

RESUM

En la present tesi s'han realitzat estudis estructurals de DNA. L'objectiu era l'estudi detallat de les interaccions del DNA amb fàrmacs intercalants i amb metalls de transició.

Tant els fàrmacs intercalants com els metalls de transició poden afectar a les propietats i a l'estructura del DNA. Això es pot utilitzar en àmbits mèdics com per exemple en la millora de les propietats dels fàrmacs anticancerígens, antibiòtics, etc. Referent als metalls de transició es coneixen interaccions específiques d'aquests amb el DNA que també poden ser molt útils en dissenyar noves estructures de DNA (Valls *et al.*, 2004).

Els estudis s'han realitzat emprant sobretot la cristal·lografia de raigs X, tècnica que permet realitzar un estudi estructural molt detallat, arribant en alguns casos a resolucions atòmiques. Per tal de complementar els estudis cristal·logràfics, s'han utilitzat també altres tècniques com són el footprinting, fluorescència o mesures de viscositat. Aquestes donen informació sobre els fàrmacs que es volen utilitzar, prediuen si s'intercalen o no entre les bases del DNA i permeten saber també si aquests són específics per a una determinada seqüència.

S'han estudiat sistemes aromàtics derivats de l'acridina i de l'antraquinona que tenen units diferents substituents, principalment aminoàcids. S'ha comprovat, però, que en general aquests fàrmacs no són específics per a una determinada seqüència.

Els estudis de cristal·lització han demostrat d'alguna manera aquesta inespecificitat dels fàrmacs ja que en la majoria de les estructures resoltes no s'ha pogut detectar el fàrmac. S'han fet assajos amb dotze oligonucleòtids diferents, que contenen entre sis i dotze parells de bases. Aquests contenen passos CG (pas típic on s'intercalen els fàrmacs en estructures ja descrites) i passos AA/TT. Es coneix només una estructura on el fàrmac es troba intercalat en un pas com aquest (Malinina *et al.*, 2002), i s'ha intentat induir un altre cop aquesta intercalació amb altres oligonucleòtids.

S'han fet molts assajos de cristal·lització per obtenir complexos DNA-fàrmac i s'han resolt, finalment, cinc estructures amb quatre oligonucleòtids diferents. D'aquestes

cinc estructures només dues han presentat fàrmac intercalat. Concretament es tracta de la seqüència d(CGTACG) que s'ha cristal·litzat amb dos fàrmacs diferents, un derivat de l'antraquinona i un derivat de l'acridina.

El decàmer d(CGCAATTGCG) s'ha cristal·litzat en el grup espacial $I2_12_12_1$ formant una estructura isomòrfica a la mateixa seqüència descrita per Spink *et al.* (1995). Aquest decàmer s'ha descrit en un total de cinc estructures diferents i en quatre grups espacials. Això ha permès realitzar un estudi comparatiu de totes elles, analitzant d'una banda les diferències i de l'altra els efectes de les diferents condicions de cristal·lització emprades.

S'ha resolt també la primera estructura de B-DNA, la seqüència d(GAATTCG), amb una simetria cúbica. És el primer cop que es cristal·litza aquesta seqüència i el grup espacial és $I23$. El tret més important de l'estructura són les grans cavitats de dissolvent que presenta, només el 24% del cristall està ocupat per àtoms de DNA. L'estructura s'ha resolt pel mètode de MAD utilitzant l'ió Ni^{2+} com a àtom pesat.

La primera estructura del decàmer d(CAATTAATTG) s'ha descrit a una resolució de 2.8 Å. Aquesta ha cristal·litzat en el grup espacial $P3_221$ i és isomòrfica a un grup d'estructures de seqüències diferents (Goodsell *et al.*, 1995). El fet de contenir un 80% de bases A i T ha suggerit fer un estudi conformacional del decàmer.

Totes les estructures s'han cristal·litzat en presència dels ions Ni^{2+} o Co^{2+} , els quals formen gairebé sempre interaccions específiques amb els N7 de les guanines. Aquests ions tenen en general un paper molt important a l'hora d'estabilitzar el cristall ja que sovint ajuden a unir dues columnes de dúplex a través de guanines terminals que es desaparellen. També s'han detectat altres ions com el Ba^{2+} o el Na^+ .