

УДК 541.64

АНАЛИЗ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ-КЛУБОК В КОЛЬЦЕВОЙ ЗАМКНУТОЙ ДНК НА ОСНОВЕ СТАТИСТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

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

Ереванский государственный университет

(Поступила в редакцию 3 февраля 2004 г.)

На основе развитого ранее подхода к проблеме денатурации кольцевой замкнутой ДНК (кЗДНК) получены формулы преобразования температур, связывающие температуру кЗДНК при заданной степени спиральности с температурой открытой цепи ДНК (оцДНК) при той же степени спиральности. В рамках данного подхода получены кривые плавления для кЗДНК из кривой плавления оцДНК. Обсуждается связь полученных результатов с экспериментальными данными.

Целью данной работы является анализ экспериментальных данных [1,2] на основе полученной ранее модели [3-5]. Модель основана на гамильтониане оцДНК, имеющего следующий вид [6,7]:

$$-\beta H = J \sum_{i=1}^N \delta \left(\sum_{k=1}^i \gamma_k; 0 \right) = J \sum_{i=1}^N \delta_1^{(i)}, \quad (1)$$

где $J = U/T$, $\delta_1^{(i)} \equiv \delta \left(\sum_{k=1}^i \gamma_k; 0 \right)$, U – энергия комплементарного связывания пары азотистых оснований, $\beta = 1/T$, $\delta(a,b)$ – символ Кронекера. По значению $\sum_{k=1}^i \gamma_k$ можно судить о том, реализуется ли спиральная конформация. Таким образом, гамильтониан (1) показывает, что если образуется замкнутая петля между первой и i -ой повторяющейся единицей, то выделяется энергия U . Основываясь на вышеописанной модели и гамильтониане оцДНК (1), мы строим гамильтониан кЗДНК следующим образом [3-5]: параметр J предполагается зависящим от микроскопической (неусредненной) доли разорванных водородных связей

$$P = 1 - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_1^{(i)}. \quad (2)$$

Таким образом, кЗДНК есть система, в которой состояние одной повторяющейся единицы зависит от состояния всей молекулы. Разлагая $J(P)$ в ряд по параметру P до произвольной степени M и делая существенное и оправданное предположение о независимости коэффициентов a_k от беспорядка, имеем

$$J = J_0 + \sum_{k=1}^M a_k P^k, \quad (3)$$

где J_0 — приведенная к температуре энергия водородной связи в случае отсутствия в системе топологических ограничений.

Это приводит к следующему: степени спиральности θ оцДНК при температуре T_{oc} соответствует то же значение степени спиральности кзДНК, однако соответствующая температура преобразуется по закону

$$T_{cc} = T_{oc} \left[1 + \sum_{k=2}^M k \frac{b_k}{J_0} \alpha^{k-1} \right], \quad (4)$$

где $b_k \equiv a_k - a_{k-1}$, $\alpha = 1 - \theta$. Это соотношение позволяет рассчитать кривую плавления кзДНК из известной кривой плавления точно такой же незамкнутой молекулы. Более того, было показано [3-5], что это соотношение справедливо в случае гетерогенной ДНК в присутствии конкурентного растворителя.

Как следует из эксперимента по плавлению кзДНК в инвертирующих условиях [1,2], плавление оцДНК происходит в очень узком температурном интервале. Следовательно, в хорошем приближении T_{oc} в (4) можно считать постоянной величиной, что дает возможность для численного определения констант разложения. Расчеты показывают, что для получения хорошего согласия теории с экспериментом необходимо учесть разложение вплоть до полинома восьмой степени. На рис.1 представлено сопоставление экспериментальных результатов с расчетными для полиномов различных степеней:

$$\text{A) } \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.3174\alpha - 1.3617\alpha^2 + 4.0529\alpha^3 - 7.1305\alpha^4 + 7.3306\alpha^5 - 4.2349\alpha^6 + 1.0954\alpha^7,$$

$$\text{B) } \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.3145\alpha - 1.2298\alpha^2 + 2.9525\alpha^3 - 3.7667\alpha^4 + 2.2972\alpha^5 - 0.5011\alpha^6,$$

$$\text{C) } \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.3078\alpha - 1.0821\alpha^2 + 2.1807\alpha^3 - 2.145\alpha^4 + 0.8053\alpha^5,$$

$$\text{D) } \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.2628\alpha - 0.5903\alpha^2 + 0.5759\alpha^3 - 0.182\alpha^4,$$

$$\text{E) } \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.3159\alpha - 1.2538\alpha^2 + 3.0087\alpha^3 - 3.3437\alpha^4 + 3.7812\alpha^5 - 3.5158\alpha^6 + 1.0742\alpha^7,$$

$$\text{F) } \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.312\alpha - 1.1626\alpha^2 + 2.556\alpha^3 - 2.805\alpha^4 + 1.2125\alpha^5 - 0.0467\alpha^8.$$

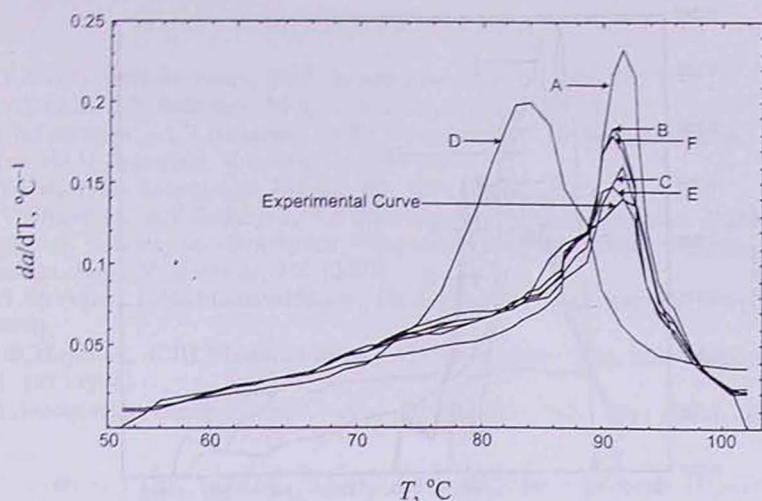


Рис.1. Дифференциальная кривая плавления (ДКП) для кЗДНК фага $\phi X174$ в инвертирующих условиях (Experimental Curve) [1,2] и различные ее описания согласно (4).

Из рис.1 видно, что наиболее адекватно описывает экспериментальный результат разложение полиномом восьмой степени с занулением коэффициентов при пятой степени (случай Е). Следует отметить, что при различных способах разложения коэффициенты вплоть до членов четвертой степени приблизительно одинаковы.

Далее, используя преобразования А-Е, на основе экспериментальной дифференциальной кривой плавления (ДКП) реальной оцДНК получена ДКП кЗДНК в тех же условиях.

На рис.2 представлена ДКП оцДНК (случай 1) вместе с ДКП кЗДНК, преобразованными по формуле (4). Из рис.2 видно, что все кривые, описывающие кЗДНК, начинаются раньше, чем для оцДНК и заканчиваются при более высоких температурах.

Более того, при использовании преобразований А-Е ДКП кЗДНК имеет тонкую структуру. Исчезновение тонкой структуры происходит только тогда, когда используется преобразование температур с разложением до низших порядков:

$$G) \quad \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.2628\alpha - 0.5903\alpha^2 + 0.5759\alpha^3,$$

$$H) \quad \frac{T_{cc}}{T_{oc}} = 1 - 0.0211 + 0.2628\alpha.$$

Из рис.2 явственно видно, что чисто линейное преобразование приводит к полному исчезновению тонкой структуры (случай Н).

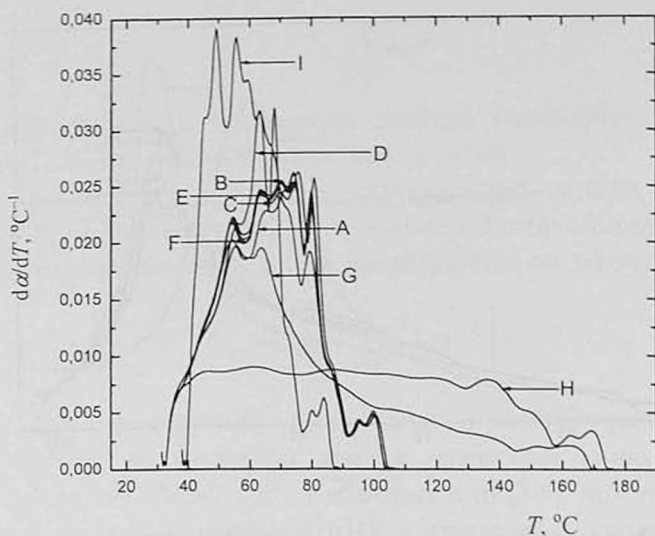


Рис.2. ДКП реальной оцДНК тимуса теленка в 10^{-3} NaCl (случай I) и гипотетических кзДНК в тех же условиях.

Таким образом, можно утверждать, что основные тенденции поведения кзДНК могут быть объяснены на основе нашей модели. Тем не менее, следует с осторожностью относиться к количественным характеристикам кривых плавления кзДНК. Об этом косвенно говорит тот факт, что экспериментальная кривая описывается полиномом высокой степени. Дело в том, что наша модель предполагает существование в растворе кзДНК идентичных макромолекул с одинаковым числом зацеплений. Однако, как показывают многочисленные эксперименты [8], раствор кзДНК представляет собой смесь различных топоизомеров с различным числом зацеплений, что должно соответствовать различным значениям коэффициентов при преобразовании температур.

Таким образом, путем сопоставления модели с экспериментом ДКП в инвертирующих условиях, показана принципиальная возможность получения ДКП для кзДНК в любых условиях, имея экспериментальные данные плавления оцДНК в тех же условиях. Однако для количественного сопоставления модели с экспериментом необходимо иметь экспериментальные данные по плавлению одной топоизомерной фракции. Таких экспериментальных данных в настоящее время нет.

Имеется принципиальная возможность описать эксперимент по плавлению смеси топоизомеров. Для этого нужно представить экспериментальную кривую на рис.1 как сумму кривых, которым соответствуют различные преобразования температур. Этому будет посвящена наша следующая публикация.

Работа выполнена благодаря грантам МНТЦ А-092.2 и А-301.2.

ЛИТЕРАТУРА

1. A.V.Gagua, B.N.Belintsev, Yu.L. Lyubchenko. *Nature*, **294**, 662 (1981).
2. A.V.Gagua, B.N.Belintsev. *Mol. Biol. (Russ.)*, **23**, 52 (1989).
3. A.V.Григорян, A.B.Бадасян, A.Ю.Чухаджян, E.Ш.Мамасакхлисов, B.Ф.Морозов. *Изв. НАН Армении, Физика*, **37**, 59 (2002).
4. A.V.Grigoryan. *Biophysical Journal*, **84**, 580a (2003).
5. A.V.Grigoryan, A.V.Badasyan, V.F.Morozov, E.Sh.Mamasakhlisov. Eighth International Summer School on Biophysics "Supramolecular structure and function", Rovinj, Croatia, Book of Abstracts, 126 (2003).
6. V.F.Morozov, E.Sh.Mamasakhlisov, Sh.A.Nayryan, Chin-Kun Hu. *Physica A*, **51**, 281 (2000).
7. B.Ф.Морозов, E.Ш.Мамасакхлисов, M.С.Шагинян. *Изв. НАН Армении, Физика*, **33**, 195 (1998).
8. A.V.Vologodskii. *Topology and Circular DNA*. CRC Press, Boca Roton, Florida, 1992.

ՓԱԿ ՇՐՋԱՆԱՅԻՆ ԴՆԹ-ՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑԱՄԱՆ
ՎԵՐԼՈՒԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՎԻՃԱԿԱԳՐԱԿԱՆ ՍՈԴԵԼԻ ՀԻՍԱՆ ՎՐԱ

Ա.Վ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ա.Վ. ԲԱԴԱՍՅԱՆ, Վ.Ֆ. ՄՈՐՈԶՈՎ, Ե.Շ. ՄԱՍԱԿԽԼԻՍՈՎ

Փակ շրջանային ԴՆԹ-ի (փշԴՆԹ) հալման խնդրի հիման վրա ստացված են ջերմաստիճանների ձևափոխության բանաձևեր, որոնք տրված պարույրության աստիճան ունեցող փշԴՆԹ-ի ջերմաստիճանին համապատասխանեցվում են նույն պարույրության աստիճան ունեցող ԴՆԹ-ի բաց շղթայի (բշԴՆԹ) ջերմաստիճանին: Տվյալ մոտեցման շրջանակներում բշԴՆԹ-ի հալման կորերից ստացվում են փշԴՆԹ-ի հալման կորերը: Զննարկված է ստացված արդյունքների կապը փորձարարական տվյալների հետ:

ANALYSIS OF HELIX-COIL TRANSITION OF CIRCULAR CLOSED DNA ON THE BASIS OF STATISTICAL MODEL

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

Using a transformation formula, which relates the temperature of circular closed DNA (ccDNA) for given degree of helicity to the temperature of ocDNA for the same degree of helicity, we obtain the melting curves for the ccDNA from the melting curves of the corresponding ocDNA. The results are compared with experimental data.