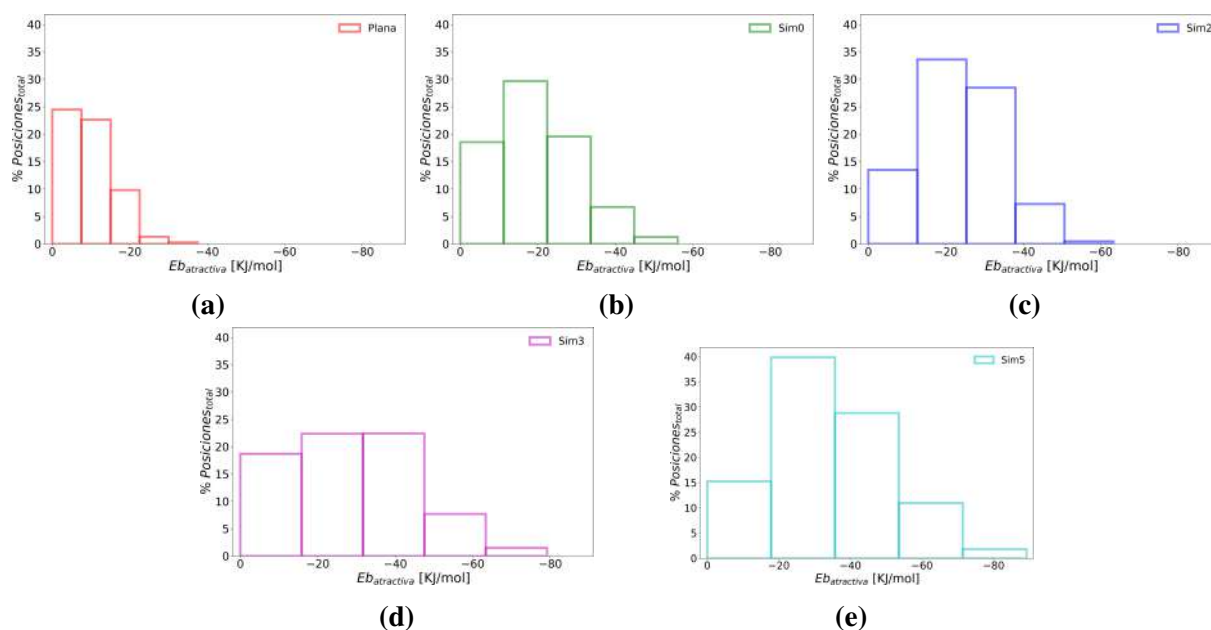


Figura 34: Distribución del porcentaje de posiciones con respecto al total de 2701 casos, en los diferentes segmentos de energía de unión atractiva, para el escenario de áreas variables, según lo mostrado en la figura 32 y resumido en las tablas 8 y 9. Cada gráfico muestra el porcentaje de posiciones dentro de los intervalos de energía para cada simetría, con referencia en el RNA_g considerando el grosor del cápside a $20[\text{Å}]$. (a) Simetría plana amplificada, (b) Simetría esférica, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, (c) Simetría 2, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, (d) Simetría 3, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$, (e) Simetría 5, $d_{cor} = 34 [\text{Å}]$.

Como también se observó en el escenario de áreas variables, la simetría esférica (sim0) tiene siempre valores menores, nuevamente alegamos que este comportamiento se debe al confinamiento causado por las simetrías, por la naturaleza geométrica entre el icosaedro y la esfera.

Para profundizar en el análisis de las energías de unión atractivas, se han generado nuevamente gráficas polares, como se muestra en la Figura 35. A diferencia de las gráficas polares presentadas en el escenario de áreas constantes, en este caso se ha modificado la figura para incluir una comparación directa entre ambos escenarios. Esto permite observar de manera más clara las diferencias en la distribución de las energías mínimas asociadas a cada ángulo de rotación e inclinación, resaltando los cambios inducidos por el modelo de áreas variables.

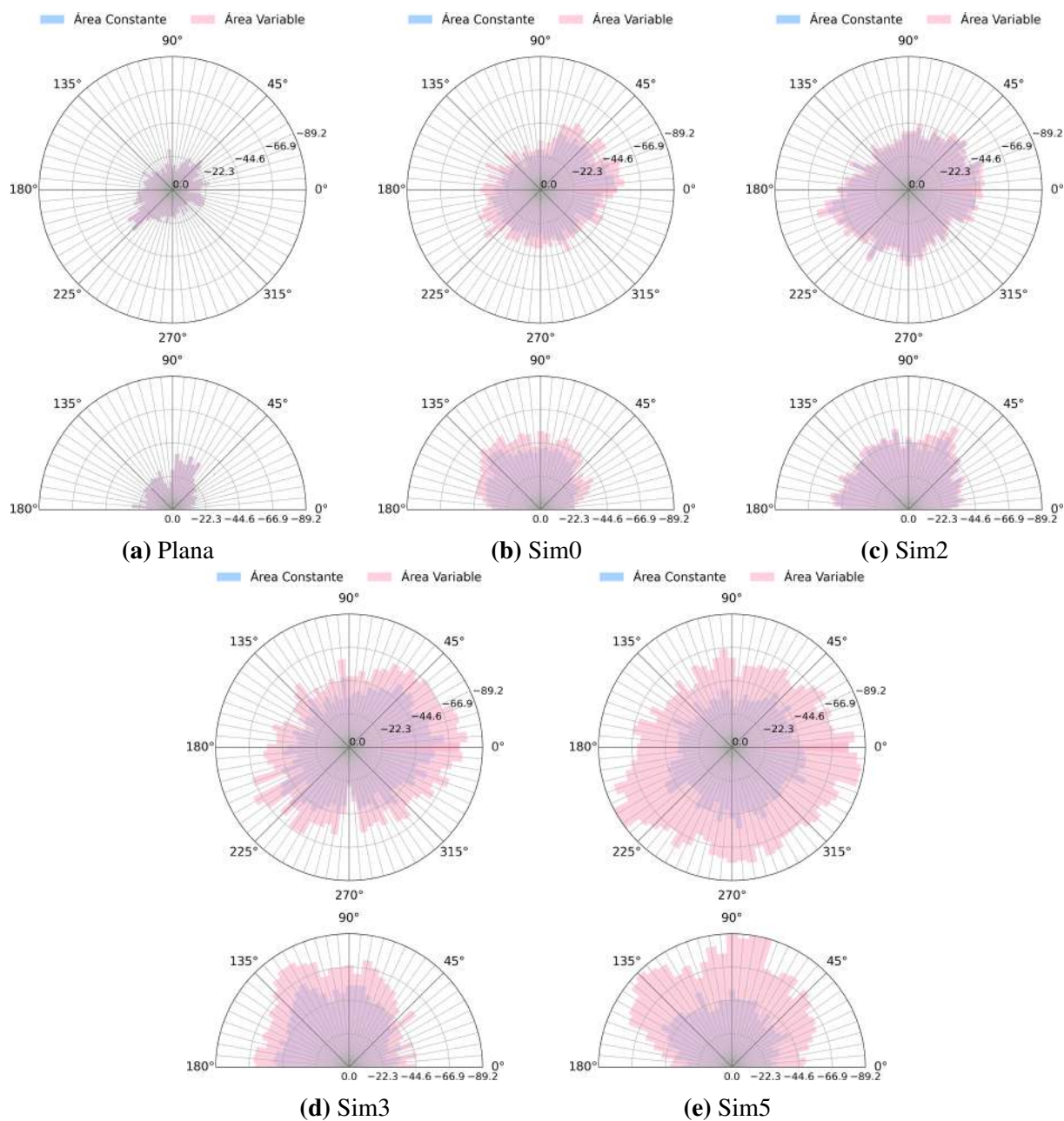


Figura 35: Esquemas que representan las energías atractivas mínimas en función de los ángulos de rotación (parte superior) e inclinación (parte inferior) para las cinco simetrías estudiadas en el escenario de áreas constantes (color azul pastel) y en el escenario de áreas variables (color rosa pastel). Los ángulos de rotación varían de 0° a 360° y los de inclinación de 0° a 180° , tomando como referencia el RNA_g amplificado, considerando $20[\text{Å}]$ como grosor del cápside. Las posiciones más probables para cada simetría del escenario de áreas variables son: (a) Simetría plana, posición más probable: $\alpha_{rot} = 225^\circ$ y $\alpha_{ilt} = 70^\circ$; (b) Simetría esférica (sym 0), posición más probable: $\alpha_{rot} = 5^\circ$ y $\alpha_{ilt} = 135^\circ$; (c) Simetría 2, posición más probable: $\alpha_{rot} = 195^\circ$ y $\alpha_{ilt} = 60^\circ$; (d) Simetría 3, posición más probable: $\alpha_{rot} = 5^\circ$ y $\alpha_{ilt} = 120^\circ$; (e) Simetría 5, posición más probable: $\alpha_{rot} = 215^\circ$ y $\alpha_{ilt} = 90^\circ$.

El análisis de las gráficas polares revela que, aunque el comportamiento observado en el escenario

de áreas constantes se mantiene en el escenario de áreas variables, se produce un incremento en la magnitud de las energías de unión atractivas. Dado que el patrón se preserva, la posición más probable para cada simetría sigue siendo la misma. Cabe mencionar que no existe variación en el caso de la simetría plana debido a que esta es la base con la cual se generan ambos escenarios. Sin embargo, destaca el comportamiento de la simetría 5, que muestra la mayor sensibilidad a las variaciones en las distancias de corte (dcor) y experimenta cambios abruptos en la cantidad de beads. Esta simetría, además, es la única que modifica su posición más probable en comparación con el primer escenario, reforzando su carácter sensible y dinámico. Por otro lado la simetría 2 llega a ser la menos afectada a la alteración del sistema.

Estas observaciones subrayan la importancia de las gráficas polares, ya que permiten identificar cómo, pese a los cambios en las posiciones, los ángulos más probables siguen siendo consistentes en su funcionalidad. Este comportamiento proporciona información valiosa, como en el caso de la simetría 5, donde, aunque su posición difiere respecto al escenario anterior, los ángulos probables permanecen en rangos coherentes y predecibles, las posiciones más probables de todos los casos simulados para este escenario se encuentran en la tabla 20 del anexo.

A continuación, se realiza una comparación entre simetrías, siguiendo un enfoque similar al del escenario 1. Analizando las posiciones en las que coinciden las energías de unión atractivas, se construye la Tabla 11, que muestra el número de posiciones coincidentes según pares de simetría. De manera complementaria, la Tabla 12 presenta el porcentaje de coincidencia para las distintas simetrías, ofreciendo una perspectiva más detallada de las relaciones entre los escenarios.

#	Plana	Sim0	Sim2	Sim3	Sim5
Plana	1582	1399	1423	1295	1537
Sim0		2048	1892	1632	1996
Sim2			2252	1746	2216
Sim3				1963	1909
Sim5					2612

Tabla 11: Número de posiciones compartidas entre pares de simetrías, donde ambas presentan energías de unión atractivas, para el escenario de áreas variables. Los valores diagonales representan el total de posiciones atractivas para cada simetría, mientras que los valores fuera de la diagonal corresponden a las coincidencias entre pares de simetrías.

A partir de las tablas 11 y 12, se observa que la simetría 5 presenta una alta afinidad global, compartiendo un gran número de posiciones atractivas con las demás. Aunque no es la simetría con la mayor cantidad de beads, como muestra la tabla 9, ocupa el segundo lugar en cantidad, lo que se debe a su notable sensibilidad a las distancias de corte. Este comportamiento contrasta con el escenario de áreas constantes, donde la simetría 2 mostró una mayor correlación con las posiciones atractivas de otras simetrías, pero en el caso de la simetría 5, su sensibilidad y el

%	Plana	Sim0	Sim2	Sim3	Sim5
Plana	58.57	51.80	52.68	47.95	56.90
Sim0		75.82	70.05	60.42	73.90
Sim2			83.38	64.64	82.04
Sim3				72.68	70.68
Sim5					96.70

Tabla 12: Porcentaje de posiciones compartidas entre pares de simetrías, del escenario áreas variables, calculado con base en el número total de posiciones posibles (2701). Estos valores permiten comparar la similitud relativa entre las distintas simetrías en términos de energías de unión atractivas.

número de beads cercanos refuerzan esta afinidad en el escenario de áreas variables.

Como se analizó en el escenario 1, la importancia de las distancias entre los nucleótidos del ARN y los beads, así como la cantidad de nucleótidos que interactúan dentro de un radio específico, sigue siendo relevante para entender la afinidad posicional. En este escenario de áreas variables, los resultados obtenidos, presentados en las figuras 36, 37 y 38, refuerzan esta relación, mostrando cómo los patrones de interacción varían al considerar las diferencias en el número de beads y la sensibilidad de la simetría 5. Este análisis proporciona una visión más detallada de la afinidad en el ensamblaje ARN-proteína, permitiendo una comparación directa con el comportamiento observado en el escenario de áreas constantes.

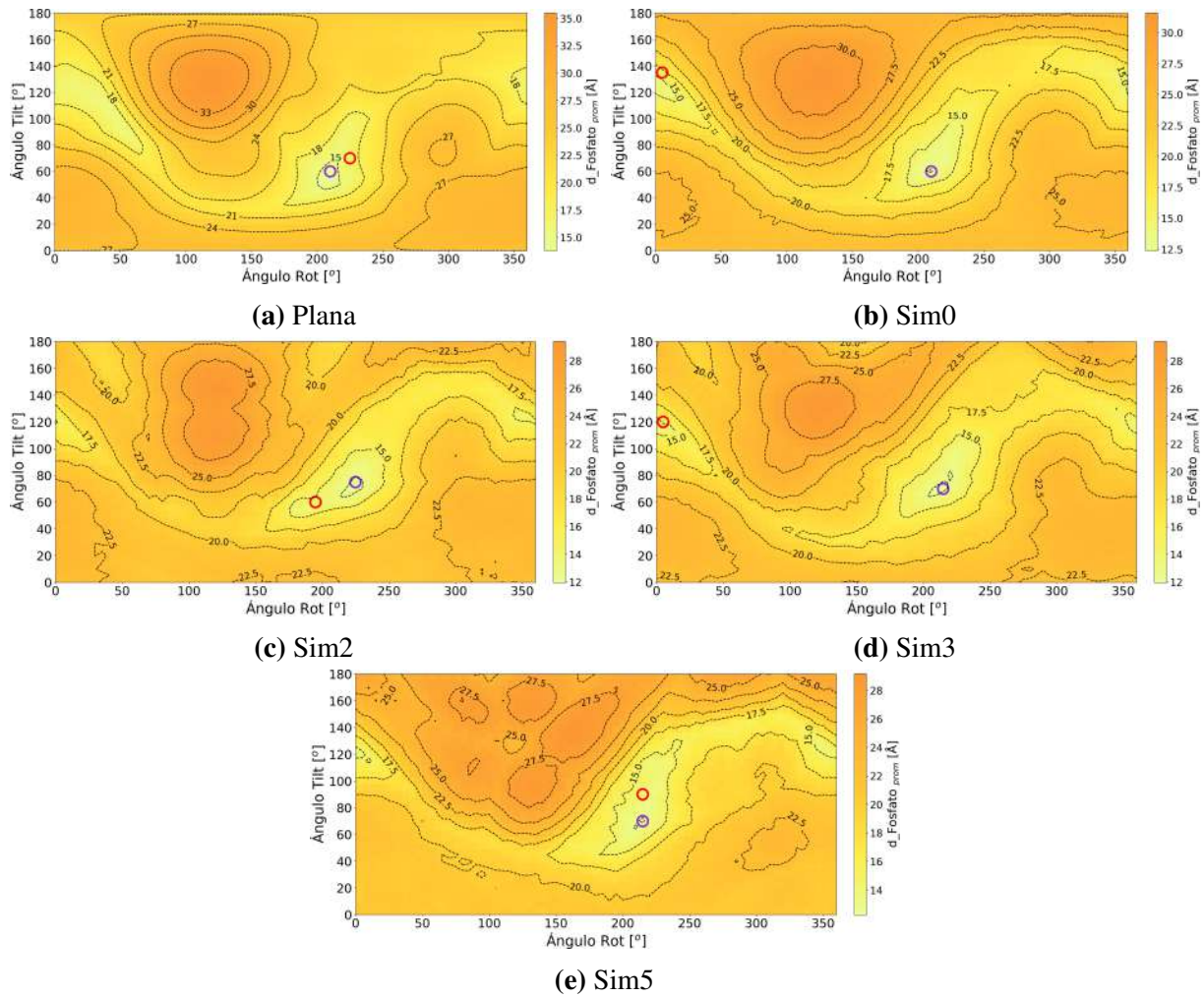


Figura 36: Esquemas que muestran las distancias mínimas promedio ($d_{Fosfato_{prom}}$) de los fosfatos del ARN al cápside para cada simetría evaluada, para el escenario áreas variables. Donde el círculo rojo resalta la posición con la energía mínima de unión atractiva, y el círculo lila señala el punto con la menor distancia promedio al ARN. Estos resultados reflejan la influencia de la cercanía en la intensidad de las interacciones, destacando la relación entre la geometría de la cápside y el posicionamiento del ARN.

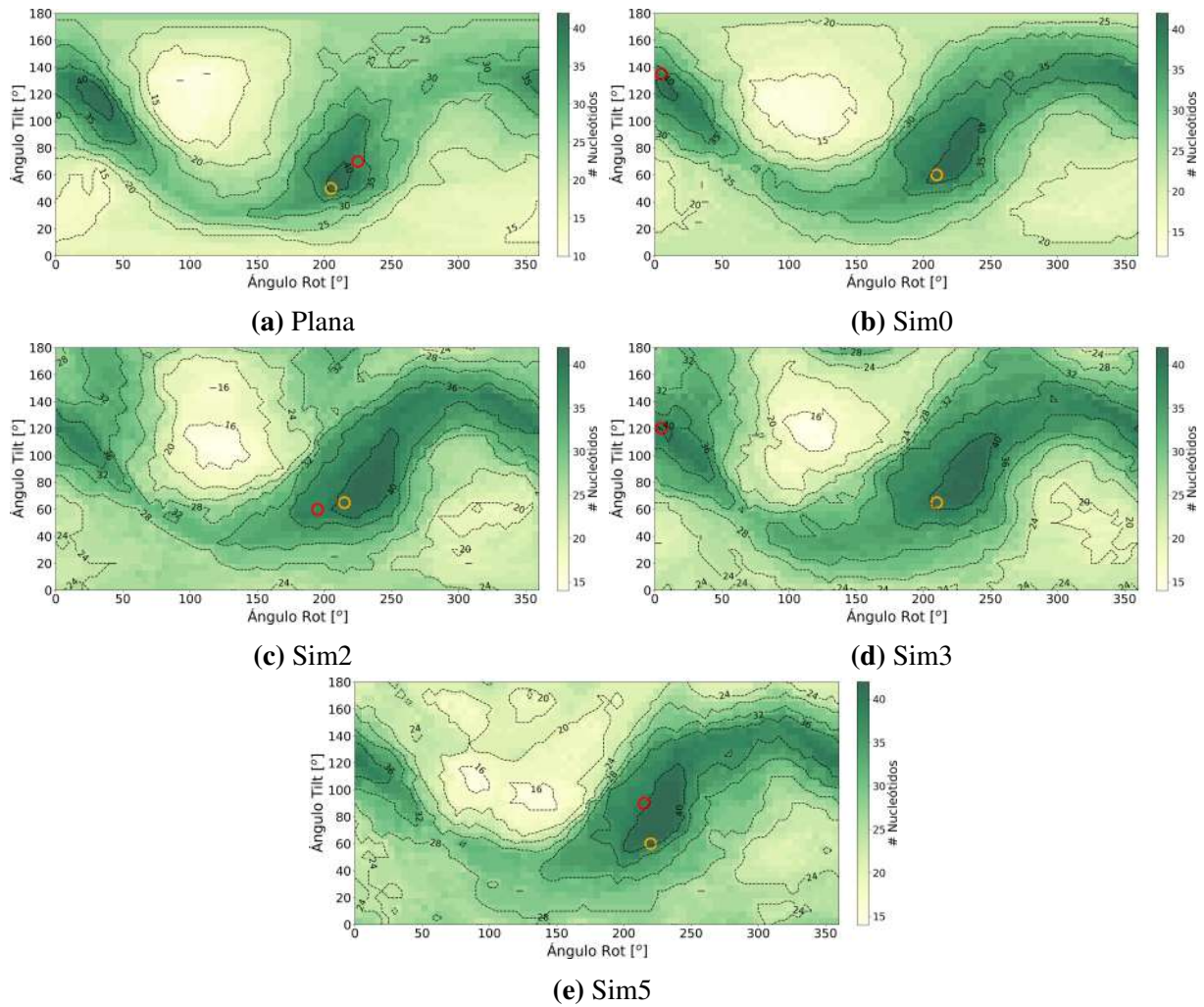


Figura 37: Esquemas que ilustran la cantidad de nucleótidos que se encuentran a una distancia de 25 [Å] desde los fosfatos del ARN para cada simetría analizada, del escenario áreas variables. Donde el círculo rojo marca la posición de energía mínima y el círculo naranja identifica la región con el mayor número de nucleótidos considerando el radio de 25[Å]. Este análisis permite visualizar las regiones de mayor afinidad entre el ARN y la cápside, destacando la influencia de las geometrías en el ensamblaje.

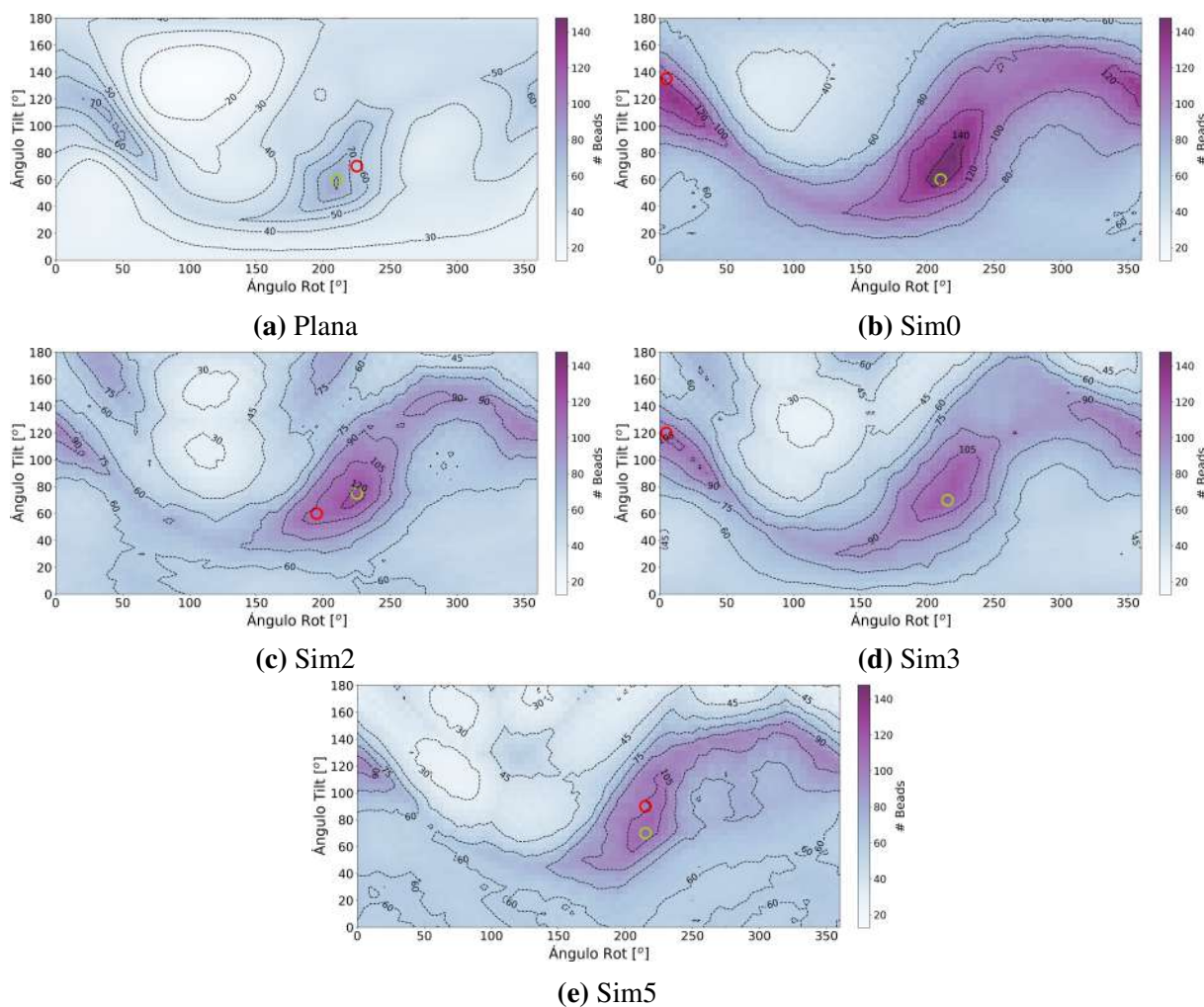


Figura 38: Esquemas que representan la cantidad promedio de beads de la cápside que interactúan con el ARN dentro de un radio de 25 [Å] desde cada fosfato, evaluados para cada simetría, del escenario áreas variables. Donde el círculo rojo señala la posición de energía mínima, mientras que el círculo verde identifica el punto con el máximo número de beads considerando el radio de 25[Å]. Este análisis resalta cómo la proximidad y densidad de beads influyen en las interacciones locales y en la afinidad global del sistema ARN-cápside.

En el segundo escenario, se sigue el mismo enfoque utilizado en el primero para identificar las regiones clave, con las figuras 32, 36, 37 y 38. Estas gráficas permiten reconocer las áreas más relevantes asociadas con la mínima distancia promedio, la máxima interacción con nucleótidos y las configuraciones de energía atractiva. La figura 39 resume estas regiones, proporcionando una representación clara que valida la consistencia del análisis y destaca las áreas de interés para continuar con la evaluación de la estabilidad del sistema.

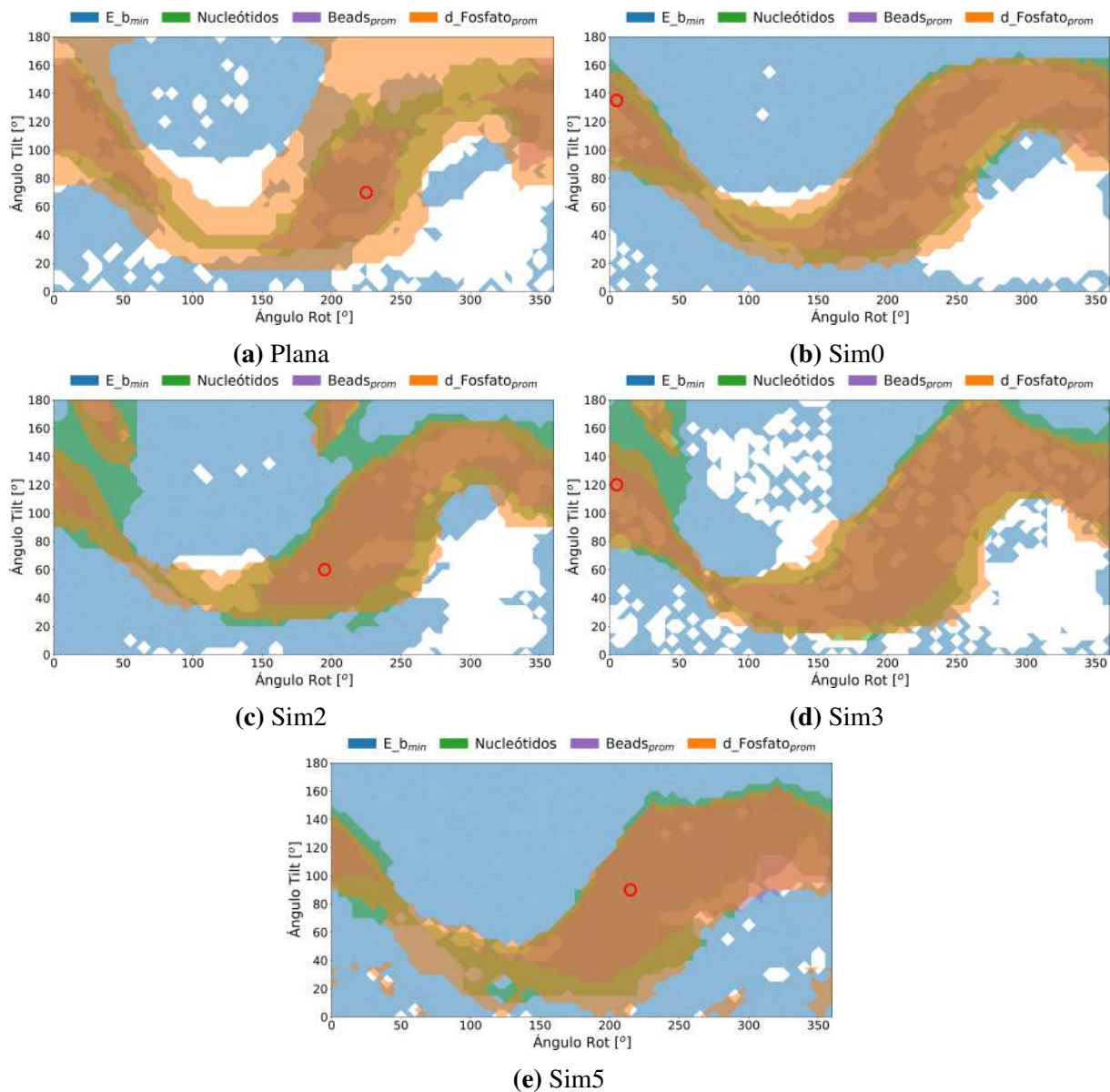


Figura 39: Superposición de las áreas de interés, del escenario áreas variables, derivadas de las figuras 32, 36, 37 y 38, considerando un margen del 50% para determinar las zonas con mayor probabilidad de configuraciones energéticamente favorables en el sistema ARN-cápside. Estas visualizaciones destacan las regiones prioritarias que optimizan los tiempos de simulación al enfocar el análisis en las zonas más prometedoras.

De la figura 39 se identifican las posiciones que corresponden a las áreas donde se superponen las regiones asociadas con las interacciones más significativas. Estas áreas incluyen: la energía atractiva mínima ($E_{b_{neg}}$), las distancias promedio mínimas ($d_{Fosfato_{prom}}$), el 50% del rango superior de los nucleótidos que interactúan, y el 50% del rango superior de la cantidad promedio de beads involucrados en la interacción.

Se observa una correlación clara entre estas áreas, destacando especialmente las que involucran

los nucleótidos, las distancias promedio mínimas, y la cantidad promedio de beads. Al igual que en el escenario anterior, las áreas de superposición coinciden principalmente con las regiones de energía de unión más atractiva, lo que refuerza la hipótesis de que las interacciones más favorables se concentran en estas zonas. Las posiciones fuera de estas áreas de superposición corresponden a energías de unión menos intensas, lo que confirma la tendencia observada en el escenario 1.

El análisis de estas superposiciones se detalla en la tabla 13, donde se presenta el conteo de las posiciones dentro de cada área individual (energía, nucleótidos, distancia mínima y cantidad de beads), así como el conteo de posiciones que muestran solapamiento entre pares de áreas (energía con nucleótidos, energía con distancias mínimas, y energía con beads). En la tabla 14, se incluyen los porcentajes normalizados de estas posiciones respecto al total de configuraciones evaluadas, lo que permite cuantificar la relevancia de las áreas de superposición y resaltar las regiones con mayor interacción atractiva.

Sim	Eb_{neg}	Nts	dmin	Beads	$Eb Nts$	$Eb dmin$	$Eb Beads$	All
Plana	1582	800	1522	516	385	751	751	385
Sim 0	2048	939	1076	695	631	712	712	610
Sim 2	2252	1171	1046	558	984	826	826	783
Sim 3	1963	1274	1210	851	943	842	842	807
Sim 5	2612	1012	1199	704	952	1117	1117	871

Tabla 13: Número de posiciones (#) identificadas en las simulaciones para las distintas simetrías, del escenario áreas variables. Las columnas muestran las posiciones con energía de unión atractiva mínima (Eb_{neg}), las que superan el 50% del rango de nucleótidos que interactúan (# Nts), las que se encuentran por debajo del 50% del rango de las distancias mínimas promedio (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio que interactúan. Además, se incluyen las posiciones de solapamiento entre energías y nucleótidos (# $Eb||Nts$), energías y distancias mínimas (# $Eb||dmin$), energías y beads (# $Eb||Beads$), y aquellas que cumplen simultáneamente las cuatro condiciones (# All).

Corroborando los datos presentados en la tabla 14, la implementación de estas consideraciones podría reducir el número total de posiciones simuladas en aproximadamente un 68% para este escenario. Esta reducción representa una mejora significativa en términos de eficiencia, disminuyendo la carga computacional sin comprometer la calidad ni la precisión de los resultados. Al igual que en el escenario 1, este enfoque permite priorizar las configuraciones más probables, optimizando así los tiempos de simulación.

El proceso sigue una estructura de refinamiento progresivo, comenzando con un análisis general de las configuraciones y avanzando hacia un enfoque más detallado y específico. Las posiciones más probables se priorizan en el siguiente orden: simetría 5, seguida de simetría 3, simetría 2, simetría esférica y, finalmente, simetría plana, como se observa en la tabla 8. Este orden refleja

Sim	Eb_{neg}	Nts	dmin	Beads	$Eb Nts$	$Eb dmin$	$Eb Beads$	All
Plana	58.57	29.62	56.35	19.1	14.25	27.8	27.8	14.25
Sim 0	75.82	34.76	39.84	25.73	23.36	26.36	26.36	22.58
Sim 2	83.38	43.35	38.73	20.66	36.43	30.58	30.58	28.99
Sim 3	72.68	47.17	44.8	31.51	34.91	31.17	31.17	29.88
Sim 5	96.7	37.47	44.39	26.06	35.25	41.36	41.36	32.25

Tabla 14: Porcentaje de posiciones (%) respecto al total de 2701 casos simulados, normalizado a partir de los valores de la tabla 13, del escenario áreas variables. Se muestran los porcentajes para las posiciones con energía de unión atractiva mínima (Eb_{neg}), las que superan el 50% del rango de nucleótidos (# Nts), las que están por debajo del 50% del rango de distancias mínimas (# dmin), y las que corresponden al 50% del rango de beads promedio. También se indican los porcentajes de las posiciones que solapan energías con nucleótidos ($Eb||Nts$), energías con distancias mínimas ($Eb||dmin$), energías con beads ($Eb||Beads$), y aquellas que cumplen las cuatro condiciones simultáneamente (# All).

los resultados obtenidos al considerar las interacciones más relevantes y la distribución de los nucleótidos y beads involucrados.

Para obtener una perspectiva más profunda sobre la influencia de la geometría y el impacto del cambio de escenario, se analizan las posiciones más probables en las figuras 40 y 41. Estas gráficas, ya mencionadas en el escenario 1, permiten investigar de manera más precisa la distribución y comportamiento de los nucleótidos más relevantes. A través de este análisis, se puede identificar el papel clave que juegan las interacciones entre la geometría y los nucleótidos en la determinación de las configuraciones más favorables para el sistema.

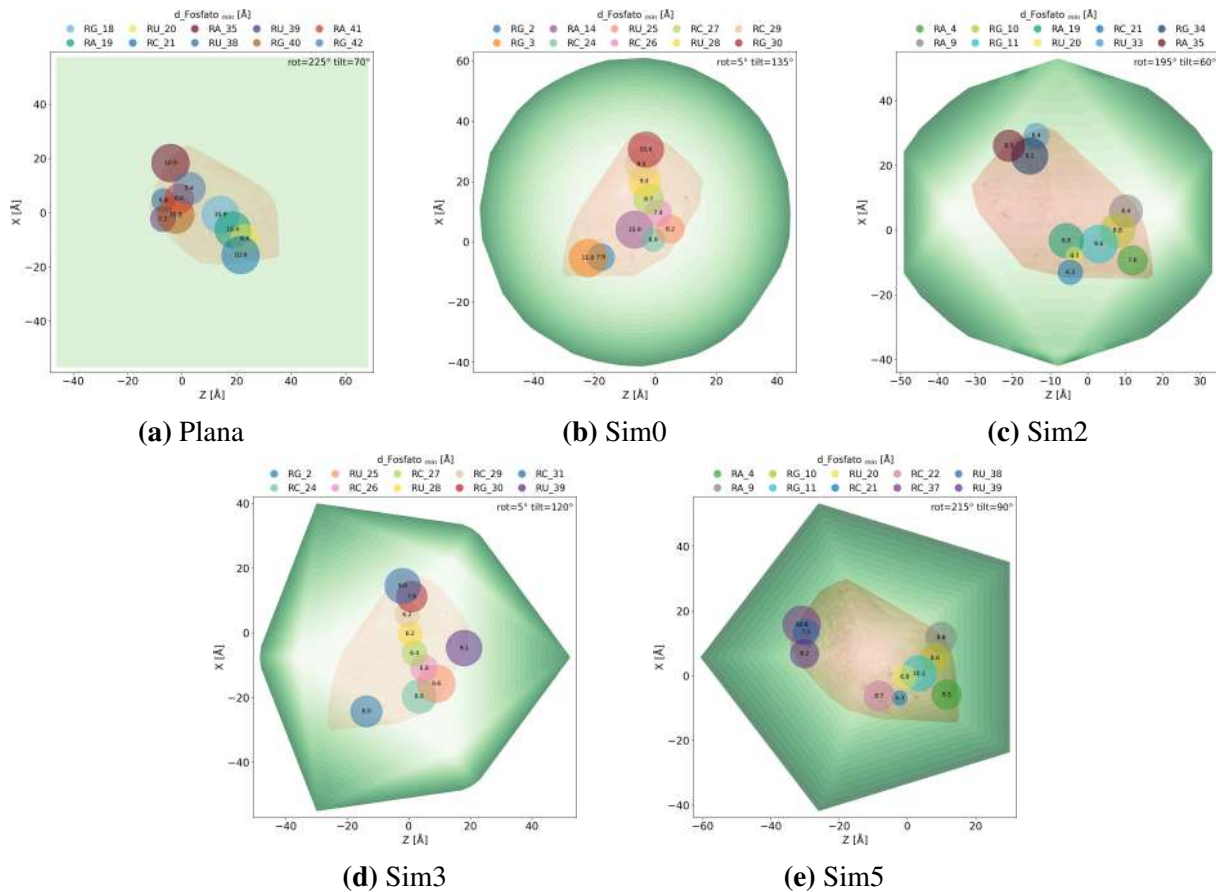


Figura 40: Esquemas que muestran las posiciones más probables de los 10 nucleótidos más cercanos al cápside viral para cada simetría, para el escenario áreas variable, con la ubicación de cada simetría indicada en la esquina superior derecha. Estas representaciones permiten visualizar las áreas donde los nucleótidos interactúan más fuertemente con el cápside viral, en función de la mínima distancia promedio.

A partir de las figuras 40 y 41, se observa que, al igual que en el escenario 1, la base uracilo (RU) mantiene su rol predominante en la simetría plana. Este comportamiento consistente resalta su importancia en las interacciones con el cápside viral en esta configuración. Sin embargo, en la simetría esférica, el patrón cambia y la base guanina (RG) se convierte en la más influyente, diferenciándose del escenario 1, donde la citosina (RC) era la predominante. Para la simetría 2, la adenina (RA) mantiene su relevancia como el nucleótido más destacado, mientras que en las simetrías 3 y 5, la citosina (RC) sigue siendo la base predominante, tanto en términos de distancias mínimas como en la cantidad de beads con los que interactúa.

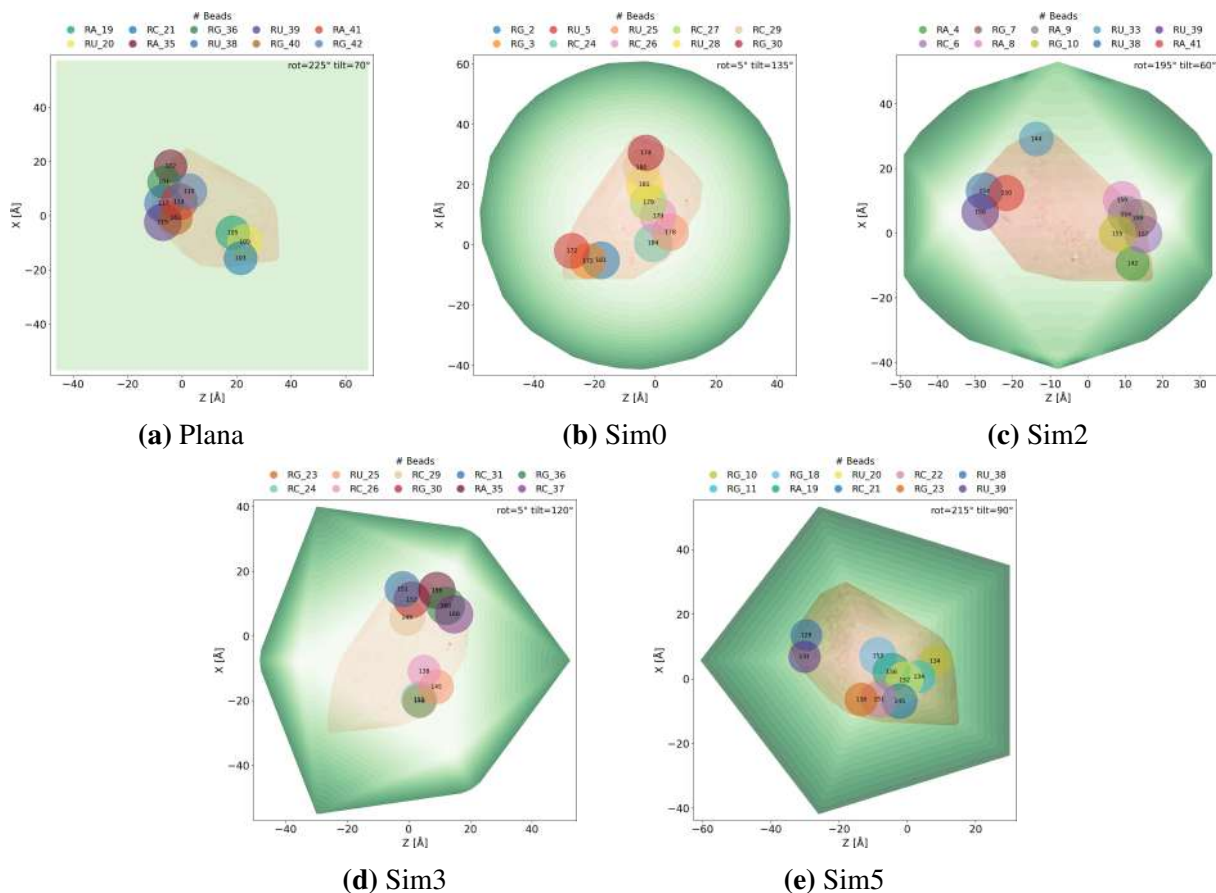


Figura 41: Esquemas que ilustran las posiciones más probables, destacando los 10 nucleótidos que interactúan con la mayor cantidad de beads del cápside viral, para el escenario áreas variables, considerando un radio de 25 [Å] desde cada fosfato. La ubicación de cada simetría está indicada en la esquina superior derecha, permitiendo estudiar cómo la geometría de cada simetría afecta la interacción entre nucleótidos y beads en el sistema.

Un hallazgo notable es que, en este escenario, la simetría más similar a la plana es la 5. Este resultado difiere de las expectativas iniciales, donde se podría suponer que la simetría 3, con su base plana, presentaría mayor similitud. Este comportamiento puede atribuirse nuevamente al confinamiento del ARN dentro del cápside viral, que influye significativamente en las interacciones nucleotídicas. A medida que se avanza en este trabajo, el efecto del confinamiento ha demostrado ser un factor crítico para entender estas dinámicas.

Finalmente, la figura 42 muestra cómo varía la energía mínima de unión con el incremento en el grosor del cápside viral. Este análisis complementa las observaciones realizadas y proporciona una visión más amplia sobre cómo los cambios estructurales en el cápside pueden influir en las interacciones con el ARN, ofreciendo una perspectiva integral del impacto de esta variable.

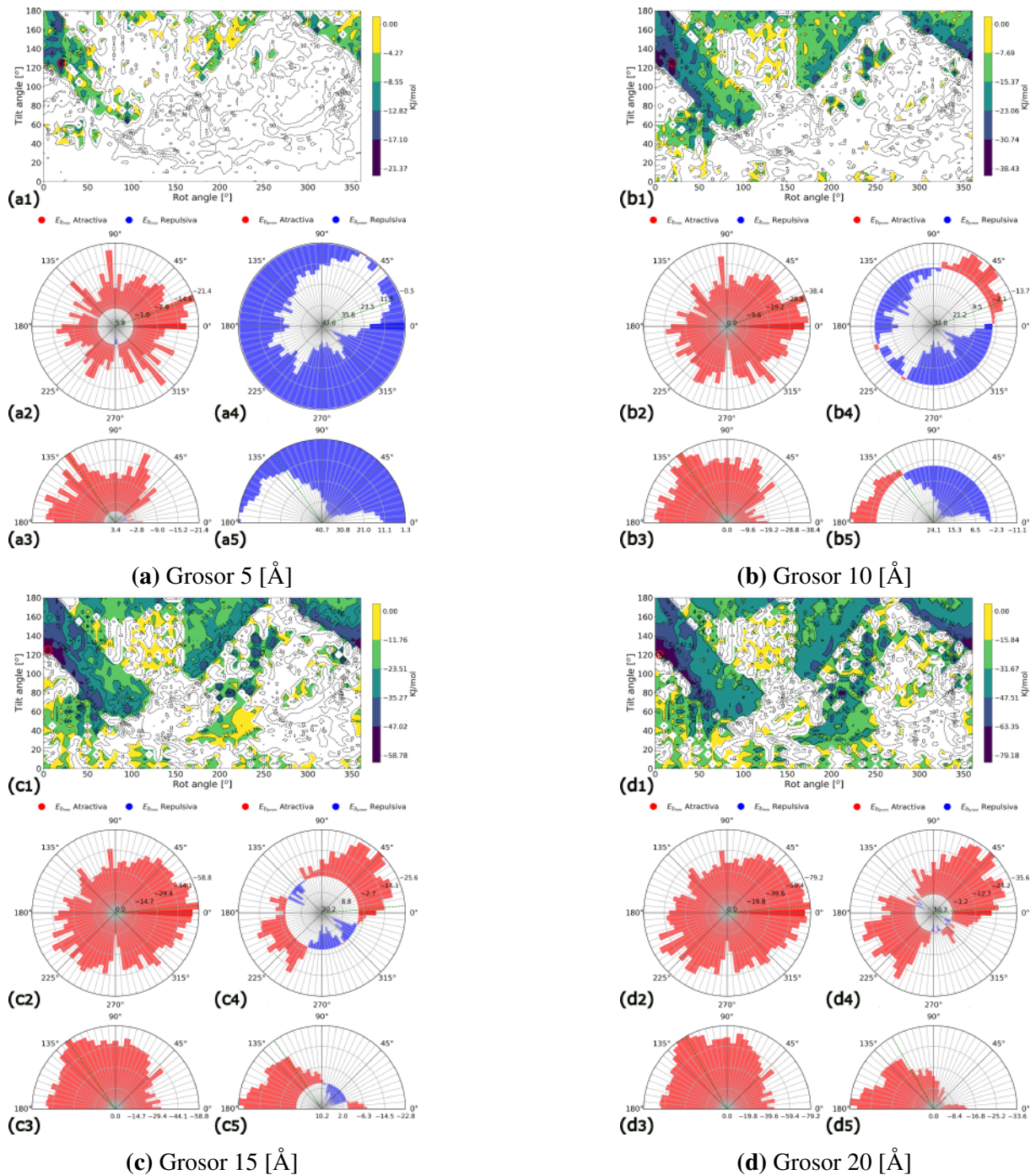


Figura 42: Esquemas que muestran la variación de la energía mínima de unión al incrementar el grosor del cápside en (a) 5 [Å], (b) 10 [Å], (c) 15 [Å], y (d) 20 [Å], para el escenario de áreas variables. Para cada valor de grosor, se incluyen: (1) Mapeo de la energía de unión atractiva, (2) Gráfico polar de la energía mínima de unión en función de la rotación, (3) Gráfico polar de la energía mínima en función de la inclinación, (4) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la rotación, y (5) Gráfica polar de la energía mínima promedio con respecto a la inclinación.

De la figura 42, se observa que, al igual que en el escenario 1, el incremento en el grosor del

cápside amplía las áreas donde la interacción entre el ARN y el cápside es atractiva. Sin embargo, en este escenario, la transición entre energías repulsivas y atractivas es más marcada, lo que sugiere que el confinamiento del ARN en el escenario 2 genera zonas repulsivas más extensas en comparación con el escenario 1.

Además, se incluyen análisis detallados que relacionan el grosor del cápside con la energía mínima de unión para cada simetría. Estos resultados, como se ilustra en la figura 43, muestran cómo las características estructurales, como la densidad de carga y los porcentajes de zonas atractivas, afectan las interacciones. Este análisis resalta el papel crítico del grosor del cápside en la modulación de las energías de unión y en la configuración de las interacciones atractivas.

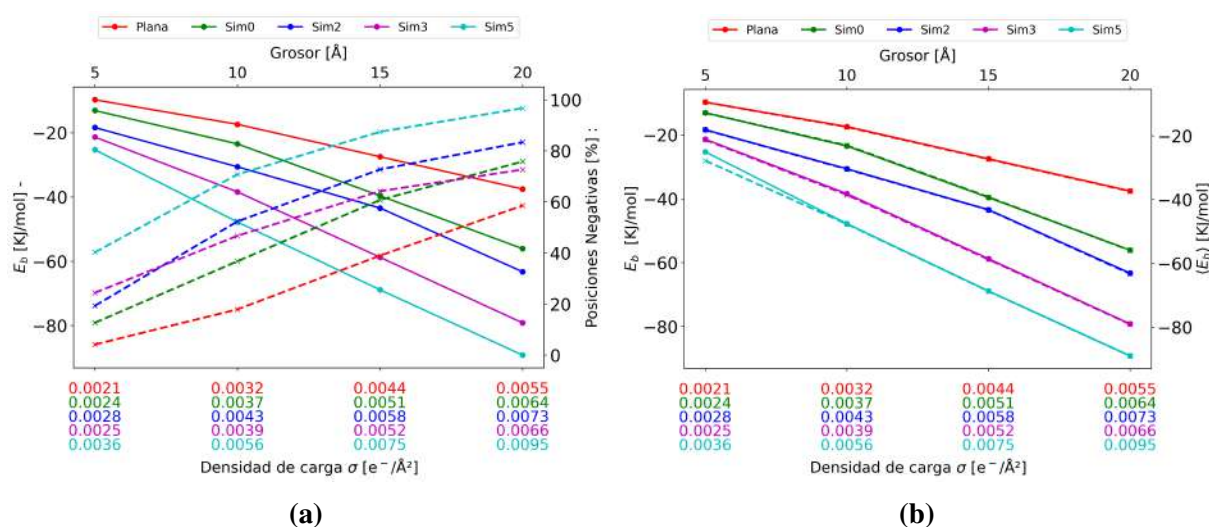


Figura 43: Gráficas correspondientes al escenario de áreas variables, basadas en el RNA_g amplificado, que utiliza áreas constantes para cada grosor y simetría, basadas en la simetría plana maximizada y el ARN de mayor tamaño (ARN_g). (a) Energía mínima de unión y porcentaje de posiciones con interacción atractiva en función del grosor del cápside. (b) Energía mínima de unión junto con el valor esperado ponderado de la energía de unión considerando la probabilidad de cada posición analizada.

En la figura 43, observamos un comportamiento más diferenciado en comparación con el escenario 1. Las energías mínimas de unión presentan una mayor dispersión, donde la simetría 5 muestra consistentemente la menor magnitud de energía atractiva, seguida por la simetría 3, la simetría 2, la simetría esférica y, finalmente, la simetría plana. Este orden resalta diferencias clave en la interacción del ARN con el cápside viral en este escenario, lo que sugiere que la variación en las áreas de interacción tiene un impacto significativo en las energías de unión.

Al analizar los porcentajes de posiciones atractivas, notamos que, aunque estos aumentan conforme se incrementa el grosor del cápside, la simetría 3 muestra un mayor desorden en comparación con el escenario 1. Además, la energía promedio ponderada guarda una buena

relación con los valores mínimos de la energía de unión, con ligeras variaciones específicas, como las observadas para la simetría 5 a un grosor de 5 [Å]. La característica distintiva de este escenario es la variación en el área, lo que implica que la densidad de carga σ no se mantiene constante. Este comportamiento refleja la influencia de un diseño más dinámico del cápside en las propiedades de interacción, a diferencia del escenario 1, donde la densidad de carga uniforme genera un orden más predecible.

En términos de similitud estructural, como también se observó en el escenario 1, la posición del ARN en la simetría plana es la más cercana a la de la simetría 5. Sin embargo, desde una perspectiva energética, estas dos simetrías muestran las mayores diferencias, evidenciando que las propiedades geométricas no necesariamente están correlacionadas con las propiedades energéticas.

En resumen, los resultados obtenidos en ambos escenarios destacan diferencias fundamentales en las energías de unión y los porcentajes de posiciones atractivas en función del grosor del cápside y las características geométricas de las simetrías. En el escenario 1, la constancia de la densidad de carga genera un patrón más uniforme en las interacciones atractivas, mientras que en el escenario 2, la variación en las áreas y la densidad de carga introduce una mayor diversidad en los resultados, evidenciada por un comportamiento energético más disperso y un desorden en ciertas simetrías.

Estos hallazgos confirman que, aunque la posición del ARN en las diferentes simetrías puede ser similar desde una perspectiva geométrica, las propiedades energéticas muestran diferencias significativas, especialmente al considerar factores como la variación del área. Esto subraya la relevancia de incluir consideraciones geométricas y energéticas para comprender completamente las interacciones entre el ARN y el cápside viral.

Con este análisis completo, estamos en posición de abordar las implicaciones de estos resultados en el diseño y funcionalidad de cápsides virales, lo que discutiremos a mayor profundidad en las conclusiones.

6. Conclusiones

Este trabajo presenta un análisis exhaustivo de las interacciones electrostáticas entre ARN y superficies cargadas, tomando como caso de estudio el STMV y evaluando dos escenarios clave. Los resultados obtenidos arrojan una visión más detallada sobre cómo las geometrías de las superficies y la distribución de cargas influyen en la estabilidad energética y las configuraciones espaciales óptimas del ARN en confinamiento. Este enfoque no solo ha permitido identificar patrones fundamentales en estas interacciones, sino también establecer una posible conexión práctica con aplicaciones futuras en el diseño de nanomateriales y sistemas biomoleculares.

En el escenario 1, con áreas constantes y densidades de carga homogéneas, se observó una relación lineal entre el grosor del cápside y las energías de unión atractivas. Este comportamiento destacó cómo las propiedades geométricas modulan las interacciones atractivas fuertes. En este contexto, la simetría 3 presentó las interacciones de energía de unión más atractivas, seguida por las simetrías 2 y 5, mientras que las geometrías esférica y plana mostraron energías de unión más bajas. Este patrón reafirma la relevancia de la simetría icosaédrica en la estabilización de las configuraciones ARN-superficie y sugiere que las propiedades geométricas pueden ser un factor crítico para optimizar la afinidad en sistemas confinados.

Por su parte, el escenario 2, con áreas variables y densidades de carga no homogéneas. El criterio de la distancia de corte para este escenario se definió tomando como referencia la simetría 5, medida desde su base hasta la arista superior. Este análisis reveló un incremento general en las energías de unión atractivas en comparación con el escenario 1. Sin embargo, el cambio en el orden de las simetrías icosaédricas (con la simetría 5 liderando las interacciones de energía de unión atractivas, seguida de las simetrías 3 y 2) pone de manifiesto la sensibilidad del sistema a las variaciones en la densidad de carga y su distribución espacial. Además, se evidenció una mayor dispersión en el porcentaje de posiciones negativas para la simetría 3, subrayando cómo estos factores afectan el posicionamiento preferido del ARN sin modificar de manera significativa la magnitud de las energías de unión mínimas.

Un hallazgo transversal a ambos escenarios es el papel del confinamiento en las configuraciones energéticas y espaciales del ARN. Particularmente, la geometría esférica, con una distribución más uniforme y alejada de los beads respecto al ARN, resultó en energías de unión atractiva sistemáticamente más bajas que las observadas en las simetrías icosaédricas. Este resultado refuerza la importancia de la geometría y el confinamiento como moduladores clave en sistemas de interacción ARN-superficie. Las gráficas polares y los análisis angulares facilitaron la identificación de posiciones recurrentes y configuraciones energéticamente favorables, ofreciendo una herramienta robusta para comprender y visualizar estas interacciones complejas.

En conjunto, los hallazgos de este estudio destacan la necesidad de considerar el balance entre geometría, densidad de carga y confinamiento al diseñar superficies optimizadas para interactuar con ARN. Además de enriquecer el conocimiento fundamental sobre las interacciones ARN-cápside, los resultados aquí presentados pueden abrir nuevas oportunidades en áreas como la nanobiotecnología, el diseño de cápsides virales artificiales y la ingeniería molecular en biología sintética y medicina. Las metodologías empleadas sientan las bases para futuras investigaciones enfocadas en sistemas biomoleculares y aplicaciones tecnológicas innovadoras.

Referencias

- [1] Christopher Cooper. *Biomolecular electrostatics with continuum models: a boundary integral implementation and applications to biosensors*. PhD thesis, Boston University, 2015.
- [2] Elizabeth Jurrus, Dave Engel, Keith Star, Kyle Monson, Juan Brandi, Lisa E. Felberg, David H. Brookes, Leighton Wilson, Jiahui Chen, Karina Liles, Minju Chun, Peter Li, David W. Gohara, Todd Dolinsky, Robert Konecny, David R. Koes, Jens Erik Nielsen, Teresa Head-Gordon, Weihua Geng, Robert Krasny, Guo-Wei Wei, Michael J. Holst, J. Andrew McCammon, and Nathan A. Baker. Improvements to the apbs biomolecular solvation software suite. *Protein Science*, 27(1):112–128, 2018.
- [3] Todd J Dolinsky, Jens E Nielsen, J Andrew McCammon, and Nathan A Baker. Pdb2pqr: an automated pipeline for the setup of poisson–boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic acids research*, 32(suppl_2):W665–W667, 2004.
- [4] Y. Yuan. *Comparative RNA and DNA Properties*. Springer, Berlin, Germany, 2009.
- [5] Mauricio G. Mateu. Assembly, stability and dynamics of virus capsids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 531(1):65–79, 2013. Protein Folding and Stability.
- [6] Ruben D. Cadena-Nava, Mauricio Comas-Garcia, Rees F. Garmann, A. L. N. Rao, Charles M. Knobler, and William M. Gelbart. Self-assembly of viral capsid protein and rna molecules of different sizes: Requirement for a specific high protein/rna mass ratio. *Journal of Virology*, 86(6):3318–3326, 2012.
- [7] Eric C. Dykeman, Peter G. Stockley, and Reidun Twarock. Building a viral capsid in the presence of genomic rna. *Phys. Rev. E*, 87:022717, Feb 2013.
- [8] Ian A. Roundtree, Molly E. Evans, Tao Pan, and Chuan He. Dynamic rna modifications in gene expression regulation. *Cell*, 169(7):1187–1200, 2017.
- [9] Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 6th edition, 2017.
- [10] Jeremy M Berg, John L Tymoczko, Gregory J Gatto, and Lubert Stryer. *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, 8th edition, 2015.
- [11] Benoit Roux and Thomas Simonson. Implicit solvent models. *Biophysical chemistry*, 78(1-2):1–20, 1999.
- [12] Sergio Decherchi, Matteo Masetti, Ivan Vyalov, and Walter Rocchia. Implicit solvent

- methods for free energy estimation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 91:27–42, 2015. *Molecular Dynamics: New Advances in Drug Discovery*.
- [13] Nathan A Baker. Poisson–boltzmann methods for biomolecular electrostatics. In *Methods in enzymology*, volume 383, pages 94–118. Elsevier, 2004.
- [14] J. Andrew McCammon and Stephen C. Harvey. *Dynamics of Proteins and Nucleic Acids*. Cambridge University Press, Cambridge, 1987.
- [15] Alexey V Onufriev and David A Case. Generalized born implicit solvent models for biomolecules. *Annual review of biophysics*, 48(1):275–296, 2019.
- [16] Vicente Ramm. Estimación de error en la malla superficial para la ecuación de poisson boltzmann aplicado al método de elementos de borde. UTFSM, 2019.
- [17] Travis Mackoy, Robert C Harris, Jesse Johnson, Michael Mascagni, and Marcia O Fenley. Numerical optimization of a walk-on-spheres solver for the linear poisson-boltzmann equation. *Communications in Computational Physics*, 13(1):195–206, 2013.
- [18] Changhao Wang, Peter H Nguyen, Kevin Pham, Danielle Huynh, Thanh-Binh Nancy Le, Hongli Wang, Pengyu Ren, and Ray Luo. Calculating protein–ligand binding affinities with mmpbsa: Method and error analysis. *Journal of computational chemistry*, 37(27):2436–2446, 2016.
- [19] L. Li, C. Li, S. Sarkar, J. Zhang, S. Witham, Z. Zhang, L. Wang, N. Smith, M. Petukh, and E. Alexov. Delphi: a comprehensive suite for delphi software and associated resources. *BMC biophysics*, 5(1):1–11, 2012.
- [20] Wonmuk Hwang, Steven L. Austin, Arnaud Blondel, Eric D. Boittier, Stefan Boresch, Matthias Buck, Joshua Buckner, Amedeo Caffisch, Hao-Ting Chang, Xi Cheng, Yeol Kyo Choi, Jih-Wei Chu, Michael F. Crowley, Qiang Cui, Ana Damjanovic, Yuqing Deng, Mike Devereux, Xinqiang Ding, Michael F. Feig, Jiali Gao, David R. Glowacki, James E. II Gonzales, Mehdi Bagerhi Hamaneh, Edward D. Harder, Ryan L. Hayes, Jing Huang, Yandong Huang, Phillip S. Hudson, Wonpil Im, Shahidul M. Islam, Wei Jiang, Michael R. Jones, Silvan Käser, Fiona L. Kearns, Nathan R. Kern, Jeffery B. Klauda, Themis Lazaridis, Jinhyuk Lee, Justin A. Lemkul, Xiaorong Liu, Yun Luo, Alexander D. Jr. MacKerell, Dan T. Major, Markus Meuwly, Kwangho Nam, Lennart Nilsson, Victor Ovchinnikov, Emanuele Paci, Soohyung Park, Richard W. Pastor, Amanda R. Pittman, Carol Beth Post, Samarjeet Prasad, Jingzhi Pu, Yifei Qi, Thenmalarchelvi Rathinavelan, Daniel R. Roe, Benoit Roux, Christopher N. Rowley, Jana Shen, Andrew C. Simmonett, Alexander J. Sodt, Kai Töpfer, Meenu Upadhyay, Arjan van der Vaart, Luis Itza Vazquez-Salazar, Richard M. Venable,

- Luke C. Warrensford, H. Lee Woodcock, Yujin Wu, Charles L. III Brooks, Bernard R. Brooks, and Martin Karplus. Charmm at 45: Enhancements in accessibility, functionality, and speed. *The Journal of Physical Chemistry B*, 128(41):9976–10042, 2024. PMID: 39303207.
- [21] DA Case, K Belfon, IY Ben-Shalom, SR Brozell, DS Cerutti, TE Cheatham, VWD Cruzeiro, T Darden, RE Duke, G Giambasu, et al. Amber2020, university of california, san francisco. *J. Amer. Chem. Soc.*, 142:3823–3835, 2020.
- [22] D Bashford. Macroscopic electrostatics with atomic detail (mead): Applications to biomacromolecules. *Biomacromolecules*, pages 53–68, 1997.
- [23] Qin Cai, Meng-Juei Hsieh, Jun Wang, and Ray Luo. Performance of nonlinear finite difference poisson boltzmann solvers. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 6(1):203–211, 2010. PMID: 24723843.
- [24] Gabriel M. Silva, Xiaodong Liang, and Georgios M. Kontogeorgis. Investigation of the limits of the linearized poisson–boltzmann equation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 126(22):4112–4131, 2022. PMID: 35623090.
- [25] Alexander H. Boschitsch and Marcia O. Fenley. Hybrid boundary element and finite difference method for solving the nonlinear poisson–boltzmann equation. *Journal of Computational Chemistry*, 25(7):935–955, 2004.
- [26] Federico Fogolari, Pierfrancesco Zuccato, Gennaro Esposito, and Paolo Viglino. Biomolecular electrostatics with the linearized poisson-boltzmann equation. *Biophysical Journal*, 76(1):1–16, 1999.
- [27] Ronald M. Levy, Linda Y. Zhang, Emilio Gallicchio, and Anthony K. Felts. On the nonpolar hydration free energy of proteins: Surface area and continuum solvent models for the solute solvent interaction energy. *Journal of the American Chemical Society*, 125(31):9523–9530, 2003. PMID: 12889983.
- [28] Jason A. Wagoner and Nathan A. Baker. Assessing implicit models for nonpolar mean solvation forces: The importance of dispersion and volume terms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(22):8331–8336, 2006.
- [29] F. Fogolari, A. Brigo, and H. Molinari. The poisson–boltzmann equation for biomolecular electrostatics: a tool for structural biology. *Journal of Molecular Recognition*, 15(6):377–392, 2002.
- [30] Gene Lamm. *The Poisson–Boltzmann Equation*, chapter 4, pages 147–365. John Wiley and Sons, Ltd, 2003.

- [31] Paweł Grochowski and Joanna Trylska. Continuum molecular electrostatics, salt effects, and counterion binding—a review of the poisson–boltzmann theory and its modifications. *Biopolymers*, 89(2):93–113, 2008.
- [32] Nathan A. Baker. *Biomolecular Applications of Poisson–Boltzmann Methods*, chapter 5, pages 349–379. John Wiley and Sons, Ltd, 2005.
- [33] Simón Poblete, Anže Božič, Matej Kanduč, Rudolf Podgornik, and Horacio V. Guzman. Rna secondary structures regulate adsorption of fragments onto flat substrates. *ACS Omega*, 6(48):32823–32831, 2021.
- [34] Krishna Narayanan, Chun-Jen Chen, Junko Maeda, and Shinji Makino. Nucleocapsid-independent specific viral rna packaging via viral envelope protein and viral rna signal. *Journal of Virology*, 77(5):2922–2927, 2003.
- [35] Isabel Sola, Pedro A. Mateos-Gomez, Fernando Almazan, Sonia Zuñiga, and Luis Enjuanes. Rna-rna and rna-protein interactions in coronavirus replication and transcription. *RNA Biology*, 8(2):237–248, 2011. PMID: 21378501.
- [36] Honggang Zhou, Yuna Sun, Yu Guo, and Zhiyong Lou. Structural perspective on the formation of ribonucleoprotein complex in negative-sense single-stranded rna viruses. *Trends in Microbiology*, 21(9):475–484, 2013.
- [37] Krishna Narayanan and Shinji Makino. Cooperation of an rna packaging signal and a viral envelope protein in coronavirus rna packaging. *Journal of Virology*, 75(19):9059–9067, 2001.
- [38] Guanghui Yi, Robert C. Vaughan, Ian Yarbrough, S. Dharmiah, and C. Cheng Kao. Rna binding by the brome mosaic virus capsid protein and the regulation of viral rna accumulation. *Journal of Molecular Biology*, 391(2):314–326, 2009.
- [39] John F. Bol. *Role of Capsid Proteins*, pages 21–31. Humana Press, Totowa, NJ, 2008.
- [40] Sarah Katen and Adam Zlotnick. Chapter 14 the thermodynamics of virus capsid assembly. In *Biothermodynamics, Part A*, volume 455 of *Methods in Enzymology*, pages 395–417. Academic Press, 2009.
- [41] Qianya Wan, Dan Song, Huangcan Li, and Ming-liang He. Stress proteins: the biological functions in virus infection, present and challenges for target-based antiviral drug development. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1):125, 2020.
- [42] Jian Zhu, Kodetham Gopinath, Ayaluru Murali, Guanghui Yi, S. Diane Hayward, Heng

- Zhu, and Cheng Kao. Rna-binding proteins that inhibit rna virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(9):3129–3134, 2007.
- [43] Christopher D Cooper, Natalia C Clementi, and Lorena A Barba. Probing protein orientation near charged nanosurfaces for simulation-assisted biosensor design. *The Journal of Chemical Physics*, 143(12):09B621_1, 2015.
- [44] Anastazia Jablunovsky and Joyce Jose. The dynamic landscape of capsid proteins and viral rna interactions in flavivirus genome packaging and virus assembly. *Pathogens*, 13(2), 2024.
- [45] Zahra Harati Taji, Pavlo Bielytskyi, Mikhail Shein, Marc-Antoine Sani, Stefan Seitz, and Anne K. Schütz. Transient rna interactions leave a covalent imprint on a viral capsid protein. *Journal of the American Chemical Society*, 144(19):8536–8550, 2022. PMID: 35512333.
- [46] Warren L DeLano and Sarina Bromberg. Pymol user’s guide. *DeLano Scientific LLC*, 629, 2004.
- [47] Christopher D. Cooper, Ian Addison-Smith, and Horacio V. Guzman. Quantitative electrostatic force tomography for virus capsids in interaction with an approaching nanoscale probe. *Nanoscale*, 14:12232–12237, 2022.

A. Apéndice

A.1. Tablas de los casos analizados

En las siguientes tablas mostramos los casos analizados y sus características principales

Tabla 15: Distancia de corte del icosaedro y esfera para cada caso, (*) este escenario tiene consideraciones extras para aproximar mejor a un área constante

RNA	Simetría	Grosor	$A_{variable} / A_{constante}$			
			Sym 0 [Å]	Sym 2 [Å]	Sym 3 [Å]	Sym 5 [Å]
RNA _g	Plano 1.3	5	34/17	34/20	34/16	34/28
		10	34/17	34/20	34/16	34/28
		15	34/17	34/20	34/16	34/28
		20	34/17	34/20	34/16	34/28
	Plano 2	5	34/39	34/44	34/41	34/52*
		10	34/39	34/44	34/41	34/52*
		15	34/39	34/44	34/41	34/52*
		20	34/39	34/44	34/41	34/52*
RNA _p	Plano 1.3	5	34/7	34/8	34/4	34/18
		10	34/7	34/8	34/4	34/18
		15	34/7	34/8	34/4	34/18
		20	34/7	34/8	34/4	34/18
	Plano 2	5	34/17	34/20	34/16	34/28
		10	34/17	34/20	34/16	34/28
		15	34/17	34/20	34/16	34/28
		20	34/17	34/20	34/16	34/28

Tabla 16: Cantidad de beads para cada caso

RNA	Escala	Grosor	$A_{variable} / A_{constante}$				
			Plano [beads]	Sym-0 [beads]	Sym-2 [beads]	Sym-3 [beads]	Sym-5 [beads]
RNA _g	x1.3	5	400	1044/525	683/405	759/387	526/391
		10	400	1044/525	683/405	759/387	526/391
		15	400	1044/525	683/405	759/387	526/391
		20	400	1044/525	683/405	759/387	526/391
	x2	5	900	1044/1200	683/897	759/900	526/896
		10	900	1044/1200	683/897	759/900	526/896
		15	900	1044/1200	683/897	759/900	526/896
		20	900	1044/1200	683/897	759/900	526/896
RNA _p	x1.3	5	169	1044/215	683/175	759/165	526/181
		10	169	1044/215	683/175	759/165	526/181
		15	169	1044/215	683/175	759/165	526/181
		20	169	1044/215	683/175	759/165	526/181
	x2	5	400	1044/525	683/406	759/387	526/391
		10	400	1044/525	683/406	759/387	526/391
		15	400	1044/525	683/406	759/387	526/391
		20	400	1044/525	683/406	759/387	526/391

Tabla 17: Carga por bead para cada caso

RNA	Escala	Grosor	$A_{variable} / A_{constante}$				
			Plano [e^-]	Sym-0 [e^-]	Sym-2 [e^-]	Sym-3 [e^-]	Sym-5 [e^-]
RNA _g	x1.3	5	0.0324	0.0124/0.0247	0.0190/0.0324	0.0171/0.0324	0.0246/0.0324
		10	0.0498	0.0191/0.0380	0.0245/0.0498	0.0263/0.0498	0.0379/0.0498
		15	0.0672	0.0258/0.0512	0.0331/0.0672	0.0354/0.0672	0.0511/0.0672
		20	0.0847	0.0325/0.0645	0.0417/0.0847	0.0446/0.0847	0.0644/0.0847
	x2	5	0.0324	0.0279/0.0243	0.0358/0.0324	0.0384/0.0324	0.0554/0.0324
		10	0.0498	0.0429/0.0374	0.0551/0.0498	0.0591/0.0498	0.0852/0.0498
		15	0.0672	0.0580/0.0504	0.0774/0.0672	0.0797/0.0672	0.1151/0.0672
		20	0.0847	0.0730/0.0635	0.0938/0.0847	0.1004/0.0847	0.1449/0.0847
RNA _p	x1.3	5	0.0324	0.0052/0.0254	0.0067/0.0324	0.0072/0.0324	0.0104/0.0324
		10	0.0498	0.0081/0.0392	0.0103/0.0498	0.0111/0.0498	0.0160/0.0498
		15	0.0672	0.0109/0.0529	0.0140/0.0672	0.0150/0.0672	0.0216/0.0672
		20	0.0847	0.0137/0.0666	0.0176/0.0847	0.0189/0.0847	0.0272/0.0847
	x2	5	0.0324	0.0124/0.0247	0.0190/0.0324	0.0171/0.0324	0.0246/0.0324
		10	0.0498	0.0191/0.0380	0.0245/0.0498	0.0263/0.0498	0.0379/0.0498
		15	0.0672	0.0258/0.0512	0.0331/0.0672	0.0354/0.0672	0.0511/0.0672
		20	0.0847	0.0325/0.0645	0.0417/0.0847	0.0446/0.0847	0.0644/0.0847

Tabla 18: Carga superficial σ para cada caso

RNA	Escala	Grosor	$A_{variable} / A_{constante}$				
			Plano [e^-]	Sym-0 [e^-]	Sym-2 [e^-]	Sym-3 [e^-]	Sym-5 [e^-]
RNA _g	x1.3	5	0.0212	0.0108/0.0216	0.0124/0.0212	0.0111/0.0212	0.0161/0.0212
		10	0.0325	0.0167/0.0332	0.0191/0.0325	0.0172/0.0325	0.0248/0.0325
		15	0.0439	0.0225/0.0448	0.0257/0.0439	0.0232/0.0439	0.0334/0.0439
		20	0.0553	0.0284/0.0564	0.0324/0.0553	0.0292/0.0553	0.0421/0.0553
	x2	5	0.0212	0.0244/0.0212	0.0279/0.0212	0.0251/0.0212	0.0362/0.0212
		10	0.0325	0.0375/0.0327	0.0429/0.0325	0.0386/0.0325	0.0557/0.0325
		15	0.0439	0.0507/0.0441	0.0579/0.0439	0.0521/0.0439	0.0752/0.0439
		20	0.0553	0.0638/0.0555	0.0729/0.0553	0.0656/0.0553	0.0947/0.0553
RNA _p	x1.3	5	0.0212	0.0046/0.0222	0.0052/0.0212	0.0047/0.0212	0.0068/0.0212
		10	0.0325	0.0070/0.0342	0.0081/0.0325	0.0072/0.0325	0.0105/0.0325
		15	0.0439	0.0095/0.0462	0.0109/0.0439	0.0098/0.0439	0.0141/0.0439
		20	0.0553	0.0120/0.0582	0.0137/0.0553	0.0123/0.0553	0.0178/0.0553
	x2	5	0.0212	0.0081/0.0161	0.0124/0.0211	0.0111/0.0212	0.0161/0.0212
		10	0.0325	0.0125/0.0248	0.0191/0.0325	0.0172/0.0325	0.0248/0.0325
		15	0.0439	0.0168/0.0335	0.0257/0.0438	0.0232/0.0439	0.0334/0.0439
		20	0.0553	0.0212/0.0422	0.0324/0.0552	0.0292/0.0553	0.0421/0.0553

Tabla 19: Posición del ARN en la que es más probable que se encuentre, del escenario de Área Constante

RNA	Escala	Grosor	Ángulo <i>rot</i> / Ángulo <i>tilt</i>				
			Plano [°]	Sym 0 [Å]	Sym 2 [°]	Sym 3 [°]	Sym 5 [°]
RNA _g	x1.3	5	150/115	10/170	40/65	20/125	270/155
		10	225/70	10/170	20/170	20/125	290/150
		15	225/70	20/125	20/170	20/125	290/150
		20	225/70	5/135	10/120	5/125	345/140
	x2	5	225/70	15/175	40/65	20/125	275/155
		10	225/70	15/175	40/65	20/125	275/115
		15	225/70	5/140	20/170	5/125	275/115
		20	225/70	5/135	195/60	5/120	275/115
RNA _p	x1.3	5	345/15	345/60	325/60	205/110	30/45
		10	165/60	345/60	345/70	205/110	30/45
		15	190/100	345/60	345/70	205/110	10/75
		20	190/100	345/60	345/70	205/110	10/75
	x2	5	345/15	330/50	325/60	345/45	345/60
		10	165/60	355/55	345/70	345/60	345/60
		15	190/100	355/55	345/70	345/60	345/80
		20	190/100	355/55	345/70	345/60	345/80

Tabla 20: Posición del ARN en la que es más probable que se encuentre, del escenario de Área Variable

Tipo de RNA	Escala	Grosor	Ángulo <i>rot</i> / Ángulo <i>tilt</i>				
			Plano [°]	Sym 0 [Å]	Sym 2 [°]	Sym 3 [°]	Sym 5 [°]
RNA _g	x1.3	5	150/115	15/175	280/175	95/65	280/160
		10	225/70	15/175	40/65	20/125	280/160
		15	225/70	15/175	40/65	20/125	275/155
		20	225/70	15/175	40/65	20/125	335/150
	x2	5	225/70	15/175	40/65	20/125	275/155
		10	225/70	5/140	20/170	20/125	345/140
		15	225/70	5/135	195/60	5/125	215/90
		20	225/70	5/135	195/60	5/120	215/90
RNA _p	x1.3	5	345/15	285/105	325/60	285/100	345/120
		10	165/60	285/105	325/60	285/100	345/120
		15	190/100	285/105	325/60	285/100	345/120
		20	190/100	285/105	325/60	285/100	345/120
	x2	5	345/15	285/105	325/60	285/100	345/120
		10	165/60	330/70	325/60	285/100	345/120
		15	190/100	330/70	325/60	285/100	345/120
		20	190/100	330/70	325/60	285/95	345/75

Tabla 21: Resumen de parámetros calculados para el segmentos mínimo y el promedio respecto a todas las posiciones con energía de unión atractiva para el escenario 1.

Sim	#Eb _{sup_{seg}}	%Eb _{sup_{in_{seg}}}	% Eb _{sup_{pos_{atrac}}}
Plana	9	100.0	24.34
Sim 0	24	96.0	26.92
Sim 2	28	87.5	30.21
Sim 3	32	100.0	37.80
Sim 5	41	95.35	26.65

Tabla 22: Resumen de parámetros calculados para el segmento mínimo y el promedio respecto a todas las posiciones con energía de unión atractiva para el escenario 2.

Sim	#Eb _{sup_{seg}}	%Eb _{sup_{in_{seg}}}	% Eb _{sup_{pos_{atrac}}}
Plana	9	100.0	24.34
Sim0	31	88.57	29.79
Sim2	14	100.0	34.77
Sim3	41	100.0	41.11
Sim5	50	100.0	33.35

A.2. Parámetros de ejecución de APBS

```
read
  mol pqr archivo.pqr
end

elec name solv
  mg-manual
  dime 513 513 513
  grid 0.25 0.25 0.25
  gcent mol 1
  mol 1
  npbe #lpbe
  bcfl mdh
  ion charge 1 conc 0.150 radius 2
  ion charge -1 conc 0.150 radius 2
  pdie 2.0
  sdie 80.0
  srfm smol
  chgm spl2
  sdens 10.00
  srad 1.40
  swin 0.30
  temp 298.15
  calcenergy total
  calcforce no
end

elec name vacc
  mg-manual
  dime 513 513 513
  grid 0.25 0.25 0.25
  gcent mol 1
  mol 1
  npbe #lpbe
  bcfl mdh
  pdie 2.0
  sdie 2.0
  srfm smol
  chgm spl2
  sdens 10.00
  srad 1.40
  swin 0.30
  temp 298.15
  calcenergy total
  calcforce no
end

print elecEnergy solv - vacc end
quit
```

(a) (b)

Figura 44: Ejemplo de archivo de entrada para apbs, calculando la Energía de Solvatación para un fragmento de archivo pqr. (a) Cálculo de la energía electrostática para la molécula de ARN en un entorno de disolvente. (b) Cálculo de la energía electrostática para el ARN en el vacío y cálculo de la Energía de Solvatación para el sistema.

APBS requiere un archivo de entrada que define los parámetros para la ejecución de la simulación como se ve en la Fig44. A continuación se describe el propósito de cada sección y parámetro en el archivo:

- **read:** Esta sección indica qué archivo de entrada PQR contiene las coordenadas moleculares y las cargas de los átomos que serán utilizadas en el cálculo.
 - mol pqr sym0_max_dcor53_00243.pqr: Indica el nombre del archivo en formato PQR que contiene la estructura molecular con cargas y radios atómicos.
- **elec:** Cada bloque elec define una configuración electrostática para la simulación. En este caso, hay dos bloques de elec: uno para el solvente (solv) y otro para el vacío (vacc).

- `name`: Establece el nombre de la solución electrostática. En este caso, hay dos soluciones: `solv` (para el solvente) y `vacc` (para el vacío).
- `mg-manual`: Indica que se usará una configuración manual de la malla de diferencias finitas (en lugar de automática).
- `dime 513 513 513`: Define el tamaño de la malla de diferencias finitas en cada dimensión (x, y, z), con un total de 513 puntos en cada dirección.
- `grid 0.25 0.25 0.25`: Especifica el tamaño de las celdas de la malla en cada dirección (en Ångstroms). Un tamaño de celda más pequeño puede proporcionar una mayor precisión, pero incrementa el tiempo de cálculo.
- `gcent mol 1`: Establece el centro de la malla en la primera molécula (`mol 1`), en lugar de un punto específico en el espacio.
- `mol 1`: Se refiere a la primera molécula, la cual será utilizada para los cálculos electrostáticos.
- `npbe`: Utiliza la versión no lineal de la ecuación de Poisson-Boltzmann (Nonlinear Poisson-Boltzmann Equation - NPBE). Alternativamente, se puede usar `lpbe` para la versión lineal.
- `bcfl mdh`: Especifica las condiciones de frontera (Boundary Condition Flag). En este caso, `mdh` indica el uso de las condiciones de frontera de Debye-Hückel modificado, que simulan el comportamiento del campo electrostático a grandes distancias.
- `ion charge`: Define las propiedades de los iones en la solución. Aquí se especifica la carga, la concentración (en mol/L) y el radio (en Ångstroms) de los iones positivos y negativos.
 - `ion charge 1 conc 0.150 radius 2`: Iones positivos con carga +1, concentración de 0.15 M, y radio de 2 Å.
 - `ion charge -1 conc 0.150 radius 2`: Iones negativos con carga -1, concentración de 0.15 M, y radio de 2 Å.
- `pdie 2.0`: Define la permitividad dieléctrica de la molécula (interior del soluto), en este caso, 2.0.
- `sdie 80.0`: Define la permitividad dieléctrica del solvente, que es 80.0 (valor típico para agua).
- `srfm smol`: Especifica el modelo de la superficie utilizada para los cálculos

electrostáticos. `smol` indica que se utilizará el modelo de superficie molecular suavizada.

- `chgm sp12`: Define el método de asignación de carga. `sp12` se refiere a una interpolación de cargas usando splines de segundo orden.
 - `sdens 10.00`: Establece la densidad de puntos en la superficie (puntos/Å²). Una mayor densidad proporciona mayor precisión.
 - `srad 1.40`: Define el radio de la sonda utilizada para calcular la superficie accesible al solvente, típicamente 1.4 Å (radio de una molécula de agua).
 - `swin 0.30`: Define el ancho del suavizado en la superficie, lo cual afecta la transición entre las regiones de soluto y solvente.
 - `temp 298.15`: Especifica la temperatura del sistema en Kelvin (298.15 K corresponde a 25 °C, temperatura ambiente).
 - `calcenergy total`: Indica que se calculará la energía electrostática total del sistema.
 - `calcforce no`: Se indica que no se calcularán las fuerzas electrostáticas en este caso.
- **`print elecEnergy solv - vacc`**: Esta instrucción especifica que se imprimirá la energía electrostática, calculando la diferencia entre las dos soluciones (`solv` - solvente y `vacc` - vacío). Este cálculo es clave para determinar la energía de solvatación de la molécula.
 - **`quit`**: Finaliza la ejecución del archivo `.in`.