

УДК 541.64

ТЕРМОДИНАМИКА ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЙ РНК СО СЛУЧАЙНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ: МЕТОД ОТЖИГА С ОГРАНИЧЕНИЕМ

Г.Н. АЙРАПЕТЯН[†], А.Л. ЦАТУРЯН,
Ш.А. ТОНОЯН, Е.Ш. МАМАСАХЛИСОВ

Ереванский государственный университет, Армения

[†]e-mail: gor.hayrapetyan@ysu.am

(Поступила в редакцию 2 ноября 2012 г.)

На основе подхода, известного как ограниченный отжиг, исследовано влияние беспорядка в последовательности на термодинамику одноцепочечной РНК. Рассмотрена случайная последовательность с бимодальным беспорядком. Изучено температурное поведение теплоемкости и степени спиральности. Полученные аналитические результаты хорошо согласуются с численными. В присутствии конкурентных взаимодействий модель демонстрирует не только частичное высокотемпературное плавление, но и частичную холодную денатурацию.

1. Введение

Одноцепочечная РНК играет центральную роль во всех живых системах. В дополнение к передаче генетической информации, РНК принимает активное участие в различных клеточных процессах [1]. РНК-овая цепь состоит из четырех различных типов нуклеотидов – А, С, G и U и может образовывать двойные спиральные структуры, состоящие из последовательных стабильных А–U или G–C уотсон–криковских пар. Нуклеотидная последовательность влияет на трехмерную нативную структуру РНК. Одновременно, РНК-овая последовательность является результатом эволюции, и, как следствие, ожидается, что стабильность вторичной структуры важна для естественного отбора [2]. Существуют эффективные алгоритмы для точного вычисления статистической суммы и соответствующих термодинамических параметров вторичной структуры РНК [3,4].

Экспериментально стабильность вторичной структуры может быть измерена в процессе денатурации, при котором молекула РНК теряет свои третичную и вторичную структуры. Как и в белках, принято различать тепловую и холодную денатурацию. Тепловая денатурация имеет место при нагревании [5], а холодная – при охлаждении. Холодная денатурация РНК исследована в работе [6].

Фазовое поведение одонитевой РНК было тщательно изучено в контек-

сте стекольных состояний [7-11], эффектов длинных петель [12], растяжения [13] и т.д. С точки зрения статистической физики, решающим препятствием на пути к количественному аналитическому описанию однонитевой РНК является закаленное среднее, когда логарифм статистической суммы усредняется по беспорядку, в то время как в отожденном случае сама статистическая сумма усредняется по беспорядку. Физически отожденное приближение соответствует термодинамическому равновесию между степенями свободы, относящимся к последовательности и структуре. Сравнительный анализ закаленных и отожденных ансамблей был представлен в [14-17]. В [16] был предложен метод отжига с ограничением, который мы используем в данной работе. Как нам известно, это первый случай, когда метод отжига с ограничением применяется к термодинамике однонитевой РНК. Мы аналитически оцениваем термодинамические параметры однонитевой РНК, используя подход, предложенный в [16]. Полученная нами теплоемкость имеет два пика – признак двух структурных переходов. Наши аналитические результаты находятся в хорошем согласии с численными, полученными на основе методов, предложенных в [3,4]. Получена холодовая денатурация, при которой молекула РНК существенно теряет свою вторичную структуру.

2. Модель

Для простоты мы предлагаем рассматривать случайную последовательность одноцепочечной РНК, состоящей только из А и U нуклеотидов. Топологические правила, которые определяют разрешенные структуры, имеют важное значение для эффективного численного расчета свободной энергии вторичной структуры. Основное правило заключается в запрете на образование так называемых псевдоузлов из множества доступных вторичных структур, как и в большинстве других работ по физике одноцепочечной РНК. Таким образом, для любых двух пар оснований (i, j) и (k, l) при $i < j$, $k < l$, и $i < k$ мы имеем либо $i < k < l < j$ или $i < j < k < l$ [7]. По определению, вторичная структура есть набор всех пар оснований. При этом, одно основание может быть частью не более одной пары. Статистическая сумма произвольной субцепи однонитевой молекулы РНК без псевдоузлов вычисляется рекурсивно как [3,4]

$$Z_{i,j} = Z_{i,j-1} + \sum_{k=1}^{j-1} Z_{i,k-1} Q_{ij} Z_{k+1,j-1}, \quad (1)$$

где $Z_{i,j}$ – статистическая сумма субцепи между нуклеотидами i и j , а $Q_{ij} = \exp(-\beta \epsilon_{ij})$ – статистический вес образования водородных связей между нуклеотидами i и j . Гамильтониан модели имеет следующий вид:

$$H(\hat{m}, \{h_i\}) = \sum_{i < j} m_{ij} \epsilon_{ij}, \quad (2)$$

где константа взаимодействия $\epsilon_{ij} = \epsilon_0 + \epsilon h_i h_j$, сумма берется по всем неповторяющимся парам оснований, $m_{ij} = 1$, если основания i и j составляют пару, и

$m_{ij}=0$ в противном случае. Переменные $\{h_i\}$ описывают тип нуклеотида и $h_i = \pm 1$, где $h_i = +1$ соответствует А, а $h_i = -1$ У нуклеотидам. Статистическая сумма для цепи одонитевой РНК из N нуклеотидов записывается в виде

$$Z_N(\{h_i\}) = \sum_{\hat{m}} \exp[-\beta H(\hat{m}, \{h_i\})], \quad (3)$$

где $\beta = 1/k_B T$, а сумма берется по всем реализациям матрицы $\hat{m}$ без псевдоузлов. При этом, матрица $\hat{m}$ содержит не более одной единицы на каждой строке или столбце. Последнее условие описывает насыщенность спаривания оснований. Случайная последовательность $\{h_i\}$ генерируется в соответствии с функцией распределения

$$P\{h\} = \prod_{i=1}^N \rho(h_i), \quad (4)$$

где $\rho(h_i) = q\delta(h_i - 1) + (1 - q)\delta(h_i + 1)$ и $0 < q < 1$. Благодаря свойству самоусредняемости, приведенная свободная энергия в термодинамическом пределе $N \rightarrow \infty$ становится неслучайной величиной и

$$f\{h_i\} = f = -\frac{1}{N} \overline{\ln Z_N(\{h_i\})}, \quad (5)$$

где f – приведенная закаленная свободная энергия [18], $\overline{}$ означает среднее по функции распределения последовательности (4). Согласно [16], свободная энергия одонитевой РНК со случайной фиксированной последовательностью нуклеотидов удовлетворяет следующим условиям:

$$f \geq g(\beta, \mu) \geq f_a, \quad (6)$$

где f_a – приведенная отоженная свободная энергия и

$$g(\beta, \mu) = -\frac{1}{N} \ln Z_N = -\frac{1}{N} \overline{\ln Z_N(\{h_i\}) e^{-N\mu\alpha(\{h_i\})}}. \quad (7)$$

Здесь $\alpha(\{h_i\})$ – это некоторая самоусредняемая величина, зависящая от последовательности. Таким образом, $g(\beta, \mu)$ дает нижнюю границу закаленной свободной энергии f . Согласно неравенству (6), лучшая нижняя граница закаленной свободной энергии дается $\max_{\mu} g(\beta, \mu)$, и мы можем оценить свободную энергию одонитевой молекулы РНК с фиксированной случайной последовательностью как

$$f \approx \max_{\mu} g(\beta, \mu). \quad (8)$$

Простейшее ограничение, накладываемое на описывающие последовательность переменные $\{h_i\}$, задается выражением $\alpha(\{h_i\}) = (1/N) \times \sum_{i=1}^N [h_i - (2q - 1)]$, которое не фиксирует типы индивидуальных мономеров h_i , но только среднее значение суммы $\sum_i h_i$. Можно показать, что статистическая сумма Z_N , определенная в (7), после некоторых преобразований записыва-

ется как

$$Z_N = e^{N\mu(2q-1)} \Omega^N Z_N^0(\varepsilon_0 + \bar{\varepsilon}), \quad (9)$$

где $Z_N^0(\varepsilon_0 + \bar{\varepsilon})$ – статистическая сумма (3) для гомополимерной одноститевой РНК с эффективной константой взаимодействия $\varepsilon_{ij} = \varepsilon_0 + \bar{\varepsilon}$. Здесь

$$\begin{aligned} \bar{\varepsilon} &= -\frac{1}{\beta} \ln \frac{W(\mu, \beta, \varepsilon)}{\Omega(\mu)^2}, \quad \Omega(\mu) = qe^{-\mu} + (1-q)e^{\mu}, \\ W(\mu, \beta, \varepsilon) &= e^{-\beta\varepsilon} \left[q^2 e^{-2\mu} + (1-q)^2 e^{2\mu} \right] + 2q(1-q)e^{\beta\varepsilon}. \end{aligned} \quad (10)$$

Поскольку статистическую сумму гомополимерной одноститевой РНК можно записать в виде [9] $Z_N^0(\varepsilon) \approx A_0(Q) N^{-3/2} (1 + 2\sqrt{Q})^N$, где $Q = \exp(\beta\varepsilon)$, то вариационная свободная энергия $g(\beta, \mu)$ для длинных ($N \gg 1$) цепей принимает вид

$$g(\beta, \mu) = -\mu(2q-1) - \ln \Omega(\mu) - \ln(1 + 2\sqrt{Q}), \quad (11)$$

где $\bar{Q} = e^{-\beta(\varepsilon_0 + \bar{\varepsilon})}$. Максимизация потенциала $g(\beta, \mu)$ по μ дает решение $\mu_0(\beta)$, определяемое уравнением

$$2q-1 = \left[\frac{2\sqrt{Q}}{1+2\sqrt{Q}} - 1 \right] \frac{d \ln \Omega(\mu)}{d\mu} - \frac{1}{2} \frac{2\sqrt{Q}}{1+2\sqrt{Q}} \frac{\partial \ln W(\mu, \beta, \varepsilon)}{\partial \mu}. \quad (12)$$

3. Результаты и обсуждение

Энтропия на один мономер имеет вид

$$s(\beta) = -g(\beta) + \beta dg(\beta)/d\beta, \quad (13)$$

а теплоемкость

$$c_v(\beta) = -\beta^2 d^2 g(\beta)/d\beta^2. \quad (14)$$

На рис.1 поведение теплоемкости, полученное методом ограниченного отжига, сравнивается с рассчитанными численно с использованием алгоритма МакКаскилла [4]. Среднее значение теплоемкости, рассчитанное численно, находится в хорошем согласии с теплоемкостью, определенной с помощью метода ограниченного отжига. Температурное поведение теплоемкости проявляет два пика, что свидетельствует о двух структурных переходах.

Чтобы приписать поведение теплоемкости структурным преобразованиям одноститевой РНК, мы определяем степень спиральности как среднюю долю уотсон–криковских пар оснований

$$\theta = \frac{2}{N} \left\langle \sum_{i < j} m_{ij} \right\rangle = \frac{2\sqrt{Q}}{1+2\sqrt{Q}}, \quad (15)$$

где $\langle \dots \rangle$ – термодинамическое среднее. Можно показать, что правая часть уравнения (15) дается выражением степени спиральности гомополимерной одонитевой РНК, непосредственно полученной из статистической суммы последней [9]. Таким образом, в приближении ограниченного отжига степень спиральности записывается как и для гомополимерной РНК, но с эффективным статистическим весом $\bar{Q}$.

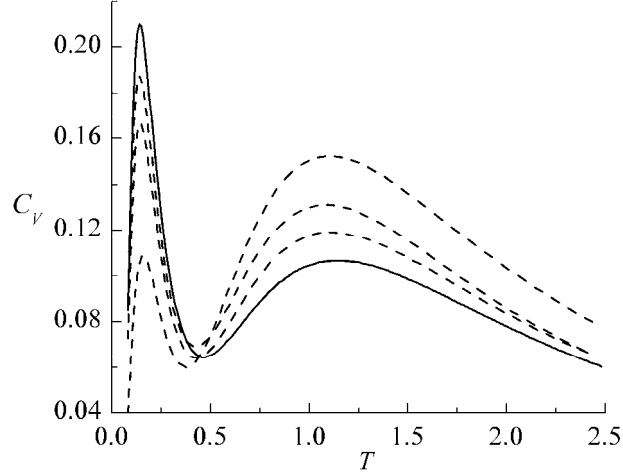


Рис.1. Зависимости удельной теплоемкости на один нуклеотид (C_v) от температуры $T = 1/\beta$. Пунктирные линии получены с помощью алгоритма МакКаскилла для 3 случайных реализаций для $N = 150$ нуклеотидов с параметрами $\varepsilon_0 = -1$, $\varepsilon = 1.5$ и $q = 0.75$. Сплошные линии получены в вариационном приближении (8) в термодинамическом пределе $N \rightarrow \infty$.

Степень спиральности можно также вычислить численно, используя вероятность формирования пары основания между нуклеотидами i и j [9]:

$$p_{ij} = \langle m_{ij} \rangle = \frac{Q_{ij} Z_{i+1, j-1} Z_{j+1, N+i-1}}{Z_{1, N}}. \quad (16)$$

Правая часть уравнения (16) была рассчитана на основе выражения (1), а степень спиральности для конкретной реализации последовательности нуклеотидов определяется в виде

$$\theta = \frac{2}{N} \sum_{i < j} p_{ij}. \quad (17)$$

На рис.2 степень спиральности, полученная методом ограниченного отжига, сравнивается с результатами, полученными на основании уравнений (1), (16) и (17) для набора случайно сгенерированных последовательностей. Как и в случае теплоемкости, среднее значение степени спиральности, рассчитанное численно, находится в хорошем согласии с таковой, определенной с помощью

метода отжига с ограничением. Как видно из рис. 2, степень спиральности резко растет с увеличением температуры и далее, после некоторой температуры около $T = 0.5$, начинает спадать. Такое поведение степени спиральности указывает на наличие высоко- и низкотемпературного плавления и, возможно, денатурации.

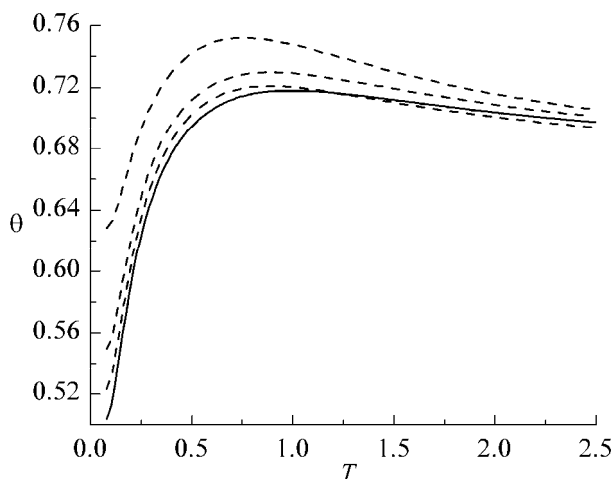


Рис.2. Зависимости степени спиральности θ от температуры $T = 1/\beta$. Пунктирные линии получены с помощью алгоритма МакКаскилла для 3 случайных реализаций для $N = 150$ нуклеотидов с параметрами $\varepsilon_0 = -1$, $\varepsilon = 1.5$ и $q = 0.75$. Сплошные линии получены в вариационном приближении (8) в термодинамическом пределе $N \rightarrow \infty$.

Высокотемпературный предел соответствует гомополимерному случаю, когда вклад межнуклеотидных взаимодействий незначителен. Для простоты, мы пренебрегаем температурной зависимостью (свободной) энергии формирования пар оснований и $\lim_{T \rightarrow \infty} \theta = 2/3$. Для более реалистичного выбора, например, $\varepsilon_0 = \Delta H - T\Delta S$, высокотемпературный предел степени спиральности будет определяться главным образом энтропийной потерей образования одной пары оснований ΔS . Здесь ΔH является энтальпией на одну пару оснований. При сравнении с рис.1 низкотемпературный пик теплоемкости может быть приписан к низкотемпературной (холодовой) денатурации, а высокотемпературный – к обычной тепловой денатурации.

Таким образом, использованный нами метод отжига с ограничением дает результаты, хорошо согласующиеся с численным моделированием.

Данная работа проведена благодаря поддержке фонда Volkswagen, грант "Equilibrium and non-equilibrium behavior of single- and double-stranded biological molecules".

ЛИТЕРАТУРА

1. The RNA World. Ed. **R.F.Gesteland, J.F.Atkins.**, **2**, 1993.
2. **P.G.Higgs.** J. Phys. (Fr.), **1**, 45 (1993).

3. **M.Zuker, P.Stiegler.** Nucleic Acids Res., **9**, 133 (1981).
4. **J.S.McCaskill.** Biopolymers, **29**, 1105 (1990).
5. **I.Tinoco, Jr., C.Bustamante.** J. Mol. Biol., **293**, 271 (1999).
6. **P.J.Mikulecky, A.L.Feig.** J. Am. Chem. Soc., **124**, 890 (2002).
7. **P.G.Higgs.** Phys. Rev. Lett., **76**, 704 (1996).
8. **A.Pagnani, G.Parisi, F.Ricci-Tersenghi.** Phys. Rev. Lett., **84**, 2026 (2000).
9. **R.Bundschuh, T.Hwa.** Phys. Rev. E, **65**, 031903 (2002).
10. **F.Krzakala, M.Mezard, M.Mueller.** Europhys. Lett., **57**, 752 (2002).
11. **M.Lässig, K.J.Wiese.** Phys. Rev. Lett., **96**, 228101 (2006).
12. **T.R.Einert, P.Nager, H.Orland, R.R.Netz.** Phys. Rev. Lett., **101**, 048103 (2008).
13. **M.Manosas, F.Ritort.** Biophys. J., **88**, 3224 (2005).
14. **T.Morita.** J. Math. Phys., **5**, 1401 (1964).
15. **R.Kuhn.** Markov Processes Relat. Fields, **10**, 523 (2004).
16. **M.Serva, G.Paladin.** Phys. Rev. Lett., **70**, 105 (1993).
17. **T.Liu, R.Bundschuh.** Phys. Rev. E, **72**, 061905 (2005).
18. **M.Mezard, G.Parisi, M.Virasoro.** Spin Glass Theory and Beyond, 1987.

ՊԱՏԱՀԱԿԱՆ ՀԱՋՈՐԴԱԿԱՆՈՒԹՅԱՄԲ ՄԻԱՇՂԹԱ ՌՆԹ-Ի
ԹԵՐՄՈԴԻՆԱՄԻԿԱՆ. ՍԱՀՄԱՆԱՓԱԿ ԹՐՕՄԱՆ ՄԵԹՈԴ

Գ.Ն. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Հ.Լ. ԾԱՏՈՒՐՅԱՆ,
Շ.Ա. ՏՈՆՈՅԱՆ, Ե.Շ. ՄԱՄԱՍԱԽԼԻՍՈՎ

Սահմանաթակ թրծման մեթոդի օգնությամբ հետազոտված է հաջորդականության չկարգավորվածության ազդեցությունը միաշղթա ՌՆԹ-ի թերմոդինամիկայի վրա: Դիտարկված է բիմոդալ պատահական հաջորդականություն և ուսումնասիրված են ջերմունակության և պարուրության աստիճանի ջերմաստճանային կախումները: Ստացված անալիտիկ արդյունքները լավ համաձայնության մեջ են գտնվում թվային արդյունքների հետ: Մրցակցող փոխազդեցությունների առկայությամբ մոդելը ցուցաբերում է ոչ միայն մասնակի բարձր ջերմաստճանային հալում, այլ նաև մասնակի ցածր ջերմաստճանային դենատուրացիա:

THERMODYNAMICS OF ssRNA WITH RANDOM SEQUENCE: CONSTRAINED ANNEALING APPROACH

G.N. HAYRAPETYAN, H.L. TSATURYAN, Sh.A. TONOVAN, Y.Sh. MAMASAKHLISOV

The effect of sequence disorder on thermodynamics of ssRNA is studied on the basis of constrained annealing approach. A random sequence with bimodal disorder is considered. The temperature behavior of specific heat and helicity degree are examined. A reasonable agreement with numerical results is obtained. In the presence of competing interactions the model exhibits not only partial high-temperature melting, but also partial cold denaturation.