

TRABAJO DE FIN DE GRADO EN FÍSICA



SIMULACIONES NUMÉRICAS DE DINÁMICA DE ADN EN CÉLULAS

Autor:

Diego Salas Uroz

~ Junio 2023 ~

Directores:

Marco De Corato

Norberto Fueyo Díaz

Ponente:

María Pilar García Navarro

Índice

1. Introducción y objetivos	1
2. Base biológica y modelización física	1
3. Ecuaciones de la dinámica del polímero	3
3.1. Inclusión de la fuerza elástica de unión	5
3.2. Implementación del código	6
3.3. Verificación del código: Cómputo de la distancia promedio entre extremos	6
3.4. Verificación del código: Distribución de probabilidad de R_{RMS}	7
4. Interacciones en base a la identidad de los monómeros	9
4.1. Fuerzas por identidad: modelo para interacciones entre heterocromatina y eucromatina	9
4.2. Probabilidad de reacción y fluctuación de la identidad	10
4.3. Resultados para el porcentaje de heterocromatina en situación de equilibrio	12
4.3.1. Comprobación de la tendencia teórica para un polímero de 2 monómeros	12
4.3.2. Resultados para un polímero de 100 monómeros	15
5. Comportamiento auxético	17
5.1. Tensor de giro	18
5.2. Aplicación de fuerzas de estiramiento	18
5.3. ¿Auxeticidad?	20
6. Resumen, conclusiones y limitaciones	23

1. Introducción y objetivos

El ADN es un polímero presente en el núcleo de las células eucariotas que codifica la información genética de los seres vivos. En condiciones normales no se encuentra en estado libre, sino que las hebras de ADN se encuentran enrolladas en torno a unas estructuras globulares llamadas histonas; dicha estructura formada por el ADN junto a las histonas recibe el nombre de cromatina. Dado que la cromatina se encuentra anclada a las paredes del núcleo celular, deformaciones mecánicas y fuerzas externas (principalmente comprimir o estirar el núcleo) pueden modificar la conformación del ADN y con ello dar lugar a patologías genéticas, proliferación de cáncer y dañar la información genética. A pesar de su importancia para el correcto funcionamiento y desarrollo celular, el efecto de fuerzas mecánicas en la organización del ADN es todavía desconocido.

El objetivo de este TFG es crear un modelo computacional simple que sea capaz de simular comportamientos estocásticos del ADN en un medio líquido. Para ello se simulará inicialmente una cadena ideal con dinámica browniana, y serán añadidas progresivamente interacciones entre monómeros para que se asemeje en la medida de lo posible a la cromatina. A través de estas simulaciones se propone evaluar las fuerzas críticas que el ADN puede soportar antes de perder su conformación, y evaluar cómo las fuerzas externas pueden modificar la transcripción genética por cambios en el estado de compactación de la cromatina nuclear.

2. Base biológica y modelización física

La cromatina está formada por unas proteínas llamadas histonas, que forman conjuntos de forma globular en torno a los que se enrolla el ADN y que reciben el nombre de nucleosomas. Se muestra una representación esquemática de dicha estructura en la figura 1. De cara a crear un modelo sencillo de dicha estructura, el polímero de cromatina se modelizará como una sucesión de N monómeros, que se mantendrán unidos entre sí por medio de interacciones elásticas con los monómeros inmediatamente anterior y posterior, de forma similar a cuentas unidas por muelles. Esto tiene una cierta base biológica: los monómeros representarán secciones de mayor compactación de la cromatina, mientras que las uniones elásticas entre ellos equivaldrán a zonas donde la hebra de ADN se encuentra descondensada. Los monómeros de nuestro polímero no pretenden simular nucleosomas, sino a regiones mucho más extensas del plegamiento de ADN, tal que podamos asignarle a cada uno un cierto grado de compactación.

En particular, la cromatina tiene dos estados de compactación tradicionalmente diferenciados: eucromatina y heterocromatina. El primero de ellos, la eucromatina, supone una compactación leve de la hebra (los nucleosomas se encuentran más separados) y por lo general el ADN presente en la eucromatina se encuentra en transcripción activa, es decir, está disponible para ser leído por la célula. En cambio, la heterocromatina implica un

alto grado de empaquetamiento (nucleosomas muy próximos). Al encontrarse plegado en torno a las histonas el ADN no puede ser leído y con ello se inhibe el proceso de transcripción, dando lugar a genes reprimidos.

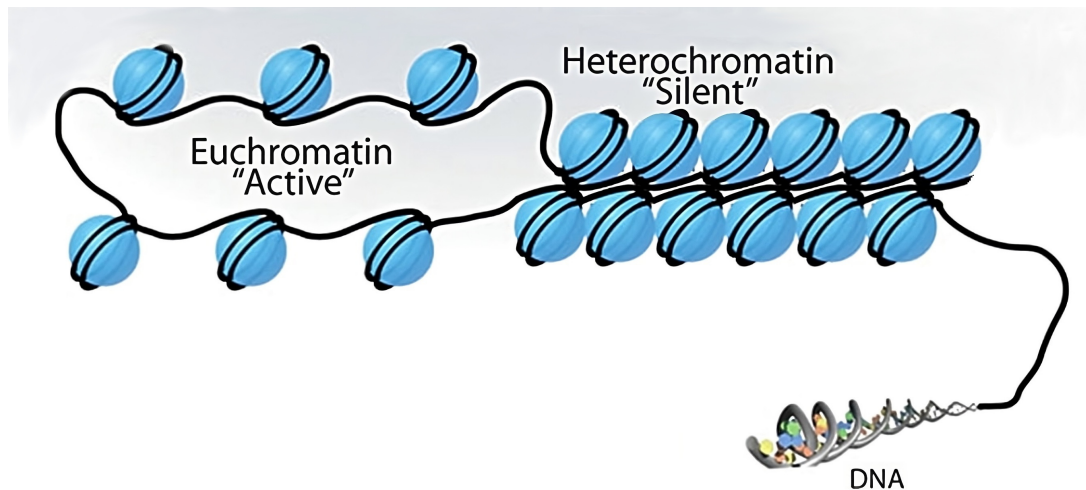


Figura 1: Representación habitual de los distintos tipos de cromatina. A la derecha, heterocromatina (estado inactivo); a la izquierda, eucromatina (estado activo). Fuente: *Sha, K. et Boyer, L. A., stemBook 2009.*

En la naturaleza existen muchas reacciones bioquímicas que modifican el estado de compactación de la cromatina, pudiendo pasar regiones del código genético compactadas como heterocromatina a estado de eucromatina y viceversa. La cromatina se encuentra anclada a las paredes internas del núcleo, por lo que aplicar fuerzas sobre éste conlleva aplicarlas también sobre la cromatina en su interior.

En resumen, se modelizará la cromatina como un polímero similar al mostrado en la figura 2, consistente de una cadena de N monómeros unidos por interacciones elásticas. Ambos tipos de cromatina se modelizarán como monómeros distintos, representados en la figura como tipo A (heterocromatina) y tipo B (eucromatina); de esta manera se podrá estudiar la proporción de cada uno en todo momento. Mediante la simulación a ordenador se pretende comprobar si la aplicación de fuerzas externas sobre dicho polímero provoca un cambio en la proporción de monómeros en cada estado de compactación. Ciertamente, si aumentara la concentración total de heterocromatina esto podría suponer que algunos genes importantes acabarían reprimidos. Y viceversa: la descondensación de parte de la heterocromatina puede dar lugar a la expresión de genes perjudiciales que se encontraban inactivos.

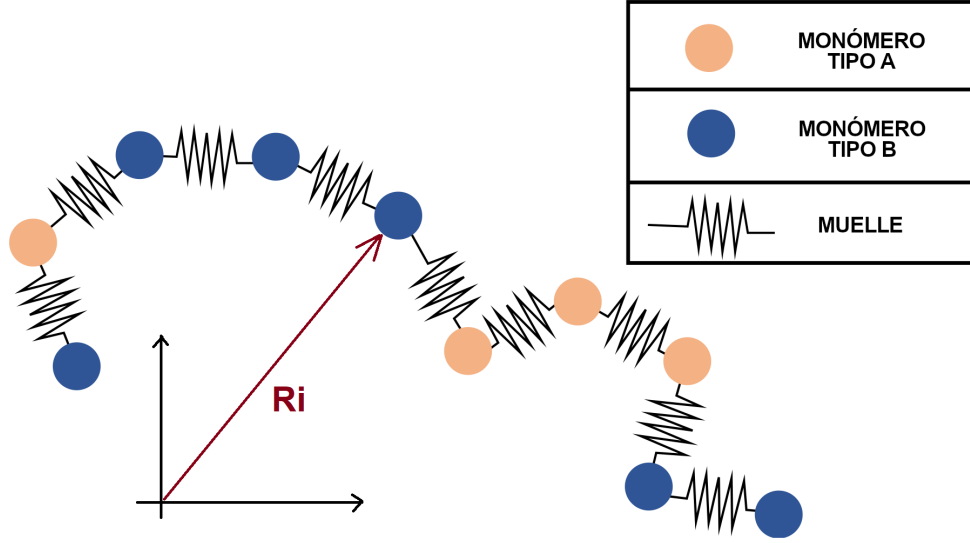


Figura 2: Modelo físico del polímero de ADN.

3. Ecuaciones de la dinámica del polímero

El primer paso es programar la dinámica básica del polímero. Sus monómeros, al estar en difusión en un medio acuoso, presentarán trayectorias brownianas [4]. Estas trayectorias son las originadas por el choque constante y aleatorio con las moléculas del solvente, cuya posición fluctúa gracias a la energía térmica. Partículas en estas condiciones se difundirán progresivamente por el fluido. Cada monómero de un polímero inmerso en un medio líquido experimenta la acción de distintas fuerzas, entre las que se encuentran una fuerza viscosa proporcional a la velocidad, $-\eta \frac{d\vec{R}_i}{dt}$ (donde η es el coeficiente de fricción, que suponemos constante) que tiende a frenar los monómeros, así como una fuerza fluctuante y aleatoria resultado de todos los choques sufridos con las moléculas del solvente, $\vec{F}_{\text{fluc}, i}(t)$. El movimiento aleatorio de un único monómero se puede expresar según la ecuación de Langevin (ec. 1), que no es más que la ecuación de mecánica newtoniana para una partícula sometida a las fuerzas del sistema. Para los tamaños típicos a escalas celulares el medio intracelular es extremadamente viscoso, y la dinámica se encuentra sobreamortiguada. Por tanto las fuerzas viscosas dominan sobre el término de inercia. Si se desprecia este último, la dinámica para un monómero i -ésimo cualquiera del polímero vendrá dada por la ecuación de Langevin no inercial (ec. 2).

$$m \frac{d^2 \vec{R}_i}{dt^2} = -\eta \frac{d\vec{R}_i}{dt} + \vec{F}_{\text{ext}, i} + \vec{F}_{\text{fluc}, i}(t) \quad (1)$$

$$\frac{d\vec{R}_i}{dt} = \frac{1}{\eta} (\vec{F}_{\text{ext}, i} + \vec{F}_{\text{fluc}, i}(t)) \quad (2)$$

donde \vec{R}_i es la posición respecto al origen de coordenadas de la partícula i -ésima, y t denota al tiempo. Se puede resolver esta ecuación diferencial numéricamente. De los muchos métodos conocidos, se ha optado por resolverla empleando el método de Euler (ec. 3) en lugar de por cualquiera de los otros métodos con mayor precisión, como los Runge-Kutta, pues computacionalmente es el menos costoso y matemáticamente el más simple.

$$\int_t^{t+\Delta t} d\vec{R}_i(\tau) = \vec{R}_i(t+\Delta t) - \vec{R}_i(t) = \int_t^{t+\Delta t} \frac{1}{\eta} (\vec{F}_{\text{ext},i} + \vec{F}_{\text{fluc},i}(\tau)) d\tau \sim \frac{1}{\eta} (\vec{F}_{\text{ext},i} + \vec{F}_{\text{fluc},i}(t)) \Delta t \quad (3)$$

Tal y como se observa en la (ec. 3), el método de Euler aproxima el integrando entre t y $t + \Delta t$ por el valor de la función en el extremo inicial de integración. La fuerza externa, que todavía no ha sido concretada, es conocida. Sin embargo se desconoce la expresión matemática de la fuerza fluctuante, por lo que se habrá de aproximar su integral de otra manera. Para ello resulta conveniente emplear un resultado clásico de dinámica browniana, la relación de fluctuación-disipación, que permite conocer la correlación temporal de la fuerza estocástica (ec. 4). Con ello es posible calcular la covarianza de la integral del término fluctuante (ec. 5).

$$\langle \vec{F}_{\text{fluc},i}(t) \vec{F}_{\text{fluc},i}(t') \rangle = 2k_B T \eta \delta(t-t') \mathbf{I} \quad (4)$$

$$\left\langle \left[\int_t^{t+\Delta t} \vec{F}_{\text{fluc},i}(s) ds \right] \left[\int_t^{t+\Delta t} \vec{F}_{\text{fluc},i}(s') ds' \right] \right\rangle = \iint 2k_B T \eta \delta(t-t') ds ds' = 2k_B T \eta \Delta t \mathbf{I} \quad (5)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann y T es la temperatura, siendo $\frac{1}{2} k_B T$ la energía térmica de las moléculas del solvente, e \mathbf{I} es la matriz identidad. Por tanto la integral de la fuerza estocástica deberá tener varianza $2k_B T \eta \Delta t$, ergo deberá ser un nuevo vector, también estocástico, y con varianza la anterior. Tendrá por tanto la forma dada por la (ec. 6), donde $\vec{\xi}(t)$ es un vector de componentes aleatorias entre 0 y 1 de acuerdo a una distribución gaussiana de probabilidad con promedio 0 y varianza 1 en cada instante t .

$$\int_t^{t+\Delta t} \vec{F}_{\text{fluc},i}(s) ds = \vec{\xi}(t) \sqrt{2k_B T \eta \Delta t} \quad (6)$$

Finalmente es posible reexpresar la ecuación de Euler como:

$$\vec{R}_i(t+\Delta t) = \vec{R}_i(t) + \left(\frac{\vec{F}_{\text{ext},i}}{\eta} \right) \Delta t + \vec{\xi}(t) \sqrt{2D\Delta t} \quad (7)$$

Donde se denota $D = \frac{k_B T}{\eta}$, lo que recibe el nombre de relación de Einstein (D denota a la difusividad). Con esta fórmula recursiva ya es factible calcular las posiciones en cada paso de tiempo para todas las partículas; para ello sólo falta fijar la posición inicial $R(0)$.

3.1. Inclusión de la fuerza elástica de unión

Los monómeros no deben ser independientes, sino que debe haber interacciones entre ellos que mantengan la cadena cohesionada, como ya se mostró en la figura 2; en el caso de la cromatina esto se puede entender como el efecto que el ADN no empaquetado ejerce entre los distintos nucleosomas. Se añadirá para ello una fuerza elástica entre monómeros. Esta fuerza simula la interacción elástica entre las distintas regiones de condensación debida a zonas de la hebra de cromatina que se encuentran descondensadas. La forma típica de modelizarla es mediante la ley de Hooke:

$$\vec{F}_{\text{elástica } ij} = K(\vec{R}_j - \vec{R}_i) \quad (8)$$

cuyo potencial asociado es:

$$V_{\text{elástico } ij} = \frac{1}{2}K(\vec{R}_j - \vec{R}_i)^2 \quad (9)$$

donde K es la constante elástica. Cada partícula tendrá dos interacciones elásticas, $\vec{F}_{\text{elástica } i,i-1} \equiv \vec{F}_i$ y $\vec{F}_{\text{elástica } i,i+1} \equiv \vec{F}_d$, a excepción lógicamente de los extremos de la cadena, que sólo podrán interactuar elásticamente con su único vecino.

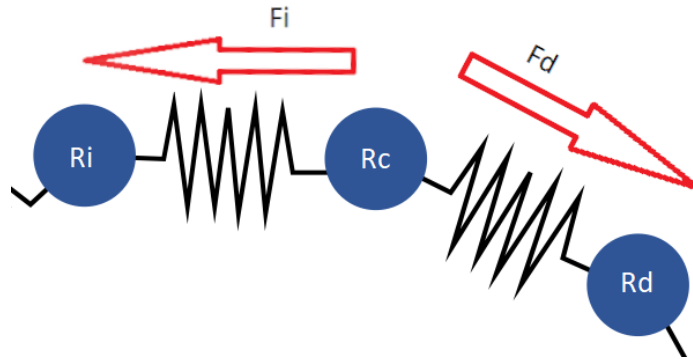


Figura 3: Cada monómero R_c experimenta una fuerza elástica proporcional a la distancia a los monómeros contiguos R_i y R_d , en la dirección de unión entre monómeros.

La inclusión de la fuerza elástica modificará la situación de equilibrio térmico. Por una parte, la fuerza elástica tiende a acercar los monómeros entre sí, mientras que las fluctuaciones térmicas tiende a separarlos de esa posición de equilibrio. El equilibrio se dará cuando se igualen la energía elástica y la energía térmica. En base a las unidades de los parámetros del sistema ($[D] = Nm^2s^{-1}$, $[\eta] = Nm^{-1}s$, $[K] = Nm^{-1}$) se definen los siguientes parámetros característicos del modelo elástico-disipativo:

$$\frac{1}{2}K\lambda^2 = \frac{3}{2}k_B T \longrightarrow \text{Longitud característica} \equiv [\lambda] = \left[\sqrt{\frac{3k_B T}{K}} \right] = m \quad (10)$$

$$\text{Tiempo característico} \equiv [\tau] = \left[\frac{K_B T}{KD} \right] = \left[\frac{\eta}{K} \right] = s \quad (11)$$

Donde λ es la distancia promedio entre las partículas en situación de equilibrio térmico, y τ es la escala de tiempos a la que ocurren los movimientos por acción de las fuerzas del sistema. El paso de tiempo Δt que se emplee en la integración por Euler deberá ser mucho menor que este valor, tal que el método logre resolver correctamente la dinámica del sistema.

3.2. Implementación del código

Para tener mayor flexibilidad a la hora de realizar las simulaciones se ha optado por escribir todo el código desde cero, empleando para ello el lenguaje de programación *python*. Las posiciones de cada uno de los monómeros se actualizarán en cada paso de tiempo en base a la ecuación 7, donde para cada una de las componentes del vector aleatorio $\vec{\xi}(t)$ será generado un número en el intervalo $[0,1]$ de acuerdo a una distribución normal de probabilidad. Por otro lado será necesario como paso previo inicializar las posiciones de las partículas. Resulta razonable, de cara a disminuir el tiempo necesario para termalizar el sistema, colocar las partículas formando inicialmente un camino aleatorio con distancia entre dos monómeros contiguos constante a lo largo de toda la cadena. Dicha distancia se elegirá como la distancia característica λ dada por la ecuación 10, tal que el sistema se encuentre lo más cercano posible al estado de equilibrio. Además, todas las magnitudes promediadas se calcularán siempre partiendo de una situación de equilibrio, habiendo termalizado previamente el sistema el tiempo necesario.

3.3. Verificación del código: Cómputo de la distancia promedio entre extremos

Una vez aclarado cómo se calcula la trayectoria de cada monómero, resulta de interés poder caracterizar el tamaño que adopta el polímero en el espacio. La distancia entre los extremos del polímero es una magnitud adecuada para ello, y existen predicciones teóricas [1] con las que comparar los resultados de la simulación. Para estimarla, una magnitud de utilidad [3] es la media cuadrática de la distancia promedio a todas las configuraciones posibles entre los extremos inicial y final del polímero (ec. 12). Puede deducirse su valor directamente viendo la distribución gaussiana de probabilidad (ec. 14) para las distancias de extremo a extremo, donde comprobamos que la desviación típica es $\sigma = \sqrt{\langle (\vec{r}_N - \vec{r}_1)^2 \rangle} = \lambda\sqrt{N-1}$.

$$R_{RMS} = \sqrt{\langle (\vec{r}_N - \vec{r}_1)^2 \rangle} = \lambda\sqrt{N-1} \simeq \sqrt{\frac{\sum_j^{\text{n configuraciones}} (\vec{r}_N - \vec{r}_1)_j^2}{\text{n configuraciones}}} \quad (12)$$

donde N es el número total de monómeros del polímero. Una magnitud de uso más frecuente es el radio de giro, que es proporcional a la distancia R_{RMS} :

$$R_G = \frac{R_{RMS}}{\sqrt{6}} = \frac{\lambda\sqrt{N-1}}{\sqrt{6}} \quad (13)$$

Que R_{RMS} verifique la ecuación 12 es una característica de cualquier polímero ideal y nos sirve de comprobación del código. El polímero en el paso de tiempo inicial es por imposición un polímero ideal, ergo se debería de verificar. Se muestra a continuación la comprobación:

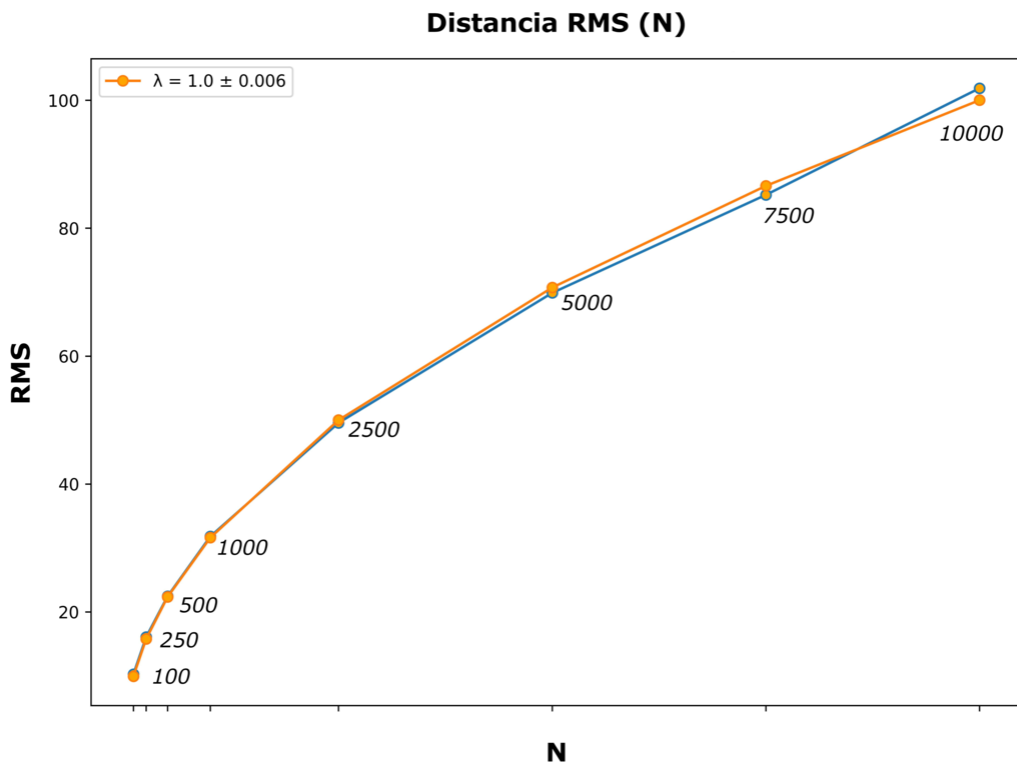


Figura 4: Comprobación de la ecuación 12 para la posición inicial de la cadena. Cada punto de la curva naranja es resultado de promediar la distancia extremo para 1000 configuraciones iniciales. La curva azul representa el valor teórico $\lambda\sqrt{N-1}$. Se observa que la simulación produce el comportamiento previsto por la teoría.

3.4. Verificación del código: Distribución de probabilidad de R_{RMS}

Antes de añadir más fuerzas más al modelo, es conveniente comprobar que se está simulando correctamente un polímero bajo movimiento browniano. Existe una equivalencia formal entre caminatas aleatorias y polímeros, tal que una caminata aleatoria de N pasos es equivalente a un polímero de N enlaces (ergo $N-1$ monómeros). En un espacio tridimensional, la distancia promedio de una caminata aleatoria de N pasos y longitud R (o

equivalentemente la longitud de extremo a extremo R de un polímero de $N - 1$ monómeros) está distribuida atendiendo a la distribución de probabilidad gaussiana [5] dada por la ecuación 14.

$$p(N, R)_{3d} = \left(\frac{3}{2\pi(N-1)\lambda^2} \right)^{3/2} e^{-\frac{3R^2}{2(N-1)\lambda^2}} \quad (14)$$

Para cada instante de tiempo se puede calcular R_{RMS} y los valores obtenidos deberían seguir la distribución de probabilidad anterior. Sin embargo el modelo empleado no es una cadena ideal, pues la distancia entre monómeros no es un valor λ fijo, sino que fluctúa con el tiempo. Por otro lado, se han introducido interacciones elásticas entre los monómeros que tienden a mantenerlos unidos. En este contexto se puede entender λ como la distancia promedio de separación entre partículas contiguas, correspondiente a la longitud característica definida en la ecuación 10. Es posible comprobar de esta manera que las distancias entre extremos siguen la distribución teórica. Para ello se ha de tener en cuenta la degeneración espacial, pues el resultado es el mismo para cualquier posición angular de la cadena en el espacio. Por consiguiente la distribución a todo el volumen responde a:

$$P(N, R)_{3d} = \int p(N, R)_{3d} dV = \int p(N, R)_{3d} 4\pi R^2 dR \quad (15)$$

Con ello, la distribución teórica correcta para R es $4\pi R^2 p(N, R)_{3d}$. Efectivamente concuerda con lo obtenido mediante la simulación, lo que permite confirmar su validez:

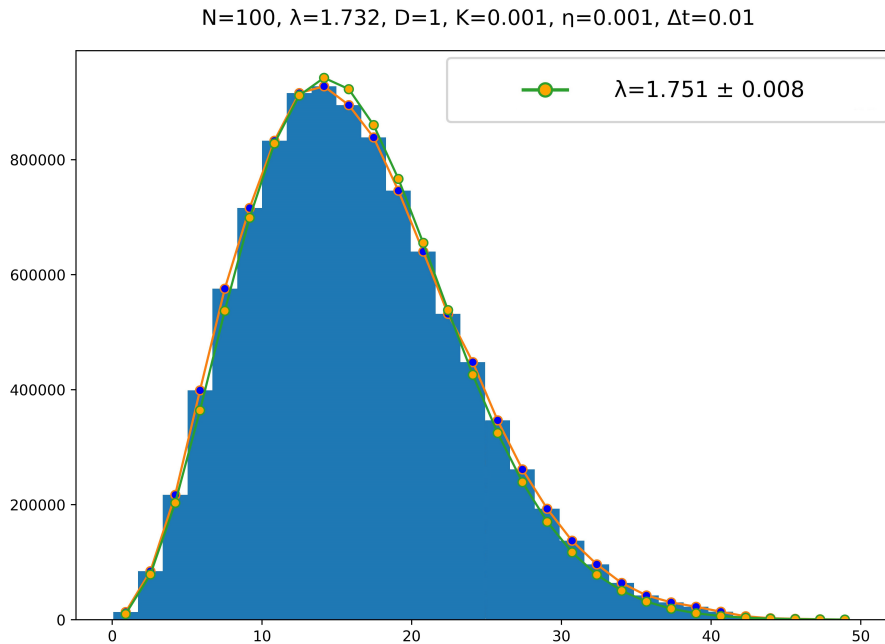


Figura 5: Comprobación para el caso $N=100$. Representación del número de ocurrencias de un cierto R en el conjunto de todas las configuraciones inspeccionadas. La curva verde se corresponde al ajuste a la ecuación 15. Se observa una λ efectiva próxima al valor teórico, $\lambda = 1,732$.

4. Interacciones en base a la identidad de los monómeros

4.1. Fuerzas por identidad: modelo para interacciones entre heterocromatina y eucromatina

Comprobada la validez del código, se procede a añadir una fuerza externa adicional. Como ya se motivó anteriormente, diferenciar los monómeros en función de su estado de compactación permitirá estudiar la proporción de cada uno en todo momento, y observar con ello variaciones en dicha proporción al aplicar fuerzas externas. A partir de ahora cada monómero tendrá asignada una identidad (tal y como se mostró en la figura 2) en función de qué tipo de cromatina representa: +1 si es eucromatina o -1 si es heterocromatina.

Existen estudios [6] que nos revelan una descondensación parcial de la heterocromatina relacionada con la aplicación de fuerzas sobre la cromatina nuclear. Es decir, parte de la heterocromatina pasó a estado de eucromatina al aplicar fuerzas externas. Para poder simular este comportamiento es necesario permitir que la identidad de los monómeros cambie. Sin embargo, si se permite que fluctúe libremente de forma aleatoria, cualquier cambio que experimentara el sistema no afectaría a la fracción de monómeros en cada uno de los dos estados. Una forma de modelizar el efecto del entorno sobre la identidad de una partícula es imponer que ésta se vea afectada por la identidad y posición de sus vecinos. Experimentalmente la heterocromatina presenta interacciones atractivas consigo misma [2]. Así pues se impondrá al modelo un potencial sencillo que decae exponencialmente con la distancia entre monómeros con la siguiente forma:

$$\Phi_{ij} = \Phi_{ji} = A_{ij} e^{-\Lambda|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} \quad (16)$$

donde el factor A_{ij} que acompaña a la exponencial es distinto en función de la identidad (ID) de las partículas implicadas en la interacción:

$$A_{ij} = \begin{cases} -A & \text{si ID}(i) = \text{ID}(j) = \text{Heterocromatina} \\ +A & \text{si ID}(i) = \text{ID}(j) = \text{Eucromatina} \\ +A & \text{si ID}(i) \neq \text{ID}(j) \end{cases} \quad (17)$$

Es decir, un potencial atractivo para interacciones entre monómeros de heterocromatina y repulsivo en el resto de casos. De esta manera se pretende modelar la interacción mucho más compleja que experimentan los distintos tipos de cromatina. La fuerza total que este potencial genera sobre un monómero i vendrá dada por:

$$\vec{F}_i = - \sum_{j, j \neq i}^N \frac{\partial \Phi_{ij}}{\partial \vec{r}_i} \hat{r}_{ji} = +\Lambda \sum_{j, j \neq i}^N A_{ij} e^{-\Lambda|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} \frac{(\vec{r}_i - \vec{r}_j)}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} \quad (18)$$

donde el vector \hat{r}_{ji} es el vector unitario que va desde j hasta i , y el coeficiente A es positivo. La fuerza será despreciable para partículas separadas una distancia mayor que el coeficiente Λ^{-1} , que posee unidades de distancia inversa. Con esta definición del potencial las partículas identificadas como heterocromatina se atraerán entre sí, mientras que las identificadas como eucromatinas se repelerán entre sí. Igualmente, partículas de distinta identidad se repelerán con la misma fuerza con la que lo harían si ambas fueran eucromatina.

Para mayor claridad se representan gráficamente en la figura 6 los potenciales descritos hasta el momento. Observamos como la interacción por identidad es no despreciable únicamente cuando los monómeros se hayan próximos, mientras que por contra el potencial elástico solo cobra relevancia para monómeros (contiguos en la cadena) alejados entre sí.

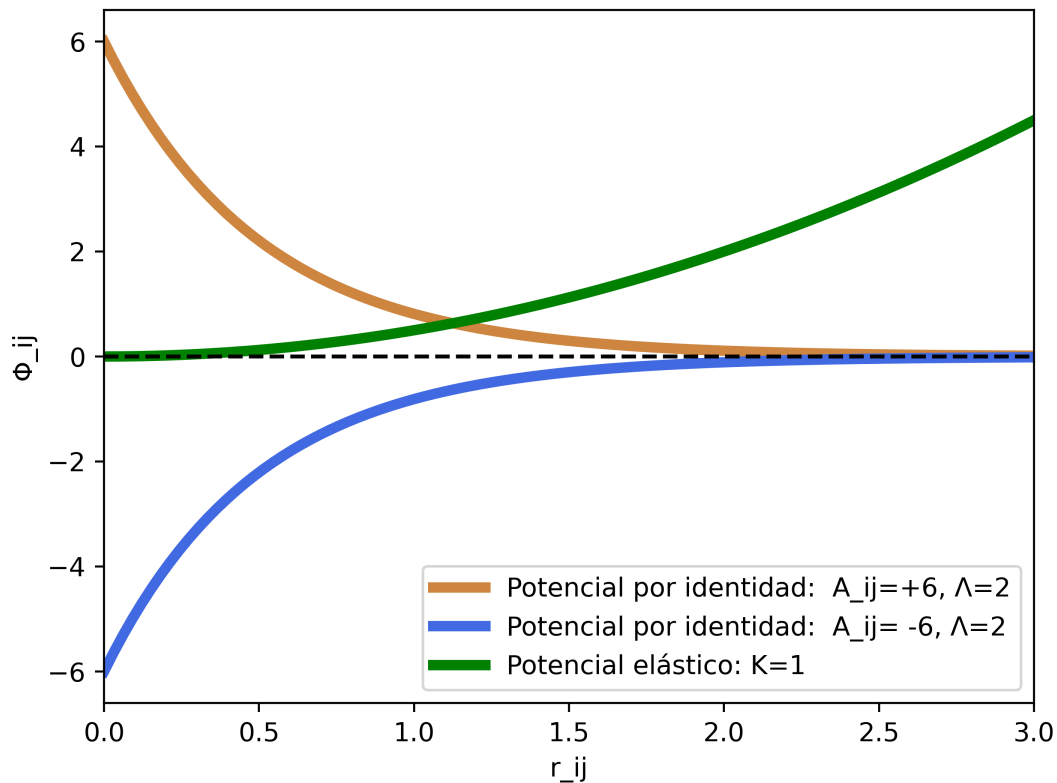


Figura 6: Representación de los potenciales por identidad atractivo (azul) y repulsivo (naranja) de la ecuación 16, así como del potencial elástico (verde) de la ecuación 9 en función de la distancia entre monómeros, r_{ij}

4.2. Probabilidad de reacción y fluctuación de la identidad

Como ya se adelantó, interesa permitir cambios en el estado de compactación de la cromatina en base al microestado particular en el que se encuentra la cadena. Un monómero

que se encuentre en estado de heterocromatina podrá pasar a eucromatina y viceversa, y dicho cambio no debe ser aleatorio. Tenemos pues la siguiente reacción reversible:



Sean E_{HET} y E_{EU} las energías correspondientes a los estados heterocromatina y eucromatina para un monómero cualquiera respectivamente. Las probabilidades de que dicho monómero esté en cada uno de ellos serán, mediante el formalismo canónico, las siguientes:

$$P(HET) = \frac{e^{-\beta E_{HET}}}{e^{-\beta E_{HET}} + e^{-\beta E_{EU}}} \quad (20)$$

$$P(EU) = \frac{e^{-\beta E_{EU}}}{e^{-\beta E_{HET}} + e^{-\beta E_{EU}}} \quad (21)$$

donde denotamos $\beta = \frac{1}{k_B T}$. La ratio entre las probabilidades de ambos estados es el factor de Boltzmann de la ecuación 22, que puede entenderse como una constante de reacción según la ecuación de Arrhenius, donde la energía de activación E_a para que la reacción se produzca es la diferencia de energías entre el estado final e inicial:

$$k = \frac{P(EU)}{P(HET)} = e^{-\beta (E_{EU} - E_{HET})} \equiv e^{-\beta (E_a)} \quad (22)$$

La constante de reacción no es más que la razón entre las probabilidades de que la reacción ocurra en un sentido y en el contrario, y las energías de los dos niveles están dadas por los potenciales definidos en la ecuación 16. Con ello se puede definir la probabilidad de reacción de un monómero i entre dos instantes de tiempo t y $t + \Delta t$ como:

$$P_{i, \rightarrow} = C \Delta t e^{-\frac{\beta}{2} (\Phi_i^{fin} - \Phi_i^{in})} \quad (23)$$

donde Φ_i^{in} y Φ_i^{fin} son las energías totales del monómero i -ésimo antes y después del cambio, calculadas como suma a todos los N monómeros de los potenciales de interacción por identidad descritos en la ecuación 16. De esta manera efectivamente se verifica que:

$$k = \frac{P_{i, \rightarrow}}{P_{i, \leftarrow}} = \frac{C \Delta t e^{-\frac{\beta}{2} (\Phi_i^{fin} - \Phi_i^{in})}}{C \Delta t e^{-\frac{\beta}{2} (\Phi_i^{in} - \Phi_i^{fin})}} = e^{-\beta (\Phi_i^{fin} - \Phi_i^{in})} \quad (24)$$

donde Δt es el paso de tiempo empleado y la constante C es la probabilidad de que el monómero tenga permitido invertir su identidad por unidad de tiempo, y dependerá de características propias del sistema real. Al ser una constante cinética, no afecta a las configuraciones de equilibrio. Conocida la probabilidad de inversión de identidad de cada monómero, P_i , para decidir si se acepta o rechaza el cambio se generará un número aleatorio

en el intervalo $[0,1]$ con distribución uniforme. Si P_i es mayor que dicho número se acepta el cambio, en caso contrario se rechaza.

4.3. Resultados para el porcentaje de heterocromatina en situación de equilibrio

Resulta de interés analizar cómo afectará este potencial a la proporción de heterocromatina, pues conocer el caso en ausencia de fuerzas resulta indispensable para analizar el caso con fuerzas externas aplicadas al polímero. Se inicializará el sistema con igual número de monómeros en ambos estados. En caso de no haber potencial de interacción por identidad, dicho porcentaje sería del 50%. Primero se estimará teóricamente su valor para el caso más simple de tan sólo dos partículas. En dicho caso el porcentaje teórico se puede deducir fácilmente de forma exacta, y servirá de confirmación de la validez del código. Sin embargo nos interesa sacar conclusiones para un polímero de mayor longitud, pues 2 monómeros no son suficientes para simular el comportamiento de la cromatina, mas un número demasiado elevado haría que la simulación tuviera un coste computacional muy elevado. Por ello, una vez entendido el caso de dos partículas, se ha elegido simular la misma gráfica para el caso de $N=100$.

4.3.1. Comprobación de la tendencia teórica para un polímero de 2 monómeros

Sea el caso de un polímero de únicamente dos partículas, donde cada una tiene sólo dos estados posibles: heterocromatina (A) y eucromatina (B), ergo hay en total 4 microestados: AA, AB = BA, BB. Empleando el formalismo canónico de la mecánica estadística podemos escribir las distribuciones de probabilidad correspondientes a cada uno de los microestados como:

$$p(AA) = \frac{1}{Z} e^{-\beta \left(\frac{1}{2} K \vec{r}^2 + \Phi_{AA}(\vec{r}) \right)} \equiv \frac{\Psi_{AA}(\vec{r})}{Z} \quad (25)$$

$$p(AB) = \frac{1}{Z} e^{-\beta \left(\frac{1}{2} K \vec{r}^2 + \Phi_{AB}(\vec{r}) \right)} \equiv \frac{\Psi_{AB}(\vec{r})}{Z} \quad (26)$$

$$p(BB) = \frac{1}{Z} e^{-\beta \left(\frac{1}{2} K \vec{r}^2 + \Phi_{BB}(\vec{r}) \right)} \equiv \frac{\Psi_{BB}(\vec{r})}{Z} \quad (27)$$

donde los potenciales son los que ya se definieron en la ecuación 16, y que están reescritos por conveniencia a continuación:

$$\Phi_{AA}(\vec{r}) = -Ae^{-\Lambda|\vec{r}|} \quad (28)$$

$$\Phi_{AB}(\vec{r}) = \Phi_{BA}(\vec{r}) = +Ae^{-\Lambda|\vec{r}|} \quad (29)$$

$$\Phi_{BB}(\vec{r}) = +Ae^{-\Lambda|\vec{r}|} \quad (30)$$

La función de partición es por tanto:

$$Z = \sum_{\Omega} e^{-\beta E(\Omega)} = \int_{r=0}^{\infty} \left(\Psi_{AA}(\vec{r}) + \Psi_{AB}(\vec{r}) + \Psi_{BA}(\vec{r}) + \Psi_{BB}(\vec{r}) \right) 4\pi r^2 dr \quad (31)$$

Dado que se está trabajando en un espacio tridimensional, hay que tener en cuenta todas las posibles conformaciones tal que el vector distancia entre partículas es $|\vec{r}|$. Con ello, la proporción total teórica de heterocromatina en el caso de 2 partículas es la integral a todo el espacio de las distribuciones de probabilidad correspondientes a los microestados donde alguna partícula está en estado A, es decir, los estados AA, AB y BA:

$$\%HET = 100 \cdot \frac{1}{Z} \int_{r=0}^{\infty} \left(\Psi_{AA}(\vec{r}) + \frac{1}{2}\Psi_{AB}(\vec{r}) + \frac{1}{2}\Psi_{BA}(\vec{r}) \right) 4\pi r^2 dr \quad (32)$$

donde las probabilidades correspondientes a los estados AB y BA (que van multiplicadas por 1/2 por corresponder a estados con 50% de heterocromatina) son idénticas. Se puede estimar el porcentaje de heterocromatina en nuestra simulación promediando el porcentaje en cada paso de tiempo (figura 7).

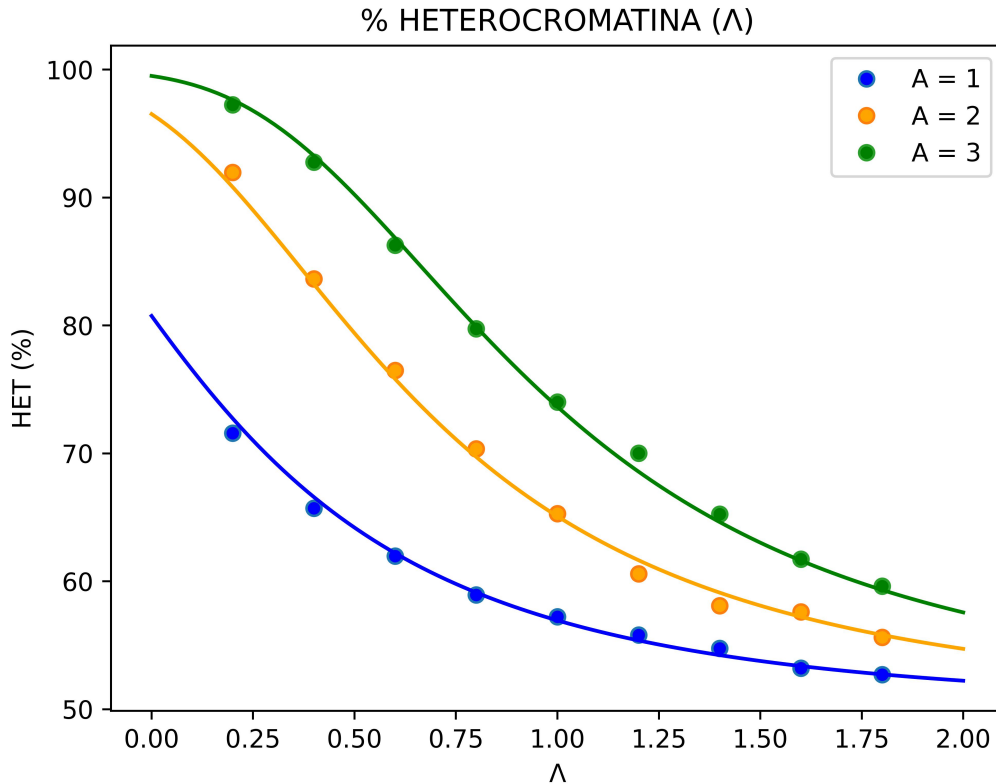


Figura 7: En base al correcto ajuste de los valores experimentales al porcentaje teórico se puede afirmar que el código simula el comportamiento deseado para el caso N=2 y por extensión también para N mayores.

Además del correcto ajuste al valor teórico, se observa además que para valores bajos de Λ ($\Lambda \ll \lambda$, i.e., interacción de largo alcance) el porcentaje de heterocromatina tiende al 100 %, mientras que para valores altos de Λ ($\Lambda \gg \lambda$, i.e., interacción de corto alcance) la fuerza se amortigua y la proporción es la de ausencia de fuerza, 50 %. Es decir, cuanto más intenso es el potencial (menor es λ) más tiende el polímero al estado atractivo (heterocromatina).

Cuando la interacción es de largo alcance el potencial por identidad es dominante frente al elástico, como ya se vió en la figura 6. El sistema tiende al mínimo de potencial, que en este caso de 2 monómeros corresponde al estado AA (100 % heterocromatina). Por contra, cuando la interacción es de corto alcance el potencial por identidad es despreciable tanto frente a la energía elástica como frente a la térmica, pues las partículas no logran interaccionar por identidad al hayarse demasiado lejos unas de otras. Salvo por el signo del coeficiente A del potencial, las probabilidades $p(AA)$, $p(AB)$, $p(BA)$ y $p(BB)$ son iguales, ergo los cuatro estados en el límite de corto alcance serán equiprobables, de ahí que el sistema tienda por tanto al estado en ausencia de fuerza (50 % heterocromatina).

4.3.2. Resultados para un polímero de 100 monómeros

El caso de dos monómeros nos muestra un descenso del porcentaje de heterocromatina conforme disminuía el potencial por identidad. Para un número mayor de partículas resulta esperable que ocurra algo similar. Con esto en mente, se presenta la gráfica obtenida para el caso de 100 partículas en la figura 8.

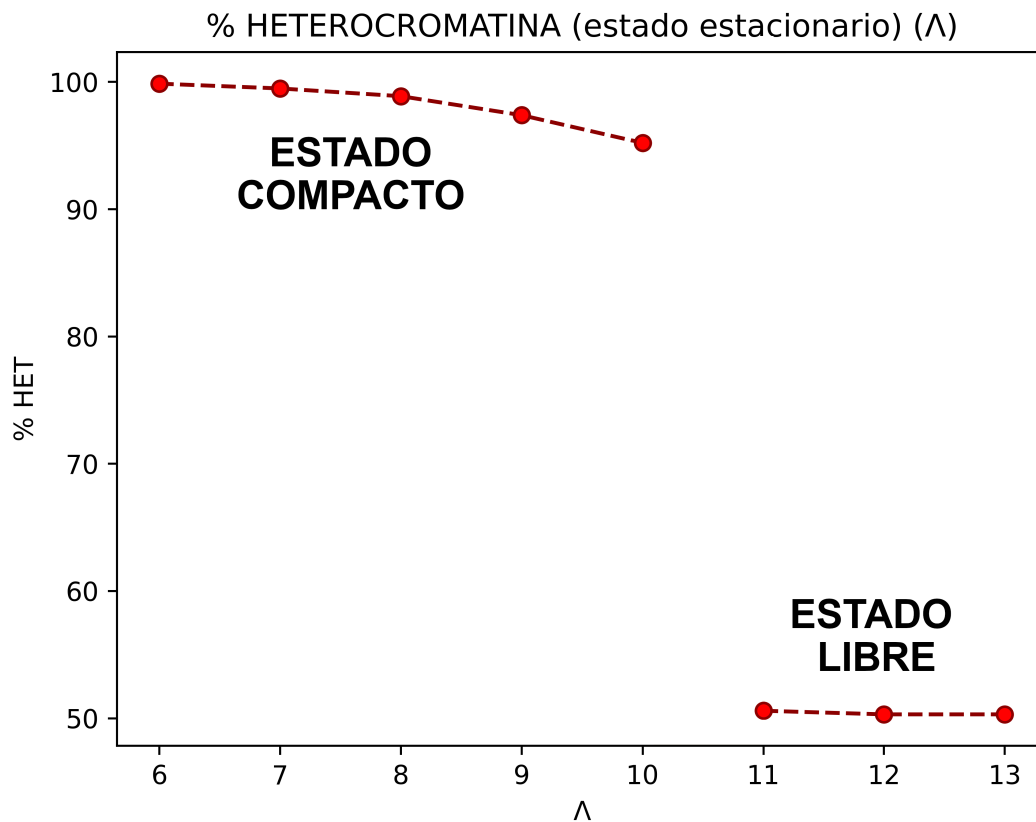


Figura 8: Valores simulados para $A=6$ y $K=1$. Se aprecian dos regiones diferenciadas con distinto estado de compactación de la cromatina. Posible transición de fase entre $\Lambda = 10$ y $\Lambda = 11$.

Para obtener cada uno de los puntos se ha dejado termalizar la cadena todo el tiempo que fuera necesario para alcanzar el estado estacionario. Por otro lado, se ha tenido en cuenta que la inclusión de interacciones por identidad nos marca un nuevo tiempo característico (ver ecuación 33), y el paso de tiempo ha de ser elegido lo suficientemente pequeño como para que el método de Euler sea capaz de resolver correctamente la dinámica.

$$\Delta t \ll \frac{1}{D\Lambda^2} \quad (33)$$

Si bien en el modelo de 2 partículas el descenso en la concentración de heterocromatina era suave, ahora el paso entre los dos estados es abrupto, lo que podría significar una posible transición de fase en el polímero. Se puede hablar ya de la existencia de dos esta-

dos diferenciados: un estado compacto y un estado libre, tal y como aparece indicado en la figura 8. El estado libre se corresponde al caso de interacción de corto alcance. Las partículas requieren de estar muy próximas para sentir la interacción por identidad, por lo que el efecto de la fuerza resulta despreciable. La fuerza dominante en este caso es la fuerza elástica, ergo la distancia entre monómeros viene dada por:

$$\frac{1}{2}Kr_{ef}^2 \sim \frac{3}{2}k_B T \xrightarrow{K=k_B T} r_{ef} = \sqrt{3} \sim 1,73 \quad (34)$$

Si disminuimos el valor de Λ permitimos que más partículas interaccionen por identidad. En particular, si dos heterocromatinas se encuentran lo suficientemente cerca, dado que su interacción es atractiva, tenderán a juntarse. Esto genera pequeños congregados de heterocromatina que, por su pequeño tamaño, tienden a disgregarse. Si disminuimos Λ por debajo de un valor crítico Λ_C , los congregados, antes aislados, comienzan a juntarse entre sí en congregados más grandes que se atraen entre ellos, lo que produce un efecto en cadena que tiende a colapsar casi todo el polímero, pasando al estado compacto (ver figura 9). Los monómeros serán ahora mayoritariamente heterocromatina.

Se observa en dicha figura como han aparecido dos congregados diferenciados de heterocromatina (naranja), mientras que algunos monómeros sueltos permanecen en estado de eucromatina (azul). Cuanto menor sea Λ a más distancia interaccionarán los monómeros, y menos probable será la existencia de monómeros sueltos en estado de eucromatina. La fuerza dominante es la de interacción atractiva, ergo la distancia entre monómeros (dentro de los congregados de heterocromatina) viene dada por:

$$Ae^{-\Lambda r_{ef}} \sim \frac{3}{2}k_B T \longrightarrow r_{ef} = -\frac{1}{\Lambda} \ln\left(\frac{3}{2A}\right) < 1,73 \text{ para } A = 6, \forall \Lambda \in (2, \infty) \quad (35)$$

Es decir, se ha compactado el polímero. Una vez en el estado compacto la cadena no logra retornar al estado libre por sí sola, pues las fuerzas atractivas mantienen establemente unidos los congregados de monómeros, los cuales pueden ser la totalidad de la cadena si Λ es suficientemente baja. La correcta determinación de lo que acontece durante la posible transición de fase, si bien interesante, no resulta relevante a los objetivos de este TFG, y por consiguiente nos conformaremos con conocer los parámetros que aseguran la existencia de cada uno de los dos estados.

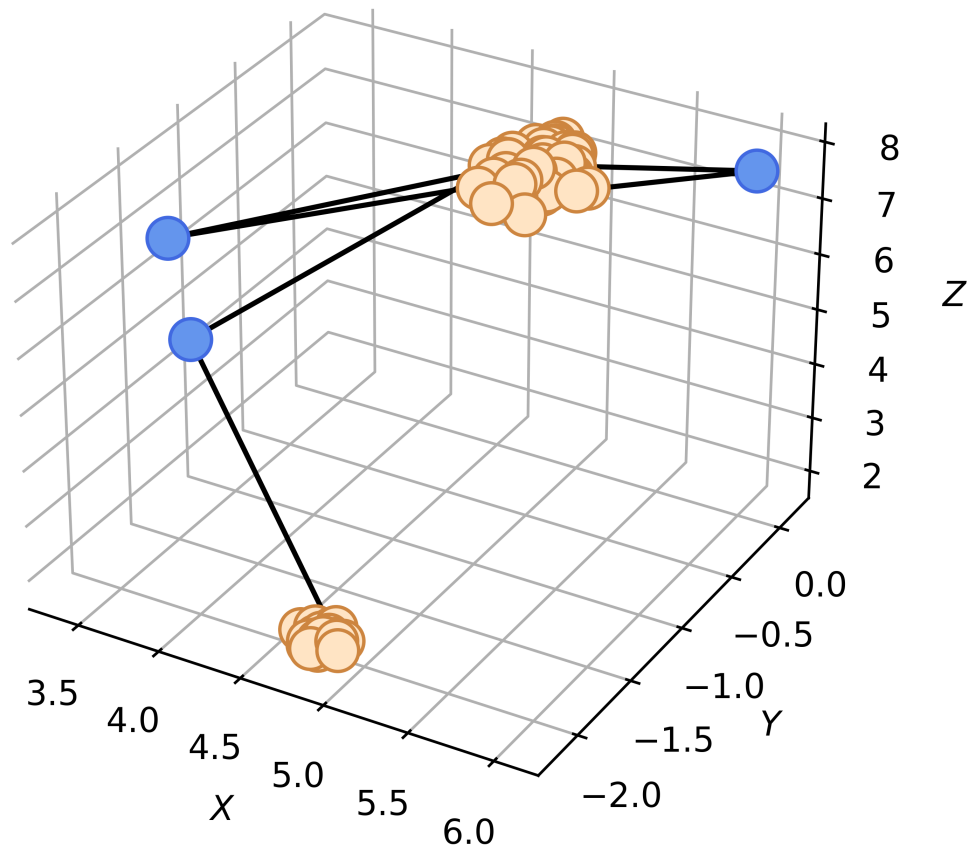


Figura 9: Gráfica obtenida en el estacionario para valores $A = 6$ y $\Lambda = 8$, tal que nos hayemos en una configuración en estado compacto, donde la heterocromatina y eucromatina están representadas en amarillo y azul respectivamente.

5. Comportamiento auxético

En los últimos años se ha descubierto [6] que, antes de ocurrir la diferenciación celular, las células madre embrionarias sufren una transición de fase metaestable en la cual el núcleo presenta un comportamiento auxético (también llamado augético). Un material auxético es aquel que, al estirarlo en una cierta dirección, se expande además en la dirección ortogonal. De igual manera, si lo que sufre es una compresión en una cierta dirección, la dirección ortogonal también se contrae. Este comportamiento es contrario a lo que sucede en la mayoría de materiales.

Por otra parte, se ha visto experimentalmente que el comportamiento auxético del núcleo está causado, al menos en parte, por la descondensación global de la cromatina. Analizada ya la conformación que adopta el polímero en el caso de ausencia de fuerzas, se analizará a continuación si al estirar o contraer el polímero éste experimenta comportamiento auxético, así como si se ha visto afectada de alguna manera la proporción de cromatina.

5.1. Tensor de giro

Se plantea como último paso previo a la aplicación de fuerzas sobre los extremos del polímero un objeto matemático que nos permitirá estudiar el comportamiento augético del modelo. El tensor de giro se puede definir como la matriz que contiene las covarianzas de las tres coordenadas espaciales de las posiciones de las partículas. Los elementos de su diagonal serán por tanto las varianzas y la raíz cuadrada de su traza se corresponderá con el radio de giro del polímero, ya definido para un polímero ideal en la ecuación 13. Podemos calcular las 9 componentes del tensor de la forma siguiente:

$$G_{mn} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N r_m^{(i)} r_n^{(i)} \quad (36)$$

donde $r_m^{(i)}$ es la coordenada m -ésima ($m = x, y, z$) de la partícula i -ésima vista desde el centro de masas del sistema.

5.2. Aplicación de fuerzas de estiramiento

Se aplican fuerzas sobre los extremos del polímero tal que se logre un estiramiento del mismo en el eje \hat{z} . Para ello se ejerce en dicha dirección una fuerza constante de valor $+F$ y $-F$ para el primer y último monómero respectivamente. Si F es demasiado pequeña será despreciable frente al resto de fuerzas experimentadas por los monómeros del sistema, y con ello no se logrará estirar el polímero. Por consiguiente para estirarlo será necesario que F las supere en magnitud, lo que denotaremos como una fuerza crítica F_C .

Como ya se ha mencionado, los experimentos sugieren una descondensación parcial de la cromatina. Conviene por consiguiente elegir los parámetros Λ y A tal que se tenga certeza de que el sistema se halle en el estado compacto. De esta manera, al estirar el polímero se podrá comprobar si la heterocromatina (estado compacto de la cromatina) se descondensa en eucromatina. A su vez, la evolución de las tres componentes principales del tensor de giro aportarán información sobre cómo la elongación en el eje longitudinal está afectando a las componentes transversales. Se elige por tanto aplicar las fuerzas sobre una cadena ya termalizada en el estado compacto. En él todos los monómeros son heterocromatina y se encuentran muy próximos entre sí, y la fuerza dominante es en tal situación la de atracción por identidad. Se puede hacer una estimación del valor de F_C teniendo en cuenta que la posición efectiva de las partículas, r_{ef} , vendrá principalmente dada por aquella tal que el potencial atractivo iguale a la energía por excitación térmica:

$$Ae^{-\Lambda r_{ef}} \sim \frac{3}{2} k_B T \quad (37)$$

Para situar al sistema en el estado compacto, en base a la figura 8 se eligen los siguientes valores para los parámetros de la fuerza atractiva: $A = 6$, $\Lambda = 2$. Despejando de la ecuación

37 se obtiene el siguiente valor: $r_{ef} = 0,7$. Con ello, teniendo en cuenta que la cadena posee $N = 100$ monómeros, el valor estimado de F_C será:

$$F_C = |\langle F_K + F_\Lambda \rangle| \sim |\langle F_\Lambda \rangle| \sim |\Lambda \sum_j A_{ij} e^{-\Lambda|r_i-r_j|}| \sim A\Lambda \sum_j e^{-\Lambda r_{ef}} \sim A\Lambda N e^{-\Lambda r_{ef}} = 295 \quad (38)$$

Una vez conocido, se puede obtener el porcentaje de heterocromatina promedio en el estacionario en función de la fuerza de estiramiento (figura 10) para valores en un intervalo centrado en F_C . Para ello dejaremos evolucionar al sistema el tiempo que sea necesario para alcanzar el estado estacionario. Dado que la fuerza atractiva se amortigua exponencialmente con la distancia entre partículas, cuando más sea estirada la cadena en una dirección más se alejarán los monómeros, y con ello disminuirá la fracción de heterocromatina hasta el valor en ausencia de fuerza ($A=0$), que es del 50%. Se muestran los resultados en la figura 10. En ella se observa claramente que se produce la transición esperada entre $F = 200$ y $F = 300$.

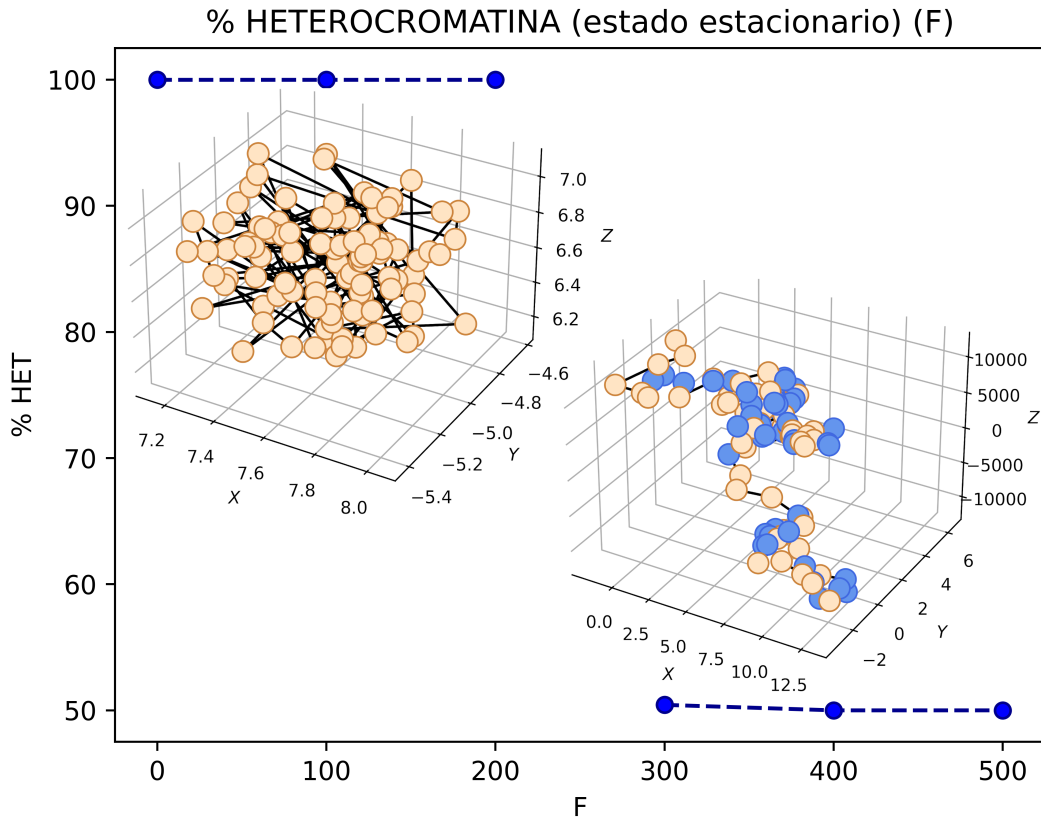


Figura 10: Valores simulados para $A = 6$, $\Lambda = 2$ y $K = 1$ (puntos representados en azul oscuro). Junto a ellos, se muestra el polímero en equilibrio para los estados compacto (izquierda, $F = 0$) y estirado (derecha, $F = 500$), donde la heterocromatina y euchromatina están representadas en amarillo y azul respectivamente.

El cambio en la conformación ocurre de manera muy brusca, lo cual tiene sentido, pues cualquier fuerza por encima de la crítica debería ser capaz de estirar la cadena. Sin embargo, para fuerzas próximas a la crítica el tiempo necesario para lograrlo aumenta considerablemente, pues en tal caso el resto de interacciones del sistema no son despreciables y al sistema le cuesta más tiempo llegar al estacionario.

5.3. ¿Auxeticidad?

Si bien la anterior gráfica aporta información sobre los dos estados de compactación del sistema, no aporta información cuantitativa sobre la posible auxeticidad del polímero. Aun así, comparando en dicha figura las escalas de los ejes \hat{x} e \hat{y} para fuerzas bajas y altas, parece que el polímero ha sufrido también un estiramiento en dichos ejes. Para comprobarlo se analizará a continuación el promedio temporal de las componentes del tensor de giro en el estado estacionario para cada una de las simulaciones representadas en la figura 10. Dado que estamos estirando la cadena en el eje \hat{z} , la componente G_{ZZ} del tensor de giro crecerá a partir de fuerzas superiores a F_C considerablemente. Sin embargo no podemos estirar la cadena indefinidamente, pues separar los monómeros implica un aumento en la fuerza elástica. Dado que la fuerza de estiramiento F posee un valor constante en todo paso de tiempo, existirá una longitud máxima del polímero correspondiente a la situación en que F y $F_{\text{elástica}}$ se compensen la una con la otra.

Respecto a las otras 2 componentes transversales, su comportamiento al estirar longitudinalmente el polímero no es sencillo de estimar. Si sufrieran una contracción, esto se reflejaría en una disminución de G_{XX} y G_{YY} , y supondría que el polímero presenta ante estiramientos un coeficiente de Poisson positivo (no hay comportamiento auxético). En cambio, si sufrieran una expansión aumentarían por tanto G_{XX} y G_{YY} , lo que implicaría un coeficiente de Poisson negativo (comportamiento auxético). Se presenta a continuación la representación gráfica de la evolución de las tres componentes diagonales con la fuerza:

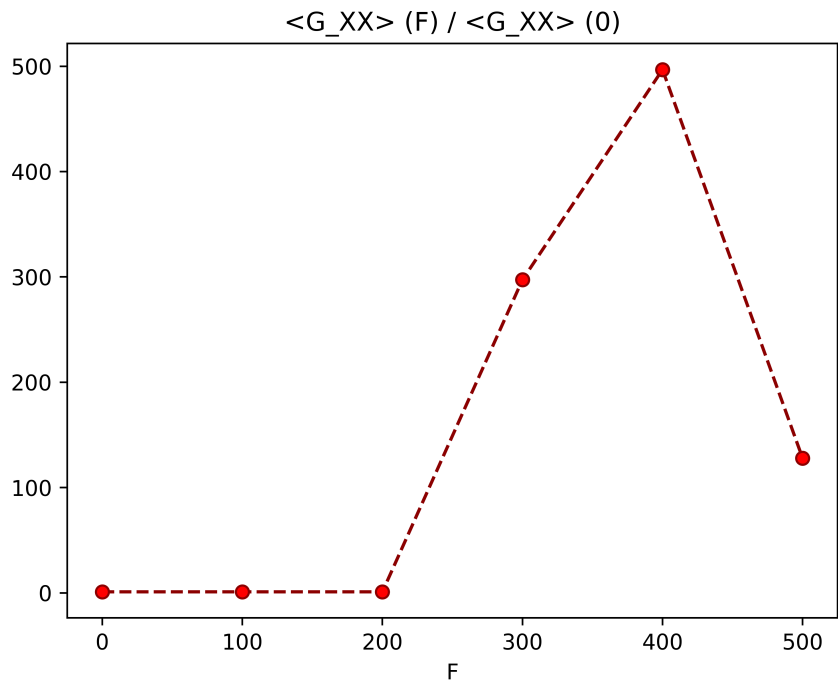


Figura 11: Razón entre $\langle G_{XX}(F) \rangle$ y el valor en ausencia de fuerza para cada uno de los puntos de la figura 10, promediando durante el estado estacionario.

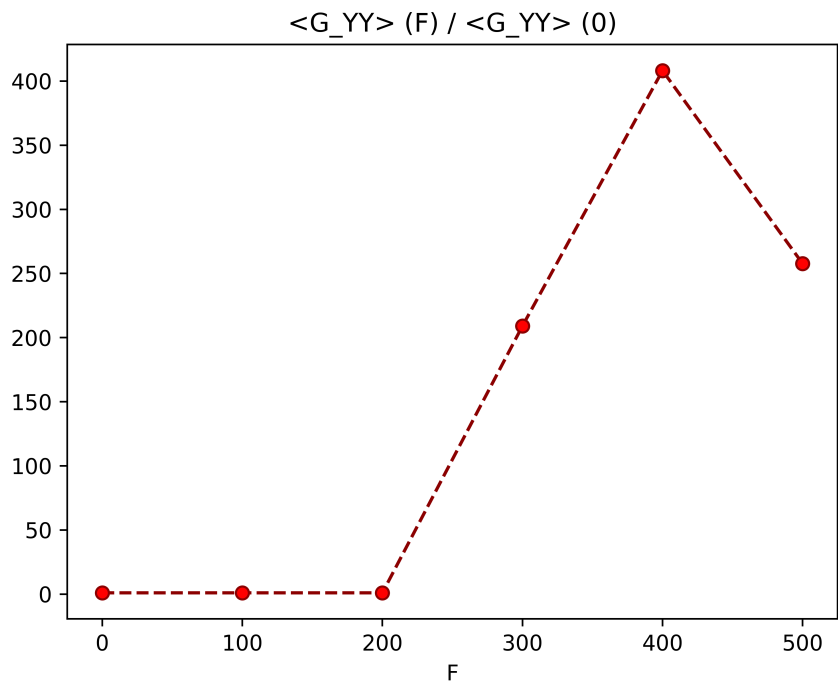


Figura 12: Razón entre $\langle G_{YY}(F) \rangle$ y el valor en ausencia de fuerza para cada uno de los puntos de la figura 10, promediando durante el estado estacionario.

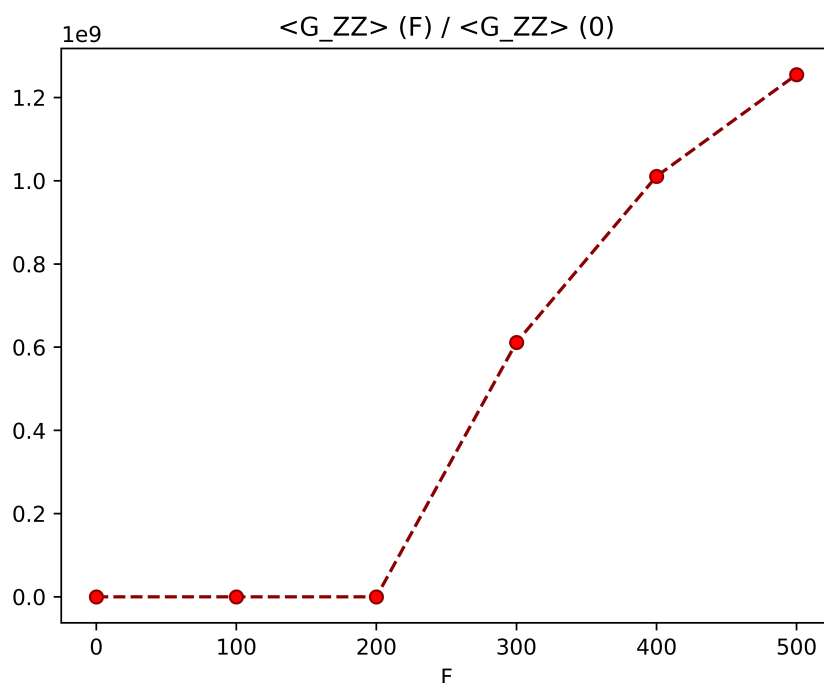


Figura 13: Razón entre $\langle G_{ZZ}(F) \rangle$ y el valor en ausencia de fuerza para cada uno de los puntos de la figura 10, promediando durante el estado estacionario.

En base a las figuras 11 y 12 y por los argumentos dados antes se puede afirmar que el polímero ha experimentado un comportamiento auxético. Vemos además que el alargamiento obtenido en los ejes transversales es siete órdenes de magnitud inferior al que hemos impuesto sobre el eje longitudinal. Esto es en parte debido a que no se ha tenido en cuenta que en polímeros reales los monómeros no se pueden separar indefinidamente. En particular, la constante elástica K debería diverger conforme la separación entre monómeros se aproxima a la separación máxima que soporta el sistema sin romperse o perder su conformación. Sin embargo en este trabajo se ha considerado que su valor es constante en todo el rango de distancias.

Dado que se ha representado la proporción entre el valor con fuerza y en ausencia de ella, para valores menores que F_C se obtiene un valor próximo a 1, implicando que la fuerza no ha provocado ningún cambio transversal. Por otro lado, los puntos correspondientes a $F = 500$ (fuerzas elevadas) muestran que el polímero no se ha alargado tanto transversalmente como para fuerzas menores. Este efecto podría ser debido al hecho de que si estiramos mucho la cadena estamos forzando a los monómeros a disponerse a lo largo del eje longitudinal, "tensando" la cadena.

6. Resumen, conclusiones y limitaciones

A un modelo de polímero ideal de comportamiento browniano le han sido añadidas interacciones elásticas entre monómeros, que le aportan cohesión y tienden a contraer la cadena. A su vez, se ha permitido que cada monómero se encuentre en cada paso de tiempo en uno de dos posibles estados (heterocromatina y eucromatina), e impuesto que interaccionen entre ellos atractiva o repulsivamente en base a su identidad, mediante potenciales que decaen exponencialmente con la distancia entre monómeros. Así mismo, se ha impuesto que dicha identidad fluctúe en el tiempo de acuerdo a la identidad y posición de sus vecinos, modelando de esta manera reacciones bioquímicas reales que afectan a la compactación de la cromatina. Se ha visto que un polímero con estas propiedades posee dos estados de compactación distintos: uno compacto (donde todos los monómeros han colapsado al estado de interacción atractiva) y otro libre (donde la interacción por identidad resulta despreciable). Por otro lado, la aplicación sobre dicho polímero de fuerzas de estiramiento longitudinales por encima de una fuerza crítica ha causado que el polímero tensado experimente un comportamiento auxético asociado a una descondensación parcial de la cromatina, que es el comportamiento experimental que se pretendía comprobar.

Por último, cabe destacar algunas limitaciones del modelo. Por un lado la forma funcional del potencial de interacción por identidad ha sido elegida *ad hoc* para ser matemáticamente simple pero que fuera capaz de modelizar la atracción y/o repulsión entre los distintos tipos de cromatina vista experimentalmente. Destacar además que el estado compacto y el estado libre implican concentraciones de heterocromatina del 100% y 50% respectivamente, ergo no son realistas en cuanto a la proporción real de ambas en el núcleo. Una posible corrección a este problema podría ser la inclusión de una diferencia de potencial constante en el potencial de interacción por identidad, tal que se favorezca una de las dos identidades. Finalmente, señalar que estos resultados se han obtenido para valores particulares de los parámetros del sistema, y resultaría interesante comprobar cuán dependientes son cualitativamente estos resultados con las distintas elecciones posibles de las variables.

Referencias

- [1] M. DOI AND S. EDWARDS, *The theory of polymer dynamics*, Clarendon Press, (1999).
- [2] M. FALK, Y. FEODOROVA, N. NAUMOVA, ET AL., *Heterochromatin drives compartmentalization of inverted and conventional nuclei*, *Nature*, vol. 570 (2019), p. 395–399.
- [3] R. G. JONES, J. KAHOVEC, R. STEPTO, E. S. WILKS, ET AL., *Compendium of polymer terminology and nomenclature*, IUPAC, (2008), p. 46.
- [4] M. D. GRAHAM, *Microhydrodynamics, brownian motion, and complex fluids*, Cambridge University Press, (2018), pp. 114–136.
- [5] G. JESCHKE, *Lecture notes: Advanced physical chemistry - statistical thermodynamics*, ETH, (2015), pp. 87–90.
- [6] S. PAGLIARA, K. FRANZE, C. R. MCCLAIN, ET AL., *Auxetic nuclei in embryonic stem cells exiting pluripotency*, *Nature Materials*, vol. 13 (2014), p. 638–644.