

УДК 541.64

ТЕОРИЯ КОНДЕНСАЦИИ ДНК ПРИ НАЛИЧИИ РАСТЯГИВАЮЩЕЙ СИЛЫ: МОДЕЛЬ ЗИММА–БРЭГГА

Е.Ш. МАМАСАХЛИСОВ

Ереванский государственный университет, Армения

(Поступила в редакцию 25 ноября 2009 г.)

Представлена теория конденсации ДНК многовалентными катионами при наличии внешней растягивающей силы. Показано, что в приближении среднего поля система описывается моделью Зимма–Брэгга с эффективными параметрами роста упорядоченной фазы и кооперативности. В рамках предложенной модели интерпретированы экспериментальные результаты по растяжению двунитиевой ДНК λ -фага. Проанализированы возможные сценарии гомо- и гетерополимерного поведения ДНК при конденсации. Предложен возможный механизм, ограничивающий рост линейного размера ДНК и рассчитан размер гетерополимерной глобулы.

1. Введение

В хромосоме ДНК находится в плотноупакованном состоянии и биологическое функционирование ДНК, как правило, тесно связано с конденсированным состоянием ДНК. В этой связи, определение различных параметров взаимодействия ДНК с лигандами, растворителем и собственно ДНК представляет актуальную задачу.

В настоящее время для прямого определения различных термодинамических параметров биологически активных молекул разработаны эффективные методики, позволяющие измерять различные характеристики изолированных макромолекул. Так, например, в работах [1,2] с помощью электромагнитного пинцета было исследовано поведение спиральной молекулы ДНК при наличии внешней растягивающей силы. Известно, что при некоторой концентрации многовалентных положительных ионов в растворе силы, действующие на молекулы ДНК, сворачивают её в тороидальную глобулу. Растягивая молекулу ДНК, можно определить свободную энергию конденсации молекулы ДНК из расчета на пару нуклеотидов. Данную величину можно оценить следующим образом. Пусть ΔG – свободная энергия конденсации. Тогда при критическом значении силы свободная энергия конденсации компенсируется работой, совершаемой внешней силой при растяжении $\Delta G \approx Lf$, где f – растягивающая сила, а L – контурная длина цепи.

2. Модель

Спиральная ДНК имеет относительно большую жесткость: ≈ 200 пар оснований. Такую молекулу можно рассматривать как персистентную цепь. В конденсированном состоянии персистентная цепь принимает форму тора. Свободная энергия тороидальной глобулы имеет вид [3]

$$F \approx \Phi + \varepsilon \frac{Rr}{d^2} + T \frac{L\tilde{l}}{R^2}, \quad (1)$$

где Φ – объемная энергия взаимодействия сегментов цепи, находящихся в глобулярном состоянии. Второй член формулы (1) характеризует поверхностную энергию тороидальной глобулы. Здесь R и r – большой и малый радиусы тора, соответственно, а ε – энергия поверхностного натяжения. Третий член соответствует гибкости персистентной цепи. В нем L – контурная длина макромолекулы, \tilde{l} – персистентная длина, d – диаметр персистентной цепи.

При наличии внешней силы можно предположить, что молекула ДНК представляет собой последовательность участков цепи, находящихся в глобулярном состоянии (тороидальные глобулы), и участков цепи, находящихся в клубкообразном состоянии. Предположим, что у нас имеется n таких участков. Состояние системы из таких n участков будет характеризоваться набором переменных $\{g_i, c_i\}$, где g_i – длина i -ого глобулярного участка, а c_i – длина i -ого клубкообразного участка.

Свободная энергия i -ого глобулярного участка имеет вид

$$F_{g_i} \approx \Phi_{g_i} + \varepsilon R_i r_i / d^2 + T \tilde{l}^2 g_i / R_i^2, \quad (2)$$

где $\Phi_{g_i} \approx -\varepsilon_0 g_i$, а ε_0 – объемная энергия, приходящаяся на персистентную длину.

Для определения свободной энергии клубкообразных участков воспользуемся соотношением, полученным Марко и Сиггиа, для зависимости растяжения персистентной цепи от внешней силы [4]:

$$f(x) = \frac{T}{\tilde{l}} \left[\frac{x}{L} + \frac{1}{4} \left(1 - \frac{x}{L} \right)^{-2} - \frac{1}{4} \right], \quad (3)$$

где x – межконцевое расстояние цепи. Пусть $A(z)$ есть функция, обратная $W(y) = y + (1 - y)^{-2} / 4 - 1/4$. Тогда, используя выражение для свободной энергии персистентной цепи при наличии внешней силы [5,6]

$$F_{\text{ext}} = \int_0^x dx' f(x') - fx = A \left(\frac{f\tilde{l}}{T} \right)^2 \left(\frac{1}{\left(1 - A \left(\frac{f\tilde{l}}{T} \right) \right)^2} + 2 \right),$$

можно показать, что суммарная свободная энергия для персистентной цепи с набором $\{g_i, c_i\}$ будет иметь вид

$$\frac{1}{T} F\{g_i, c_i\} = \sum_{i=1}^n \left\{ g_i \left[-\frac{\varepsilon_0}{T} + \left(\frac{\tilde{l}}{R_i} \right)^2 \right] + \frac{\varepsilon}{T} \frac{R_i r_i}{d^2} - c_i \tilde{f} \right\}. \quad (4)$$

3. Свободная энергия и другие термодинамические параметры

Для построенной выше модели в работе [6] было показано, что в термодинамическом пределе гомогенная цепь претерпевает фазовый переход первого рода. В то же время, используемая в эксперименте ДНК λ -фага, имеет конечную длину около 48 000 пар оснований и, следовательно, является цепью конечной длины.

Статистическая сумма модели имеет вид

$$Z_N = \sum_n \sum_{\{c, g\}} s^{N_g} \sigma^n, \quad (5)$$

где параметры s и σ определяются выражениями

$$s = \exp \left[-\beta \varepsilon_0 - \tilde{f} - \frac{\tilde{l}^2}{R^2} \right], \quad \sigma = \exp \left[-\beta \varepsilon_s \frac{Rr}{d^2} \right]. \quad (6)$$

Здесь $\beta = 1/T$ и ε_s – энергия поверхностного натяжения. Пусть n – количество глобулярных участков, а N_g – суммарное количество мономеров, находящихся в глобулярном состоянии. Тогда, в приближении среднего поля свободная энергия системы может быть представлена в следующем виде:

$$\beta F_N(N_g, n, x, y) = N_g \log(s) + n \log(\sigma) - S(N, N_g, n), \quad (7)$$

где $S(N, N_g, n)$ – энтропия смешения глобулярных и клубкообразных участков, а $\beta F_N(N_g, n, x, y) = N_g \Delta E + n E_s - S(N, N_g, n)$. При этом

$$\Delta E = -\beta \varepsilon_0 + \tilde{f} + \frac{1}{x^2}, \quad E_s = \alpha x y, \quad (8)$$

где $\alpha = \beta \varepsilon \tilde{l}/d$, $x = R/\tilde{l}$, $y = r/d$. Минимизируя (7) по x и y , получим следующие значения для x и y :

$$x \approx \alpha^{-2/5} \nu^{1/5}, \quad y \approx \alpha^{1/5} \nu^{2/5}, \quad (9)$$

где $\nu = N_g/n$. Точка перехода определяется условием $s=1$, а параметром σ определяется интервал перехода. С учетом выражений (6) и (7), для критической силы получаем выражение

$$\tilde{f}(f_c) \approx \beta \varepsilon_0 - \alpha^{4/5} \nu^{-2/5}. \quad (10)$$

Вблизи точки перехода $s = 1 \pm \sqrt{\sigma}$. Следовательно, при $\sigma \ll 1$

$$\Delta \tilde{f} = \log(1 + \sqrt{\sigma}) \approx \sqrt{\sigma}. \quad (11)$$

Переход в упорядоченное (глобулярное) состояние можно описать, используя степень глобуляризации цепи θ . В приближении среднего поля степень глобуляризации имеет вид $\theta = N_g/N$, а ее зависимость от внешней силы f характеризуется двумя основными параметрами: критической силой f_c (определяемой выражением (10)) и интервалом перехода Δf (определяемым выражением (11)). При этом обе эти характеристики зависят от параметра кооперативности σ .

Чтобы найти значение параметра σ , рассмотрим поведение свободной энергии в зависимости от степени упорядоченности (в данном случае, от степени глобуляризации). Эта энергия имеет два минимума, соответствующих значениям степени глобуляризации $\theta = 0$ и $\theta = 1$. При фазовом переходе первого рода вблизи точки перехода имеем сосуществование двух фаз. Сосуществование фаз означает, что вероятности того или иного состояния примерно равны:

$$\exp[-\beta F_{\text{glob}}] \approx \exp[-\beta F_{\text{coil}}], \quad (12)$$

где F_{glob} – свободная энергия глобулярного состояния, F_{coil} – свободная энергия клубкообразного состояния. Из (12) следует, что $|F_{\text{glob}} - F_{\text{coil}}| \sim 1/\beta$ и

$$F_{\text{coil}} = -\frac{N\tilde{f}}{\beta}, \quad F_{\text{glob}} = -N\epsilon_0 + \frac{\alpha^{4/5} N^{3/4}}{\beta}. \quad (13)$$

Поскольку F_{glob} не зависит от внешней силы, то для интервала по силе получаем

$$\Delta\tilde{f} \sim 1/N. \quad (14)$$

Средняя длина глобулярного участка (ν) вблизи точки перехода удовлетворяет соотношению [7]

$$\nu = N_g/n \sim 1/\sqrt{\sigma}. \quad (15)$$

Сравнивая выражения (11) и (14), получаем $\sqrt{\sigma} \sim 1/N$ и $\nu \sim N$. Тогда выражение для критической силы будет иметь вид

$$\tilde{f}_c \approx \beta\epsilon_0 - \alpha^{4/5} N^{-2/5}. \quad (16)$$

Таким образом, при критической силе, определяемой соотношением (16), происходит фазовый переход. Интервал перехода определяется соотношением (14). При этом вблизи точки перехода цепь разбивается на несколько участков, размеры которых пропорциональны N .

Сопоставление результатов, полученных экспериментальным путём, с результатами теории показывает, что интервал силы, в котором происходит конденсация, существенно отличается для случая гомополимера. Так, наблюдаемый на эксперименте интервал перехода $\Delta f \approx 0.1pN$, в то время как для гомополимера он 1.5–2 порядка меньше. Причина полученного несоответствия в следующем. Существующие экспериментальные данные [8]

показывают, что взаимодействие между различными последовательностями двойной спирали ДНК носит гетерогенный характер. Чтобы оценить потенциальный вклад гетерогенности в конденсацию двойной спирали ДНК, рассмотрим теперь полимерную цепь с гетерогенным взаимодействием между сегментами. Мы предполагаем, что свободная энергия конденсации домена цепи определяется локальными свойствами последовательности. Данный подход оправдан, поскольку внешняя растягивающая сила существенно затрудняет образование длинных петель и взаимодействие между сегментами, удаленными вдоль цепи. Именно поэтому вкладом взаимодействий между отдельными глобулярными участками в свободную энергию можно пренебречь.

Для случая гетерополимера ранее был получен следующий результат для интервала плавления [7]:

$$\Delta\tilde{f} \sim 1/|\ln \sigma|. \quad (17)$$

Учитывая, что $\sqrt{\sigma} \sim 1/N$, получаем для интервала перехода выражение [8]

$$\Delta\tilde{f} \sim 1/\ln N. \quad (18)$$

Интервал плавления, определенный по формуле (18), хорошо совпадает с интервалом, полученным экспериментальным путем, $\Delta f \approx 0.1pN$.

4. Обсуждение результатов

Согласно имеющимся экспериментальным данным, конденсирующие вещества создают торообразные частицы конденсированной ДНК с внешним диаметром $\cong 10^2$ нм для различных цепей ДНК с контурной длиной в интервале от 10^3 до 5×10^4 пар оснований [9]. Таким образом, размеры торообразной глобулы слабо зависят от длины молекулы ДНК. Представленная выше теория предлагает одно из возможных объяснений этого явления.

Согласно существующей теории Зимма–Брэгга, конденсация гомо- и гетерополимеров происходит по совершенно разным сценариям. Гомогенная цепь претерпевает плавный переход. Различные мономеры такой цепи находятся в динамическом равновесии между процессами конденсации и разворачивания уже конденсированных субцепей. Различные субцепи конденсируются и деконденсируются в результате тепловых флуктуаций. В то же время, гетерогенные цепи конденсируются, последовательно компактируя те участки цепи, где доля легко конденсирующихся мономеров больше. Таким образом, гетерогенные цепи разбиваются на упорядоченные и неупорядоченные участки в соответствии с последовательностью цепи. При этом уже образовавшийся глобулярный участок, содержащий в среднем около ν мономеров, не разворачивается в результате тепловых флуктуаций, и общая структура конденсированной ДНК представляет собой ассоциат таких глобулярных торообразных участков ДНК. Свободная поверхность торообразной глобулы термодинамически невыгодна и наиболее стабильной структурой будет стопка таких тороидов, минимизирующая площадь

поверхности раздела глобула–растворитель. Линейный размер такой конденсированной структуры определяется средним внешним диаметром одной глобулы.

Средняя длина упорядоченного участка для гетерополимера существенно ниже, чем у гомополимера. Известно, что вблизи точки перехода средняя длина упорядоченного участка гетерогенной цепи оценивается как

$$v \cong |\ln \sigma|^2 \cong (\ln N)^2. \quad (19)$$

Минимизируя свободную энергию (1) по параметрам R и r , можно показать, что большой и малый радиусы торообразной глобулы оцениваются как $R \cong \alpha^{-2/5} \tilde{l} v^{1/5}$ и $r \cong \alpha^{1/5} d v^{2/5}$, соответственно. Подставляя формулу (19) в последние выражения для R и r , получаем, что линейный размер гетерополимерной глобулы оценивается как

$$D = 2(R + r) \cong \alpha^{-2/5} \tilde{l} (\ln N)^{2/5} + \alpha^{1/5} d (\ln N)^{4/5}. \quad (20)$$

Полученный результат объясняет слабую зависимость размера тороиода от контурной длины цепи, наблюдаемую на эксперименте [9]. Линейный размер ДНК-конденсата определяется медленной логарифмической зависимостью от длины цепи, приведенной в формуле (20).

ЛИТЕРАТУРА

1. **J.Yang, D.C.Rau.** Biophysical J., **89**, 1932 (2005).
2. **B.A.Todd, D.C.Rau.** Nucleic Acid Research, **36**, 501 (2008).
3. **A.Yu.Grosberg, A.V.Zhestkov.** J. Biomol. Struct. Dyn., **3**, 859 (1986).
4. **J.F.Marko, E.D.Siggia.** Macromolecules, **28**, 8759 (1994).
5. **S.Blumberg et al.** Biophysical J., **88**, 1692 (2005).
6. **Y.Sh.Mamasakhlisov, B.A.Todd, A.V.Badasyan, A.V.Mkrtchyan, V.F.Morozov, V.A.Parsegian.** Phys. Rev. E, **80**, 031915 (2009).
7. **A.A.Vedenov et al.** Sov. Phys. Uspekhi, **14**, 715 (1972).
8. **A.A.Kornyshev, D.J.Lee, S.Leikin, A.Wynveen.** Rev. Mod. Phys., **79**, 943 (2007).
9. **V.A.Bloomfield.** Biopolymers, **31**, 147 (1991).

THEORY OF DNA CONDENSATION IN THE PRESENCE OF A STRETCHING FORCE: THE ZIMM–BRAGG MODEL

Y.SH. MAMASAKHLISOV

A theory of DNA condensation by multivalent cations in the presence of an external stretching force is presented. It is shown that in the mean-field approximation the system is described by the Zimm–Bragg model with the effective parameter of the ordered phase growth and the cooperativity parameter. In the framework of the proposed model the experimental results concerning the stretching of a double-stranded DNA of the λ -phage are interpreted. Possible scenarios of the homo- and heteropolymeric condensation behavior of DNA are analyzed. A possible mechanism, restricting the growth of the linear size of DNA, is proposed.