

УДК 541.64

ПЕРЕХОД СПИРАЛЬ-КЛУБОК В КОЛЬЦЕВЫХ ЗАМКНУТЫХ ДНК В ПРИСУТСТВИИ КОНКУРЕНТНОГО РАСТВОРИТЕЛЯ

А.В. БАДАСЯН, А.В. ГРИГОРЯН, А.Ю. ЧУХАДЖЯН,
Е.Ш. МАМАСАХЛИСОВ, В.Ф. МОРОЗОВ

Ереванский государственный университет

(Поступила в редакцию 15 августа 2001 г.)

Построен гамильтониан, описывающий переход спираль-клубок в кольцевых замкнутых ДНК (кзДНК) в рамках гамильтониана открытой цепи. Топологические ограничения, накладываемые на структуру, учитываются зависимостью приведенной энергии водородной связи от неусредненной степени спиральности. Рассмотрено влияние растворителя, конкурирующего за образование водородных связей. В рамках построенного гамильтониана показано, что кривая денатурации для кзДНК может быть получена на основе кривой для открытой цепи путем преобразования температурной шкалы.

Введение

Известно, что в клетках высших животных ДНК обмотаны вокруг специальных белковых структур (гистонов) и при репликации такая ДНК разматывается (активизируется) на несколько витков, образует структуру, топологически идентичную кольцевой замкнутой ДНК (кзДНК). Кроме того, ДНК некоторых вирусов, а также цито-плазматическая ДНК высших животных внутри клетки часто находятся в кольцевой замкнутой форме. Переход спираль-клубок в таких молекулах является очень интересной проблемой, т.к. она непосредственно связана с проблемами транскрипции, репликации и репарации ДНК. Согласно экспериментальным фактам, плавление кзДНК отличается от линейной и начинается при более низких температурах, а заканчивается при более высоких. Кроме того, профиль кривой денатурации слабо зависит от нуклеотидного состава ДНК [1]. Опубликовано множество статей по экспериментальным и теоретическим исследованиям двухспиральной кзДНК [2]. В [3-9] была развита среднеполевая теория плавления кзДНК. Главное предположение, сделанное в этих работах, состоит в том, что полная энергия кзДНК состоит из двух членов – первый соответствует линейной ДНК, второй учитывает тот факт, что молекула кольцевая и замкнутая (суперспиральный член).

В предыдущей работе была решена задача о плавлении кзДНК на основе теории плавления гомополимерной линейной ДНК с использованием гамильтонианового подхода [10] с учетом специфических условий, налагаемых на механизм разрыва водородных связей. Однако в этой работе не проведен учет влияния растворителя и задача решена в квадратичном приближении разложения приведенной энергии водородной связи. Целью данной работы является учет влияния растворителя, конкурирующего за образование водородных связей, на переход спирально-клубок в кзДНК, рассматриваемый в общем случае.

Гамильтониан модели

а) Линейная цепь

Рассмотрим молекулу двухспиральной ДНК, содержащую комплементарные азотистые основания одного сорта (гомополимер). Пронумеруем повторяющиеся единицы каждой из цепей от 0 до N . Для простоты предположим, что водородные связи внутри цепи образуются только между основаниями с одинаковыми порядковыми номерами. Кооперативность системы обеспечивается неаддитивностью петлевого фактора, все остальные виды взаимодействий (напр., стекинг-взаимодействие) будут включены либо в энергию комплементарного спаривания оснований, либо в соответствующим образом выбранные стат. веса конформаций скелета цепи, замкнутой в петлю. Гамильтониан такой модели, согласно [10,11], имеет вид

$$-\beta H = J \sum_{i=1}^N \delta \left(\sum_{k=1}^i \gamma_k; 0 \right), \quad (1)$$

где $J=U/T$, U – энергия образования одной водородной связи, $\beta=1/T$, $\delta(a,b)$ – символ Кронекера, а по значению $\sum_{k=1}^i \gamma_k$ можно судить о том, реализуется ли спиральная конформация [10,11]. Таким образом, гамильтониан (1) показывает, что при образовании замкнутой петли длиной в i повторяющихся единиц выделяется энергия U , иначе энергия равна нулю. Далее в тексте (1) будет для краткости записан в виде

$$-\beta H = J \sum_{i=1}^N \delta_1^{(i)}, \quad (2)$$

где $\delta_1^{(i)} \equiv \delta \left(\sum_{k=1}^i \gamma_k; 0 \right)$.

б) кзДНК

Очевидно, что невозможно полностью отделить две цепи кзДНК, не разорвав при этом химических связей. Представим, что в некоторой части молекулы разорвано несколько межцепочечных водородных связей

и образовалась петля. Тогда каждый следующий разрыв водородных связей еще больше затрудняет разрыв водородных связей остальных повторяющихся единиц. Это означает, что процесс денатурации в каждом участке цепи зависит от конформации всей цепи и конкретно от доли разорванных водородных связей. Исходя из этих общих соображений, а также основываясь на вышеописанной модели и гамильтониане (2) линейной ДНК, мы строим гамильтониан кзДНК следующим образом.

1. кзДНК есть система, в которой состояние одной повторяющейся единицы зависит от состояния всей молекулы.
2. Сложности, возникающие при учете образования и роста петли, эффективно внесены в энергию образования водородной связи.
3. Параметр J предполагается зависящим от микроскопической (не-усредненной) доли разорванных водородных связей P :

$$J = J(P), \quad P = 1 - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_1^i. \quad (4)$$

Теперь учтем влияние конкурентного растворителя с помощью следующих предположений.

4. Поскольку при присоединении молекул растворителя возможно их взаимное влияние, не учтенное в нашем приближении, то рассмотрим обобщенный случай с m местами посадки.
5. Образование межмолекулярных водородных связей происходит при вполне определенной ориентации молекулы растворителя относительно данных комплементарных оснований. Ориентации предполагаются дискретными. Их число равно q .
6. Каждой ориентации молекулы растворителя приписывается спиновая переменная μ_j , $j = \overline{1, m}$, каждая из которых пробегает значения от 1 до q . Номером 1 отметим состояние связанности, при котором выделяется энергия E .

Учитывая вышесказанное, гамильтониан такой модели запишется в виде:

$$-\beta H = J \sum_{k=1}^N \delta_1^{(k)} + I \sum_{k=1}^N (1 - \delta_1^{(k)}) \sum_{j=1}^m \delta_{\mu_j 1}, \quad (5)$$

где $I = E/T$. Все остальные обозначения те же, что и для гамильтониана линейной модели. Тогда стат.сумма имеет вид:

$$\begin{aligned} Z &= \sum_{\{\gamma_i'\}} \exp[-\beta H] = \sum_{\{\gamma_i'\}} \exp \left[\sum_{k=1}^N (J \delta_1^{(k)} + I (1 - \delta_1^{(k)}) \sum_{j=1}^m \delta_{\mu_j 1}) \right] = \\ &= \sum_{\{\gamma_i'\}} \prod_{k=1}^N \prod_{j=1}^m \exp[J \delta_1^{(k)}] \exp[I (1 - \delta_1^{(k)}) \delta_{\mu_j 1}]. \end{aligned} \quad (6)$$

Введя общепринятые обозначения $V \equiv \exp(J) - 1$, $W \equiv \exp(I) - 1$ и следуя [12], распишем произведение по j и отсуммируем по спиновым переменным μ_j . Для стат.суммы получаем:

$$Z = \sum_{\{\gamma_i\}} \prod_{k=1}^N (q+W)^m [1 + \delta_1^{(k)}] \left\{ \frac{(V+1)q^m}{(q+W)^m} - 1 \right\} = (q+W)^{mN} \sum_{\{\gamma_i\}} \prod_{k=1}^N [1 + \tilde{V} \delta_1^{(k)}], \quad (7)$$

где

$$\tilde{V} = \frac{(V+1)q^m}{(q+W)^m} - 1 = \frac{\exp[J]q^m}{[q-1+\exp(I)]^m} - 1. \quad (8)$$

Таким образом, задача о вычислении стат.суммы линейной ДНК с растворителем свелась к вакуумной, но с переопределенным энергетическим параметром V . Выразим энергию образования одной водородной связи через $\tilde{V}$. В вакуумной задаче $J = \ln[1+V]$, аналогично

$$\tilde{J} = \ln[1 + \tilde{V}] = J + m \ln \left[\frac{q}{q-1+\exp I} \right] = J + \Gamma, \quad (9)$$

где $\Gamma = m \ln[q/(q-1+\exp I)]$. Подставив (9) в (2), преобразуем полученное выражение

$$-\beta H = \tilde{J} \sum_{k=1}^N \delta_1^k = \tilde{J} N \frac{\sum_{k=1}^N \delta_1^k}{N} = \tilde{J} N (1-P) = J N (1-P) + \Gamma N (1-P). \quad (10)$$

Поскольку мы предположили для кЗДНК зависимость приведенной энергии водородной связи J от мгновенной степени денатурации P , то разложим $J = J(P)$ в ряд по малому параметру P и, преобразовав, запишем гамильтониан (10) и стат.сумму в виде

$$-\beta H = \tilde{J} N (1-P) = J N (1-P) + \Gamma N (1-P) = N \sum_{k=0}^M b_k P^k + \Gamma N (1-P),$$

$$Z = \sum_{\{\gamma_i\}} \exp \left[N \left\{ \sum_{k=0}^M b_k P^k + \Gamma (1-P) \right\} \right]. \quad (11)$$

Используя интегральное представление дельта-функции, видоизменим $\exp[Nb_k P^k]$ следующим образом:

$$\begin{aligned} \exp[Nb_k P^k] &= \int_{-\infty}^{\infty} dy_k \delta(y_k - P) \exp[Nb_k y_k^k] = \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} dy_k \frac{dz_k}{2\pi} \exp \left[N \left(b_k y_k^k + \frac{iz_k y_k}{N} \right) \right] \exp[-iz_k P]. \end{aligned} \quad (12)$$

Подставим (12) в (11) и введем обозначения $\int \dots \int dy_0 \dots dy_M \frac{dz_0}{2\pi} \dots \frac{dz_M}{2\pi} \equiv \iint Dy Dz$. Тогда

$$Z = \int_{-\infty-\infty}^{\infty} Dy Dz \exp \left[N \sum_{k=0}^M \left(b_k y^k + \frac{iz_k y_k}{N} + \Gamma \right) \right] \left\{ \sum_{\{y_i\}} \exp \left[-N \left(i \sum_{k=0}^M z_k P / N + \Gamma \right) P \right] \right\}. \quad (13)$$

Таким образом, подынтегральное выражение в стат.сумме стало линейным по P и выражение в фигурных скобках идентично стат.сумме Z_0 линейной модели с гамильтонианом (2), однако статсумма находится под интегралами. В термодинамическом пределе $Z_0 \sim \lambda_0^N$ [13], где $-kT \ln \lambda_0$ есть приведенная свободная энергия на одну повторяющуюся единицу для гамильтониана (2). Введем обозначение $\sum_{k=0}^M z_k = z$, тогда

$$Z = \int_{-\infty-\infty}^{\infty} Dy Dz \exp \left[N \sum_{k=0}^M \left(b_k y^k + \frac{iz_k y_k}{N} + \Gamma + \ln \lambda_0 \left(\frac{iz}{N} + \Gamma \right) \right) \right]. \quad (14)$$

Оценив этот интеграл для больших N с помощью метода перевала, получаем

$$Z \propto \exp \left[N \left(\sum_{k=0}^M (1-k) b_k y^k + \Gamma + \ln \lambda_0 \left(-\Gamma + \sum_{k=0}^M k b_k \alpha^{k-1} \right) \right) \right]. \quad (15)$$

Таким образом, модель кЗДНК с конкурентным растворителем сводится к модели линейной цепи без растворителя, только выражение для стат.суммы имеет сложный множитель, а величина λ_0 сложным образом зависит от степени денатурации α линейной ДНК: $\lambda_0 = \lambda_0(-\Gamma + \sum_{k=0}^M k b_k \alpha^{k-1}) = \lambda_0(J)$. Для степени денатурации из (11) имеем:

$$\alpha_{K3} = \langle P \rangle = - \frac{\partial \ln Z}{N \partial b_1} = \alpha. \quad (16)$$

Таким образом, степени денатурации кольцевой замкнутой ДНК и линейной оказываются равными. Это позволяет связать между собой кривые денатурации кольцевой замкнутой ДНК и линейной. Соотношение (16) показывает, что для них зависимость степени денатурации α от своих параметров идентична. Отсюда получаем, что

$$\frac{\exp[J]}{[q-1+\exp[I]]^m} = \frac{\exp[\sum_{k=0}^M k b_k \alpha^{k-1}]}{[q-1+\exp[I]]^m}. \quad (17)$$

Рассмотрим это выражение более подробно.

1) В отсутствие растворителя, т.е. при $q=1, I=0$

$$\exp[J_0] = \exp\left[\sum_{k=0}^M kb_k \alpha^{k-1}\right]. \quad (18)$$

Принимая во внимание, что $b_k = B_k/T$ и $J_0 = U/T$ и учитывая, что равные степени денатурации линейная и кольцевая ДНК принимают при разных температурах T_L и T_R , соответственно получим:

$$T_R = T_L \left[1 + \sum_{k=0}^M k \frac{B_k}{U} \alpha^{k-1} \right]. \quad (19)$$

Это соотношение для случая $M=3$ было получено ранее в [13].

2) В присутствии растворителя, соотношение (17) позволяет упрощение, используя приближение $\exp[E/T] \gg q-1$, которое выполняется в рассматриваемом случае с очень высокой точностью при характерных значениях $T_R, T_L \sim 300\text{K}$; $E \sim 5 \text{ эВ}$ $q \sim 10$. Отсюда получим:

$$T_R = T_L \left[1 + \sum_{k=0}^M k \frac{B_k}{U - mE} \alpha^{k-1} \right]. \quad (20)$$

В общем случае T_L и T_R связаны между собой трансцендентным соотношением (17), которое можно переписать в виде

$$\frac{\exp[U/T_L]}{[q-1+\exp[E/T_L]]^m} = \frac{(\exp U/T_R)[1+\sum_{k=0}^M kb_k \alpha^{k-1}]}{[q-1+\exp[E/T_R]]^m}. \quad (21)$$

Таким образом, в присутствии растворителя, конкурирующего за образование водородных связей с азотистыми основаниями, можно получить кривую денатурации для кЗДНК, используя кривую денатурации линейной ДНК. Процедура трансформации кривой линейной ДНК в кольцевую заключается в преобразовании шкалы температур, согласно уравнению (21) или используя приближение (20).

Авторы выражают глубокую благодарность Армену Алахвердянцу за ценную идею, заложенную в формуле (12). Работа выполнена благодаря гранту CRDF AB2-2006.

ЛИТЕРАТУРА

1. M.D.Frank-Kamenetskii. Biophysics-Nucleic Acids, Springer Verlag, 1998.
2. J.F.Marko, E.D.Siggia. Phys. Rev. E, 52, 2912 (1995).
3. N.Laiken. Biopolymers, 12, 11 (1973).
4. V.V.Anshelevich, A.V.Vologodskii, M.D.Frank-Kamenetskii. Biopolymers 18, 3870 (1979).
5. A.Vologodskii. Topology and Physics of Circular DNA. CRC Inc., 1992.
6. C.J.Banham. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 3870-3874(1979).

7. C.J.Banham. Chem. Phys., 72, 3633-3639(1980).
8. A.V.Vologodskii, M.D. Frank-Kamenetskii. FEBS Letters v.131, 1, 178-180(1981).
9. Б.Н.Белинцев, А.В.Гаря. Мол. Биол., 23, 52 (1989).
10. V.F.Morozov, E.Sh.Mamasakhlisov, Sh.Hayryan, Chin-Kun Hu. Physica A, 281, 51 (2000).
11. В.Ф.Морозов, Е.Ш.Мамасакхлисов, М.С.Шагинян. Изв. НАН Армении, Физика, 33, 195 (1998).
12. Ш.А.Айрян, Н.С.Ананикян, Е.Ш.Мамасакхлисов, В.Ф.Морозов. Биофизика, 34, 384 (1989).
13. V.F.Morozov, E.Sh.Mamasakhlisov, A.V.Grigoryan, Sh.Hayryan, Chin-Kun Hu, to be published in Phys.Rev.E, 2002.

ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՈՒՄԸ ՓԱԿ ՇՐՋԱՆԱՅԻՆ ԴՆԹ-ՆԵՐՈՒՄ ՄԵՅԱԿՑՈՂ ԼՈՒԾԻՉԻ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅԱՄԸ

Ա.Վ. ԲԱԴՅԱՅԱՆ, Ա.Վ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ա.ՅՈՒ. ՉՈՒԽԱԶՅԱՆ,
Ե.Շ. ՄԱՄԱՍԱԽԼԻՍՈՎ, Վ.Ֆ. ՄՈՐՈԶՈՎ

Բաց շղթայի համիլտոնյանի շրջանակներում կառուցված է փակ շրջանային ԴՆԹ-նե-
րում (փշԴՆԹ) պարույր-կծիկ անցումը նկարագրող համիլտոնյանը: Կառուցվածքի վրա
վերադրվող տուփոլոգիական բարդացումները հաշվի են առնվում ջրածնային կապի բերված
էներգիայի պարույրության չմիջինացված աստիճանից կախվածության միջոցով: Զննարկ-
ված է ջրածնային կապի առաջացմանը մրցակցող լուծիչի ազդեցությունը: Կառուցված հա-
միլտոնյանի շրջանակներում ցույց է տրված, որ փշԴՆԹ-ի հալման կորը կարելի է ստանալ
բաց շղթայի հալման կորից՝ ջերմաստիճանային սանդղակի ձևափոխության միջոցով:

HELIX-COIL TRANSITION IN CIRCULAR CLOSE DNA IN THE PRESENCE OF COMPETING SOLVENT

A.V. BADASYAN, A.V. GRIGORYAN, A.Y. CHUHADJYAN,
E.SH. MAMASAKHLISOV, V.F. MOROZOV

The Hamiltonian describing helix-coil transition in circular closed DNA (ccDNA) in
scopes of open chain Hamiltonian is constructed. Topological restrains, present in structure,
are taken into account by the reduced hydrogen bound energy's dependence on the
unaveraged degree of denaturation. The influence of solvent competing for hydrogen bound
formation, is considered. In the scopes of built Hamiltonian, it is shown that the denaturation
curve of ccDNA can be obtained from the curve for an open chain by the temperature scale
transformation.