

## МОДЕЛЬ ДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛ ДНК

В.Л.Голо, Е.И.Кац\*

Механико-математический факультет Московского государственного университета  
им. М.В.Ломоносова  
119899 Москва, Россия

\*Институт теоретической физики им. Л.Д.Ландау РАН  
117334 Москва, Россия

Поступила в редакцию 6 сентября 1995 г.

Предложена модель деления (то есть удвоения) молекул ДНК. Этот процесс интерпретируется как оснащение кривой (описывающей равновесную конформацию молекулы) векторным полем  $\mathbf{q}$ , моделирующим водородные связи между двумя полинуклеотидными цепями, образующими двойную спираль ДНК. Флуктуации этого поля приводят к ренормировке вращающего момента, вызывающего суперспирализацию ДНК (действительно имеющую место при репликации). Показано также, что возникающий под действием температуры (или биохимических факторов) локальный разрыв водородных связей приводит к делокализованной деформации кривой и распределенному на масштабах порядка персистентной длины вращающему моменту. Полученная для этого момента формула позволяет связать измеряемые в независимых экспериментах энергетические характеристики водородных связей и геометрические параметры суперспирали.

1. Как известно [1], молекула ДНК представляет собой две полинуклеотидные цепи, завитые в двойную спираль. Обе цепи сцеплены друг с другом за счет относительно слабых водородных связей (а взаимодействие внутри каждой цепи является значительно более сильным). Такая структура может быть охарактеризована тремя пространственными масштабами: (i) микромасштабом, не превышающим  $10\text{\AA}$  (это расстояние между соседними парами оснований вдоль цепи и диаметр двойной спирали), который в основном изучается методами рентгеноструктурного анализа и молекулярной биологии; (ii) макромасштабом порядка полной длины молекулы ДНК, достигающим в организмах высших животных  $2\text{ м}$  и (iii) промежуточным (мезо) масштабом порядка одной или нескольких персистентных длин ( $10^3\text{\AA}$ ).

На микромасштабах молекула ДНК устроена весьма сложно, зависит от конкретного типа биологической системы и в любом случае теоретическое исследование на этих масштабах должно включать численное моделирование. На макромасштабах молекула ДНК подобна обычному полимеру и в этом пределе многие детали поведения хорошо описываются известными скэйлинговыми законами [2] и определяются, в основном, энтропией цепи.

В последние годы (особенно в связи с впечатляющим экспериментом [3] по непосредственному измерению деформации молекулы ДНК в результате действия внешней силы) возник интерес к упругим свойствам ДНК, которые связаны с мезомасштабами. Модель теории упругости молекулы ДНК была сформулирована в работах [4,5] и в более общей форме в нашей работе [6] (к этой же области мезомасштабов относятся фактически результаты численного моделирования броуновской динамики дискретной модели ДНК [7,8]).

Целью настоящей работы является описание процесса деления (то есть расщепления двух комплементарных полинуклеотидных нитей) молекул ДНК.

Обычно этот процесс рассматривается как некоторый аналог фазового перехода плавления [1]. С ростом температуры (или соответствующим изменением химических условий) существование двойной спирали становится не выгодным. Межмолекулярные связи, удерживающие две комплементарные цепи друг около друга, рвутся, и из одной двухнитевой молекулы образуются две одонитевые.

Важной особенностью деления (или плавления) молекулы ДНК является то, что оно происходит не в одной фиксированной точке, а размыто в широком диапазоне температур [1]. Существует и другая проблема, связанная с репликацией. Ведь после деления ДНК две комплементарные нити должны оказаться разведенными и, следовательно, сначала многократно "провернуться" друг относительно друга. Таким образом, модель деления должна описывать как поэтапное "плавление", так и возникновение при этом крутящего момента.

2. Как было отмечено выше, на промежуточных масштабах конформация и физические свойства молекулы ДНК определяются, в основном, ее упругой энергией. Последняя обычным образом может быть разложена по тензору деформации и это разложение удобно представить в следующем виде [4-6], являющемся обобщением классической задачи Кирхгофа о равновесии упругого стержня[9]:

$$F_0 = \int_0^L ds \left( \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^3 a_{ij} \omega_i \omega_j + \sum_{i=1}^3 b_i \omega_i \right), \quad (1)$$

где  $L$  - длина стержня (условие применимости механической модели ограничивает эту длину несколькими персистентными),  $s$  - координата вдоль кривой. Матрица  $a_{ik}$  - симметричная, но анизотропная ( $a_{ij} \neq \delta_{ij}$ ) матрица упругих модулей стержня (анизотропия  $a_{ij}$  моделирует существующую на микромасштабах двойную спираль), а вектор  $b$  описывает спонтанную деформацию стационарной конфигурации молекулы, приводящую к явлению суперспирализации. Физической причиной спонтанной деформации может быть, например, адсорбция молекулы ДНК на нуклеосомах (обычно моделируемых цилиндрической поверхностью). Смысл введения вектора  $\vec{\omega}$  нуждается в некотором пояснении.

Для описания конформации молекулы ДНК можно ввести подвижный репер Френе [10]  $v_1, v_2, v_3$ , где  $v_1$  мы выберем как касательный вектор ( $v_1 = \partial r / \partial s$ ), а  $v_2$  и  $v_3$  не обязательно векторы бинормали и нормали. Для упрощения выкладок удобнее их направить по собственным векторам матрицы  $a_{ij}$  в плоскости, перпендикулярной  $v_1$ . Для молекул ДНК упругие модули, описывающие деформации кручения и изгиба, на несколько порядков [1,3-8] меньше модуля растяжения. Поэтому в очень хорошем приближении молекулу ДНК можно считать нерастяжимой, и, следовательно, допустимые деформации кривой описываются вращениями репера Френе, то есть

$$\frac{d}{ds} v_j = \vec{\omega} \times v_j \quad j = 1, 2, 3 \quad (2)$$

При постоянных  $a_{ij}$  и  $b$  минимум энергии (1) соответствует постоянному значению  $\omega$ :

$$\omega_i = \sum_{j=1}^3 a_{ij}^{-1} b_j, \quad (3)$$

что описывает спиральную конформацию молекулы. Напомним, что речь идет о суперспирали, так как исходная двойная спираль ДНК существенна на микромасштабах.

Модель Кирхгофа (1), разумеется, не может описать процесс деления, так как в ней фигурирует только осевая линия двойной спирали. Однако минимальное обобщение этой модели, а именно, оснащение кривой векторным полем  $q(s)$ , дает качественную картину деления. Поле  $q(s)$  имитирует водородные связи, обеспечивающие сцепление двух нитей в молекуле ДНК. "Расплавленное" состояние, возникающее в процессе деления, может быть охарактеризовано средним  $\langle |q(s)| \rangle \neq 0$ , что и означает невозможность описания конформации молекулы одной кривой. Отметим также, что поле  $q(s)$ , оснащающее кривую, может служить переносчиком биологической информации вдоль нее, например, при спонтанном появлении дальнего порядка (то есть фазовом переходе в этом поле).

Оснащение кривой полем  $q(s)$  означает также, что мы должны добавить к энергии Кирхгофа вклад, связанный с полем  $q(s)$ . В общем виде эта часть энергии может быть представлена в виде

$$F_1 = \int_0^L ds \left( \frac{1}{2} A \sum_{i=1}^3 \left( \frac{\partial q_i}{\partial s} \right)^2 + \frac{1}{2} B q^2 \right) \quad (3)$$

Здесь первый член в (3) описывает энергию деформации поля  $q(s)$  (имитирующую деформации водородных связей), а второй - внутреннюю энергию связи комплементарных нитей ДНК.

На первый взгляд, мы получили два независимых вклада в энергию ( $F_0$  и  $F_1$ ). Однако это не так, в чем можно легко убедиться, перейдя в подвижную систему координат. При этом

$$q = \hat{R} \vec{\pi} \quad (4)$$

где  $\hat{R}$  матрица поворота, задаваемая  $\vec{\omega}$ , а  $\vec{\pi}$  - векторное оснащение кривой в неподвижной системе. После простых преобразований из (1), (3), (4) получаем полную энергию

$$F = \int_0^L ds \left( \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^3 a_{ij} \omega_i \omega_j + \sum_{i=1}^3 b_i \omega_i + \frac{1}{2} (\partial_s \pi + \vec{\omega} \times \vec{\pi})^2 + \frac{1}{2} B q^2 \right) \quad (5)$$

Формула (5) задает энергию модели Кирхгофа для упругой кривой, оснащенной векторным полем. Такая модель может служить базой для описания процесса деления.

3. Таким образом, для описания процесса деления мы должны использовать оснащенную полем  $\vec{\pi}$  (или  $q$ ) модель Кирхгофа. В этой модели вектор  $\vec{\omega}$  задает конфигурацию осевой линии двойной спирали, а поле  $\vec{\pi}$  - разорванные водородные связи, то есть расщепленное состояние молекулы ДНК (поэтому начало процесса деления и означает оснащение кирхгофовой кривой ненулевым полем  $\vec{\pi}$ ).

Отметим, что процесс деления ДНК не носит характер фазового перехода (см., например, [1]), то есть возникает не спонтанно, а под влиянием каких-либо локальных воздействий (в том числе и температуры). Разрыв связи (возникновение  $\vec{\pi} \neq 0$ ) происходит, если это внешнее воздействие превышает

некоторое пороговое значение (порядка локальной энергии разрыва водородной связи). В этих условиях к энергии (5) должна быть добавлена энергия внешнего воздействия, влияющего на водородные связи

$$F_{int} = \int_0^L ds (\vec{\beta}\vec{\pi} + \vec{\pi}\hat{\gamma}\vec{\pi}) \delta(s - s_0) \quad (6)$$

Здесь вектор  $\vec{\beta}$  и тензор  $\hat{\gamma}$  задают главные члены энергии внешнего воздействия, индуцирующего деление молекулы, а  $s_0$  - координата точки приложения этого воздействия.

Минимизация  $F + F_{int}$  приводит к системе уравнений Эйлера-Лагранжа для  $\vec{\omega}$  и  $\vec{\pi}$ . В общем случае решение этой системы может быть найдено только численно. Имея в виду только качественное исследование начала процесса деления, мы упростим задачу, учитывая, что в этом случае  $\vec{\pi}$  мал. Кроме того, мы рассмотрим наиболее важный частный случай, когда затравочное значение крутящего момента  $b = 0$  (то есть до начала деления равновесная конфигурация молекулы является прямой,  $\vec{\omega} = 0$ ). В этом приближении уравнение для  $\vec{\pi}$  отделяется и имеет вид

$$\frac{\partial^2}{\partial s^2} \vec{\pi} - \Omega^2 \vec{\pi} = \frac{\vec{\beta}}{A} \delta(s - s_0) + \frac{1}{A} \hat{\gamma} \vec{\pi} \delta(s - s_0) \quad (7)$$

Мы ввели здесь обозначение  $\Omega^2 = B/A$ . Решение (7) записывается стандартным образом:

$$\vec{\pi}(s) = \int_0^L ds' G(s, s') \left( \frac{\vec{\beta}}{A} + \frac{1}{A} \hat{\gamma} \vec{\pi}(s') \right) \delta(s' - s_0),$$

где  $G(s, s')$  - функция Грина уравнения (7), которая легко находится с помощью преобразования Лапласа

$$G(s, s') = \frac{1}{\Omega \operatorname{sh}(\Omega L)} (\theta(s' - s) \operatorname{sh}(s\Omega) \operatorname{sh}[(L - s')\Omega] + \\ + \theta(s - s') \operatorname{sh}(s'\Omega) \operatorname{sh}[(L - s)\Omega]),$$

где  $\theta(x)$  - ступенчатая функция Хевисайда. Подставляя это решение в уравнение Эйлера-Лагранжа для  $\vec{\omega}$ , с точностью до малых величин третьего порядка находим

$$\nabla_s \vec{\omega} - A \nabla_s (\partial_s \vec{\pi} \times \vec{\pi}) = 0 \quad (8)$$

Здесь  $\nabla_s = \partial_s + \vec{\omega} \times \dots$  - ковариантная производная.

Уравнение (8) означает, что в условиях, когда за счет внешнего воздействия происходит локальный разрыв водородных связей автоматически возникает вращающий момент  $b_d$

$$b_d(s) = - \frac{G^2(s, s_0) \partial_s G(s, s_0)}{A^2} (\vec{\beta} \times \hat{\gamma} \vec{\beta}). \quad (9)$$

Формула (8) и является центральным результатом нашей работы. Она показывает, что локальное внешнее воздействие (разрыв водородной связи) приводит к делокализованной деформации молекулы, то есть суперспирализации. Действительно, характерный масштаб, на котором вращающий момент  $b_d$  отличен

от нуля, зависит от  $\Omega$ , меняясь от  $1/\Omega$  при  $\Omega L \gg 1$  до  $L$  при  $\Omega L \ll 1$ . Это обстоятельство может быть использовано в качестве своеобразного критерия Линдемана деления молекулы ДНК. Молекулу можно считать разделившейся, если индуцированный локальным воздействием разрыв связи приводит к деформации ее конфигурации на масштабах порядка персистентной длины.

Отметим, что в нашей модели фигурируют параметры различной физической природы, измеряемые различными физическими методами (упругость ДНК, энергия водородных связей, внешние воздействия). Формула (8) связывает таким образом энергетические характеристики водородных связей и геометрические параметры возникающей в процессе деления суперспирали. Предложенная модель (5) не противоречит экспериментальным данным [1] о размытом плавлении ДНК. Дело в том, что энергия (5) справедлива только на промежуточных масштабах порядка нескольких персистентных длин. На больших (макроскопических) масштабах молекула ДНК является неоднородной и потому не одинаковы условия деления ( $\bar{\pi} \neq 0$ ) в разных ее участках, что и означает поэтапное плавление молекулы.

За счет тепловых флуктуаций  $\bar{\pi}$  также возникает некоторый дополнительный вращающий момент  $\delta\bar{b}$ . Возникновение этого момента (являющееся аналогом классического эффекта Казимира в электродинамике [12]) приводит к деформации исходной конформации молекулы, то есть флуктуационной суперспирализации. В нашей модели поле  $\bar{\pi}$  является гауссовским, и мы можем проинтегрировать функцию распределения по этому полю или, другими словами, ввести эффективную энергию

$$\exp(-F_{eff}/T) = \int D\pi \exp(-F/T) \quad (10)$$

Переходя обычным образом к фурье компонентам, выполняя простые интегрирования и используя известную формулу для бесконечного произведения [13]

$$\prod_1^{\infty} \left(1 + \frac{z}{\pi^2 n^2}\right) = \frac{z}{\text{sh}z},$$

получаем

$$F_{eff} = F_0 - T \sum_{i=1}^3 \ln \left( \frac{z_i}{\text{sh}z_i} \right), \quad (11)$$

где

$$z_i = L \left( \frac{B + A(\omega^2 - \omega_i^2)}{A} \right)^{1/2}.$$

Второй член в (11) и приводит к упомянутой выше флуктуационной суперспирализации. Приведем, например, выражение для флуктуационного вклада в  $\omega$  при больших значениях  $z_i$ :

$$\delta\bar{\omega} = -\bar{a}^{-1}\bar{\xi}$$

где

$$\xi_j = \frac{1}{2} T \sum_{i=1}^3 \frac{\omega_{0j} - \delta_{ij}\omega_{0i}}{\sqrt{\frac{B}{A} + \omega_0^2 - \omega_{0j}^2}}.$$

Таким образом флуктуации поля  $\vec{\pi}$ , оснащающего кирхгофовскую кривую, приводят к ренормировке  $\vec{\omega}$  или, что то же самое, к ренормировке вращающего момента  $\mathbf{b}$ .

Авторы благодарят Г.Е. Воловика за ценные замечания, проф. В.Л.Покровского и Д.Е.Хмельницкого за интерес к работе, Е.К. благодарен также проф. J.Lajzerowicz за полезные обсуждения этой темы и ознакомление с работами [7, 8]. Работа была осуществлена при частичной финансовой поддержке грантов INTAS (94-4078) и Российского фонда фундаментальных исследований (95-02-05343 и 94-02-06306).

- 
1. A.V.Vologodskii, S.D.Leven, K.V.Klenin et al., *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **23**, 609 1992.
  2. П.Ж. де Жен, *Идеи скэйлинга в физике полимеров*, М. Мир, 1982.
  3. S.B. Smith, L.Finzi, and C. Bustamante. *Science*, **258**, 793 1992.
  4. J.F.Marko and E.D.Siggia, *Macromolecules*, **27**, 981 1994.
  5. J.F.Marko and E.D.Siggia, *Fluctuations and supercoiling of DNA*, Preprint, Lab. for Atomic and Solid State Physics, Cornell University, 1994.
  6. В.Л.Голо, Е.И.Кац, *Письма в ЖЭТФ*, **60**, 679 1994.
  7. G.Chirico and J.Langowski, *Biopolymers*, **34**, 415 1994.
  8. K.V.Klenin, M.D.Frank-Kamenetskii, and J.Langowski, *Biophys. Journal* **68**, 81 1995.
  9. G.Kirchhoff, *Mechanik*, Teubnir, Berlin, 1897.
  10. Б.А.Дубровин, С.П.Новиков, А.Т.Фоменко, *Современная геометрия*, М: Наука, 1979.
  11. B.Houchmanzadeh, J.Lajzerowicz, and M.Vallade, *J.Phys. 1 France*, **2**, 1881 1992.
  12. Н.В.Сасимир, *Proc. Kon. Ned. Akad.*, **51**, 793 1948.
  13. И.С.Градштейн, И.М.Рыжик, *Таблицы интегралов, сумм, рядов и произведений*, М: Физматгиз, 1962.