

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ ԳՈՌ ՆՈՐԱՅՐԻ

ՕՂԱԿԱՅԻՆ ԳՈՐԾՈՆԸ ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ
ԿՈՆՖՈՐՄԱՑԻՈՆ ԱՆՑՈՒՄՆԵՐՈՒՄ

Գ.00.02–«Կենսաֆիզիկա» մասնագիտությամբ
ֆիզիկամաթեմատիկական գիտությունների թեկնածուի
զիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ-2013

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

АЙРАПЕТЯН ГОР НОРАЙРОВИЧ

ПЕТЛЕВОЙ ФАКТОР В КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДАХ
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук
по специальности 03.00.02–«Биофизика»

ЕРЕВАН-2013

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝

Ֆիզմաթ. գիտ. դոկտոր,
Ե.Շ. Մամասախլիսով

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

Ֆիզմաթ. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Ա.Թ. Կարապետյան
Ֆիզմաթ. գիտ. դոկտոր,
Ժ.Ս. Գևորգյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

Հայ-Ռուսական (Սլավոնական)
համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2013 թ. ապրիլի 19-ին, ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՂ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2013 թ. մարտի 18-ին :

051 մասնագիտական խորհրդի գիտական
քարտուղար, կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր



Լ.Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель:

доктор физ.-мат. наук,
Е.Ш. Мамасакхисов

Официальные оппоненты:

доктор физ.-мат. наук,
профессор А.Т. Карапетян
доктор физ.-мат. наук,
Ж.С. Геворгян

Ведущая организация:

Российско-Армянский (Славянский)
университет

Защита диссертации состоится 19-го апреля 2013 г., в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета 051 Биофизика ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, Алека Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 18-го марта, 2013 г.

Ученый секретарь Специализированного
совета 051, доктор биол. наук, профессор



Լ.Ա. Նավասարդյան

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Одной из основных задач физики макромолекул является определение физических закономерностей строения и биологической функции одно- и двунитевых нуклеиновых кислот. Общеизвестно, что биологическая функция биополимеров определяется их пространственной структурой. В связи с этим важным является определение основных факторов и закономерностей, влияющих на конформации и конформационные переходы. Одним из таких факторов является образование вторичной структуры нуклеиновых кислот и возникновение длинных петель на участках, свободных от образования Уотсон-Криковских пар оснований. Кроме того, остается ряд открытых вопросов, связанных с влиянием гетерогенной последовательности нуклеотидов на структуру и конформационные переходы в нуклеиновых кислотах.

Исследование данных вопросов представляет интерес также и с точки зрения биоинформатики. Алгоритмы расчета термодинамических параметров и предсказания оптимальной вторичной структуры однонитевой РНК в настоящее время широко используются в биологических исследованиях. Правильный учет энтропии образования петель и гетерогенности последовательности существенно улучшит существующие алгоритмы и будет способствовать разработке новых подходов к данной проблеме.

В свете изложенного, актуальность настоящей работы определяется разработкой новых подходов к исследованию конформационной энтропии петель и эффектов нуклеотидной последовательности.

Целью работы является:

1. Построение теории плавления двунитевой ДНК, учитывающей топологические ограничения, накладываемые на длинные петли.
2. Исследование эффектов исключенного объема при образовании длинных петель в двунитевой ДНК.
3. Изучение влияния длинных петель на фазовое поведение двунитевой ДНК.
4. Построение аналитической теории, описывающей термодинамические свойства однонитевой РНК со случайной последовательностью нуклеотидов.
5. Сравнительный анализ фазового поведения однонитевой РНК с учетом и без учета энтропии образования длинных петель.
6. Расчет термодинамических характеристик однонитевой РНК.

Научная новизна заключается в построении модели плавления двойной спирали ДНК, не прибегая к каким-либо предварительным допущениям относительно энтропии образования длинных петель. Аналитическая зависимость статистического веса петли рассчитана на основании предложенной теории, а не выбирается из физических соображений. Получена температурная зависимость таких характеристик перехода спираль-клубок, как свободная энергия, степень спиральности, корреляционная длина и корреляционная функция. Впервые показано наличие фазового перехода бесконечного рода при плавлении двойной спирали ДНК.

Проведено сопоставление с результатами, полученными в рамках модели Поланда и Шерага.

Предложена аналитическая теория, описывающая образование вторичной структуры однонитевой РНК, основанная на методе отжига с ограничениями. Проведено сопоставление и показано количественное согласие с результатами численного моделирования. Получена температурная зависимость таких характеристик денатурации однонитевой РНК, как свободная энергия, степень спиральности, энтропия и теплоемкость. Для случайной последовательности нуклеотидов двух типов впервые показано наличие двух структурных переходов. Показана возможная связь низкотемпературного структурного перехода с холодной денатурацией РНК, наблюдаемой на эксперименте.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Невозможность образования узлов в расплавленных участках ДНК и учет эффектов исключенного объема существенно влияет на энтропию образования петель и дает значение петлевого фактора $c=1$.
2. Для значения петлевого фактора $c=1$ при денатурации двойной спирали ДНК имеет место фазовый переход бесконечного рода. Вблизи критической температуры, корреляционная длина расходится, как это имеет место при фазовом переходе второго рода, в то время как амплитуда флуктуаций стремится к нулю. Т.о. имеют место малые, но протяженные флуктуации.
3. Выше температуры фазового перехода степень спиральности равна нулю, что существенно отличается от поведения системы при обычном переходе спираль - клубок.
4. Однонитевая РНК со случайной двухбуквенной последовательностью нуклеотидов при определенном выборе параметров взаимодействия демонстрирует два пика на температурной зависимости удельной теплоемкости системы. Подобное поведение указывает на наличие двух структурных переходов.
5. Низкотемпературный пик теплоемкости соответствует холодовому плавлению РНК, когда степень спиральности существенно падает при понижении температуры. Данный эффект обусловлен большим количеством термодинамически невыгодных контактов для последовательности, состоящей из двух типов нуклеотидов.
6. Учет энтропии образования длинных петель качественно не влияет на поведение однонитевой РНК с двухбуквенной последовательностью. Наличие двух пиков и холодового плавления наблюдается при тех же значениях параметров взаимодействия, что и без учета энтропии петель.

Научная и практическая ценность работы обусловлена существенным значением, которое играют термодинамические эффекты в функционировании биологических макромолекул и их комплексов. В этой

связи, теоретическое исследование конформационной энтропии больших петель, эффектов взаимодействия между нуклеотидами различных типов и других характеристик биологических макромолекул имеет важное значение для интерпретации экспериментальных результатов и их предсказания. При этом, понимание основных принципов, лежащих в основе самоорганизации и коформационных перестроек в биологических макромолекулах имеет большое практическое значение для решения проблем биологии и медицинских приложений. Кроме того, полученные результаты, несомненно, позволяют усовершенствовать существующие биоинформационные алгоритмы, используемые при расчете стабильности вторичной структуры РНК.

Апробация работы

Материалы диссертации были представлены и докладывались на

- Taiwan International Workshop on Biological Physics and Complex Systems, Taipei, Taiwan, July 21-26, 2011.
- Winter School on Calculus of Variations in Physics and Materials Science at Department of Mathematics, University of Würzburg, Würzburg, Germany, January 8-13, 2012.
- II Gefenol Summer School on Statistical Physics of Complex and Small Systems, Centro de Ciencias de Benasque Pedro Pascual, Spain, September 3-14, 2012.
- International Young Scientists Conference “Perspectives for Development of Molecular and Cellular Biology-3”, The Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan, Armenia, September 26-29, 2012.

Материалы диссертации также докладывались на научных семинарах кафедры молекулярной физики Ереванского Государственного Университета.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 8 работ (6 статьи в реферируемых журналах и 2 доклада на международных конференциях).

Структура диссертации.

Диссертация состоит из Введения, четырех глав и Выводов (114 стр. текста). Она содержит 59 рисунков и список литературы из 103 наименований. Во введении сформулирована цель работы, показана научная новизна и практическая значимость результатов, перечисляются основные положения представленные к защите. Первая глава посвящена обзору структуры, термодинамики и биологических свойств нуклеиновых кислот. Представлены основные свойства ставших классическими моделей ДНК. Также, литературный обзор содержит описание основных моделей вторичной структуры РНК и динамических алгоритмов расчета ее термодинамических параметров. В конце первой главы сформулирована постановка задачи, рассматриваемой во второй главе. Вторая глава посвящена модели ДНК учитывающую энтропию образования длинных петель. В рамках этой модели рассчитаны основные термодинамические параметры системы. Третья глава посвящена термодинамике вторичной структуры одонитевой РНК со случайной гетерогенной последовательностью. В основу расчетов термодинамических функций взят метод отжига с ограничением. Четвертая глава диссертационной работы посвящена влиянию энтропии образования

петель на термодинамические свойства вторичной структуры односторонней РНК. Работа завершается Выводами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована цель диссертационной работы, приведены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе описан объект исследования диссертационной работы. Значительная часть обзора посвящена описанию основ термодинамики нуклеиновых кислот. Рассмотрены как экспериментальные, так и теоретические аспекты. В частности, описаны основные свойства моделей ДНК: Поланда и Шерага, Пейрара и Бишопа и т.д. Кроме того, в литературном обзоре представлены основные модели вторичной структуры РНК и описаны алгоритмы динамического программирования, применяемые для расчета термодинамических параметров вторичной структуры РНК. Глава 1 завершается постановкой задачи, рассматриваемой в Главе 2.

Во Второй главе диссертационной работы рассмотрена модель плавления двунитевого гомополинуклеотида с учетом образования длинных петель. При этом, в отличие от построенных ранее теорий, не делается предварительных предположений об энтропии образования петель.

Основная идея модели довольно проста. Представим себе нити ДНК как два случайных блуждания, которые начинаются в одной и той же точке. Как известно, комплементарные пары нуклеиновых кислот могут образовывать водородные связи, что на языке случайных блужданий будет означать пересечение двух упомянутых выше блужданий. Мы будем наблюдать за вектором, соединяющим комплементарные пары нуклеиновых кислот на каждом шагу блуждания. Иначе говоря, мы рассматриваем относительное случайное блуждание конца одной нити ДНК в системе координат с началом, связанным с концом другой нити. Если спроектировать этот вектор на плоскость, перпендикулярную оси ДНК, мы получим двумерное случайное блуждание, совершаемое концом этого вектора (см. рис.1). Таким образом, возврат в начало координат будет соответствовать образованию связи между комплементарными азотистыми основаниями. Для простоты будем рассматривать случайное блуждание на квадратной решетке.

Статистическая сумма модели была выражена через производящую функцию $F(z)$ первых возвратов блуждания в начало координат.

$$\Lambda = \frac{1}{2\pi i} \oint \frac{1}{1 - KF(z)} \frac{dz}{z^{N+1}}, \quad (1)$$

где $K = e^{\frac{U}{kT}}$, U – энергия образования межцепочечной связи, а N число шагов. В частности, нами было получено аналитическое выражение для стат. суммы Λ и для энергии системы E вида

$$\Lambda = \frac{2}{z_K^{N+1} KF'(z_K)} \quad (2)$$

и

$$E = \frac{NF(z_K)}{z_K F'(z_K)} \log K \quad (3)$$

где z_K это решение уравнения $KF(z) = 1$.

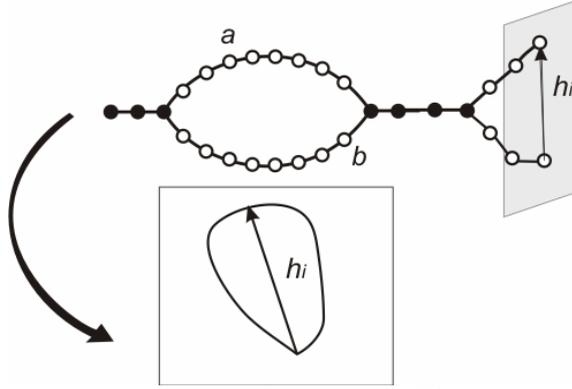


Рис.1 Схема модели случайного блуждания ДНК.

Степень спиральности ДНК определяется, как средняя доля пар азотистых оснований находящихся в спиральном состоянии. Таким образом, степень спиральности в рамках нашей модели является средней долей первых возвратов. На основе данного определения мы можем написать выражение для степени спиральности через стат. сумму как

$$\theta = -\frac{1}{N} \frac{\partial \log \Lambda}{\partial \log K} = \frac{2}{z_K KF'(z_K)} \quad (4)$$

Данная модель не учитывает энтропии образования пар оснований. Данный эффект был учтен следующим образом.

Мы заменили статистический вес одной пары оснований на

$$w = \exp\left(-\frac{\Delta U - T\Delta S}{T}\right), \text{ где } \Delta U \text{ это энергия и } \Delta S \text{ энтропия образования}$$

пар оснований. Каждый нуклеотид представляет собой группу атомов с внутренними степенями свободы (двугранные углы). Формирование пары оснований дает энергию $\Delta U < 0$, но и приводит к потере энтропии $\Delta S < 0$, так как образование каждой пары оснований требует соответствующей взаимной ориентации азотистых оснований. Таким образом, каждый раз, когда частица возвращается в начало координат, мы добавляем измененный статистический вес w . Окончательный возврат частицы в начало координат после N шагов соответствует статистической сумме двойной цепи со связанными первым и последним мономерами:

$$\Lambda_N = \sum_{j=0}^{\infty} w^j F(z)^j \Big|_{z^N} = \frac{1}{2\pi i} \oint_{c_0} \frac{1}{1 - wF(z)} \frac{dz}{z^{N+1}}, \quad (5)$$

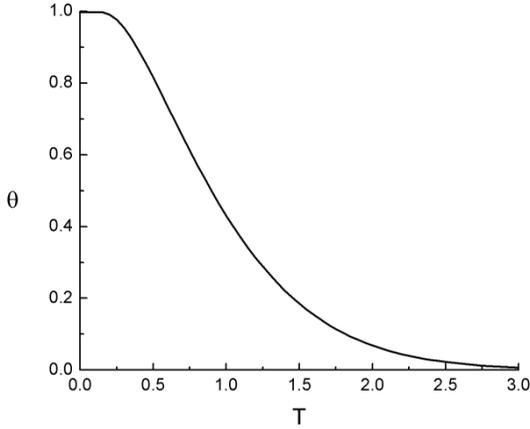


Рис.2 Температурная зависимость степени спиральности для базовой модели ДНК.

На основании уравнения (5) нами было получено температурное поведение свободной энергии и других термодинамических характеристик системы. В частности было показано, что свободная энергия имеет особенность при критической температуре T_c , определяющейся условием $w_c = 1$. В окрестности критической точки свободная энергия ведет себя как

$$F \simeq T_c \exp\left(-\frac{T_c^2}{|\Delta U|(T_c - T)}\right) \quad (6)$$

Для $T \rightarrow T_c - 0$. При $T \rightarrow T_c + 0$ $F \equiv 0$.

Поведение степени спиральности представлено на рис. 3. В отличие от температурного поведения модели, не учитывающей энтропии ΔS (см. рис. 2), при $T > T_c$ степень спиральности $\theta \equiv 0$. Тогда как при $T \rightarrow T_c - 0$, степень спиральности затухает как:

$$\theta \simeq \frac{T_c^2}{\xi(T_c - T)^2}, \quad (7)$$

где ξ корреляционная длина.

В диссертационной работе было также исследовано флуктуационное поведение системы. Показано, что в зависимости от контурного расстояния r между двумя нуклеотидами корреляционная функция оценивается как

$$g(r) \simeq \frac{\theta_w}{(1-w)^2} \frac{\exp\left(-\frac{r}{\xi}\right)}{r \log^2(r)}, \quad (8)$$

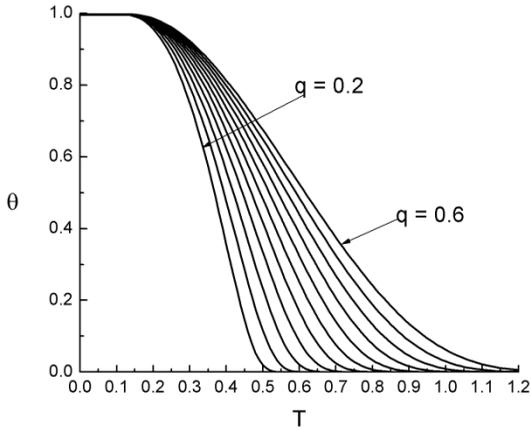


Рис.3 Температурная зависимость степени спиральности для различных значений $q = e^{\Delta S}$.

где в окрестности критической температуры корреляционная длина ведет себя как:

$$\xi \simeq \exp\left(\frac{T_c^2}{|\Delta U|(T_c - T)}\right). \quad (9)$$

Таким образом, вблизи критической температуры корреляционная длина расходуется как $\sim e^{\frac{1}{T_c - T}}$, в то время как интенсивность флуктуаций стремится к нулю. Если добавить также тот факт, что свободная энергия (6) изменяется непрерывно в окрестности критической температуры, то можно с уверенностью утверждать, что имеет место фазовый переход бесконечного рода.

В Третьей главе диссертационной работы представлен подход к исследованию односторонней РНК со случайной гетерогенной последовательностью. Для простоты мы предлагаем рассматривать случайную последовательность одноцепочечной РНК, состоящей только из А и У 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 (P. G. Higgs, 2000; R. Bundschuh & T. Hwa, 2002). 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 $i < j < k < l$. По определению, вторичная структура есть набор всех пар оснований. При этом, одно основание может быть частью не более одной пары. Статистическая сумма произвольной

субцепи одонитевой молекулы РНК без псевдоузлов вычисляется рекурсивно как (M. Zuker & P. Stiegler, 1981; J. S. McCaskill, 1990)

$$Z_{i,j} = Z_{i,j-1} + \sum_{k=1}^{j-1} Z_{i,k-1} Q_{ij} Z_{k+1,j-1}, \quad (10)$$

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

$$H(\hat{m}, \{h_i\}) = \sum_{i < j} m_{ij} \varepsilon_{ij}, \quad (11)$$

где константа взаимодействия $\varepsilon_{ij} = \varepsilon_0 + \varepsilon h_i h_j$, 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 $h_i = -1$ U нуклеотидам. Статистическая сумма для цепи одонитевой РНК из N нуклеотидов записывается в виде

$$Z_N(\{h_i\}) = \sum_{\hat{m}} \exp[-\beta H(\hat{m}, \{h_i\})], \quad (12)$$

где $\beta = \frac{1}{k_B T}$, 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

$$P\{h\} = \prod_{i=1}^N \rho(h_i), \quad (13)$$

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

$$f\{h_i\} = f = -\frac{1}{N} \overline{\ln Z_N(\{h\})}, \quad (14)$$

где f – приведенная свободная энергия для замороженной последовательности нуклеотидов, $\overline{}$ означает среднее по функции распределения последовательности (13). Свободная энергия одонитевой РНК со случайной фиксированной последовательностью нуклеотидов удовлетворяет следующим условиям:

$$f \geq g(\beta, \mu) \geq f_a, \quad (15)$$

где $f_a = -\frac{1}{N} \ln \overline{Z_N(\{h_i\})}$ – приведенная отожденная свободная энергия и

$$g(\beta, \mu) = -\frac{1}{N} \ln Z_N = -\frac{1}{N} \ln \overline{Z_N(\{h_i\}) e^{-N\mu\alpha(\{h_i\})}}. \quad (16)$$

Здесь $\alpha(\{h_i\})$ – это некоторая самоусредняемая величина, зависящая от последовательности. Таким образом, $g(\beta, \mu)$ дает нижнюю границу свободной энергии f для случайной замороженной последовательности нуклеотидов. Неравенство (15) справедливо, поскольку для отожденной свободной энергии усреднение производится как по степеням свободы, ответственным за образование вторичной структуры, так и по степеням свободу описывающим последовательность нуклеотидов. При расчете же вариационного потенциала $g(\beta, \mu)$ накладываются определенные макроскопические ограничения на последовательность нуклеотидов. Согласно неравенству (15), лучшая нижняя граница свободной энергии f дается $\max_{\mu} g(\beta, \mu)$, и мы можем оценить свободную энергию одонитевой молекулы РНК с замороженной случайной последовательностью как

$$f \approx \max_{\mu} g(\beta, \mu). \quad (17)$$

Простейшее ограничение, накладываемое на описывающие последовательность переменные $\{h_i\}$, задается выражением

$$\alpha(\{h_i\}) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [h_i - (2q-1)], \quad \text{которое не фиксирует типы}$$

индивидуальных мономеров h_i , но только среднее значение суммы $\sum_i h_i$.

Можно показать, что статистическая сумма Z_N , определенная в (16), после некоторых преобразований записывается как

$$Z_N = e^{N\mu(2q-1)} \Omega^N Z_N^0(\varepsilon_0 + \bar{\varepsilon}), \quad (18)$$

где $Z_N^0(\varepsilon_0 + \bar{\varepsilon})$ – статистическая сумма (9) для гомополимерной одонитевой РНК с эффективной константой взаимодействия $\varepsilon_{ij} = \varepsilon_0 + \bar{\varepsilon}$. Здесь

$$\bar{\varepsilon} = -\frac{1}{\beta} \ln \frac{W(\mu, \beta, \varepsilon)}{\Omega(\mu)^2}, \quad \Omega(\mu) = qe^{-\mu} + (1-q)e^{\mu}, \quad (19)$$

$$W(\mu, \beta, \varepsilon) = e^{-\beta\varepsilon} [q^2 e^{-2\mu} + (1-q)^2 e^{2\mu}] + 2q(1-q)e^{\beta\varepsilon}.$$

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

$$g(\beta, \mu) = -\mu(2q-1) - \ln \Omega(\mu) - \ln(1+2\sqrt{\bar{Q}}), \quad (20)$$

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

$$2q-1 = \left[\frac{2\sqrt{\bar{Q}}}{1+2\sqrt{\bar{Q}}} - 1 \right] \frac{d \ln \Omega(\mu)}{d\mu} - \frac{1}{2} \frac{2\sqrt{\bar{Q}}}{1+2\sqrt{\bar{Q}}} \frac{\partial \ln W(\mu, \beta, \varepsilon)}{\partial \mu}. \quad (21)$$

Четвертая глава диссертационной работы посвящена влиянию энтропии образования петель на термодинамические свойства вторичной структуры однонитевой РНК. В этой главе мы разработали модель случайной однонитевой РНК, принимая во внимание формирование петель. Как известно статистический вес петли состоящий из m повторяющихся единиц равен m^{-c} . Таким образом, энтропийный вклад от такой петли будет равен $-c \ln m$. Петлевой фактор c имеет решающую роль во фазовых переходах связанных со вторичной структурой, в частности, в температурно-индуцированных фазовых переходах. Петлевые структуры, такие как шпильки, внутренние петли, мульти-петли с тремя и более возникшими петлями, которые присущи однонитевой РНК, характеризуются значением петлевого фактора $c \approx 2.1$. Однако, упомянутые фазовые переходы происходят при определенных значениях петлевого фактора $2 < c < 2.479$. Нашей целью было изменение модели, введенной в предыдущей главе, и исследование зависимости термодинамических параметров, таких как теплоемкость и спиральные степени, от значения петлевого фактора.

Мы воспользовались статистической суммой гомополимерной однонитевой РНК с учетом петель, в рамках подхода предложенного в предыдущей главе. В этом случае оценка для свободной энергии принимает вид

$$g(\beta, \mu) = -\mu(2q-1) - \ln \Omega(\mu) - \frac{1}{N} \ln Z_N^0(Q(\mu, \beta)) \quad (22)$$

где $Z_N^0(Q(\mu, \beta))$ статистическая сумма гомополимерной РНК, опеределемая доминирующей особенностью большой канонической статистической суммы как $Z_N^0 \simeq z_d^{-N}$. После нахождения значения

вариационного параметра μ_0 дающего наилучшую оценку $g(\beta) = g(\mu_0, \beta)$ для свободной энергии путем решения уравнения

$$\frac{\partial g(\mu, \beta)}{\partial \mu} = 0, \quad (23)$$

мы можем определить энтропию

$$s(\beta) = -g(\beta) + \beta \frac{dg(\beta)}{d\beta} \quad (24)$$

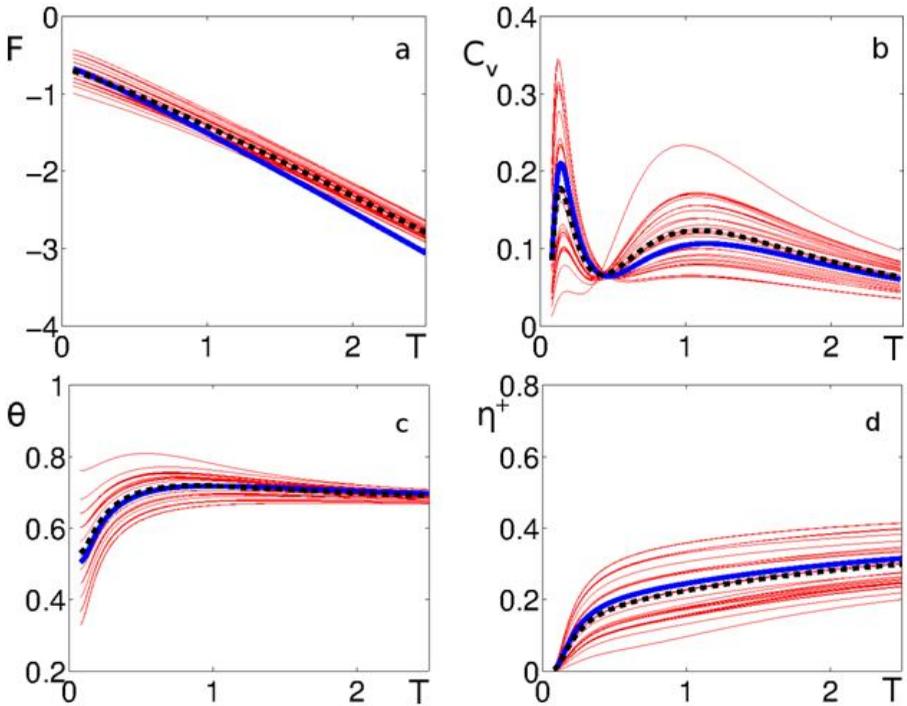


Рис. 4 Свободная энергия (а), теплоемкость (б), степень спиральности (с), доля неблагоприятных контактов (д) в зависимости от температуры. Тонкие кривые получены с помощью алгоритма МакКаскилла (J. S. McCaskill, 1990) для 30 случайных реализаций последовательностей с $N = 50$ нуклеотидами при значения параметров $\varepsilon_0 = -1, \varepsilon = 1.5$ и $q = 0.75$. Жирные сплошные линии получены в вариационном приближении $f \approx \max_{\mu} g(\beta, \mu)$ в термодинамическом пределе $N \rightarrow \infty$. Жирные пунктирные кривые являются средними полученными усреднением по всем реализациям последовательностей.

а также теплоемкость системы

$$c_v(\beta) = -\beta \frac{ds}{d\beta} = -\beta^2 \frac{d^2 g(\beta)}{d\beta^2}. \quad (25)$$

На основе данной формулы мы провели численные расчеты и получили температурную зависимость теплоемкости для двух режимов взаимодействий между нуклеотидами. Но поведение степени спиральности подтверждает существование холодной денатурации лишь для случая отталкивания. Так как, в этом случае степень спиральности стремится к нулю с уменьшением температуры. Поведение степени спиральности и теплоемкости качественно

не отличаются от результатов полученных в предыдущей главе, где не учитывались петли.

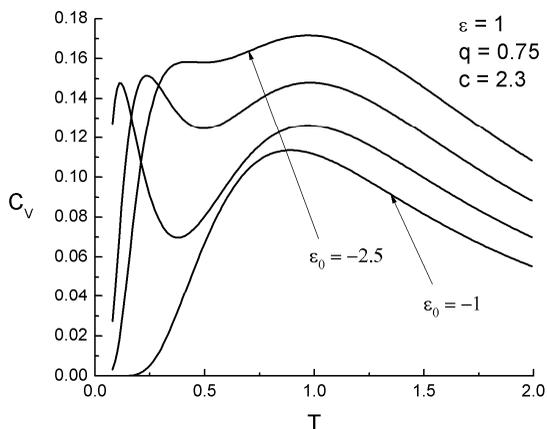


Рис.5 Температурная зависимость теплоемкости при притяжении между нуклеотидами одного типа.

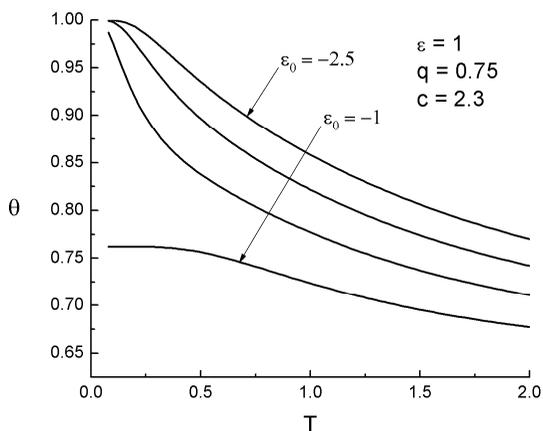


Рис.6 Температурная зависимость степени спиральности при притяжении между нуклеотидами одного типа.

Согласно выражению (22), температурное поведение свободной энергии системы определяется поведением «гомополимерой» РНК, где допустимо образование пар оснований между любыми нуклеотидами. Т.о., одонитевая РНК со случайной последовательностью демонстрирует наличие фазового перехода четвертого рода при значениях петлевого фактора $2 < c < c^*$.

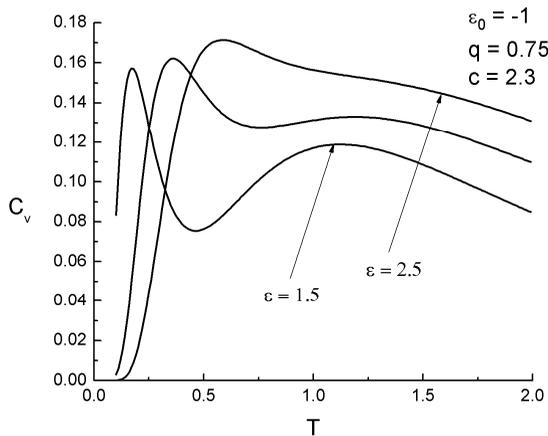


Рис.7 Температурная зависимость теплоемкости при отталкивании между нуклеотидами одного типа.

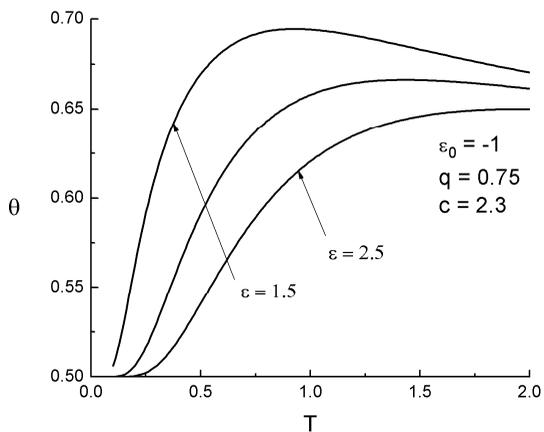


Рис.8 Температурная зависимость степени спиральности при притяжении между нуклеотидами одного типа.

ВЫВОДЫ

1. Невозможность образования узлов в расплавленных участках ДНК и взаимодействия исключенного объема существенно влияют на энтропию образования петель и дают значение петлевого фактора $c=1$.
2. Для значения петлевого фактора $c=1$ при денатурация двойной спирали ДНК имеет место фазовый переход бесконечного рода при малых значениях степени спиральности. Выше температуры фазового перехода степень спиральности равна нулю.
3. Вблизи критической температуры, корреляционная длина расходится, как это имеет место при фазовом перезоде второго рода, в то время как амплитуда флукуаций стремится к нулю. Т.о. для цепей конечной длины должны иметь место малые, но протяженные флукуации.
4. Однонитевая РНК со случайной двухбуквенной последовательностью нуклеотидов демонстрирует два пика на температурной зависимости удельной теплоемкости системы как при притяжении, так и при отталкивании между одинаковыми нуклеотидами и различным содержании двух типов нуклеотидов. Подобное поведение указывает на наличие двух структурных переходов.
5. При отталкивании между однотипными нуклеотидами, низкотемпературный пик теплоемкости соответствует холодовому плавлению РНК, когда степень спиральности существенно падает при понижении температуры. Данный эффект обусловлен большим количеством термодинамически невыгодных контактов для последовательности, состоящей из двух типов нуклеотидов.
6. Учет энтропии образования длинных петель качественно не влияет на поведение теплоемкости и степени спиральности однонитевой РНК с двухбуквенной последовательностью. Наличие двух пиков и холодового плавления наблюдается при тех же значениях параметров взаимодействия, что и без учета энтропии петель.
7. Гетерогенность последовательности не влияет на наличие фазового перехода 4-го рода, имеющего место при $2 \leq c \leq c^*$ в гомогенной однонитевой РНК. При $c < 2$ в однонитевой РНК фазовых переходов не происходит, как в гомо-, так и в гетерогенной последовательностях.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ

1. G.N. Hayrapetyan, Y.Sh. Mamasakhlov, V.F. Morozov, V.I. Papoyan, V.B. Priezzhev, Two-dimensional random walk and loop factor in helix-coil transition theory of DNA. Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences), 46, 5, 242 (2011). DOI: 10.3103/S1068337211050094
2. G.N. Hayrapetyan, Two-dimensional random walk and characteristics of helix-coil transition in DNA, Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences), 47, 2, 93 (2012). DOI: 10.3103/S1068337212020089
3. G.N. Hayrapetyan, V.F. Morozov, V.I. Papoyan, S.S. Pogosyan, V.B. Priezzhev, The helix-coil transition in double-stranded polynucleotide and two-dimensional random walk. Modern Physics Letters B, 26, 13, 1250083 (2012). DOI: 10.1142/S0217984912500832
4. G.N. Hayrapetyan, Y.Sh. Mamasakhlov, S.S. Pogosyan, V.I. Papoyan, The melting phenomenon in random-walk model of DNA. Physics of Atomic Nuclei, 75, 10, 1268 (2012). DOI: 10.1134/S1063778812100080
5. G.N. Hayrapetyan, Y.Sh. Mamasakhlov, V.F. Morozov, V.I. Papoyan, V.B. Priezzhev, Two-dimensional random walk and critical behavior of double-strand DNA, J. Phys. A: Math. Theor. 46, 035001 (2013). DOI: 10.1088/1751-8113/46/3/035001
6. G.N. Hayrapetyan, H.L. Tsaturyan, Sh.A. Tonoyan, Y.Sh. Mamasakhlov, Thermodynamics of ssRNA with random sequence: constrained annealing approach, Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences), 48, 2, 98 (2013). DOI: 10.3103/S1068337213020084
7. G.N. Hayrapetyan, E.Sh. Mamasakhlov, V.F. Morozov, V.I. Papoyan, V.B. Priezzhev, "DNA as a two-dimensional random walk", Taiwan International Workshop on Biological Physics and Complex Systems, Taipei, Taiwan, July 21-26, 2011. Book of Abstracts p. 36.
8. Tsaturyan H., Hayrapetyan G., "Thermodynamic characteristics of ssRNA: the constrained annealing approach", International Young Scientists Conference "Perspectives for Development of Molecular and Cellular Biology-3", Yerevan, Armenia, September 26-29, 2012. Book of Abstracts p. 205.

ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ ԳՈՌ ՆՈՐԱՅՐԻ

ՕՂԱԿԱՅԻՆ ԳՈՐԾՈՆԸ ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԿՈՆՖՈՐՄԱՑԻՈՆ ԱՆՅՈՒՄՆԵՐՈՒՄ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հանգուցային բառեր. ԴՆԹ, ՌՆԹ, պատահական թափառումներ, օղակային գործոն, պարույր կծիկ անցումներ, սահմանափակ թրծման մեթոդ:

Ատենախոսությունը նվիրված է կառուցվածքային անցումների հետազոտությանը նուկլեինաթթուներում՝ երկար օղակների ձևավորումն անտրոպիայի հաշվառմամբ: Աշխատանքի գիտական նորույթը երկպարույր ԴՆԹ-ի հալման մոդելի կառուցումն է՝ առանց երկար օղակների ձևավորումն անտրոպիայի վերաբերյալ որևէ նախնական ենթադրության: Օղակի վիճակագրական կշռի անալիտիկ կախումը հաշվարկված է առաջարկված տեսության հիման վրա, այլ ոչ թե ընտրված է ֆիզիկական դատողություններից: Բացի այդ, ուսումնասիրված է հաջորդականության հետերոգենության ազդեցությունը միաշղթա ՌՆԹ-ի թերմոդինամիկայի վրա:

Օղակային գործոնի դերը պարույր-կծիկ անցումներում ուսումնասիրելու նպատակով ԴՆԹ-ն ներկայացվել է քառակուսի վանդակի վրա երկչափ պատահական թափառումներ տեսքով: Այսպիսի ներկայացումը թույլ է տալիս խուսափել հանգուցների առաջացումից և օղակային գործոնի համար տալիս է $c=1$ արժեքը՝ հաշվարկված պատահական թափառումների տեսության հիման վրա: Մտացվել են պարույր-կծիկ անցման այնպիսի բնութագրերի ջերմաստիճանային կախվածությունները ինչպիսիք են ազատ էներգիան, պարուրության աստիճանը, կոռելյացիոն երկարությունը և կոռելյացիոն ֆունկցիան: ԴՆԹ-ի դենատուրացիայի ժամանակ օղակային գործոնի $c=1$ արժեքի դեպքում առկա է անվերջ կարգի փուլային անցում: Փուլային անցումը տեղի է ունենում գրեթե հալման պրոցեսի վերջում, երբ պարուրության աստիճանը ընդունում է փոքր արժեքներ: Փուլային անցման ջերմաստիճանից բարձր ջերմաստիճանների դեպքում պարուրության աստիճանը նույնաբար հավասար է զրոյի: Կրիտիկական ջերմաստիճանի շրջակայքում կոռելյացիոն երկարությունը տարամիտում է, իչպես լինում է երկրորդ կարգի փուլային անցումների դեպքում, սակայն ֆլուկտուացիաների լայնույթը ձգտում է զրոյի: Այսինքն փոքր բայց շարունակական ֆլուկտուացիներ բնորոշ կլինեն սահմանափակ երկարությամբ շղթաներին: Անվերջ կարգի փուլային անցման գոյությունը ԴՆԹ-ում ցույց է տրվել առաջին անգամ: Արդյունքների համեմատվել են

Պոլանդի և Շեքագայի մոդելի շրջանակներում ստացված արդյունքների հետ:

Օղակային էնտրոպիայի ազդեցությունը տարբեր նուկլեինաթթուների թերմոդինամիկայի վրա համեմատելու նպատակով դիտարկվել է նաև միաշղթա ՌՆԹ-ի հալումը: Մշակվել է նուկլեոտիդների պատահական հաջորդականությամբ միաշղթա ՌՆԹ-ի թերմոդինամիկ հատկությունները նկարագրող տեսություն: Հաշվարկները կատարվել են սահմանակ թրծման մեթոդի շրջանակներում, որը թույլ է տալիս ազատ էներգիայի համար իրական արժեքին մոտ գնահատական ստանալ: Առաջարկվող մեթոդը իր էությամբ վարիացիոն է: Ազատ էներգիայի գնահատականի հիման վրա ստացվել են միաշղթա ՌՆԹ-ի դենատուրացիայի այնպիսի բնութագրերի ջերմաստիճանային կախվածությունները ինչպիսիք են պարուրության աստիճանը, էնտրոպիան և ջերմունակությունը: Վերջիններս լավ համընկնում են դինամիկ ծրագրավորման ալգորիթմների միջոցով ստացված թվային արդյունքների հետ:

Միաշղթա ՌՆԹ-ի ջերմային հալումը ներկայացված է պարուրության աստիճանի, ջերմունակության և շահավետ ու ոչ շահավետ կոնտակտների մասնաբաժինների ջերմաստիճանային կախվածությունների միջոցով: Բիմոդալ հաջորդականությամբ միաշղթա ՌՆԹ-ի ջերմունակությունը դրսևորում է երկու պիկ թե՛ նույնատիպ նուկլեոտիդների ձգման, թե՛ վանման դեպքում, ինչպես նաև նուկլեոտիդների տարբեր տոկոսային բաղադրության դեպքում: Նման վարքը վկայում է երկու կառուցվածքային անցումների մասին: Նույնատիպ նուկլեոտիդների միջև վանողության առկայության դեպքում ցածր ջերմաստիճանային պիկը համապատասխանում է ՌՆԹ-ի ցածր ջերմաստիճանային հալմանը, երբ պարուրության աստիճանը կտրուկ նվազում է ջերմաստիճանի անկման հետ: Այս երևույթը պայմանավորված է երկու տիպի նուկլեոտիդներից կազմված հաջորդականության համար թերմոդինամիկայի տեսանկյունից ոչ շահավետ կոնտակտների թվի մեծությամբ: Ցույց է տրվել ցածր ջերմաստիճանային կառուցվածքային անցման և ՌՆԹ-ի ցածր ջերմաստիճանային դենատուրացիայի հնարավոր կապը, որը դիտվում է փորձնականորեն:

Վերջապես, ինչպես նշվել էր, երկպարույր ԴՆԹ-ի թերմոդինամիկ պարամետրերի վարքը խիստ կախված է օղակային գործոնի արժեքից: Սակայն, միաշղթա ՌՆԹ-ի հալման բնույթը այս պարագայում տարբերվում է երկպարույր ԴՆԹ-ի դեպքից: Կատարվել է երկար օղակների ձևավորման էնտրոպիայի անտեսման և հաշվառման դեպքերում միաշղթա ՌՆԹ-ի փուլային վարքագծի համեմատական վերլուծություն: Ցույց է տրվել, որ երկար օղակների ձևավորման էնտրոպիայի հաշվառումը որակապես չի ազդում երկու տիպի

նուկլեոտիդներից կազմված միաշղթա ՌՆԹ-ի ջերմունակության և պարտություն աստիճանի վրա: Երկու պիկը և ցածր ջերմաստիճանային դենատուրացիան դիտվում են փոխազդեցության պարամետրերի նույն արժեքների համար ինչ որ առանց օղակային էնթրոպիայի հաշվառման դեպքում էր: Հաջորդականության հետերոզենությունը չի ազդում չորրորդ կարգի փուլային անցման գոյության վրա, որը տեղի է ունենում հոմոզեն միաշղթա ՌՆԹ-ում, երբ $2 \leq c \leq c^*$: Միաշղթա ՌՆԹ-ն չի ցուցադրում որևէ փուլային անցում թե՛ հոմոզեն, և թե՛ հետերոզեն հաջորդականությունների դեպքում, եթե $c < 2$:

LOOP FACTOR IN CONFORMATIONAL TRANSITIONS OF
NUCLEIC ACIDS

SUMMARY

Key words: DNA, RNA, random walks, loop factor, helix-coil transitions, constrained annealing approach.

The dissertation is devoted to investigation of structural transitions in nucleic acids, taking into account the entropy of long loops formation. The scientific novelty consists in constructing a model of melting of the DNA double helix, without resorting to any prior assumptions about the entropy of long loop formation. Analytical dependence of the loop statistical weight is calculated based on the proposed theory, and not chosen from physical considerations. Besides, the effect of sequence heterogeneity on the single-stranded RNA thermodynamics is addressed.

To study the role of loop factor in helix-coil transitions, we represented double-stranded DNA as a two-dimensional random walk on square lattice. This representation allows to avoid knot formation and gives value of the loop factor $c=1$, calculated on the basis of random walk theory. Temperature dependence of such characteristics of the helix-coil transition as the free energy, helicity degree, correlation length and correlation function was obtained. A phase transition of infinite order takes place for the loop factor value $c=1$ during denaturation of DNA double helix. The phase transition occurs almost in the end of the melting process where helicity degree has small values. Above the phase transition temperature helicity degree is zero. Near the critical temperature, the correlation length diverges, as it occurs during the phase transition of second order, whereas the amplitude of fluctuations tends to zero. Thus small but extended fluctuations should take place for the chains with finite length. The existence of an infinite order phase transition in melting of double-stranded DNA was shown for the first time. The comparison with the results obtained in the framework of the Poland and Scheraga model was performed.

To compare the effect of loop entropy on the thermodynamics of different nucleic acids the melting of single-stranded RNA also has been addressed. The analytical theory describing the thermodynamic properties of single-stranded RNA with a random sequence of nucleotides was constructed. The calculations were performed in the framework of the constrained annealing approach that allows to obtain the reasonable estimate for the free energy of the system. The proposed approach is rather variational. The temperature dependence of the characteristics of single-stranded RNA denaturation as the helicity degree, entropy and heat capacity was obtained based on the estimate of free energy. The analytical results are in a good agreement with the numerical ones, which were obtained by means of dynamic programming algorithms.

The temperature - induced melting of single-stranded RNA was described in terms of temperature dependence of helicity degree, specific heat and fractions of favorable and unfavorable contacts. Single-stranded RNA with random bimodal

nucleotide sequence shows two peaks in the temperature dependence of the specific heat of the system both for the attraction and repulsion between the same type of nucleotides and also for various percentages of the two types of nucleotides. Such behavior indicates the presence of two structural transitions. For the case of repulsion between the nucleotides of the same type, low-temperature peak of specific heat corresponds to the cold melting of RNA when the helicity degree decreases significantly with decreasing temperature. This effect is caused by a large number of thermodynamically unfavorable contacts for a sequence consisting of two types of nucleotides. Possible connection between the low-temperature structural transition and cold denaturation of single-stranded RNA, which is observed experimentally, was demonstrated.

Finally, as it was mentioned above, the behavior of thermodynamic parameters of double-stranded DNA denaturation strongly depends on the value of loop factor. However, the nature of single-stranded RNA melting in this aspect is different from double-stranded DNA. Comparative analysis of the phase behavior of a single-stranded RNA with and without account of entropy of long loop formation was performed. It was demonstrated that the account of the entropy of long loop formation does not qualitatively affect the behavior of the specific heat and the helicity degree of single-stranded RNA with a two-letter sequence. The presence of two peaks and cold melting is observed at the same values of the interaction parameters as without the account of loop entropy. The sequence heterogeneity does not affect the existence of a phase transition of the fourth order, which takes place when $2 \leq c \leq c^*$ in a homogeneous single-stranded RNA. The single-stranded RNA doesn't demonstrate any phase transition both in homo- and heterogeneous sequences if $c < 2$.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'N. G. ...', located in the lower middle part of the page.