

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

АНДРИАСЯН АРАМ КАРЕНОВИЧ

**КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПЕРЕХОДЫ В ГЕТЕРОГЕННЫХ  
БИОПОЛИМЕРАХ**

**03.00.02 – Биофизика, биоинформатика**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:

доктор физ.-мат. наук,

Е.Ш. Мамасакхлисов

ЕРЕВАН 2018

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
<b>Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....</b>	<b>9</b>
1.1 Описание системы.....	9
1.2 Теоретические подходы к описанию перехода спираль-клубок.....	14
1.3 Модель Зимма - Брегга.....	16
1.4 Модель Лифсона - Ройга и другие модели перехода спираль-клубок.....	18
1.5 Модель Поттса и ее применения.....	21
1.6 Обобщенная Модель Полипептидной Цепи (ОМПЦ).....	23
1.7 Влияние растворителей с различными типами взаимодействий на переход спираль - клубок в ОМПЦ.....	31
<b>Глава 2. ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ-КЛУБОК В ГЕТЕРО-ПОЛИМЕРАХ МИКРОКАНОНИЧЕСКИМ МЕТОДОМ .....</b>	<b>37</b>
2.1 Модель.....	38
2.2 Свободная энергия.....	41
2.3 Вековое уравнение.....	44
2.4 Оценка свободной энергии.....	45
2.5 Температура и интервал перехода.....	46
<b>Глава 3. ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ-КЛУБОК ПРИ ГЕТЕРО-ГЕННОСТИ ПО ЭНЕРГИЯМ.....</b>	<b>48</b>
3.1 Применение метода отжига с ограничениями к ОМПЦ.....	48
3.2 Модель гетерополимера.....	49
3.3 Вычисление усредненной трансфер матрицы.....	50
3.4 Свободная энергия и характеристическое уравнение.....	52
3.5 Результаты и обсуждение.....	53

<b>Глава 4. ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ-КЛУБОК ПРИ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПО ЧИСЛУ КОНФОРМАЦИЙ</b> .....	61
4.1 Постановка задачи.....	61
4.2 Усреднение трансфер матрицы.....	62
4.3 Свободная энергия.....	64
4.4 Характеристическое уравнение.....	65
4.5 Результаты и обсуждение.....	67
<b>Глава 5. МАТРИЧНЫЙ ПОДХОД</b> .....	71
5.1 Описание метода.....	71
5.2 Вычисление свободной энергии.....	72
5.3 Степень спиральности.....	74
5.4 Результаты и обсуждение.....	77
<b>Глава 6. ГИБРИДИЗАЦИЯ</b> .....	83
6.1 Введение.....	83
6.2 Свободная энергия при неконкурентной гибридизации с лигандами.....	85
6.3 Изотермы адсорбции при гибридизации.....	87
6.4 Результаты и обсуждения.....	90
6.5 Заключение.....	91
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	93
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	97

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность работы

В науке о биополимерах одной из важнейших задач является выяснение основных физических принципов строения и функционирования молекул белков и нуклеиновых кислот. Экспериментально и теоретически установлено, что биологическая активность этих молекул чрезвычайно чувствительна к пространственной организации. В связи с этим существенно важно выявление факторов, влияющих на конформацию биополимеров, а также выяснение закономерностей протекания конформационных перестроек.

К числу основных и, несмотря на достигнутые успехи, еще далеких от своего решения задач относится учет влияния гетерогенности на конформационные свойства биополимеров. Остается ряд открытых вопросов, связанных с влиянием гетерогенности на кооперативность. Более того, некоторые из этих вопросов лежат вне рамок применимости среднеполевого подхода. В частности, вопрос исследования влияния неоднородностей на скоррелированность конформационных состояний (кооперативность) не подлежит рассмотрению на основе среднеполевого подхода.

Именно поэтому представляется интересным дальнейшее теоретическое исследование конформационных переходов в одномерных макромолекулярных системах. Среди специалистов в области статистической физики растет интерес к данным системам как к “полигонам” применения новейших моделей. В настоящее время многокомпонентная модель Поттса является мощным инструментом, применимым к широкому классу задач, как в решеточных и калибровочных моделях квантовой теории поля, так и в физике полимеров от задач случайных блужданий до переходов спираль-клубок. Полученные в последние десятилетия результаты по переходу спираль-клубок с использованием модели Поттса свидетельствует о правомочности такого подхода для описания перехода спираль-клубок как в полипептидах, так и в

ДНК. Однако в рамках этого подхода гетерогенность не исследовалась с той полнотой, которая была бы необходима для адекватного описания кооперативной системы.

В свете изложенного, актуальность настоящей работы определяется введением в гамильтониан гетерогенность и ее учет с использованием ОМЩ гамильтониана с многочастичным взаимодействием, а также с применением различных подходов для вычисления термодинамических характеристик.

**Целью работы является:**

- 1) Развитие микроскопической теории перехода спираль-клубок ОМЩ и ее численный анализ;
- 2) Развитие ранее использованной модели для случая гетерополимерной модели;
- 3) Применение метода отжига с ограничениями к переходам спираль-клубок в биополимерах;
- 4) Исследование влияния гетерогенности по энергиям и по числу конформаций на характеристики перехода;
- 5) Исследование некоторых вопросов связанных с взаимным влиянием гетерогенности разной природы;
- 6) Рассмотрение некоторых вопросов, связанных с гибридизацией.

**Научная новизна** заключается в том, что осуществлено развитие базовой модели (Обобщенной Модели Полипептидной Цепи (ОМЩ)), описывающей переход спираль-клубок как в одноцепочечном, так и в двухцепочечном случае. Получен алгоритм вычисления статистической суммы и усредненных характеристик перехода (степени спиральности и корреляционной длины) на основе молекулярных параметров. Осуществлен численный анализ и сопоставление точных и оценочных результатов для гетерогенности различного происхождения на переход спираль-клубок в рамках ОМЩ. Для учета влияния гетерогенности на переход применен микроканонический метод, применяемый для других систем. Таким образом удалось произвести усреднение

статистической суммы по последовательностям с заданным содержанием беспорядка. Показано, что в процессе перехода происходит изменение режима усреднения температурного параметра.

Впервые для описания перехода спираль-клубок в гетерополимерах применен метод отжига с ограничениями (constrain annealing)

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. В рамках развитой базовой модели (ОМПЦ) исследовано поведение статистической суммы гетерополимера. Показано, что разница между асимптотическим и точным выражением для степени спиральности максимальна вблизи точки перехода.
2. Сформулирована и решена задача плавления гетерополимера микроканоническим методом. Получено выражение для интервала перехода. Показано, что в течении перехода изменяется способ усреднения.
3. Для модели учитывающей гетерогенность системы микроканоническим методом, учитывая, что режим усреднения температурного параметра изменяется в процессе перехода, рассчитаны температура и интервал перехода. Рассчитанные температура и интервал модели качественно согласуются с классическими результатами по плавлению.
4. Сформулирована и решена модель гетерополимера с применением метода отжига с ограничением (constrain annealing). Задача сводится к гомополимерной с оптимизацией по лагранжевскому неопределенному параметру.
5. Рассмотрена модель, с гетерогенностью по энергии водородного связывания. Получены кривые плавления и дифференциальные кривые плавления.
6. Рассмотрена модель, с гетерогенностью по Числу конформаций. Получены кривые плавления и дифференциальные кривые плавления для данного случая.
7. На основе приближения constrain annealing получен алгоритм вычисления кривых плавления двухкомпонентного случайного гетерополимера с

различным соотношением между компонентами, что позволяет рассмотреть такую систему, как ДНК с различным ГЦ составом.

8. Проанализированы факторы, влияющие как на термодинамику гибридизации, так и на стабильность дуплексов ДНК–ДНК .

**Научная и практическая ценность работы** обусловлена существенным влиянием факторов различной природы на переход спираль-клубок в биополимерах. Поэтому исследование такого рода влияний имеет важное значение при изучении конформационных перестроек, самоорганизации и механизмов функционирования биополимеров. Важным является тот факт, что микроскопический гамильтонов подход позволяет получать легко поддающиеся интерпретации результаты без введения дополнительных эмпирических параметров. Работа является логическим продолжением Обобщенной Модели Полипептидной Цепи, предложенной ранее. Развитие этого микроскопического подхода открывает возможности для корректного описания систем с более сложными взаимодействиями.

#### **Аппробация работы**

Материалы диссертации были представлены и докладывались на Конференции в Олбани (США)(2015), New Trends in Life Sciences Place: Yerevan, Institute of Molecular Biology Dates: 26.09.2016 - 28.09.2016, Intl. Workshop and Young Scientist School on *Critical Phenomena and Phase Transition*, 20-24 September 2017, A.I. Alikhanyan National Science Laboratory, Yerevan, Armenia. Материалы диссертации также докладывались на научных семинарах кафедры молекулярной физики в Ереванском Государственном Университете.

#### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 7 работ из которых 4 - статьи в научных журналах и 3 тезиса на научных конференциях.

#### **Структура диссертации**

Диссертация состоит из Введения, шести глав и Выводов (107стр. текста). Она содержит 29 рисунков и список литературы (140 наименований).

**Первая глава** посвящена развитию и анализу базовой модели - обобщенной модели полипептидной цепи.

**Вторая глава** посвящена микроканоническому методу изучения перехода спираль-клубок в гетерополимерах.

**Третья глава** посвящена проблеме перехода спираль–клубок с гетерогенностью по энергии образования пар оснований с использованием метода отжига с ограничениями (constrained annealing).

**В четвертой главе**, аналогично предыдущей задаче, рассмотрен гетерополимер, состоящий из повторяющихся единиц нескольких сортов, которые различаются числом конформаций, доступных одной повторяющейся единицы.

**В пятой главе** рассматривается обобщенный матричный подход к гетерополимерной проблеме. В данной главе метод отжига с ограничениями развит для аналитического описания кривых перехода в биополимерах с двумя типами повторяющихся единиц и с гетерогенностью и по энергии, и по числу конформаций.

**В шестой главе** диссертации рассмотрены некоторые вопросы, связанные с чувствительностью ДНК-чипов. А именно со стабильностью ДНК-ДНК и ДНК-РНК дуплексов.

# ГЛАВА 1

## ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1. Описание системы

ДНК и белки являются основными функционерами клетки и в той или иной степени участвуют во всех процессах в организме. В то время как

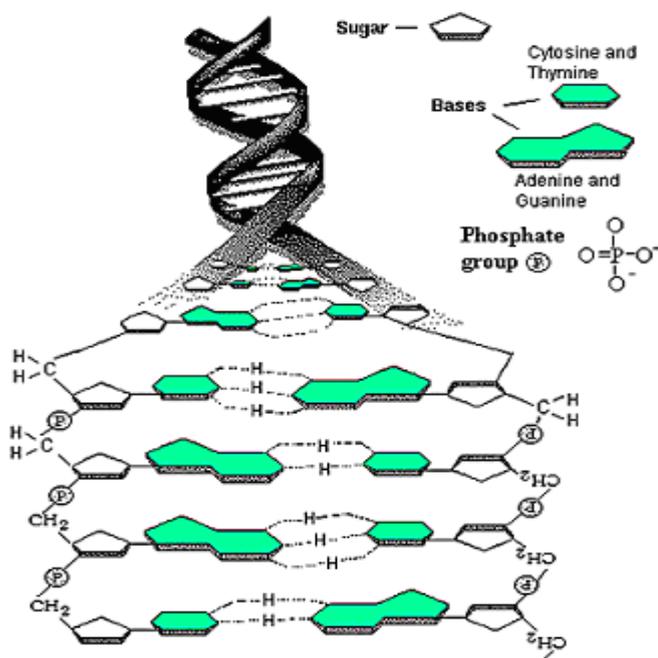


Рис. 1.1.1 Схема структуры ДНК.

белковые молекулы выполняют исполнительные функции, двухцепочная макромолекула ДНК (Рис.1) (по удачному определению М.Д. Франк-Каменецкого “самая главная молекула”) выполняет инструктивную функцию и является основным носителем генетической информации в клетке. ДНК каждой клетки определяет тот набор синтезируемых белков, который обеспечивает функционирование

клетки. ДНК состоит из сахарофосфатного остова и азотистых оснований четырех сортов (*A-Adenine*, *T-Thymine*, *G-Guanine*, *C-Cytosine*), между которыми есть водородные связи [1-4]. О паре азотистых оснований, имеющих один и тот же номер вдоль каждой из цепей, будем говорить как об одной повторяющейся единице.

На Рис.2 представлена структура полипептидной цепи. Повторяющаяся единица содержит 3 атома скелета цепи. Основной особенностью

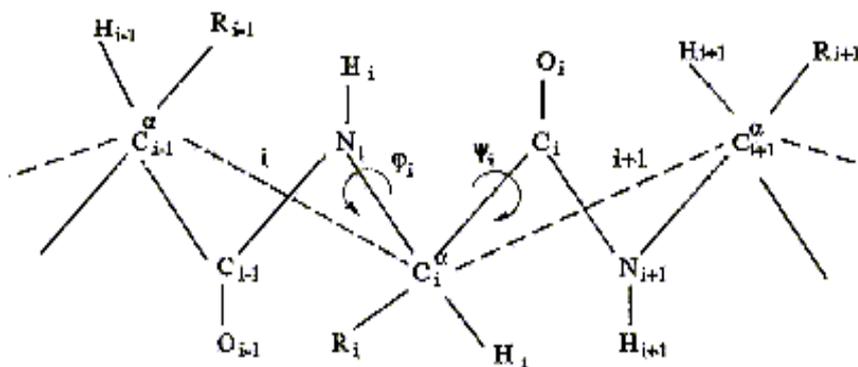


Рис. 1.1.2. Схема структуры полипептида.

полипептидной цепи является то, что атомная группа  $(C_{i-1}^{(\alpha)}, C_{i-1}, O_{i-1}, N_i)$  является плоской по причине специфической гибридизации связей. Атомная группа  $(C_i^{(\alpha)}, C_i, O_i, N_{i+1})$  также плоская. Плоская структура этих групп (пептидных групп) позволяет описывать конформации с помощью формализма виртуальных связей, соединяющих соседние асимметричные атомы углерода [1-9].

При функционировании клетки происходит считывание информации, содержащейся в последовательности азотистых оснований, заложенной при синтезе ДНК [1-4]. Считывание информации с ДНК (транскрипция) является многостадийным и не до конца изученным процессом, однако нас интересует лишь разрыв водородных связей и распутывание участка двойной спирали при проползании РНК-полимеразы. При этом повторяющаяся единица из упорядоченного состояния (спираль) переходит в неупорядоченное (клубок). Это явление называют переходом спираль-клубок или плавлением ДНК. Аналогичное явление в белках имеет место при сборке специфических упорядоченных белковых комплексов из новосинтезированных белковых цепей.

При всем разнообразии функций белков, они построены из однородной главной цепи, все различие которой определяется отличием в боковых радикалах. Аналогично и ДНК. Ее основной цепью является сахарофосфатный остов, ко всем сахарам которого присоединены боковые группы типа азотистых оснований. Т.о., все разнообразие структурных особенностей обеих систем

определяется последовательностью различных боковых групп (первичная структура): 4-для ДНК и 20-для белков, а общие закономерности структурной организации определяются однородностью скелета цепи макромолекул (вторичная структура) [2,3]. Именно поэтому для изучения общих закономерностей функционирования биополимеров в первом приближении рассматриваются однородные модели, описывающие белки (полипептиды) и ДНК (полинуклеотиды).

**Полипептиды** - биополимеры, построенные из остатков  $\alpha$  - аминокислот, соединенных *пептидными* (амидными) связями. На одном конце такой пептидной цепи (С-конец) находится свободная карбоксильная группа (СООН-группа), на другом (N-конец) - аминогруппа (NH<sub>2</sub>-группа). При взаимодействии аминогруппы одной и карбоксильной группы другой  $\alpha$  - аминокислот возникает амидная или пептидная связь. В основе образования пептидной связи лежит реакция конденсации, при образовании пептидной связи выделяется молекула воды .

Молекулярные массы различных белков (полипептидов) составляют от 10 000 до нескольких миллионов дальтон.

Выделяют 4 уровня структурной организации полипептидов и полинуклеотидов (см. рис. 1.1.3).

**Первичная структура** - определенная последовательность  $\alpha$ -аминокислотных остатков в полипептидной цепи и нуклеотидов в ДНК.

**Вторичная структура** - конформация полипептидной цепи, закрепленная множеством водородных связей между группами N-H и C=O. Одной из важнейших вторичных структур является  **$\alpha$ -спираль** (впервые найденная Полингом и Кори), обусловленная кооперативными внутримолекулярными водородными связями. Другая модель -  **$\beta$ -форма** ("складчатый лист"), в которой преобладают межцепные (межмолекулярные) водородные связи. Вторичная структура ДНК, определенная Криком и Уотсоном, обусловлена кооперативным межцепочечным водородным связыванием комплементарных цепей.

**Третичная структура** – Для белков это пространственная форма взаимного расположения повторяющихся единиц в пространстве, образованная главным образом за счет дисульфидных мостиков -S-S-, водородных связей, гидрофобных и ионных взаимодействий. Для ДНК - это взаимная упаковка фрагментов двойной спирали, образованная, главным образом, за счет взаимодействия с белками.

**Четвертичная структура** - агрегаты нескольких макромолекул, образованные за счет взаимодействия разных цепей.

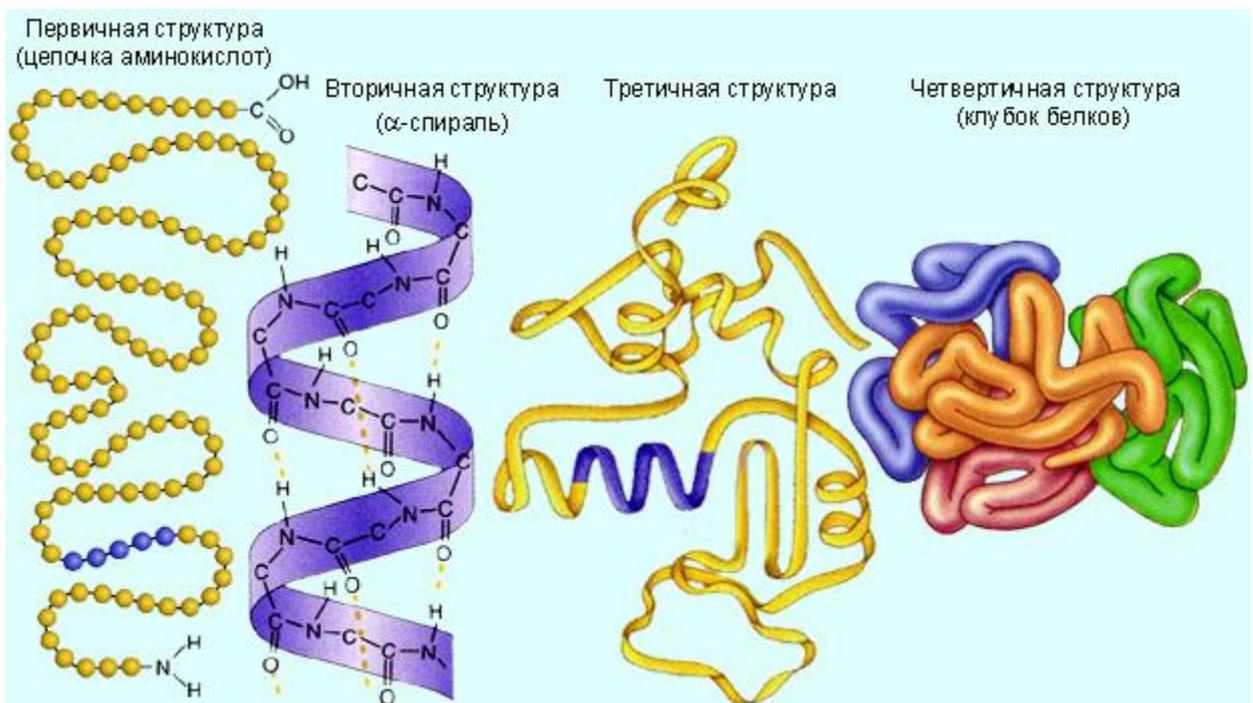


Рис. 1.1.3 Структурные организации полипептидов.

Рассмотрим различия в структурной организации полипептидов и полинуклеотидов.

$\alpha$  -спираль полипептидов стабилизируется внутримолекулярными водородными связями, при этом боковые радикалы оказываются снаружи спирали и однородная спираль оказывается на внешней поверхности крайне неоднородной. В ДНК имеет место обратная ситуация. Регулярная структура обеспечивается межмолекулярными водородными связями между боковыми

группами (парами оснований), спрятанными внутрь двойной спирали и ДНК на внешней поверхности однородна.

Если основными факторами, обеспечивающими особенность перехода спираль-клубок в полипептидах являются число возможных конформаций каждой повторяющейся единицы и ограниченное число повторяющихся единиц, фиксируемых одной водородной связью в спиральном состоянии, то в ДНК ограничение на свободу вращения в цепочке главных валентностей обеих цепей может простираться, вообще говоря, на всю молекулу [2,3,7]. Это происходит из-за образования больших петель в двухцепочечной системе. Однако большие петли образуются обычно в водных растворах очищенных ДНК. В организмах же ДНК находятся в белковых комплексах (например - намотаны на гистон) и размер петель в таких системах ограничен [1-4]. Поэтому в нашем рассмотрении модели ДНК важное место займет учет влияния петель малого масштаба. Мы будем также сосредоточивать свое внимание, как и в случае полипептидных цепей, на основных характеристиках микроскопического строения цепи и ее конформационных возможностях.

Считается, что двуспиральная структура ДНК обусловлена наличием двух факторов: водородными связями между комплементарными азотистыми основаниями протовоположных цепей (*AT* или *GC*) и стеклинг взаимодействиями, имеющими гидрофобную природу, между ближайшими соседними повторяющимися единицами [1-9].

Внешними условиями, индуцирующими переход, может быть температура, рН, концентрация растворителя и т.д. [2-4]. Мы рассмотрим температурно индуцированный переход.

Как известно, ДНК есть система, у которой поперечные размеры (толщина  $\sim 10^{-8}$  см) [1-4] пренебрежительно малы по сравнению с продольными (длина  $\sim 10^2$  см). Поэтому описание плавления ДНК при помощи одномерных моделей является широко принятым [2]. По теореме Ландау в одномерных системах в отсутствие взаимодействия бесконечного радиуса невозможно

существование фазовых переходов [2,7,10]. Выяснилось, что переход спираль-клубок является кооперативным с конечным температурным интервалом плавления ( $\Delta T$ ) и температурой плавления ( $T_m$ ), определяемой как температура, при которой корреляционная длина принимает максимальное значение [11].

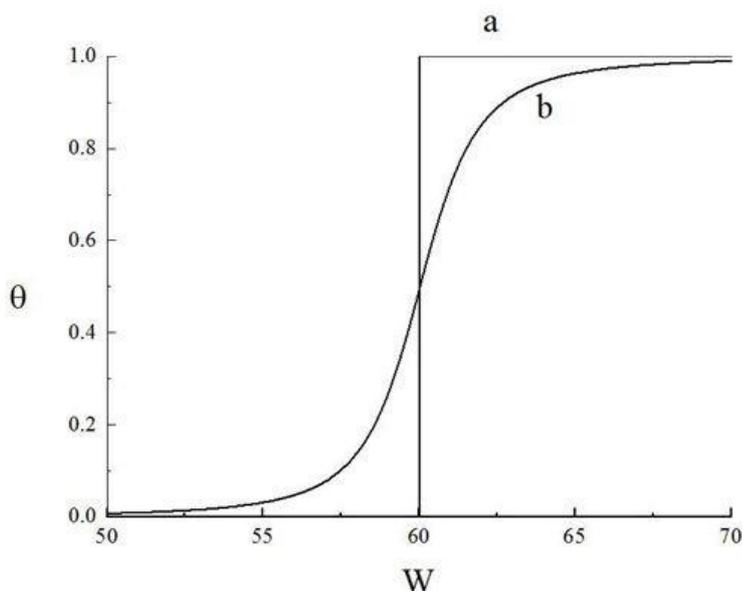


Рис1.1.4 Зависимость  $\Theta(W)$  для гомополимера при пренебрежении интервалом плавления в гомополимере (а) и при его учете (б). ( $Q = 60$ )

Интервал считается корреляционной характеристикой перехода, и чем больше корреляции в системе, тем меньше интервал (более кооперативный переход). Температуру плавления связывают со стабильностью ДНК, и чем больше энергии было затрачено на то, чтобы перевести каждую повторяющуюся единицу из упорядоченного состояния в неупорядоченное, тем больше  $T_m$  (более стабильная система) [12, 13].

## 1.2 Теоретические подходы к описанию перехода спираль-клубок

Переход спираль-клубок в биополимерах интенсивно исследовался начиная с 60-х годов прошлого столетия и продолжает исследоваться по настоящее время из-за чрезвычайной важности данной задачи и серьезных

математических затруднений, возникающих при попытке построения и расчета микроскопических моделей с усредненными параметрами. Первое теоретическое описание перехода спираль-клубок в полипептидах было предложено Shellman [15,16], затем в этом направлении работали Gibbs, di Marzio [17], Hill [18], Zimm, Bragg [19-22]. Теория перехода спираль-клубок в ДНК была развита в работах Lifson, Frank-Kamenetskii [26-29], Peyrard, Bishop [30-34], Hwa [35].

Традиционно теоретические модели перехода спираль-клубок основаны на предположении, что каждая повторяющаяся единица может находиться в двух возможных состояниях: спиральном или клубкообразном. Поэтому естественным является использование модели Изинга как основного инструмента для описания перехода. Будучи различными в деталях, подавляющее большинство традиционных теорий похоже в том смысле, что в них использовано приближение среднего поля. Иными словами, гамильтонианы этих моделей содержат параметры, усредненные по всем конформациям как макромолекулы, так и растворителя (например, параметр кооперативности и роста спирали в теории Zimm-Bragg [19-22]). Необходимость в последовательной аналитической теории перехода, основанной на микроскопических параметрах системы была высказана несколькими авторами по разным причинам. Работы Frank-Kamenetskii [26-29] с соавторами представляют собой интересный подход к проблеме. Они рассматривают систему из расплава клубкообразных и спиральных участков и пишут свободную энергию как функцию от числа и размера этих участков. Естественно, что и у них изначально фигурируют усредненные величины.

Вышесказанное не относится к подходу, предложенному Lifson, Roig [23-25] для полипептидов и к подходам, опубликованным в последнее время для ДНК, которые микроскопичны и не нуждаются в дополнительных эмпирических параметрах.

Остановимся более подробно на следующих теоретических моделях: Зимм-Брегга [18-21], Лифсон-Ройга [22-24] и Пейрара-Бишопа [29-33].

### 1.3 Модель Зимма – Брегга

Модель Зимма – Брегга [21] является первой последовательной и наиболее полной статистической теорией перехода спираль-клубок. Она основана на одномерной модели Изинга.

В этом параграфе мы коротко изложим эту модель, следуя оригинальным работам [21] и монографиям [5,6,8].

Рассматривается полипептидная цепь, состоящая из  $N$  аминокислотных остатков (рис.1.1.2). Предполагается, что состояние каждой повторяющейся единицы определяется состоянием атома кислорода карбоксильной группы  $m_i$ . Обозначим цифрой 1 состояние, в котором атом кислорода образует межмолекулярную водородную связь (связанное состояние) и цифрой 0 - состояние, в котором эта связь отсутствует (свободное состояние). Таким образом, конкретная конфигурация полипептидной цепи задается некоторой цепочкой из нулей и единиц.

Параметр  $s$  определяется изменением свободной энергии при увеличении спирального участка на одну мономерную единицу за счет соседних свободных единиц.

$$s = \exp\left(-\frac{\Delta F}{RT}\right) \quad (1.3.1)$$

где

$$\Delta F = F_{\text{связ.}} - F_{\text{свобод.}} \quad (1.3.2)$$

Другими словами,  $s$  - константа равновесия роста спирального участка цепи.

Появление в модели параметра  $\sigma$  (параметра кооперативности) связано с дополнительным увеличением свободной энергии при образовании водородной

связи в мономерной единице, следующей за тремя или более свободными единицами.

$$F(1,0,0,1) = F_{\text{связ.}} - F_{\text{иниц.}} \quad (1.3.3)$$

где  $F_{\text{иниц.}}$  - дополнительная свободная энергия.

$$\sigma = \exp\left(-\frac{F_{\text{иниц.}}}{RT}\right) \quad (1.3.4)$$

Обратим внимание на существенную деталь, что эти параметры являются феноменологическими параметрами.

Зимм и Брегг применили матричный метод модели Изинга для вычисления статистической суммы.

При  $N \gg 1$

$$Z = \text{Tr} P^N \quad (1.3.5)$$

где  $N$  - число повторяющихся единиц,  $P$  - матрица статистических весов.

В этом случае матрица  $P$  второго порядка и имеет вид

$$P = \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \quad (1.3.6)$$

а вековое уравнение

$$(\lambda - 1)(\lambda - s) = \sigma s \quad (1.3.7)$$

Это уже квадратное уравнение, допускающее аналитическое решение.

Флори [5] показал, что весь переход осуществляется практически в интервале  $1 - \sqrt{\sigma} \leq s \leq 1 + \sqrt{\sigma}$ .

Используя условие  $\sigma \ll 1$  получаем

$$\Delta T = 2\sqrt{\sigma} \frac{KT_m^2}{\Delta H} \quad (1.3.8)$$

При помощи модели Зимма-Брегга вычисляются все макроскопические характеристики перехода спираль-клубок. В дальнейшем, в работах О.Б.Птицина [6,109,127], Гоо [110], Шераги [122-126], Л.В.Финкельштейна [112-114] и других стал развиваться молекулярный подход к изучаемой проблеме. Развита методы вычисления параметров  $s$  и  $\sigma$  для цепей с

конкретным аминакислотным составом без проведения эксперимента по их плавлению.

Традиционно каждую новую теорию по переходу спираль-клубок принято сравнивать с вышеизложенной моделью.

#### 1.4 Модель Лифсона - Ройга и другие модели перехода спираль-клубок

Великолепная, на наш взгляд, теория перехода спираль-клубок предложена Лифсоном и Ройгом [23]. Они рассматривали пептидную цепь из  $(N+2)$  единиц в растворе в приближении жесткости двойных связей. Предполагалось, что микроскопические конформации цепи определяются значением  $(\varphi_i, \psi_i)$  углов вращения вокруг единичных связей. Авторы предположили следующий вид для конформационной энергии

$$V^{(n)} = \sum_{i=1}^n V_i^{(1)}(\varphi_i, \psi_i) + \sum_{j=2}^{n-2} V_i^{(j)}(\varphi_{i-1}, \dots, \psi_{i-1}) \quad (1.4.1)$$

где  $V_i^{(1)}$  - часть энергии повторяющейся единицы (ПЕ), не зависящая от остальных единиц включая вращение и водородные связи пептид-растворитель (если таковые имеются),  $V_i^{(3)}$  - энергия образования спирали, включающая изменения энергии при образовании водородной связи и взаимодействия между боковыми группами.  $V_i^{(3)}$  отличен от нуля тогда и только тогда, когда все три пары  $\varphi_{i-1}, \dots, \psi_{i+1}$  находятся в  $\alpha$ -спиральном состоянии с очень узкой областью варьирования  $\Delta\varphi_{i-1}^{(h)}, \dots, \Delta\psi_{i+1}^{(h)}$ .

Статистическая сумма записывалась в виде

$$Z = \int_0^{2\pi} \dots \int_0^{2\pi} \exp(-\beta V^{(n)}) d\varphi_1 \dots d\psi_n \quad (1.4.2)$$

где  $\beta = 1/KT$ .

Для ее вычисления область интегрирования разбивается на 2 части: область клубка ( $c$ -область) и область спирали ( $h$ -область).

Вводятся следующие обозначения:

1. Вклад в статистическую сумму ПЕ в клубкообразном состоянии -  $u$
2. Вклад ПЕ на концах непрерывного спирального участка -  $v$
3. Вклад ПЕ на концах непрерывного спирального участка (длиной  $> 2$ ) -  $w$

Естественно, что вклад в статистическую сумму каждой конкретной конфигурации представляется произведением этих величин. Так как факторы  $u, v, w$  не нормированы, то реальный смысл имеет лишь их отношение. Положив один из них равным 1, фиксируем ноль энергии. Авторы положили  $u = 1$ . Далее, т.к. область  $h$  намного меньше области  $c$ , то  $v \ll u$ . Чтобы был возможен переход  $c \rightarrow h$ ,  $V_i^{(3)}$  должен быть отрицательным. Отсюда  $v \ll w$ .

После ряда преобразований авторы получают для статистической суммы выражение

$$Z = UW^{N-2}U^+ \quad (1.4.3)$$

где  $U \equiv (v, v, u)$ ,  $U^+ \equiv (v, v, v+u)$  вектор строка и вектор столбец, а

$$W_i = \begin{pmatrix} w & v & 0 \\ 0 & 0 & u \\ v & v & u \end{pmatrix} \quad (1.4.4)$$

Вековое уравнение для этой матрицы имеет вид:

$$\omega = \lambda - \frac{V^2}{(\lambda^2 - \lambda - V)} \quad (1.4.5)$$

Аналогичный результат получил Лифсон [101], применяя развитый им же метод производящих функций.

Для описания состояния  $i$ -го остатка цепи Нагаи [115,120] вводит “спиновую” переменную  $\mu_i$ , способную принимать два значения.  $\mu_i = 1$ , если конформация остатка (углы  $(\varphi_i, \psi_i)$ ) соответствует  $\alpha$ -спирали и  $\mu_i = 0$  - во всех остальных конформациях. Если (и только в случае) три подряд остатка находятся в  $\alpha$ -спиральной конформации, то образуется внутримолекулярная водородная связь. Таким образом любая конкретная конфигурация цепи представляется цепочкой из нулей и единиц. Автор не рассматривает последовательность вида 010 и 0110. Эти конфигурации хотя и не исключены,

но физически нерезонны. В термодинамическом приближении статистическая сумма имеет вид:

$$Z = \sum \dots \sum \prod_{i=1}^N \alpha^{\mu_i} \beta^{\mu_{i-1} \cdot \mu_i \cdot \mu_{i+1}} \quad (1.4.6)$$

где

$$\alpha = \exp\left(-\frac{F_l - F_0}{RT}\right)$$

$$\beta = \exp\left(-\frac{F_k}{RT}\right)$$

$$\mu_0 = \mu_N \quad \mu_{N+1} = \mu_1$$

Суммирование ведется по всем  $\mu = 0, 1$  кроме последовательностей типа 010 и 0110.

Нетрудно показать, что статистическую сумму (1.4.12) можно представить в виде следа матрицы

$$Z = \text{Tr}(P^N) \quad (1.4.7)$$

где  $P$  - матрица вида

$$P = \begin{pmatrix} \alpha\beta & 0 & 0 & 0 & \alpha & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \alpha\beta & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (1.4.8)$$

Все элементы  $P_{kl}$  есть значения выражения  $\alpha^{m_i} \beta^{m_{i-1} m_i m_{i+1}}$ .

Только элемент (3,5) соответствует запрещаемой последовательности 0110.

Вековое уравнение для матрицы (1.4.8)

$$\lambda^2(\lambda - 1)(\lambda - \alpha\beta) = \alpha^3 \beta \quad (1.4.9)$$

Это эквивалентно модели Зимма-Брегга при  $\sigma = \alpha^2$  и  $s = \alpha\beta$ .

Используя формулировку Лифсон-Ройга, Бауо и Нозанов [121] построили модель, описывающую системы с прямым и обратным переходами.

Мияки [117-119] построил модель перехода, тоже приводящую, как и модель Лифсон-Ройга, к кубическому вековому уравнению. Эта модель построена на следующих предположениях: каждая мономерная единица может находиться по сравнению с соседним мономером в двух состояниях, обозначаемых  $L$  и  $H$ ; три или более  $L$ -мономеров образуют спираль, иначе имеем клубкообразную структуру.

Не будучи в состоянии обзреть все работы посвященные переходу спираль-клубок, закончим изложение ссылкой на работы, Пеллера [102,103] и Гиббса и Ди-Марцио [17].

Мы вкратце изложили наиболее известные модели перехода спираль-клубок в биополимерах. Все они, кроме модели Шеллмана, опираются на модель Изинга одномерных кооперативных систем. Детальное сравнение этих теорий друг с другом и с теорией Зимма-Брегга, дано в [41].

Перейдем теперь к описанию многокомпонентной спиновой модели Поттса, примененной нами для построения микроскопической теории перехода спираль-клубок.

### 1.5 Модель Поттса и ее применения

Модель Поттса [79] является обобщением модели Изинга на любое (может быть дробное) значения спина. В последние годы она широко применяется для описания различных критических явлений [81,128-132].

Многокомпонентную модель Поттса можно представить как совокупность взаимодействующих спинов, расположенных на плоскости, каждый из которых направлен по одному из  $q$ -равновероятных направлений.

“Стандартная” модель или просто модель Поттса

$$I(\Theta) = -\varepsilon_2 \delta_{ni} \delta_{nj} \quad (1.5.1)$$

(где  $\delta$  - символ Кронеккера) допускает точное решение для всех  $q$ .

Кроме парных взаимодействий в спиновых системах могут существовать и взаимодействия более высокого порядка, а также может присутствовать внешнее поле. Для модели Поттса на решетке  $G$  с  $N$  узлами гамильтониан имеет следующий вид [133]:

$$-\beta H = L \sum_i \delta(\sigma_i, 1) + \sum_{ij} \delta(\sigma_i, \sigma_j) + \sum_{ijk} \delta(\sigma_i, \sigma_j, \sigma_k) + \dots \quad (1.5.2)$$

где  $\sigma_i = 1, 2, \dots, q$  - состояние спина в  $i$ -м узле решетки, а

$$\delta(\sigma_i, \sigma_j, \sigma_k) = \begin{cases} 1, & \sigma_i = \dots = \sigma_k \\ 0 & \end{cases} \quad (1.5.3)$$

Здесь  $k = \beta \varepsilon_2$ ,  $k_n$   $n > 2$  - энергия взаимодействия  $n$ -го порядка, а  $L$  внешнее поле, приложенное к спину в состоянии 1.

Статистическая сумма имеет вид:

$$Z_G(q, L, k, k_n) = \sum_{\sigma_i=1}^q \exp(-\beta H) \quad (1.5.4)$$

Физические свойства системы, описываемой моделью Поттса получаются из статистической суммы, обычным путем перехода к термодинамическому пределу.

Любенски и Исааксон [131] показали, что переходы в процессах гелеобразования и вулканизации в разбавленных полимерах имеют тот же класс универсальности, что и модель Поттса при  $0 < q < 1$ . Это означает, что путем подходящего подбора полифункционально взаимодействующих единиц полимерного раствора можно реализовать разные модели Поттса со значениями  $q$  между нулем и единицей. В последнее время рассматриваются и хаотические свойства в разветвленных полимерах при значениях  $q$  меньших единицы [134, 135].

Непосредственному применению модели Поттса к рассматриваемой проблеме перехода спираль-клубок посвящена работа Голдстейна [130]. В ней рассматривается простейшая модель полимера, растворенного в растворителе, способном образовать водородную связь. Считается, что внутримолекулярные

водородные связи могут образоваться между ближайшими соседями по цепи. Если данная мономерная единица свободна от внутримолекулярной водородной связи, то между ней и молекулами растворителя может возникнуть межмолекулярная водородная связь. Растворитель рассматривается как система спинов, каждая функциональная единица  $\mu_i$  которой может принимать  $P$  равновероятных ориентаций. “Спины” мономерных единиц полимера  $\sigma_i$  принимают  $q$  равновероятных ориентаций. На основе этих предположений предлагается следующий гамильтониан системы

$$-\beta H_{q+1} = \sum_{i,j} \left[ k\delta(\sigma_i, \sigma_j) + \frac{I}{2}(1 - \delta(\sigma_i, \sigma_j))(\delta(\sigma_i, \mu_j) + \delta(\sigma_i, \mu_j)) \right] \quad (1.5.5)$$

где  $\delta$  - символ Кронеккера,  $k$  и  $I$  - энергии внутримолекулярной и межмолекулярной водородных связей соответственно. В гамильтониане учтен тот факт, что разрыв внутримолекулярной водородной связи создает возможность для образования двух межмолекулярных.

Использованный автором подход к описанию взаимодействия полимер-растворитель весьма обоснован. Основной недостаток модели в целом заключается в неправильном учете геометрии замыкания внутримолекулярных водородных связей при конструировании гамильтониана. Именно поэтому получаемая зависимость - только отдаленно напоминает экспериментальную кривую перехода. Отметим также, что даже для такого качественного описания перехода спираль-клубок при помощи этой модели требуются необоснованно большие значения для параметра  $q$ . Это вполне естественно, поскольку в приведенной работе используется двухчастичная модель Поттса. Естественно также предположить, что многочастичная модель может устранить недостатки упрощенного подхода.

## 1.6 Обобщенная Модель Полипептидной Цепи (ОМПЦ)

Таким образом, используемые в настоящее время теоретические подходы к переходу спираль-клубок являются либо среднеполевыми (типа Зимма-Брегга,

с вытекающими отсюда проблемами физической интерпретации параметров теории), либо жестко привязанными к структуре конкретного биополимера (типа Пейрара-Бишопа, Лифсона-Ройга, all-atom model).

Школой В.Ф. Морозова [44-48] на основании ранних работ Н.С. Ананикяна была предложена микроскопическая теория перехода спираль-клубок, приемлемая как для полипептидов, так и для ДНК. Это стало возможным благодаря подходам и методам современной теоретической физики, позволяющим использовать в статистической физике полимеров большое количество теоретических моделей, более адекватно описывающих предмет изучения, чем это принято на сегодняшний день и не требующих введения дополнительного феноменологического параметра для учета кооперативности системы. Одной из наиболее широко используемых моделей в квантовой теории поля, физике ферромагнетиков и физике полимеров является Q-компонентная модель Поттса, которая есть не что иное, как обобщение модели Изинга [49-54]. Как было показано [10, 44], для исследования перехода спираль-клубок необходимо несколько изменить модель Поттса. На основе Поттс-подобной модели была развита теория перехода спираль-клубок в полипептидах [44-47]. Было также показано, что в пренебрежении петлями большого масштаба характеристическое уравнение для модели ДНК совпадает с таковым для Обобщенной Модели Полипептидной Цепи (ОМПЦ) [48]. Отличие от полипептидной модели в том, что число повторяющихся единиц, фиксируемых одной водородной связью, входит в ОМПЦ как некий параметр. В итоге получается, что для описания перехода спираль-клубок как в полипептидах, так и в полинуклеотидах, а также для учета влияния факторов различной природы может быть использована одна и та же ОМПЦ, но с разными значениями параметров. Поскольку дальнейшие исследования будут проводиться на основе базовой Обобщенной Модели Полипептидной Цепи, приведем ее основные положения.

Одна из важных характеристик полипептидной цепи – значение энергии внутримолекулярной водородной связи, по порядку величины лежит между валентной связью и вандерваальсовыми взаимодействиями [1-4, 55]. Водородная связь может образоваться, если расположение  $NH$  и  $CO$  групп становится линейным и они находятся друг против друга на равновесном расстоянии. Исходя из геометрии полипептидной цепи, образование водородной связи происходит между  $NH$  и  $CO$  группами, разделенными как минимум тремя асимметричными атомами углерода. Одна водородная связь фиксирует три пары углов поворота  $\{\varphi_i, \psi_i\}$  и устанавливает структуру с винтовой симметрией ( $\alpha$ -спираль) [1-8].

Итак, согласно [2-9] мы можем представить полипептидную цепь как последовательность виртуальных связей, имеющих дискретное число конформаций. Образование спирали приводит к сильному ограничению цепи в конформационном пространстве. Согласно такому представлению, полипептид может находиться в двух сильно отличающихся состояниях

- спиральном, при котором водородная связь ограничивает конформационную гибкость цепи;
- клубкообразном, при котором энергия водородной связи не достаточна для такого ограничения, цепь гибкая и может быть описана как случайное блуждание.

В согласии с ранними работами группы В.Ф. Морозова [44-47], рассмотрим следующую упрощенную модель полипептидной цепи. Пусть каждая повторяющаяся единица (аминокислотный остаток) может находиться в  $Q$  конформационных состояниях, соответствующих различным дискретным значениям пар  $\{\varphi_i, \psi_i\}$ . Энергии этих состояний предполагаются одинаковыми. Энергия каждой повторяющейся единицы не зависит от состояний соседних ей единиц. Опишем состояние  $i$ -ой единицы с помощью спиновой переменной  $\gamma_i$

так что  $\gamma_i = \overline{1, Q}$ .

Внутримолекулярная водородная связь, приводящая к образованию  $\alpha$ -спиральной структуры, образуется, когда три соседние повторяющиеся единицы находятся в одной и той же определенной конформации. Пусть это будет конформация номер один.

Гамильтониан вышеописанной модели имеет вид

$$H = -U \sum_{i=1}^N \delta(\gamma_{i-2}, 1) \delta(\gamma_{i-1}, 1) \delta(\gamma_i, 1) \quad (1.6.1)$$

где  $U$  есть энергия образования внутримолекулярной водородной связи; конформация повторяющейся единицы, при которой образуется эта связь, соответствует  $\gamma_j = 1$ ;  $\delta(a, b)$  – символ Кронекера.

Для обобщения задачи, является разумным ввести гипотетическую модель с любым числом  $\Delta$  пар торсионных углов, фиксируемых одной водородной связью в спиральной конформации, соответствующей  $\gamma_j = 1$ . По аналогии с (1.6) можно построить гамильтониан Обобщенной Модели Полипептидной Цепи следующего вида

$$H = -U \sum_{i=1}^N \prod_{k=\Delta-1}^0 \delta(\gamma_{i-k}, 1) = -U \sum_{i=1}^N \delta_i^{(\Delta)}, \quad (1.6.2)$$

где  $\delta_i^{(\Delta)}$  есть произведение  $\Delta$  символов Кронекера для  $i$ -ой повторяющейся единицы, зависящей от  $(\Delta - 1)$  предыдущих повторяющихся единиц.

Трансфер-матрицу ОМПЦ можно построить для конкретных значений  $\Delta$  и  $Q$  на базе гамильтониана (1.7). Она имеет следующие свойства:

1. все элементы первой строки равны  $V$ ;
2. все элементы первой нижней псевдодиагонали равны 1;
3. элемент  $(\Delta, \Delta)$  равен  $Q$ ;
4. все остальные элементы равны нулю.

Обобщая на случай произвольных конечных  $\Delta$  и  $Q$ , получим трансфер-матрицу модели вида

$$\hat{m}(\Delta \times \Delta) = \begin{pmatrix} V & V & \dots & V & V & V \\ 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & \dots & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 & 1 & Q \end{pmatrix}. \quad (1.6.3)$$

Было показано, что трансфер-матрица модели может быть также представлена в виде

$$\tilde{m}(\Delta \times \Delta) = \begin{pmatrix} e^J & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & 1 & Q-1 \end{pmatrix}. \quad (1.6.4)$$

Статистическая сумма и характеристическое уравнение для трансфер-матрицы модели имеют вид:

$$Z = Tr \hat{m}(\Delta \times \Delta)^N, \quad (1.6.5)$$

$$\lambda^{\Delta-1}(\lambda - e^J)(\lambda - Q) = (e^J - 1)(Q - 1). \quad (1.6.6)$$

Легко можно заметить, что порядок характеристического уравнения для трансфер-матриц  $\hat{m}(\Delta \times \Delta)$  (1.8, 1.9) равен  $\Delta$  (число пар поворотов, фиксируемых одной водородной связью, корреляционный параметр). включает посторонний корень  $\lambda = 1$ , необходимый для компактизации характеристического уравнения. Зависимость  $\lambda(V)$  представлена на Рис.(5,6) для случая нечетных и четных  $\Delta$ .

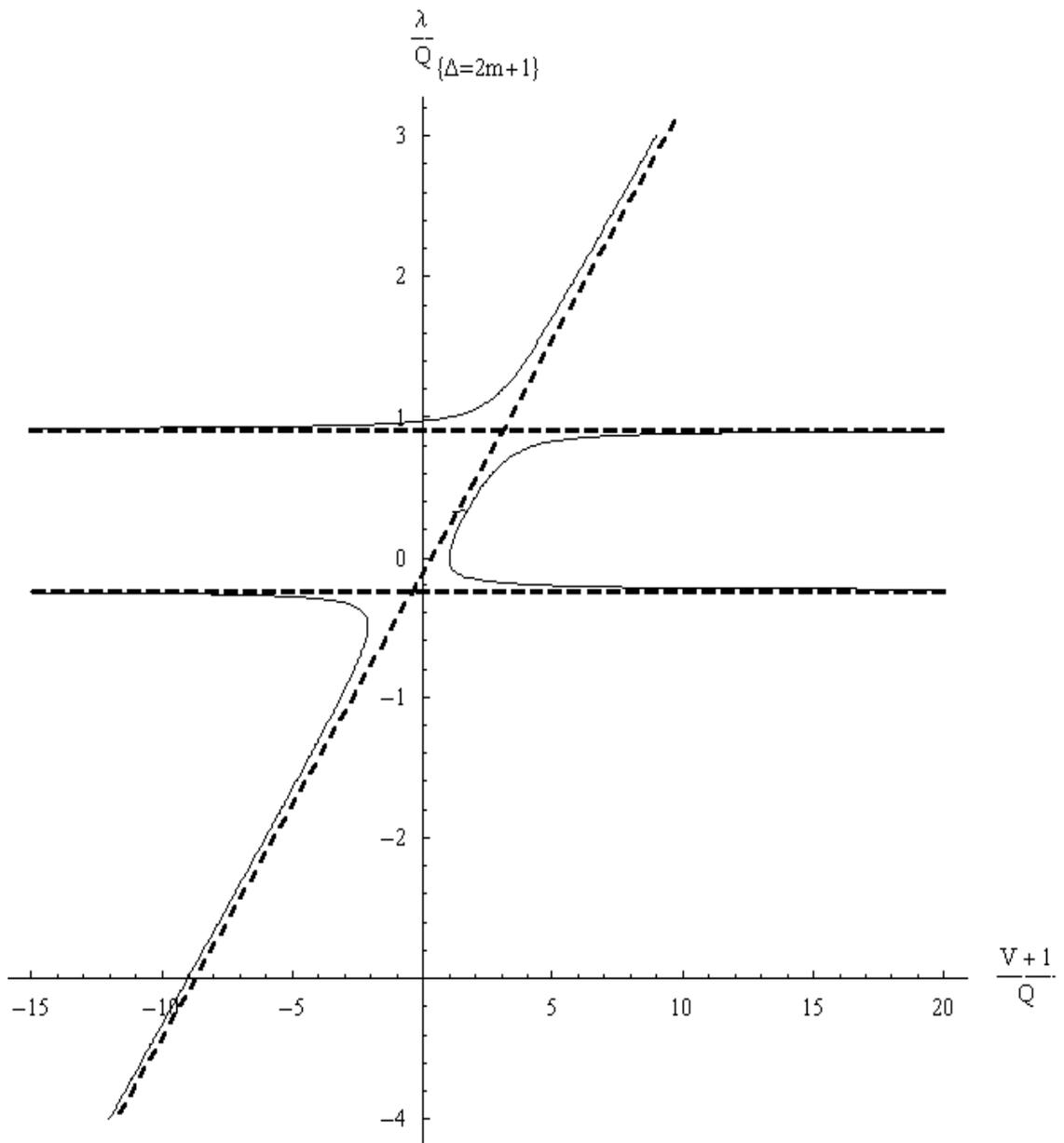


Рис.1.6.1 Зависимость некомплексных корней характеристического уравнения ОМПЦ от температурного параметра  $\frac{e^J}{Q}$  при нечетных  $\Delta$ .

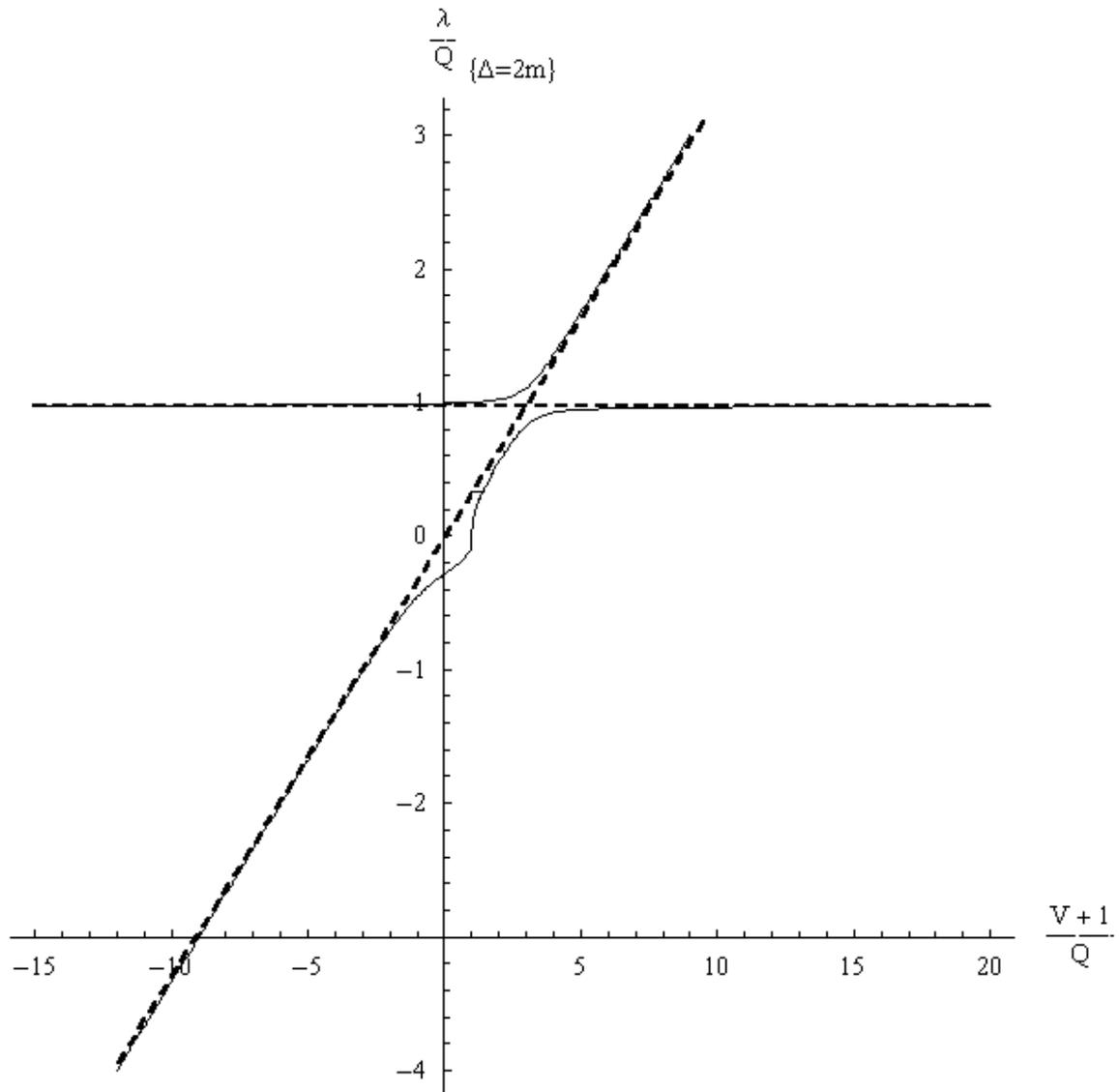


Рис.1.6.2 Зависимость некомплексных корней характеристического уравнения ОМПЦ от температурного параметра  $\frac{e^J}{Q}$  при четных  $\Delta$ .

При больших  $\Delta$  и  $Q$  закономерности проявляются резче, не изменяясь качественно. Анализ поведения показывает, что:

1. уравнение (1.11) имеет два положительных корня  $\lambda_1 > \lambda_2$ ;
2. для других корней ( $i > 2$ ) ;  $|\lambda_i| < 1$ ;
3.  $\lambda_1 > \max(e^J; Q)$ ;  $\lambda_2 < \min(e^J; Q)$ ;

4. вблизи  $e^J \approx Q$  разница  $(\lambda_1 - \lambda_2)$  становится очень малой, но остается отличной от нуля;

5. уравнение (1.11) не имеет кратных корней.

Из рисунков видно, что точка пересечения асимптот в области положительных значений (точка, в которой расстояние между  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  наименьшее) может быть рассмотрена как точка перехода. Эта точка соответствует решению уравнения

$$T_c = \frac{U}{\ln Q}. \quad (1.6.7)$$

Сравнивая поведение корней векового уравнения ОМЩ и модели Лифсона-Ройга, приходим к выводу, что модель Лифсона-Ройга может рассматриваться как частный случай нашей модели (при  $\Delta = 3$ ). Таким образом, можно установить следующую иерархию моделей спираль-клубок: модель Зимма-Брегга  $\rightarrow$  модель Лифсона-Ройга  $\rightarrow$  Обобщенная Модель Полипептидной Цепи. В предыдущих работах [44-48] на основе данного гамильтониана был получен ряд важных результатов, Исходя из строения ДНК, а также анализируя и обобщая вышеописанные подходы, был сформулирован вывод, что есть два фактора, ответственных за взаимную корреляцию конформаций в ДНК, проявляющуюся в кооперативности перехода спираль-клубок. Первый – минимальность контакта с растворителем – является в основном следствием гидрофобных взаимодействий (стекинг) [1-4, 7-9, 55-59]. Второй – одноцепочечная жесткость цепи, приводящая к ограничениям на разрыв нескольких водородных связей на масштабе меньше характерной длины жесткости [1-4, 11, 55, 60]. Последний, на наш взгляд, является доминирующим, т.к. при энергиях взаимодействия одного порядка является более дальнедействующим, чем стекинг. Традиционно кооперативность считается обусловленной именно стекингом. Более того, ряд авторов считает классическую модель Зимм-Брегг как моделирующую стэкинг, хотя сами авторы модели считали описание системы с помощью формализма ближайших

соседей всего лишь математическим трюком, позволяющим избежать серьезных затруднений и так моделировали водородное связывание [18-21]. Однако важность жесткости при описании перехода в биополимерах не осталась незамеченной, и в последние годы появился ряд работ, посвященных этой теме, в основном в связи с растяжением ДНК [37-39, 61, 62]. Есть ряд других факторов, влияющих на интервал и температуру плавления. Из наиболее важных – растворитель, как конкурирующий за образование водородных связей, так и не конкурирующий [12, 13, 35, 56, 58, 59, 63-77]. Интересным, но, к сожалению, малоизученным эффектом является переход клубок-спираль при повышении температуры. Как известно, биополимеры в клетке находятся в окружении растворителя (в простейшем случае – воды [1-5, 7], то же касается экспериментального исследования перехода [1-4, 7, 11, 59], следовательно, учет влияния растворителя является необходимым.

### 1.7 Влияние растворителей с различными типами взаимодействий на переход спираль-клубок в ОМПЦ

Гамильтониан такой системы может быть записан в следующем виде

$$-\beta H = J \sum_i \delta_i^{(\Delta)} + I \sum_i (1 - \delta_i^{(\Delta)}) \sum_{k=1}^{2m} \delta(\mu_i^k, 1) + I_c \sum_i (1 - \delta_i^{(1)}) \sum_{s_1=1}^{m'} \delta(v_{ci}^{s_1}, 1) + I_h \sum_i \delta_i^{(1)} \sum_{s_2=1}^{m'} \delta(v_{hi}^{s_2}, 1) \quad (1.7.1)$$

где первый член определяет базовый гамильтониан ОМПЦ, второй член определяет конкурентное взаимодействие, третий и четвертый – неконкурентное взаимодействие со спиральной и клубкообразной конформацией повторяющейся единицы соответственно. Переменная  $\mu_i = 1, 2, \dots, q$  описывает ориентацию молекулы растворителя при конкурентном взаимодействии. Переменные  $v_{hi} = 1, 2, \dots, q_h$  и  $v_{ci} = 1, 2, \dots, q_c$  описывают ориентацию молекулы растворителя вблизи спирального и клубкообразного участков

соответственно.  $m$  – число водородных связей, стабилизирующих одну повторяющуюся единицу,  $m'$  - общее число молекул растворителя, находящихся на скелете цепи. Было показано, что модель с гамильтонианом (1) сводится к базовой модели путем следующих переопределений энергетического и энтропийного параметров:

$$\tilde{W} = \frac{q^{2m} e^J}{(e^I + q - 1)^{2m}} \quad (1.7.2)$$

$$\tilde{Q} = 1 + (Q - 1) \left( \frac{e^{I_c} + q - 1}{e^{I_h} + q - 1} \right)^{m'} \quad (1.7.3)$$

Для данной модели, на основе гамильтониана (1), были получены выражения для характеристик перехода системы (корреляционная длина, степень спиральности, средняя доля повторяющихся единиц в спиральной конформации, а также дифференциальная кривая плавления), термодинамических величин (свободная энергия, энтропия, внутренняя энергия, теплоемкость) как для всей системы, так и для ее полимерной и растворительной частей по отдельности.

В рамках данной работы были вычислены некоторые характеристики растворителя. Аналогично степени спиральности была посчитана степень конкурентного связывания, которая показывает среднюю долю молекул растворителя, связанных конкурентным образом с повторяющейся единицей биополимера:

$$\varepsilon = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial I} = \frac{2me^I}{e^I + q - 1} (1 - \theta). \quad (1.7.4)$$

Тем же образом определяются степени клубкообразного ( $\varepsilon_c$ ) и спирального ( $\varepsilon_h$ ) связывания, которые показывают доли молекул растворителя, связанных неконкурентным образом с повторяющимися единицами в клубкообразном и спиральном состояниях соответственно:

$$\varepsilon_c = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial I_c} = (1 - \kappa) \frac{m' e^{I_c}}{e^{I_c} + q - 1} \quad (1.7.5)$$

$$\varepsilon_h = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial I_h} = \kappa \frac{m' e^{I_h}}{e^{I_h} + q - 1} \quad (1.7.6)$$

Интересным является также суммарная доля молекул растворителя, произвольным способом связанных с повторяющейся единицей биополимера. Ее мы называем степенью сольватации:

$$\omega = \varepsilon + \varepsilon_c + \varepsilon_h. \quad (1.7.7)$$

Введены также параметры  $\rho_c$  и  $\rho_h$ , характеризующие относительные доли молекул растворителя, связанных с клубкообразными и спиральными участками цепи как

$$\rho_c = \frac{\varepsilon + \varepsilon_c}{\omega}, \quad (1.7.8)$$

$$\rho_h = \frac{\varepsilon_h}{\omega} = 1 - \rho_c \quad (1.7.9)$$

На основе ОМПЦ в комбинированном растворителе было показано, что в области перехода были получены параметры теории Зимма-Брегга:

$$S_{ZB} = \frac{e^{\bar{J}}}{\tilde{Q}}, \quad (1.7.10)$$

$$\sigma_{ZB} = \tilde{Q}^{\Delta-1}. \quad (1.7.11)$$

Для модели Зимма-Брегга зависимость  $\ln S_{ZB}$  от  $\frac{1}{T}$  линейная.

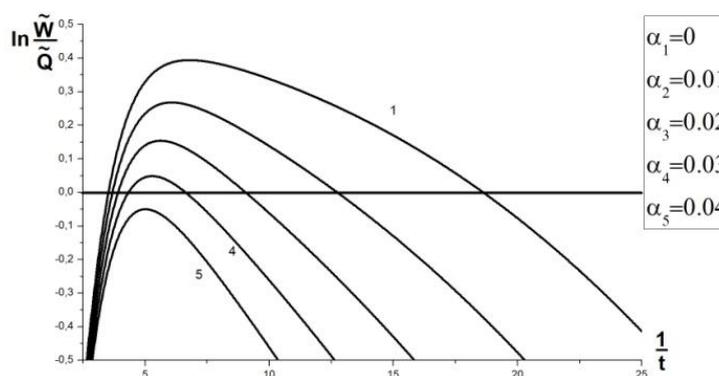


Рис. 1.7.1 Зависимость  $\ln \frac{\tilde{W}}{\tilde{Q}}$  от  $\frac{1}{t}$ .

На рис.1 изображена зависимость  $\ln \frac{\tilde{W}}{\tilde{Q}}$  от  $\frac{1}{T}$  для тех значений параметров, для которых существует выстраивание. Видно, что в широких окрестностях точек перехода зависимости являются линейными и имеют вид  $\frac{\Delta U_{eff}}{T} - \Delta S_{eff}$ . Таким образом мы получили возможность привязки наших теоретических вычислений к параметрам Зимма-Брегга, на основе которых анализируют экспериментальные данные. В работах Ш. Тоноян описано количественное исследование температурных характеристик системы биополимер-растворитель в рамках ОМЩ. Детально изучены четыре случая соотношений энергий внутри- и межмолекулярного взаимодействия ( $\alpha > 0$ ,  $\alpha < 0$ ) и энергий неконкурентного взаимодействия со спиральными и клубкообразными участками цепи ( $\alpha_c > \alpha_h$ ,  $\alpha_c < \alpha_h$ ). При разных значениях соотношений энергий возможны один, два, четыре перехода либо полное их отсутствие. Показано, что точка перехода спираль-клубок может быть определена как по поведению корреляционной длины, так и по дифференциальной кривой плавления.

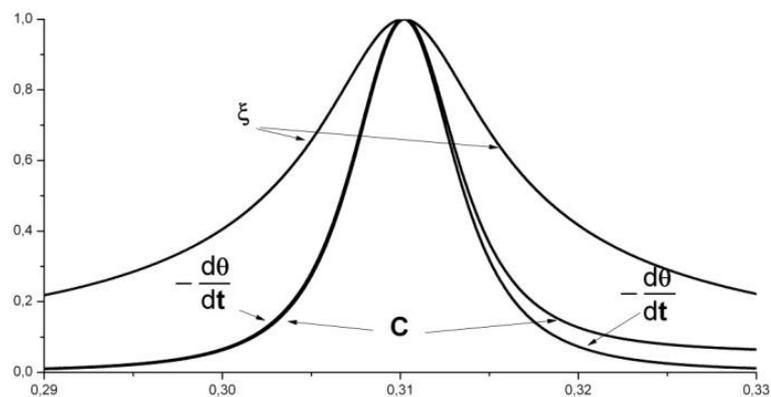


Рис. 1.7.2 Температурная зависимость приведенных теплоемкости, корреляционной длины и дифференциальной кривой плавления

$$\frac{C}{C_{\max}}, \frac{\xi}{\xi_{\max}}, \frac{d(1-\theta)}{dt} \Big/ \frac{d(1-\theta)}{dt}_{\max}$$

Причем изменение интервала плавления может происходить при неизменности корреляционной длины. Более того, теплоемкость системы качественно ведет себя аналогично корреляционной длине и дифференциальной кривой плавления, однако в отличие от них теплоемкость при высокой температуре выходит на ненулевой уровень (рис.2). Из (рис.2) Видно, что переход, описываемых температурной зависимостью корреляционной длины происходит на более широком температурном интервале по сравнению с дифференциальной кривой плавления, что свидетельствует о том, что при приближении степени спиральности к нулю или единице в системе еще сохраняются корреляции, что обеспечивает эффекты предплавления.

Были получены фазовые диаграммы для системы полимер-растворитель на основе ОМПЦ. Как уже известно в системе полимер-комбинированный растворитель переход происходит при условии  $\tilde{W} = \tilde{Q}$ .

$$(t_m) = t_m \ln \left[ \frac{qe^{\frac{1}{t_m}}}{\left( 1 + (Q-1) \frac{e^{\frac{\alpha_c}{t_m}} + q - 1}{e^{\frac{\alpha_h}{t_m}} + q - 1} \right)^{\frac{1}{2m}}} - q + 1 \right] - 1 \quad (1.7.12)$$

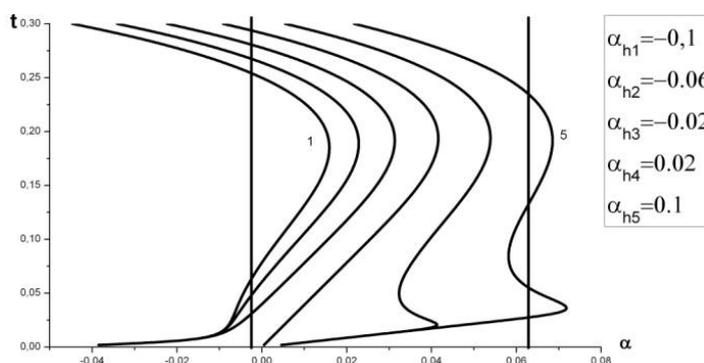


Рис. 1.7.3 Фазовые диаграммы для разных значений параметра  $\alpha_h$  ( $\alpha_c = 0.02; Q = 60; q = 10; m = 1; m' = 5$ )

На фазовых диаграммах (рис.3) видны спиральные и клубкообразные области, также видно наличие переходов двух типов: выстраивания и плавления.

Если «выгодность» внутримолекулярных водородных связей  $\alpha$  положительная, то наблюдается два перехода, а если отрицательная - то один переход. Также видно, что при фиксированных  $\alpha_c$  и  $\alpha_n$  начиная с определенного значения  $\alpha$  система всегда находится в клубкообразном состоянии.

Биополимеры являются гетерогенными системами. В ДНК энергии водородного связывания различны для  $A - T$  и  $G - C$  пар, а в полипептидах имеется 20 разных аминокислотных остатков [1-3, 6, 12, 34, 35, 78-88]. Этот фактор также необходимо учитывать. Общепринятым является представление, что если бы даже переход в гомополимере был фазовым, то и тогда гетерогенность уширяла бы переход и делала его нефазовым (кооперативным). Раннее в рамках ОМПЦ рассматривался лишь гомополимерный гамильтониан. Гетерополимерность была рассмотрена лишь для определения локальности параметров Зимма-Брегга [11];

Целью данной работы является исследование влияния гетерогенности на переход спираль-клубок.

## ГЛАВА 2

### ПЕРЕХОД СПИРАЛЬ-КЛУБОК В ГЕТЕРОПОЛИМЕРАХ. МИКРОКАНОНИЧЕСКИЙ МЕТОД

Природные биополимеры являются неоднородными по своей структуре системами. Ранее был произведен учет структурной неоднородности в гетерополипептидах, где число возможных конформаций разное для каждой повторяющейся единицы (каждый аминокислотный остаток имеет разное количество поворотных изомеров). В [44, 45] было показано, что гетерогенность полипептидов не существенна при переходе спираль-клубок и может быть усреднена посредством переопределением числа возможных конформаций каждой повторяющейся единицы.

В случае ДНК гетерогенность существенна, так как генетическая информация закодирована посредством структурной неоднородности. В данной Главе мы приступаем к задаче плавления в ДНК с гетерогенностью по энергиям водородного связывания. Влияние неоднородности нуклеотидного состава на переход спираль-клубок в биополимерах известно с середины прошлого века, и многие авторы занимались его экспериментальными и теоретическими исследованиями. Так было выяснено влияние GC содержания, вида распределения (случайного и марковского) беспорядка на характеристики перехода -  $\Delta T$  и  $T_m$ .

Однако некоторые вопросы остаются актуальными. Так, до сих пор не предложена микроскопическая теория плавления гетерополимера, в которой свободная энергия была бы рассчитана, а не записана с самого начала. Такая теория интересна не только для описания плавления гетерополимера, но вообще для теории неоднородных систем, так как возникающие проблемы являются принципиальными [78]. Главная трудность при построении теории такого рода возникает при расчете статистической суммы [2]. При

использовании трансфер матричного формализма мы сталкиваемся с вычислением следа от произведения  $N$  некоммутирующих матриц, что при большом  $N$  является нетривиальной математической задачей.

## 2.1. Модель

По аналогии с базовой моделью, гамильтониан и, соответственно, трансфер-матрицу гетерогенной системы запишем в виде

$$-\beta H = \sum_{i=1}^N J_i \prod_{k=\Delta-1}^0 \delta(\gamma_{i-k}, 1) = \sum_{i=1}^N J_i \delta_i^{(\Delta)} \quad (2.1.1)$$

$$\hat{G}_i = \begin{pmatrix} W_i & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & 1 & Q-1 \end{pmatrix}, \quad (2.1.2)$$

где  $\beta = T^{-1}$  обратная температура в энергетических единицах,

$W_j = \exp[J_j] = \exp\left[\frac{U_j}{T}\right]$ , где  $U_j$  есть энергия образования водородной связи,  $\Delta$  - сегмент Куна одноцепочечного полимера,  $\delta(x_j, 1)$  - символ Кронеккера,  $\gamma_j$  - переменная, описывающая состояний  $j$ -ой повторяющейся единицы,  $Q$  - число возможных конформаций каждой повторяющейся единицы.

ДНК в клетке синтезируется с соблюдением комплементарности азотистых оснований, т.е. напротив  $A(T)$  в одной из цепей всегда стоит  $T(A)$  в другой цепи, напротив  $G(C) - C(G)$ . Так как мы используем эффективную одноцепочечную модель, то нам не надо различать цепи и пары  $A - T$  и  $T - A$  ( $G-C$  и  $C-G$ ).

В спиральном состоянии  $A-T$  пара стабилизируется двумя водородными связями,  $G-C$  пара - тремя. То есть на разрыв водородных связей в  $j$ -ой повторяющейся единице затрачивается энергия  $U_j$ , равная  $U_{A-T}$ , если в  $j$ -ом

месте  $A-T$  пара, равная  $U_{G-C}$ , если  $G-C$ ,  $U_{A-T} < U_{G-C}$ . Итак,  $A-T$  и  $G-C$  пары отличаются по энергии, а по конформации они почти неразличимы. Следовательно, ДНК есть система, неоднородная только по энергиям, и для ее описания нужны следующие микроскопические величины  $Q$ ,  $\Delta$  и последовательность  $\{U_i\}$ . Ясно, что из-за большей стабильности  $G-C$  пар, стабильность системы тем выше ( $T_m$  тем выше), чем выше относительная доля  $G-C$  пар. Однако, при одном и том же  $G-C$  содержании профиль кривой плавления может быть разным, т.к. он зависит от последовательности азотистых оснований.

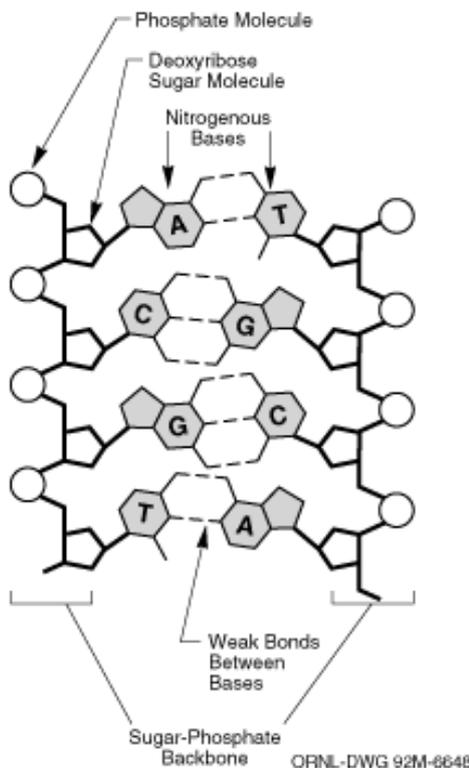


Рис.2.1.1 Схема поясняющая комплементарное водородное связывание в ДНК.

Статистическая сумма при данной последовательности пар оснований (заданная реализация беспорядка) может быть записана в виде:

$$Z_{seq} = \text{Tr} \prod_{i=1}^n \hat{G}_i; \quad (2.1.3)$$

здесь  $\hat{G}_i = \begin{cases} G_{AT}, & \text{если в } i\text{-ом месте } A-T; \\ G_{GC}, & \text{иначе.} \end{cases}$

$$\hat{G}_{AT} = \begin{pmatrix} W_{AT} & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & 1 & Q-1 \end{pmatrix}, \quad \hat{G}_{GC} = \begin{pmatrix} W_{GC} & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & 1 & Q-1 \end{pmatrix}.$$

Так как эти матрицы не коммутируют друг с другом, то каждая последовательность из множества последовательностей длины  $n$  и концентрации беспорядка  $q$  обладает уникальными статистическими свойствами. Вообще говоря, каждая цепь может быть описана зависящей от последовательности разной свободной энергией  $F_{seq}$ . Однако, считается принятым, что свободная энергия удовлетворяет принципу самоусреднения [2, 78], согласно которому распределение вероятностей свободных энергий для независимых образцов очень узко. Таким образом, свободная энергия существенно совпадает со средней свободной энергией почти для всех последовательностей. Конечно, самоусреднение имеет место в термодинамическом пределе, а для каждой конкретной расчетной модели свободная энергия несколько зависит от последовательности. Как бы то ни было, в случае аналитической теории, исследуемой в термодинамическом пределе, можно пренебрегать зависимостью  $F_{seq}$  от последовательности при фиксированном содержании мономеров. Так, следуя [78] мы усредняем свободную энергию по последовательностям. В термодинамическом пределе свободная энергия, приведенная к температуре и числу частиц есть

$$f = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\langle F_{seq} \rangle}{nT} = - \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \langle \ln \text{Tr} \prod_{i=1}^n \hat{G}_i \rangle. \quad (2.1.4)$$

Задача расчета такой величины сильно упрощается, если заменить «замороженное» среднее на «расплавленное»  $\ln \langle \text{Tr} \prod_i \hat{G}_i \rangle$  при фиксированном содержании мономеров (фиксированная концентрация беспорядка)  $q$ . Такая замена обоснована, так как термодинамические пределы

этих двух величин совпадают. В этом и состоит ключевая идея микроканонического метода. Обоснование и математические основы этого метода подробно рассмотрены в книге [109]. Показано, что «замороженное» и «расплавленное» средние совпадают с точностью до флуктуаций концентрации беспорядка  $q$ , и при фиксированных  $q$  эти две величины строго равны. «Расплавленное» среднее может быть выражено при помощи комбинаторных методов как

$$\langle \text{Tr} \prod_i \hat{G}_i \rangle = \frac{1}{n_{AT}!} \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \frac{d^{n_{AT}}}{dx^{n_{AT}}} [G_{GC} + xG_{AT}]^n \Big|_{x=0}. \quad (2.1.5)$$

## 2.2 Свободная энергия

Выражение в квадратных скобках может быть упрощено:

$$\hat{G}_{GC} + x\hat{G}_{AT} = \begin{bmatrix} W_{GC} + xW_{AT} & 1+x & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1+x & 0 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1+x & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & (Q-1)(1+x) \\ 1+x & 1+x & 1+x & 1+x & \dots & 1+x & (Q-1)(1+x) \end{bmatrix} =$$

$$= (1+x) \begin{bmatrix} W(x) & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & Q-1 \end{bmatrix} = \hat{S}(x) \hat{\lambda}^*(x) \hat{S}^{-1}(x),$$

где  $W(x) = (W_{GC} + xW_{AT}) / (1+x)$ ;  $\hat{\lambda}^*(x) = (1+x) \hat{\lambda}(x)$ . Перепишем его в виде

$$[\hat{G}_{GC+x} \hat{G}_{AT}]^n = \hat{\lambda}_1^{*n}(x) \hat{S}(x) \begin{bmatrix} \hat{\lambda}^*(x) \\ \hat{\lambda}_1^*(x) \end{bmatrix} \hat{S}^{-1}(x),$$

а затем используя теорему Фробениуса-Перрона, получаем

$$\left[ \frac{\hat{\lambda}^*(x)}{\lambda_1^*(x)} \right]^n = \begin{bmatrix} 1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \left( \frac{\lambda_2^*(x)}{\lambda_1^*(x)} \right) & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & \dots & \left( \frac{\lambda_N^*(x)}{\lambda_1^*(x)} \right) \end{bmatrix} \xrightarrow{n \rightarrow \infty} \begin{bmatrix} 1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & \dots & 0 \end{bmatrix} \equiv \hat{H}.$$

Использував последнее выражение, получим

$$[\hat{G}_{GC+x} \hat{G}_{AT}]^n = \hat{\lambda}_1^{*n}(x) \hat{D}(x);$$

где  $\hat{D}(x) = \hat{S}(x) \hat{H} \hat{S}^{-1}(x)$ , и

$$\langle \text{Tr}_i \hat{G}_i \rangle = \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \left\{ \frac{1}{n_{AT}!} \frac{d^{n_{AT}}}{dx^{n_{AT}}} [\lambda_1^{*n}(x) \hat{D}(x)] \right\} \Big|_{x=0}. \quad (2.2.1)$$

Затем используем формулу для вычетов

$$\text{Res } s(0) = \frac{1}{(m-1)!} \lim_{x \rightarrow 0} \frac{d^{m-1}}{dx^{m-1}} [x^m s(x)] = \frac{1}{2\pi i} \oint_R s(x) dx,$$

где  $x \in C$  а  $R$  является единичной окружностью вокруг точки  $x=0$  в комплексной плоскости.

$$\begin{aligned} \langle \text{Tr}_i \hat{G}_i \rangle &= \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \left\{ \frac{1}{n_{AT}!} \frac{d^{n_{AT}}}{dx^{n_{AT}}} [x^{n_{AT}+1} \left( \frac{\lambda_1^{*n}(x) \hat{D}(x)}{x^{n_{AT}+1}} \right)] \right\} = \\ &= \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \frac{1}{2\pi i} \oint_R \frac{\lambda_1^{*n}(x) \hat{D}(x)}{x^{n_{AT}+1}} dx = \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \frac{1}{2\pi i} \oint_R \frac{\lambda_1^{*n}(x) \hat{D}(x)}{x^{n(1-\varepsilon)} x} dx = \\ &= \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \frac{1}{2\pi i} \oint_R \left( \frac{\lambda_1^*(x)}{x^{(1-\varepsilon)}} \right)^n \frac{\hat{D}(x)}{x} dx = \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \frac{1}{2\pi i} \oint_R \exp \left[ n \ln \left( \frac{\lambda_1^*(x)}{x^{(1-\varepsilon)}} \right) \right] \frac{\hat{D}(x)}{x} dx \end{aligned} \quad (2.2.2)$$

Из этого выражения с использованием метода перевала получаем

$$\langle \text{Tr}_i \hat{G}_i \rangle \approx \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \left[ \frac{\lambda_1^*(x)}{x^{(1-q)}} \right]^n \frac{\hat{D}(x)}{x} \Big|_{x=y}.$$

у находится из условия экстремума

$$\frac{d}{dy} \left[ \frac{\lambda_1^*(y)}{y^{1-\varepsilon}} \right] = \frac{d}{dy} \left[ \frac{(1+y)}{y^{1-\varepsilon}} \lambda_1(y) \right]_{=0} \Rightarrow \frac{d}{d \ln y} [\ln(1+y) \lambda_1(y)] = 1-q.$$

Таким образом, для свободной энергии получаем

$$\begin{aligned} f &= -\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \langle \ln \text{Tr} \prod_i \hat{G}_i \rangle \approx -\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \ln \langle \text{Tr} \prod_{i=1}^n \hat{G}_i \rangle = \\ &= -\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \ln \left\{ \frac{1}{n_{AT}!} \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \frac{d^{n_{AT}}}{dx^{n_{AT}}} [\hat{G}_{GC} + x\hat{G}_{AT}]^n \Big|_{x=0} \right\} \approx \\ &= -\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \ln \left\{ \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \left( \frac{\lambda_1^*(x)}{x^{1-q}} \right)^n \frac{\hat{D}(x)}{x} \Big|_{x=y} \right\} = -\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \ln \binom{n}{n_{AT}}^{-1} \cdot \\ &= \lim_{n \rightarrow \infty} \ln \left( \frac{(1+x)\lambda_1(x)}{x^{1-q}} \right) \Big|_{x=y} - \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \frac{\hat{D}(x)}{x} \Big|_{x=y}. \end{aligned}$$

Используем формулу Стирлинга  $m! \approx m^m e^{-m}$  для первого члена, откуда

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \ln \binom{n}{n_{AT}}^{-1} = q \ln q + (1-q) \ln(1-q).$$

Третий член  $\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \frac{\hat{D}(x)}{x} \Big|_{x=y}$  из-за ограниченности  $\frac{\hat{D}(x)}{x}$ .

И, окончательно, получаем свободную энергию вида

$$\begin{cases} f(y) = -q \ln q - (1-q) \ln(1-q) - \ln \left[ \frac{(1+x)\lambda_1(x)}{x^{1-q}} \right] \Big|_{x=y} \\ \frac{d}{d \ln y} [\ln(1+y)\lambda_1(y)] = 1-q \end{cases} \quad (2.2.3)$$

Здесь  $\lambda_1(y)$  есть максимальное собственное число трансфер матрицы базовой

модели с переопределенным параметром  $W(y) = \frac{W_{GC} + yW_{AT}}{1+y}$ . Итак, проблема

гетерополимера сводится к фиктивной гомополимерной задаче.

### 2.3 Вековое уравнение

В нашей фиктивной гомополимерной задаче присутствует дополнительный нефизический параметр  $y$ , который должен быть исключен. Исключим  $y$  при помощи системы уравнений

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d \ln(1+y)\lambda_1(y)}{d \ln y} = 1 - q \\ W(y) = \frac{W_{GC} + yW_{AT}}{1+y} \\ W(\lambda) = \frac{\lambda^\Delta(\lambda - Q) + Q - 1}{\lambda^{\Delta-1}(\lambda - Q) + Q - 1} \end{array} \right. \quad (2.3.1)$$

Отсюда получаем уравнение на наибольшее собственное число фиктивной гомополимерной модели вида

$$\frac{qP_{GC} + (1-q)P_{AT}}{P_{GC} - P_{AT}} - \frac{1}{\lambda} \frac{P_{AT}P_{GC}}{\left(\frac{dP_{AT}}{d\lambda}P_{GC} - P_{AT}\frac{dP_{GC}}{d\lambda}\right)} = 0 \quad (2.3.2)$$

где  $P(\lambda) = \lambda^{\Delta-1}(\lambda - Q)(\lambda - W) - (Q - 1)(W - 1)$  есть характеристическое уравнение гомополимерной (базовой) модели. Формула (2.3.2) позволяет выразить и рассчитать  $\lambda_1(y)$  через гомополимерные параметры. В этом смысле назовем это уравнение вековым уравнением гетерополимера. Оно может быть переписано к виду

$$W - \bar{W} - \frac{(W - W_{AT})(W - W_{GC})}{\lambda \frac{dW}{d\lambda}} = 0 \quad (2.3.3)$$

где  $\bar{W} = qW_{GC} + (1-q)W_{AT}$ . Исследуем (2.3.3) используя известную информацию о базовой модели.

Так как  $W = g(T^{-1})$  есть статистический вес, то при низких температурах  $W > Q$ . Таким образом, интересующее нас максимальное собственное число  $\lambda_1 \approx W$ . При высоких температурах  $W < Q$  и  $\lambda_1 \approx Q$ .

Для исследования чистого вклада гетерогенности предположим переход в гомополимере фазовым. На языке базовой модели это означает, что  $\Delta \rightarrow \infty$ . Посмотрим, что произойдет с вековым уравнением гетерополимера в пределе  $\Delta \rightarrow \infty$ .

Из зависимости  $W = W(\lambda)$  имеем

$$W = \lambda - \frac{(\lambda - 1)(Q - 1)}{\lambda^{\Delta - 1}(\lambda - Q) + Q - 1};$$

$$\frac{dW}{d\lambda} = 1 - \frac{Q - 1}{\lambda^{\Delta - 1}(\lambda - Q) + Q - 1} + \frac{(\lambda - 1)(Q - 1)\lambda^{\Delta - 2}[(\Delta - 1)(\lambda - Q) + \lambda]}{[\lambda^{\Delta - 1}(\lambda - Q) + Q - 1]^2}. \quad (2.3.4)$$

При низких температурах (начало перехода)  $\frac{dW}{d\lambda} \xrightarrow{\Delta \rightarrow \infty} 1$  и из векового уравнения можно получить

$$W_{\text{low}T} = \frac{W_{AT}W_{GC}}{qW_{AT} + (1 - q)W_{GC}}. \quad (2.3.5)$$

При высоких же температурах

$$\lambda_1 \approx Q; \quad \frac{dW}{d\lambda} \xrightarrow{\Delta \rightarrow \infty} \infty \quad \text{и}$$

$$W_{\text{high}T} = \bar{W} = qW_{GC} + (1 - q)W_{AT} \quad (2.3.6)$$

## 2.4 Оценка свободной энергии

Вернемся обратно к свободной энергии и перепишем исходное выражение (6.7) к виду

$$f(y) = -q \ln q - (1 - q) \ln(1 - q) - \ln(1 + y) + (1 - q) \ln y - \ln \lambda_1. \quad (2.4.1)$$

Снова надо исключить  $y$ . Если поместить два значения  $W$  в выражение

$$W(y) = \frac{W_{GC} + yW_{AT}}{1 + y}, \quad \text{можно получить два предельных значения } y:$$

$$y_{\text{low}T} = \frac{1 - q}{q} \frac{W_{GC}}{W_{AT}}; \quad y_{\text{high}T} = \frac{1 - q}{q}. \quad (2.4.2)$$

Подставив их в свободную энергию, получаем

$$f(y_{\text{low}T}) = -\ln W_{GC}^q W_{AT}^{1-q} = -\left( q \frac{U_{GC}}{T} + (1-q) \frac{U_{AT}}{T} \right); \quad f(y_{\text{high}T}) = -\ln Q. \quad (2.4.3)$$

Полученные низко- и высокотемпературные аппроксимации согласуются с общими идеями. Если рассматривать свободную энергию

$$f = \frac{F}{NT} = \frac{U}{NT} - \frac{S}{N} = \frac{u}{T} - s$$

при низких и высоких температурах и сравнивать с нашими результатами, то  $\ln Q$  приобретает смысл энтропии на одну

повторяющуюся единицу, а  $-\ln W_{GC}^q W_{AT}^{1-q} = -\left( q \frac{U_{GC}}{T} + (1-q) \frac{U_{AT}}{T} \right)$  имеет смысл приведенной внутренней энергии.

## 2.5 Температура и интервал перехода

Точка перехода базовой модели определяется из равенства  $W=Q$ . По аналогии

$$\begin{cases} W_{\text{high}T} = q \exp\left[\frac{U_{GC}}{T_0}\right] + (1-q) \exp\left[\frac{U_{AT}}{T_0}\right] = Q, \\ W_{\text{low}T}^{-1} = q \exp\left[-\frac{U_{GC}}{T_1}\right] + (1-q) \exp\left[-\frac{U_{AT}}{T_1}\right] = Q^{-1}, \\ W_{AT} = \exp\left[\frac{U_{AT}}{T_{AT}}\right] = Q, \\ W_{GC} = \exp\left[\frac{U_{GC}}{T_{GC}}\right] = Q. \end{cases} \quad (2.5.1)$$

Здесь  $T_0$  и  $T_1$  есть точки перехода из высокотемпературного и низкотемпературного разложений, а  $T_{GC}$  и  $T_{AT}$  есть точки перехода для гомополимеров. Так как кривая  $W_{\text{high}T}$  всегда выше кривой  $W_{\text{low}T}$ , а обе эти кривые, будучи разными средними от  $W_{GC}$  и  $W_{AT}$ , находятся между ними, то температуры перехода удовлетворяют неравенству  $T_{AT} < T_1 < T_0 < T_{GC}$ . Учитывая,

что величина  $\left(\frac{1}{T_{AT}} - \frac{1}{T_{GC}}\right)$  мала, так как температуры плавления одного порядка,

можно разложить уравнения (6.17) по малым параметрам  $\left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_{GC}}\right)$  и

$\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{AT}}\right)$  и получить  $T_0$  и  $T_1$ . Вычисления показали [110-113], что при разложении до линейного члена для температуры плавления гетерополимера получаем

$$T_0 = T_1 = T_{hetero} = qT_{GC} + (1-q)T_{AT}. \quad (2.5.2)$$

Так как  $T_1$  соответствует температуре начала перехода, а  $T_0$  окончанию перехода, то их разница  $T_0 - T_1$  будет рассматриваться как интервал плавления гетерополимера. В линейном приближении эти температуры неразличимы, поэтому для получения интервала продолжим разложение до второго порядка. Таким образом получен интервал плавления для гетерополимера вида

$$\Delta T = T_0 - T_1 = 2q(1-q)T_{hetero} \ln Q \left( \frac{T_{GC} - T_{AT}}{T_{hetero}} \right)^2. \quad (2.5.3)$$

## ГЛАВА 3

### ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ-КЛУБОК ПРИ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПО ЭНЕРГИЯМ

В данной главе нами рассмотрена проблема перехода спираль–клубок с гетерогенностью по энергии образования пар оснований с использованием метода отжига с ограничениями (constrained annealing).

#### 3.1. Применение метода отжига с ограничениями к ОМЩ

Для исследования перехода спираль–клубок с гетерогенностью по энергиям может быть использован подход, разработанный M. Serva и G. Paladin в [29]. Следуя [29], свободная энергия системы с замороженной случайной последовательностью повторяющихся единиц может быть оценена на основании отожденного среднего статистической суммы с соответствующими ограничениями. Данный подход является вариационным и может быть реализован с использованием неопределенных множителей Лагранжа, служащих вариационными параметрами.

Неупорядоченные системы, подобные спиновым стеклам и случайным гетерополимерам, характеризуются двумя типами степеней свободы: отожденные, которые могут перестраиваться таким образом, чтобы минимизировать свободную энергию, и замороженные, которые могут рассматриваться как постоянные во времени. Для биополимеров в качестве отожденных степеней свободы рассматриваются конформации, а последовательность повторяющихся единиц – в качестве замороженных. Согласно [29] свободная энергия может быть оценена как:

$$f \geq g(T, \mu) \geq f_A, \quad (3.1.1)$$

где  $f$  и  $f_A$  – замороженная и отоженная свободная энергия из расчета на повторяющуюся единицу, соответственно

$$g(T, \mu) = -\frac{1}{N} k_B T \ln \langle Z(seq) e^{-N\mu \alpha(seq)} \rangle_{av}. \quad (3.1.2)$$

Здесь  $Z(seq)$  – статистическая сумма биополимера с замороженной реализацией последовательности  $seq$ , а  $\alpha(seq)$  – соответствующая самоусредняемая замороженная величина. Здесь  $\langle O \rangle_{av}$  означает среднее по функции распределения для последовательности. В дальнейшем, мы будем называть данный подход методом "отжига с ограничениями".

### 3.2. Модель гетерополимера

Рассмотрим гетерополимер, состоящий из повторяющихся единиц двух сортов, например, для ДНК  $GC$  и  $AT$  пар. Таким образом, мы представим гетерополимер как случайную последовательность повторяющихся единиц типа  $A$  и  $B$ , с энергиями водородных связей  $E_A$  и  $E_B$ . При этом предполагается, что сорта мономеров выбираются статистически–независимо, а функция распределения факторизуется в виде

$$P\{E\} = \prod_{i=1}^N [q\delta(E_i - E_A) + (1-q)\delta(E_i - E_B)]. \quad (3.2.1)$$

Свободная энергия такой системы выражается в виде

$$F = -k_B T \left\langle \ln Sp \prod_{i=1}^N G(E_i) \right\rangle_{av}. \quad (3.2.2)$$

Здесь усреднение  $\langle \dots \rangle_{av}$  производится с функцией распределения (3), где  $G(E_i)$  – трансфер–матрица для гомополимерного случая:

$$G(E_i) = \begin{cases} G(E_A), & \text{если } i\text{-й мономер будет сорта } A \\ G(E_B), & \text{если } i\text{-й мономер будет сорта } B \end{cases} \quad (3.2.3)$$

Введем ограничение типа (3.1.2) простейшим возможным способом. Пусть

$$\alpha\{E\} = \frac{1}{N} \sum_i (E_i - \langle E \rangle_{av}), \quad (3.2.4)$$

где  $\langle E \rangle_{av} = qE_A + (1-q)E_B$  есть среднее значение энергии, а  $\alpha\{E\}$  показывает отличие энергии заданной последовательности от ее средней энергии. Здесь мы обозначили через  $q$  концентрацию звеньев в цепи, т.е. вероятность найти повторяющуюся единицу  $A$  в случайно выбранном месте. Тогда  $(1-q)$  есть концентрация  $B$  звеньев. В силу статистической независимости сортов мономеров, среднее от произведения матриц в (3.2.2) распадается на произведение средних матриц вида

$$\langle G(E) \rangle = qe^{-\mu\alpha(E_A)}G(E_A) + (1-q)e^{-\mu\alpha(E_B)}G(E_B), \quad (3.2.5)$$

или, перейдя к приведенной энергии,

$$\langle G(J) \rangle = qe^{\mu J_A - \mu\langle J \rangle}G(J_A) + (1-q)e^{\mu J_B - \mu\langle J \rangle}G(J_B), \quad (3.2.6)$$

где  $J_i = -\frac{E_i}{k_B T}$ . В рамках ОМПЦ [23,24] трансфер-матрица для гомополимера

имеет вид

$$\hat{G}(J_i) = \begin{pmatrix} e^{J_i} & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & Q-1 \end{pmatrix}, \quad (3.2.7)$$

где  $i = A, B$ .

### 3.3 Вычисление усредненной трансфер матрицы

Процедура усреднения трансфер-матрицы для гетерополимера, согласно (3.2.6), использует приведенную энергию  $J_i$  и ее среднее значение  $\langle J \rangle$ . В трансфер-матрице  $G(J_i)$  только элемент (11) зависит от приведенной энергии  $J_i$ , остальные от нее не зависят. Усредним элемент 11 матрицы  $G(J_i)$ :

$$\begin{aligned}
\langle G(J) \rangle_{11} &= qe^{\mu J_A} e^{J_A} + (1-q)e^{\mu J_B} e^{J_B} = \\
&= qe^{(\mu+1)J_A} + (1-q)e^{(\mu+1)J_B} = \\
&= qe^{(1+\mu)J_A} + (1-q)e^{(1+\mu)J_B} = \\
&= \langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle.
\end{aligned} \tag{3.3.1}$$

Все остальные элементы матрицы  $G(J_i)$  постоянны. Обозначим их через  $c$ , где

$$c = \begin{cases} 0 \\ 1 \\ Q-1 \end{cases} :$$

$$\langle c \rangle = qe^{\mu J_A} c + (1+q)e^{\mu J_B} c = \langle e^{\mu J} \rangle c. \tag{3.3.2}$$

После выноса за скобки выражения  $\langle e^{\mu J} \rangle$ , усредненная матрица будет иметь следующий вид:

$$\langle G(J) \rangle = \langle e^{\mu J_i} \rangle \begin{pmatrix} e^{\tilde{J}} & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & Q-1 \end{pmatrix}. \tag{3.3.3}$$

Таким образом усредненная матрица с точностью до множителя совпадает с трансфер-матрицей гомополимера с переопределенным энергетическим параметром  $\tilde{e}^J$ , где

$$e^{\tilde{J}} = \frac{\langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle}{\langle e^{\mu J_i} \rangle} = W. \tag{3.3.4}$$

Подставив уравнение (3.3.4) в (3.3.3), получим

$$\langle G(J_i) \rangle = e^{-\mu(J)} \langle e^{\mu J_i} \rangle G(\tilde{J}) \tag{3.3.5}$$

### 3.4 Свободная энергия и характеристическое уравнение

Подставив уравнение (3.3.5) в (3.2.2), получим выражение для свободной энергии:

$$\begin{aligned} F &= k_B T \ln Sp \langle G(J) \rangle = \\ &= -k_B T \ln Sp \left( e^{-\mu \langle J \rangle} \langle e^{\mu_i} \rangle G(\tilde{J}) \right) = \\ &Nk_B T \mu \langle J \rangle - Nk_B T \ln \langle e^{\mu_i} \rangle - Nk_B T \ln \lambda_1(\tilde{J}), \end{aligned} \quad (3.4.1)$$

или

$$-\frac{F}{Nk_B T} = -\mu \langle J \rangle + \ln \langle e^{\mu_i} \rangle + \ln \lambda_1(\tilde{J}), \quad (3.4.2)$$

где  $\lambda_1(\tilde{J})$  – главное собственное число трансфер–матрицы  $G$ , как функции от переопределенного параметра  $\tilde{J}$ . Поскольку выражение (3.4.2) дает нижнюю оценку свободной энергии цепи с замороженной последовательностью, нам необходимо найти максимум свободной энергии (3.4.2) по параметру  $\mu$ . Для этого мы должны решить следующее уравнение:

$$\frac{\partial}{\partial \mu} \left( -\frac{F}{Nk_B T} \right) = 0, \quad (3.4.3)$$

$$-\langle J \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} \left( \ln \langle e^{\mu_i} \rangle \right) + \frac{\partial \ln \lambda_1(\tilde{J})}{\partial \ln e^{\tilde{J}}} \frac{\partial \ln e^{\tilde{J}}}{\partial \mu} = 0, \quad (3.4.4)$$

$$-\langle J \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} \left( \ln \langle e^{\mu_i} \rangle \right) + \theta \frac{\partial \ln e^{\tilde{J}}}{\partial \mu} = 0. \quad (3.4.5)$$

Принимая во внимание выражение (3.3.4), из (3.4.5) получим

$$-\langle J \rangle + \theta \frac{\partial \ln \langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle}{\partial \mu} + (1-\theta) \frac{\partial \ln \langle e^{\mu_i} \rangle}{\partial \mu} = 0, \quad (3.4.6)$$

$$\langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle = qe^{(1+\mu)J_A} + (1-q)e^{(1+\mu)J_B}. \quad (3.4.7)$$

Отсюда с учетом тождества

$$\langle J \rangle = \theta \langle J \rangle + (1-\theta) \langle J \rangle \quad (3.4.8)$$

получим

$$\theta \frac{e^{(1+\mu)J_A} - e^{(1+\mu)J_B}}{qe^{(1+\mu)J_A} + (1-q)e^{(1+\mu)J_B}} + (1-\theta) \frac{e^{\mu J_A} - e^{\mu J_B}}{qe^{\mu J_A} + (1-q)e^{\mu J_B}} = 0. \quad (3.4.9)$$

Из формул (3.3.4) и (3.4.9) можно исключить  $\mu$  и окончательно получить

$$W^2(1-\theta) - W(E^{J_A}(q-\theta) + e^{J_B}(1-\theta-q)) - \theta e^{J_A} e^{J_B} = 0. \quad (3.4.10)$$

Таким образом, в уравнении (3.4.10) связаны между собой величины  $W$ ,  $\theta$  и  $J_i$ , причем  $W$  и  $\theta$  определяются гомополимерными соотношениями, которые могут быть получены из базовой модели ОМПЦ.

### 3.5 Результаты и обсуждение

Для упрощения решения задачи предположим, что интервал перехода спираль–клубок в гомополимере пренебрежимо мал по сравнению с гетерополимером. Таким образом, мы можем его представить ступенькой, и степень спиральности, в зависимости от энергетического параметра  $W$  будет иметь вид, представленный на рис. 3.5.1.

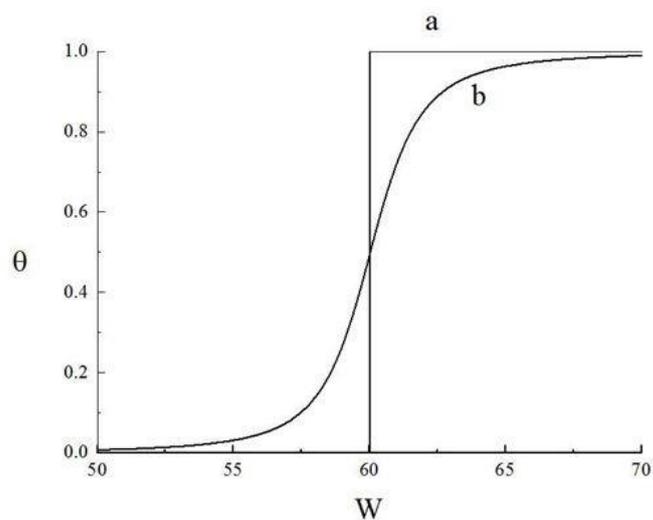


Рис. 3.5.1 Зависимость  $\Theta(W)$  для гомополимера при пренебрежении интервалом плавления в гомополимере (а) и при его учете (б). ( $Q = 60$ )

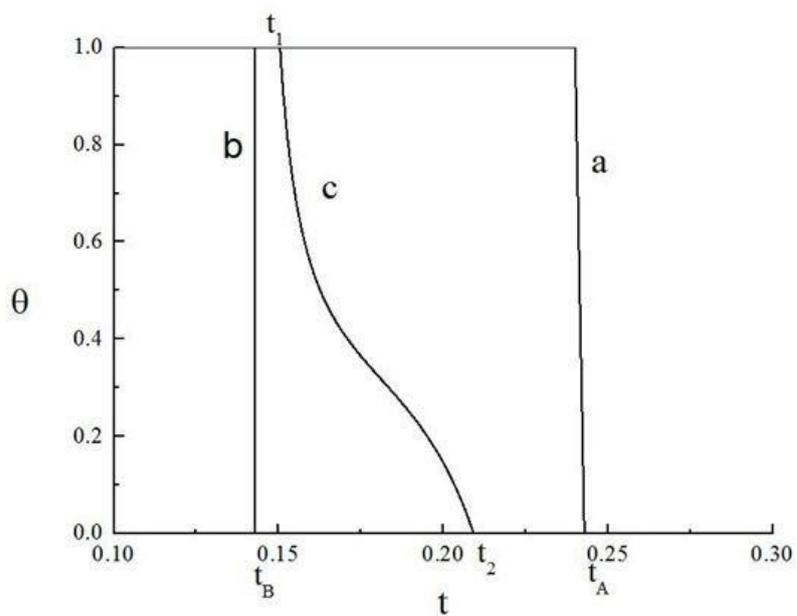


Рис 3.5.2 Температурные зависимости степени спиральности для гетерополимера (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (б) при пренебрежении интервалом плавления для гетерополимера  $q=0.3$ .

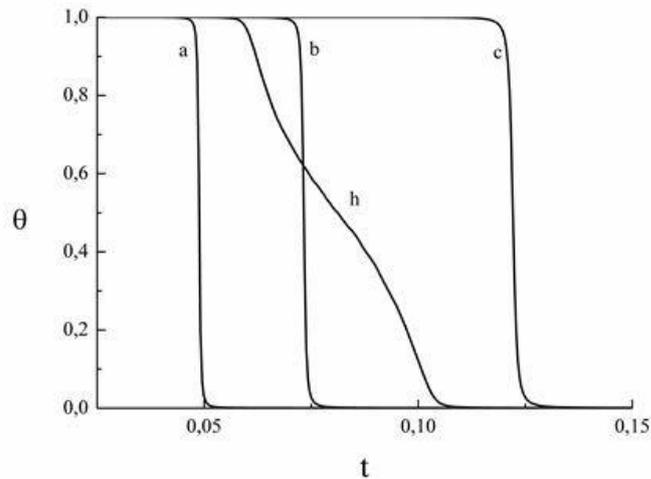


Рис 3.5.3 Температурные зависимости степеней спиральности для гетерополимера (h) и гомополимеров (a, b, c).

Рассмотрим случай, когда  $W < Q$ ,  $\theta = 0$ . Подставим значение  $\theta$  в уравнение (3.4.10):

$$W = qe^{J_A} + (1-q)e^{J_B} \quad (3.5.1)$$

То есть при  $W < Q$  преобразованное  $W$  от гомополимера к гетерополимеру определяется как  $W = \langle e^J \rangle$ . Как только  $W = Q$ , система начинает плавиться. Найдем соответствующую температуру. Для этого подставим  $W = Q$  в уравнение (3.5.1):

$$qe^{J_A} + (1-q)e^{J_B} = Q. \quad (3.5.2)$$

При  $W > Q$   $\theta = 1$ , и формула (3.4.10) перейдет в

$$W = \frac{e^{J_A}e^{J_B}}{(1-q)e^{J_A} + qe^{J_B}} \quad (3.5.3)$$

или  $W^{-1} = \langle e^{-J} \rangle$ . То есть при  $W > Q$  усредняются обратные величины  $e^J$ . Этот результат изменения способа усреднения температурного параметра  $W$  при низко- и высокотемпературном разложении свободной энергии ранее был получен методом микроканонического усреднения [28].

Итак, если  $W \leq Q$ , то  $W = \langle e^J \rangle$ , а если  $W \geq Q$ , то  $W^{-1} = \langle e^{-J} \rangle$ . Поскольку  $\langle e^{-J} \rangle^{-1} \neq \langle e^J \rangle$ , то соотношения  $W = Q \pm \varepsilon$ , где  $\varepsilon \rightarrow 0$ , не совпадают. Следовательно, несмотря на то, что переход для гомополимера происходит в нулевом температурном интервале, переход в гетерополимере происходит в ненулевом температурном интервале.

Выясним, как ведет себя степень спиральности в интервале перехода, т.е. когда  $T_B < T < T_A$ . Ясно, что в этом температурном интервале  $W = Q$ . Тогда уравнение (3.4.10) запишется в виде

$$Q^2(1-\theta) - Q(e^{J_A}(q-\theta) + e^{J_B}(1-q-\theta)) - \theta e^{J_A J_B} = 0. \quad (3.5.4)$$

Отсюда получается зависимость  $\theta(T)$  :

$$\theta = \frac{q}{\frac{e^{J_A}}{Q} - 1} + \frac{1-q}{\frac{e^{J_B}}{Q} - 1}. \quad (3.5.5)$$

Таким образом каждому значению  $\theta$  соответствует своя температура и из выражения (3.5.5) можно получить кривую плавления для гетерополимера. На рис. 3.5.2 представлены кривые зависимости  $\theta(t)$  степеней спиральности от приведенной температуры для гомополимера  $A$ , с температурой перехода  $t_A$  и гомополимера  $B$  с температурой перехода  $t_B$ . Приведенная температура определяется соотношением  $\frac{U_B}{T} = \frac{1}{t}$ ,  $\frac{U_A}{T} = \frac{u}{t}$ . Температуры перехода определяются соотношением  $e^{J_i} = Q$ . На том же графике отмечены точки начала перехода  $t_1$ , определяемом соотношением  $W = Q + \varepsilon$ , что соответствует

$$qe^{J_A} + (1-q)e^{J_B} = Q, \quad (3.5.6)$$

и  $t_2$  для  $W = Q - \varepsilon$ , что соответствует

$$qe^{-J_A} + (1-q)e^{-J_B} = \frac{1}{Q}. \quad (3.5.7)$$

На рис.3.5.4 показана дифференциальная кривая плавления для гетерополимера в тех же обозначениях.

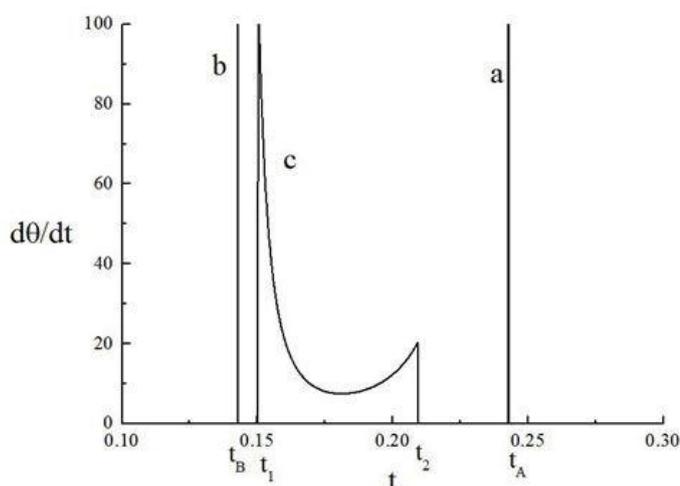


Рис 3.5.4 Дифференциальная кривая плавления для гетерополимера (c) и гомополимеров PolyA (a) и PolyB (b) при пренебрежении интервалом плавления для гетерополимера.

Теперь учтем интервал перехода гомополимера. В рамках ОМПЦ степень спиральности [23-27] определяется соотношением

$$\theta = \frac{(UG'V)_{11}}{\lambda_1}. \quad (3.5.8)$$

Здесь  $U$  и  $V$  – левые и правые собственные векторы матрицы  $G$ , матрица  $G'$  определяется как матрица  $G$  с элементами  $G'_{ij} = G_{ij}\delta(i,1)\delta(j,1)$ ,  $\lambda_1$  – максимальное собственное число для матрицы  $G$ . Зависимость  $\theta(W)$  для гомополимера представлена на рис.3.5.1. Таким образом, в уравнении (3.4.10) зависимость  $\theta(W)$  представляется выражением (3.5.8), и для каждой пары  $(W_i, \theta_i)$  из

уравнения (3.4.10) можно определить соответствующую температуру  $t_i$  для гетерополимера. На рис. 3.5.3 приведены кривые плавления гомо- и гетерополимеров. Видно уширение интервала плавления для случая гетерополимера. Более того, на дифференциальной кривой плавления гетерополимера (рис. 3.5.4) явственно видны два пика.

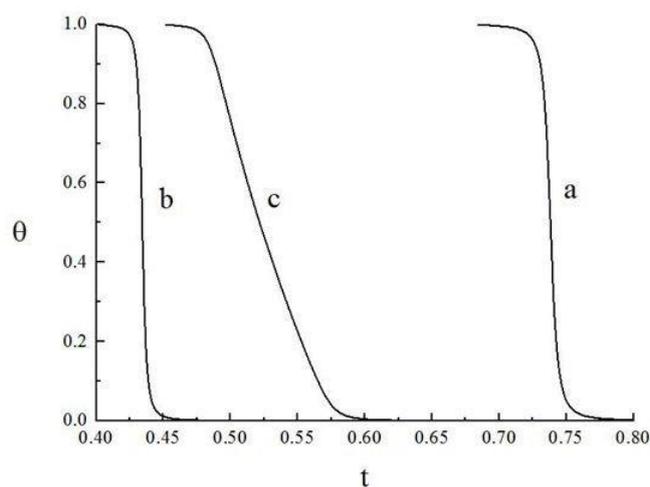


Рис 3.5.5 Температурные зависимости степени спиральности для гетерополимера (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (b) при учете интервала плавления для гетерополимера.

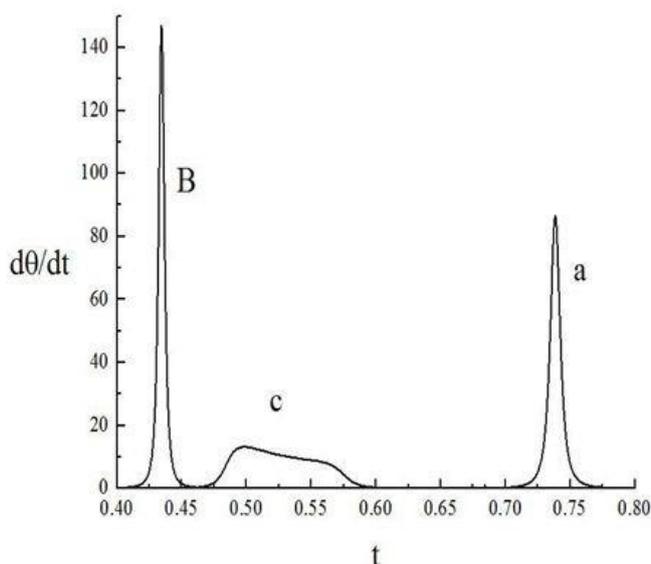


Рис 3.5.6 Дифференциальные кривые плавления для гетерополимера (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (b) при учете интервала плавления для гетерополимера.

Наличие нескольких пиков (тонкая структура) на ДКП исследовалось как теоретически, так и экспериментально в ряде работ [5–7,31,32]. В рамках нашей модели наличие тонкой структуры в ее минимальном проявлении наблюдается у случайного гетерополимера при простейших предположениях о последовательности (два типа повторяющихся единиц).

Как известно [23-27], корреляционная длина определяется выражением

$$\xi = \left( \ln \frac{\lambda_1}{\lambda_2} \right)^{-1}. \quad (3.5.9)$$

Таким образом, используя формулы (3.4.10) и (3.5.9) можно построить температурные зависимости корреляционной длины для гетерополимера аналогично тому, как была получена зависимость степени спиральности  $\theta$ . На рис.3.5.6 показано поведение корреляционной длины в зависимости от температуры для гомополимеров А и В, и для гетерополимера. Из рисунка следует, что гетерополимерные кривые  $\xi(t)$  аналогичны гомополимерным, только они значительно шире и располагаются между гомополимерными. Таким образом в гетерополимере, по сравнению с гомополимером, не подавляются корреляции, а, напротив, они существуют в том же масштабе, но в широком температурном диапазоне. Следовательно, сравнивая рис. 3.5.5, 3.5.6 и 3.5.7, можно утверждать, что понижение максимума кривой ДКП не сопровождается потерей кооперативности и, следовательно, увеличение интервала плавления не является критерием потери кооперативности. Аналогичные результаты нами были получены и ранее [30] для других систем. Для выяснения механизма корреляции в гетерополимере необходимо дальнейшее исследование, как это было сделано в [30].

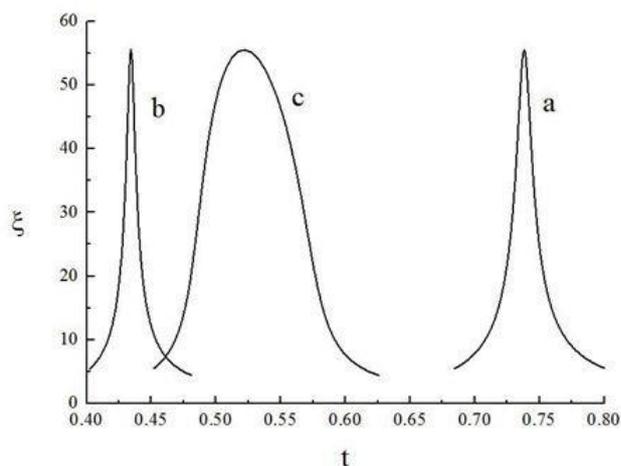


Рис 3.5.7 Температурные зависимости корреляционной длины для гетерополимера (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (b).

Рассмотрена теория перехода спираль–клубок в ДНК, гетерополимерной по энергии образования водородных связей. Теория основана на Обобщенной модели полипептидной цепи (ОМПЦ) с применением метода отжига с ограничениями (constrained annealing). Получено выражение для свободной энергии гетерополимера через трансфер–матрицу гомополимерной ОМПЦ с переопределенным энергетическим параметром. Получен способ вычисления уширения интервала плавления в зависимости от GC состава и энергий водородных связей для AT и GC пар. На дифференциальной кривой плавления (ДКП) обнаружено 2 максимума. Высказано первоначальное предположение, что можно объяснить наличие тонкой структуры ДКП в системе со случайной последовательностью.

# ГЛАВА 4

## ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ-КЛУБОК ПРИ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПО ЧИСЛУ КОНФОРМАЦИЙ

### 4.1 Постановка задачи

Аналогично предыдущей задаче, рассмотрим гетерополимер, состоящий из повторяющихся единиц  $n$  сортов, которые различаются числом конформаций, доступных одной повторяющейся единицы. Представим гетерополимер как случайную последовательность повторяющихся единиц типа  $A_k$ , с числами конформаций  $Q_{A_k}$ , где  $k=1,2,\dots,n$ . Для удобства дальнейших вычислений, обозначим  $Q_{A_k} - 1 = e^{L_k}$  ( $L_k = \ln(Q_{A_k} - 1)$ ). Таким образом, трансфер-матрица для гомополимера в рамках ОМПЦ [23,24] имеет вид

$$G(L_i) = \begin{pmatrix} e^J & 1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & e^{L_i} \\ 1 & 1 & 1 & \dots & e^{L_i} \end{pmatrix}. \quad (4.1.1)$$

Как и в предыдущей задаче, предполагается, что сорта повторяющихся единиц выбираются статистически независимо, а функция распределения факторизуется в виде

$$P\{L\} = \prod_{i=1}^N \sum_{k=1}^n q_k \delta(L_i - L_{A_k}). \quad (4.1.2)$$

Для бимодального случая для гомополимерного случая

$$G(E_i) = \begin{cases} G(K_A) & \text{если } i - \text{й мономер в конформации } K_A \\ G(K_B) & \text{если } i - \text{й мономер в конформации } K_B \end{cases} \quad (4.1.3)$$

Свободная энергия такой системы выражается в виде

$$F = -k_B T \left\langle \ln \text{Sp} \prod_{i=1}^N G(L_i) \right\rangle_{\text{av.}} \quad (4.1.4)$$

Здесь усреднение  $\langle \dots \rangle_{\text{av.}}$  производится с функцией распределения (4.1.2), где  $G(L_i)$  – трансфер–матрица для гомополимерного случая, которая может принимать  $n$  значений:

$$G(L_i) = \sum_{k=1}^n G(L_{A_k}) \delta(L_i - L_{A_k}) \quad (4.1.5)$$

Введем ограничение аналогично тому, как это сделано для гетерогенности по энергиям:

$$\beta\{L\} = \frac{1}{N} \sum_i (L_i - \langle L \rangle_{\text{av.}}), \quad (4.1.6)$$

где  $\langle L \rangle_{\text{av.}} = \sum_{k=1}^n q_k L_{A_k}$ , а  $q_k$ , как всегда – концентрация  $A_k$  звеньев в цепи. В силу статистической независимости сортов мономеров, среднее от произведения матриц распадается на произведение средних матриц вида

$$\langle G(L) \rangle = \sum_{k=1}^n q_k e^{-\mu \beta(L_{A_k})} G(L_{A_k}). \quad (4.1.7)$$

## 4.2 Усреднение трансфер матрицы

Произведя процедуру усреднения аналогично предыдущей задаче, получим для бимодального случая.

В трансфер-матрице  $G(K_i)$  элементы  $\Delta\Delta$  и  $(\Delta - 1)\Delta$  зависят от конформации  $K_i$ , остальные от нее не зависят. Усредним элемент  $\Delta\Delta$  матрицы  $G(K_i)$ :

$$\begin{aligned} \langle G(J) \rangle_{\Delta\Delta} &= e^{K_i} \Rightarrow \\ \langle G(K) \rangle_{\Delta\Delta} &= q e^{-\mu K_A} e^{K_A} + (1 - q) e^{\mu K_B} e^{K_B} = \\ &= q e^{(1-\mu)K_A} + (1 - q) e^{(1-\mu)K_B} = \langle e^{(1-\mu)K_i} \rangle. \end{aligned} \quad (4.2.1)$$

Как видно из (2.36) элементы  $\Delta\Delta$  и  $(\Delta - 1)\Delta$  равны, отсюда следует, что

$$\langle G(J) \rangle_{(\Delta-1)\Delta} = e^{K_i} = \langle e^{(1-\mu)K_i} \rangle. \quad (4.2.2)$$

Все остальные элементы матрицы  $G(K_i)$  постоянны. Обозначим их через  $c$ , где

$$c = \begin{cases} 0 \\ 1 \\ e^J \end{cases}$$

$$\langle c \rangle = qe^{-\mu K_A} c + (1-q)e^{-\mu K_B} c = \langle e^{-\mu K_i} \rangle c. \quad (4.2.3)$$

После выноса за скобки выражения  $\langle e^{-\mu K_i} \rangle$ , усредненная матрица будет иметь следующий вид:

$$\langle G(K) \rangle = \langle e^{-\mu K_i} \rangle \begin{pmatrix} e^J & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & e^{\tilde{K}} \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & e^{\tilde{K}} \end{pmatrix}; \quad (4.2.4)$$

Т.е. усредненная матрица с точностью до множителя совпадает с трансфер матрицей гомополимера с переопределенным конформационным параметром  $e^{\tilde{K}}$ .

А для общего случая

$$\langle G(L) \rangle = e^{\mu \langle L \rangle} \langle e^{-\mu L_{A_k}} \rangle G(\tilde{L}), \quad (4.2.5)$$

где  $G(\tilde{L})$  - трансфер-матрица гомополимерной модели с переопределенным энтропийным параметром

$$e^{\tilde{L}} = \frac{\sum_{k=1}^n q_k e^{(1-\mu)L_{A_k}}}{\sum_{k=1}^n q_k e^{-\mu L_{A_k}}}. \quad (4.2.6)$$

Отсюда, получим выражение для свободной энергии

$$F = -NKT\mu \langle L \rangle - NKT \ln \langle e^{-\mu L_{A_k}} \rangle - NKT \ln \lambda_1(\tilde{L}), \quad (4.2.7)$$

и для приведенной свободной энергии,

$$g(T, \mu) = -\frac{F}{NKT} = \mu \langle L \rangle + \ln \langle e^{-\mu L_{A_k}} \rangle + \ln \lambda_1(\tilde{L}). \quad (4.2.8)$$

В трансфер-матрице  $G(K_i)$  элементы  $\Delta\Delta$  и  $(\Delta - 1)\Delta$  зависят от конформации  $K_i$ , остальные от нее не зависят. Усредним элемент  $\Delta\Delta$  матрицы  $G(K_i)$ :

$$\begin{aligned} \langle G(J) \rangle_{\Delta\Delta} &= e^{K_i} \Rightarrow \\ \langle G(K) \rangle_{\Delta\Delta} &= qe^{-\mu K_A} e^{K_A} + (1 - q)e^{\mu K_B} e^{K_B} = \\ &= qe^{(1-\mu)K_A} + (1 - q)e^{(1-\mu)K_B} = \langle e^{(1-\mu)K_i} \rangle. \end{aligned} \quad (4.2.9)$$

Как видно из (2.36) элементы  $\Delta\Delta$  и  $(\Delta - 1)\Delta$  равны, отсюда следует, что

$$\langle G(J) \rangle_{(\Delta-1)\Delta} = e^{K_i} = \langle e^{(1-\mu)K_i} \rangle. \quad (4.2.10)$$

Все остальные элементы матрицы  $G(K_i)$  постоянны. Обозначим их через  $c$ , где

$$c = \begin{cases} 0 \\ 1 \\ e^J \end{cases}$$

$$\langle c \rangle = qe^{-\mu K_A} c + (1 - q)e^{-\mu K_B} c = \langle e^{-\mu K_i} \rangle c. \quad (4.2.11)$$

После выноса за скобки выражения  $\langle e^{-\mu K_i} \rangle$ , усредненная матрица будет иметь следующий вид:

$$\langle G(K) \rangle = \langle e^{-\mu K_i} \rangle \begin{pmatrix} e^J & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & e^{\tilde{K}} \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & e^{\tilde{K}} \end{pmatrix}; \quad (4.2.12)$$

Т.е. усредненная матрица с точностью до множителя совпадает с трансфер матрицей гомополимера с переопределенным конформационным параметром  $e^{\tilde{K}}$ , где

$$e^{\tilde{K}} = \frac{\langle e^{(1-\mu)K_i} \rangle}{\langle e^{-\mu K_i} \rangle} = \tau. \quad (4.2.13)$$

### 4.3 Свободная энергия

Усредненная трансфер матрица будет иметь вид.

$$\langle G(K_i) \rangle = e^{\mu \langle K \rangle} \langle e^{-\mu K_i} \rangle G(\tilde{K}), \quad (4.3.1)$$

где  $G(\tilde{K})$  трансфер-матрица базовой модели с переопределенным  $K$ .

А для свободной энергии

$$\begin{aligned}
 F &= -k_B T \ln Sp \langle G(K) \rangle = \\
 &= -k_B T \ln Sp \left( e^{\mu \langle K \rangle} \langle e^{-\mu K_i} \rangle G(\tilde{K}) \right) = \\
 &= -Nk_B T \mu \langle K_i \rangle - Nk_B T \ln \langle e^{-\mu K_i} \rangle - Nk_B T \ln \lambda_1(\tilde{K}).
 \end{aligned} \tag{4.3.2}$$

Отсюда следует

$$-\frac{F}{Nk_B T} = \mu \langle K_i \rangle + \ln \langle e^{-\mu K} \rangle + \ln \lambda_1(\tilde{K}), \tag{4.3.3}$$

где  $\lambda_1(\tilde{K})$  – главное собственное число трансфер-матрицы  $G$ , как функции от переопределенного параметра  $\tilde{K}$ . Далее нам необходимо найти максимум свободной энергии по параметру  $\mu$ . Получим

$$\langle K_i \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln \langle e^{-\mu K_i} \rangle) + \frac{\partial \ln \lambda_1(\tilde{K})}{\partial \mu} = 0. \tag{4.3.4}$$

отсюда

$$\langle K_i \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln \langle e^{-\mu K_i} \rangle) + \frac{\partial \ln \lambda_1(\tilde{K})}{\partial \ln e^{\tilde{K}}} \frac{\partial \ln e^{\tilde{K}}}{\partial \mu} = 0. \tag{4.3.5}$$

Как известно  $\frac{\partial \ln \lambda_1(K)}{\partial \ln e^{\tilde{K}}} = \frac{\partial \ln \lambda_1(K)}{\partial \tilde{K}} = (1 - \kappa)$ , следовательно

$$\langle K \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln \langle e^{-\mu K} \rangle) + (1 - \kappa) \frac{\partial \ln e^{\tilde{K}}}{\partial \mu} = 0. \tag{4.3.6}$$

Поскольку  $\ln e^{\tilde{K}} = \ln \langle e^{(1-\mu)K} \rangle - \ln \langle e^{-\mu K} \rangle$ , то получим

$$\begin{aligned}
 \langle K \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln \langle e^{-\mu K} \rangle) + (1 - \kappa) \left( \frac{\partial \ln \langle e^{(1-\mu)K} \rangle}{\partial \mu} - \frac{\partial \ln \langle e^{-\mu K} \rangle}{\partial \mu} \right) &= 0 \Rightarrow \\
 \langle K \rangle + (1 - \kappa) \frac{\partial \ln \langle e^{(1-\mu)K} \rangle}{\partial \mu} + \kappa \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln \langle e^{-\mu K} \rangle) &= 0.
 \end{aligned} \tag{4.3.7}$$

#### 4.4 Характеристическое уравнение

Откуда с учетом тождества  $\langle K \rangle = \kappa \langle K \rangle + (1 - \kappa) \langle K \rangle$  получим

$$\kappa \langle K \rangle + (1 - \kappa) \langle K \rangle + (1 - \kappa) \frac{\partial \ln \langle e^{(1-\mu)K} \rangle}{\partial \mu} + \kappa \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln \langle e^{-\mu K} \rangle) = 0 \Rightarrow$$

$$\begin{aligned}
& \kappa \left( \langle K \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln(e^{-\mu K})) \right) + (1 - \kappa) \left( \langle K \rangle + \frac{\partial \ln(e^{(1-\mu)K})}{\partial \mu} \right) = 0 \Rightarrow \\
& \kappa \left( \langle K \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} (\ln(qe^{-\mu K_A} + (1-q)e^{-\mu K_B})) \right) + \\
& + (1 - \kappa) \left( \langle K \rangle + \frac{\partial \ln(qe^{(1-\mu)K_A} + (1-q)e^{(1-\mu)K_B})}{\partial \mu} \right) = 0 \Rightarrow \\
& \kappa \left( \langle K \rangle + \frac{q(-K_A)e^{-\mu K_A} + (1-q)(-K_B)e^{-\mu K_B}}{qe^{-\mu K_A} + (1-q)e^{-\mu K_B}} \right) + \\
& + (1 - \kappa) \left( \langle K \rangle + \frac{q(-K_A)e^{(1-\mu)K_A} + (1-q)(-K_B)e^{(1-\mu)K_B}}{qe^{(1-\mu)K_A} + (1-q)e^{(1-\mu)K_B}} \right) = 0
\end{aligned} \tag{4.4.1}$$

Подставляя  $\langle K \rangle = qK_A + (1-q)K_B$  в (4.4.1) получим

$$\begin{aligned}
& \kappa \left( qK_A + (1-q)K_B - \frac{qK_Ae^{-\mu K_A} + (1-q)K_Be^{-\mu K_B}}{qe^{-\mu K_A} + (1-q)e^{-\mu K_B}} \right) + \\
& + (1 - \kappa) \left( qK_A + (1-q)K_B - \frac{qK_Ae^{(1-\mu)K_A} + (1-q)K_Be^{(1-\mu)K_B}}{qe^{(1-\mu)K_A} + (1-q)e^{(1-\mu)K_B}} \right) = 0 \\
& \frac{\kappa q(1-q)(K_B - K_A)(e^{-\mu K_A} - e^{-\mu K_B})}{qe^{-\mu K_A} + (1-q)e^{-\mu K_B}} + \\
& + \frac{(1-\kappa)q(1-q)(K_B - K_A)(e^{(1-\mu)K_A} - e^{(1-\mu)K_B})}{qe^{(1-\mu)K_A} + (1-q)e^{(1-\mu)K_B}} = 0 \\
& \Rightarrow \frac{\kappa(e^{-\mu K_A} - e^{-\mu K_B})}{qe^{-\mu K_A} + (1-q)e^{-\mu K_B}} = - \frac{(1-\kappa)(e^{(1-\mu)K_A} - e^{(1-\mu)K_B})}{qe^{(1-\mu)K_A} + (1-q)e^{(1-\mu)K_B}}.
\end{aligned} \tag{4.4.2}$$

Введем обозначение

$$\tau = \frac{qe^{(1-\mu)K_A} + (1-q)e^{(1-\mu)K_B}}{qe^{-\mu K_A} + (1-q)e^{-\mu K_B}} \tag{4.4.3}$$

получим

$$\frac{\kappa}{(1-\kappa)} \tau = - \frac{e^{K_A} - e^{K_B} e^{\mu(K_A - K_B)}}{1 - e^{\mu(K_A - K_B)}}. \tag{4.4.4}$$

Исключим  $\mu$  из (4.4.3) и (4.4.4).

$$\begin{aligned}
\tau(q + (1 - q)e^{\mu(K_A - K_B)}) &= qe^{K_A} + (1 - q)e^{K_B}e^{\mu(K_A - K_B)} \Rightarrow \\
\tau q + \tau(1 - q)e^{\mu(K_A - K_B)} &= qe^{K_A} + (1 - q)e^{K_B}e^{\mu(K_A - K_B)} \Rightarrow \\
(\tau - e^{K_B})(1 - q)e^{\mu(K_A - K_B)} &= q(e^{K_A} - \tau) \Rightarrow \\
e^{\mu(K_A - K_B)} &= \frac{q(e^{K_A} - \tau)}{(\tau - e^{K_B})(1 - q)}.
\end{aligned}$$

И окончательно

$$\kappa\tau^2 - \tau e^{K_A}(+q - 1) - \tau e^{K_B}(\kappa - q) - e^{K_A}e^{K_B}(1 - \kappa) = 0. \quad (4.4.5)$$

Таким образом, в уравнении (4.4.5) связаны между собой величины  $\tau$ ,  $\kappa$  и  $K_i$ , причем величины  $\tau$  и  $\kappa$  определяются гомополимерным соотношением, которые могут быть получены из базовой модели ОМПЦ.

#### 4.5 Результаты и обсуждение

Степень спиральности  $\theta$  в рамках ОМПЦ для гетерополимера [2,3,24] определяется аналогично гомополимеру соотношением

$$\theta = \frac{(UG'V)_{11}}{\lambda_1}. \quad (4.5.1)$$

Здесь  $U$  и  $V$  – левые и правые собственные векторы матрицы  $\tilde{G}$  с переопределенными параметрами  $\tilde{W}$  и  $\tilde{L}$ . Матрица  $\tilde{G}'$  определяется как матрица  $\tilde{G}$  с элементами  $\tilde{G}'_{ij} = \tilde{G}_{ij}\delta(i,1)\delta(j,1)$ .  $\lambda_1$  – максимальное собственное число для матрицы  $\tilde{G}$ .

Таким образом для гетерополимера каждому значению температуры соответствует параметр  $\mu$ , затем вычисляется  $\theta$ . Таким образом получаем кривую плавления для гетерополимера с произвольным количеством сортов повторяющихся единиц. Аналогично мы поступаем и для гетерогенности по числу конформаций. На рис.4.5.1 приведены температурные зависимости степеней спиральности случайного гетерополимера, состоящего из повторяющихся единиц трех сортов, гетерогенных по энергиям водородной связи и трех соответствующих гомополимеров.

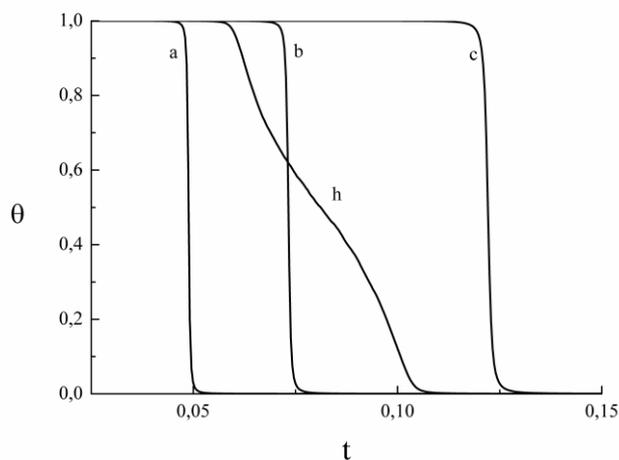


Рис 4.5.1 Температурные зависимости степеней спиральности случайного гетерополимера, состоящего из повторяющихся единиц трех сортов, гетерогенных по числу конформаций (h) и трех соответствующих гомополимеров. (a,b,c).

Мы провели анализ кривых плавления для случая и больших значений  $n$ , однако качественно кривые плавления не сильно отличаются от случая  $n = 2$ : кривая плавления гетерополимера лежит между кривой с максимальной и минимальной температурами плавления соответствующих гомополимеров [30]. Расчеты дифференциальных кривых плавления показали, что эти кривые могут иметь один или максимум два пика при любом значении нами используемых  $n$ , поэтому случай  $n = 2$  качественно отражает плавление гетерополимера (рис.2).

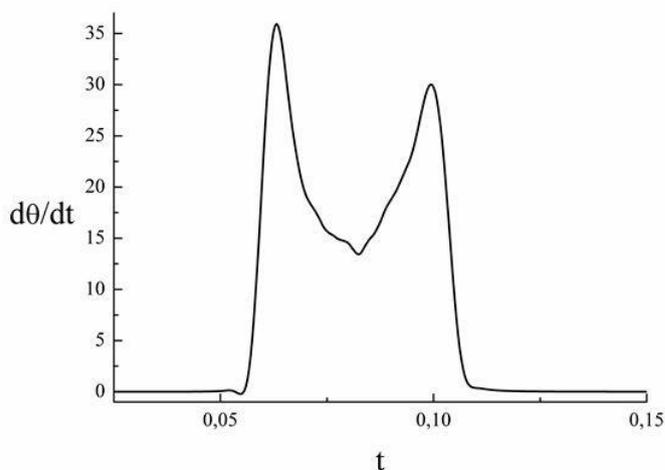
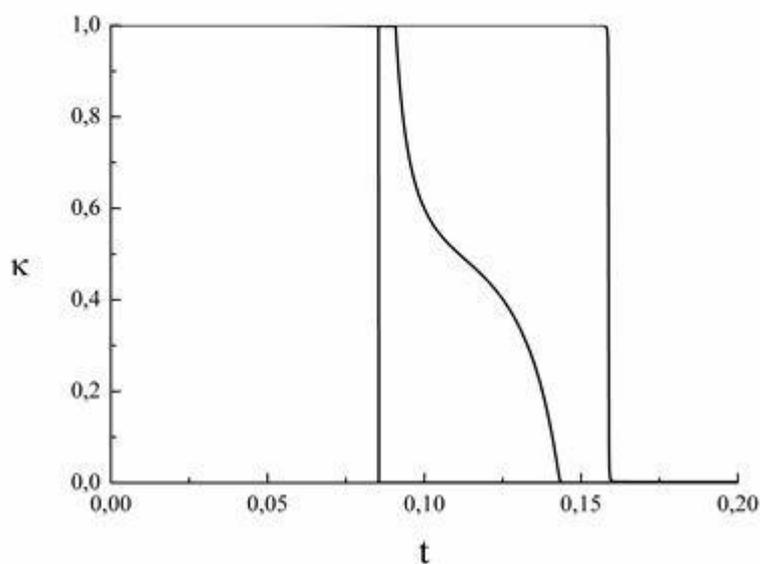


Рис 4.5.2 Дифференциальная кривая для гетерополимера.

Итак, поскольку бимодальная гетерогенность, в рамках нашего подхода, выявляет все качественные закономерности кривых плавления мы остановились на этом простом случае.

Далее, мы получили кривые плавления для бимодально гетерогенных биополимеров, гетерогенность которых обусловлена либо различием энергий водородного связывания, либо гетерогенностью по числу конформаций. Параметры энергий  $J$  и числа конформаций  $Q$  были выбраны таким образом, чтобы при обоих типах гетерогенности гомополимерные температурные кривые были бы идентичны. На рис. 4.5.3 изображены кривые плавления для этих двух типов гетерогенности. Из кривых видно, что общие свойства кривых плавления совпадают, в обоих случаях интервал плавления примерно одинаков. Наличествуют не более двух пиков на дифференциальной кривой плавления (графики опущены, поскольку это наглядно видно прямо из самих кривых плавления).

(a)



(b)

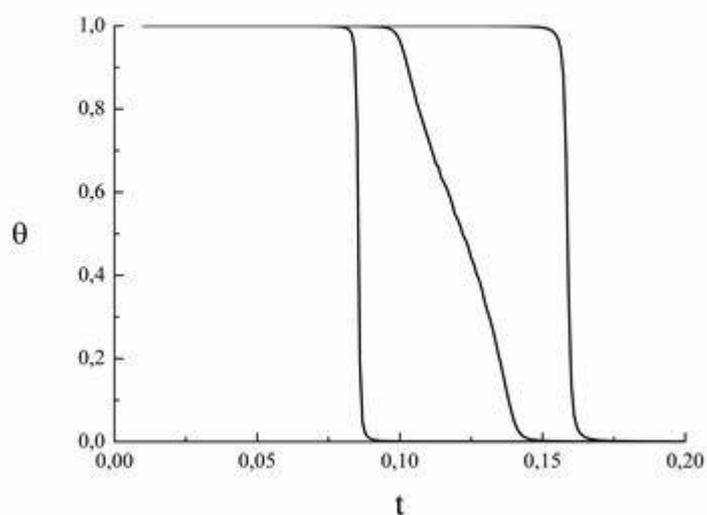


Рис. 4.5.3 Кривая плавления для гетерополимеров (a) по конформациям и (b) по энергиям

Таким образом, высказывание о том, что многокомпонентная гетерогенность, включая гетерогенность по числу конформаций, может быть ответственна за наличие тонкой структуры, пока не подтверждается. Поэтому мы в дальнейшем будем искать тонкую структуру в закономерностях последовательности.

## ГЛАВА 5

### МАТРИЧНЫЙ ПОДХОД

В предыдущих главах была представлена микроскопическая модель, описывающая переход спираль–клубок, в основу которой положена модификация модели Поттса с многочастичным взаимодействием. Данная модель названа обобщенной моделью полипептидной цепи (ОМПЦ). В рамках этой модели для гомополимеров получен ряд принципиальных результатов. На основе ОМПЦ с применением микроканонического метода был получен ряд интересных результатов. В данной главе метод отжига с ограничениями (constrained annealing) [29] развит для аналитического описания кривых перехода в биополимерах с двумя типами повторяющихся единиц с гетерогенностью как по энергиям, так и по числу конформаций

#### 5.1 Описание метода

Для исследования перехода спираль–клубок с обобщенной гетерогенностью нами был использован подход, разработанный M. Serva и G. Paladin в [25]. Следуя [25], свободная энергия системы с замороженной случайной последовательностью повторяющихся единиц оценена на основании отожденного среднего статистической суммы с соответствующими ограничениями. Данный подход является вариационным и может быть реализован с использованием неопределенных множителей Лагранжа. Согласно [25], свободная энергия может быть оценена как

$$f \geq g(T, \mu) \geq f_A, \quad (5.1.1)$$

где  $f$  и  $f_A$  – замороженная и отоженная свободная энергии из расчета на нуклеотид, соответственно:

$$g(T, \mu) = -\frac{1}{N} k_B T \ln \langle Z(\text{seq}) e^{-N\mu\alpha(\text{seq})} \rangle_{\text{av.}}. \quad (5.1.2)$$

Здесь  $Z(\text{seq})$  – статистическая сумма биополимера с замороженной реализацией последовательности  $\text{seq}$ , а  $\alpha(\text{seq})$  – соответствующая самоусредняемая замороженная величина. Здесь  $\langle O \rangle_{\text{av}}$  означает среднее по функции распределения для последовательности. В дальнейшем, данный подход будем называть методом "отжига с ограничениями".

## 5.2 Вычисление свободной энергии

Рассмотрим гетерополимер, состоящий из повторяющихся единиц двух сортов, например, для ДНК - GC- и AT-пар. При этом предполагается, что сорта повторяющихся единиц выбираются статистически независимо. Свободная энергия такой системы выражается в виде

$$F = -k_B T \left\langle \ln \text{Sp} \prod_{i=1}^N G_i \right\rangle, \quad (5.2.1)$$

Здесь  $G_i$  – трансфер-матрица

$$G_i = \begin{pmatrix} e^{J_i} & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & e^{K_i} \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & e^{K_i} \end{pmatrix} \quad (5.2.2)$$

где  $J_i = \frac{U_i}{k_B T}$ ,  $U_i$  – энергия образования водородной связи  $i$ -й компоненты

гетерополимера,  $K_i = \ln Q_i$  и  $Q_i$  – число состояний  $i$ -й компоненты [10–14].

Причем  $G_i = G_A$ , с вероятностью  $x$  и  $G_i = G_B$ , с вероятностью  $1-x$

Введем спиновую переменную  $\sigma = \pm 1$  таким образом, что

$$G(\sigma_i = 1) = G_A, G(\sigma_i = -1) = G_B, \quad (5.2.3)$$

При этом  $\langle \sigma_i \rangle = 2x - 1$ , где  $x$  – доля повторяющихся единиц типа А. Таким образом, первичная структура будет выражена последовательностями чисел  $\pm 1$ . Тогда

$$J_i = J_0 + \sigma_i \Delta J, \quad K_i = K_0 + \sigma_i \Delta K, \quad (5.2.4)$$

где  $J_0 = \frac{J_A + J_B}{2}$ ,  $\Delta J = \frac{J_A - J_B}{2}$ ,  $K_0 = \frac{K_A + K_B}{2}$ ,  $\Delta K = \frac{K_A - K_B}{2}$ . Тогда, согласно работе [29] и формуле (3.1)

$$F = -k_B T \ln \text{Sp} \left\langle x e^{-\alpha A \mu} G_A + (1-x) e^{-\alpha B \mu} G_B \right\rangle^N \quad (5.2.5),$$

где  $\mu$  – вариационный параметр, а  $\alpha$  – определяют ограничение, которое выбирается простейшим способом:  $\alpha(\sigma) = \sum_i (\sigma_i - \langle \sigma_i \rangle)$ . Отсюда, после несложных преобразований [30] в термодинамическом пределе имеем  $g(\mu) = \frac{-F(\mu)}{N k_B T} = \mu \langle \sigma_i \rangle + \ln(x e^{-\mu} + (1-x) e^{\mu}) + \ln \lambda_1(e^J, e^K)$

$$(5.2.6)$$

где  $\lambda_1$  – максимальное собственное число трансфер-матрицы  $G(e^J, e^K)$ , а

$$e^J = \frac{\langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle}{\langle e^{\mu J_i} \rangle} = e^{J_0} \frac{x e^{-\mu + \Delta J} + (1-x) e^{\mu - \Delta J}}{x e^{\Delta J} + (1-x) e^{-\Delta J}},$$

$$e^K = e^{K_0} \frac{x e^{-\mu + K} + (1-x) e^{\mu - K}}{x e^{-\mu} + (1-x) e^{\mu}}. \quad (5.2.7)$$

Поскольку выражение (5.2.5) дает нижнюю оценку свободной энергии цепи с замороженной последовательностью, нам необходимо найти максимум свободной энергии  $F(\mu)$  или минимум приведенной свободной энергии (5.2.6) по параметру  $\mu$ .

Поэтому значение вариационного параметра определяется соотношением

$$\frac{\partial g}{\partial \mu} = 0 \quad (5.2.8)$$

Для этого мы строим зависимость  $g(T, \mu)$  от  $\mu$  при фиксированной температуре и находим значение  $\mu$ , соответствующее минимуму приведенной свободной энергии. Перебрав все значения температуры в окрестности перехода спираль-клубок, у нас будут все соответствующие значения параметра  $\mu$ , что позволит, согласно выражению (5.2.7) получить усредненное значение параметров трансфер матрицы (5.2.2), после чего вычислить приведенную свободную энергию (5.2.5). Таким образом, для каждой температуры мы будем иметь соответствующее значение свободной энергии.

### 5.3 Степень спиральности

Из определения степени спиральности  $\theta$ , как параметра порядка, следует [23,24,30]

$$\theta = \frac{\partial g(\mu)}{\partial J_0} = \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial J_0} \quad (5.3.1)$$

Для получения температурного поведения степени спиральности можно воспользоваться численным дифференцированием выражения главного собственного числа  $\lambda_1$  по обратной температуре, однако можно воспользоваться унитарным преобразованием трансфер матрицы и получить аналитическое выражение для степени спиральности  $\theta$ , что в рамках ОМПЦ для гетерополимера [2,3,24] определяется аналогично гомополимеру соотношением

$$\theta = \frac{(U\tilde{G}'V)_{11}}{\lambda_1}. \quad (5.3.2)$$

Здесь  $U$  и  $V$  – левые и правые собственные векторы матрицы  $\tilde{G}$  с переопределенными согласно (3.7) параметрами  $e^J$  и  $e^K$ . Матрица  $\tilde{G}'$  определяется как матрица  $\tilde{G}$  с элементами равными нулю, кроме элемента 1,1  $\tilde{G}'_{ij} = \tilde{G}_{ij} \delta(i,1) \delta(j,1)$ .  $\lambda_1$  – максимальное собственное число для матрицы  $\tilde{G}$ . Итак, для гетерополимера каждому значению температуры соответствует параметр  $\mu$ , затем вычисляется  $\theta$ . Таким образом, на основе приближения отжига с ограничениями в общем виде получен алгоритм вычисления кривых плавления двухкомпонентного случайного гетерополимера с различными соотношениями между компонентами. Алгоритм позволяет предсказывать точку и интервал плавления такой системы, как ДНК с различным GC-составом. Следует отметить, что данный подход может быть применен и к большему числу компонент.

На рис. 5.3.1 изображена кривая перехода спираль–клубок в гомополимере из повторяющихся единиц типа  $A(1)$  и кривая для гомополимера из повторяющихся единиц типа  $B(2)$ , а также кривая для случайного гетерополимера  $(AB)(3)$ .

Из кривых плавления видно, что интервал перехода для гетерополимера значительно больше, чем гомополимера. Более того, расчет показывает, что интервал плавления гетерополимера остается достаточно большим даже при пренебрежении интервалом плавления гомополимера [30].

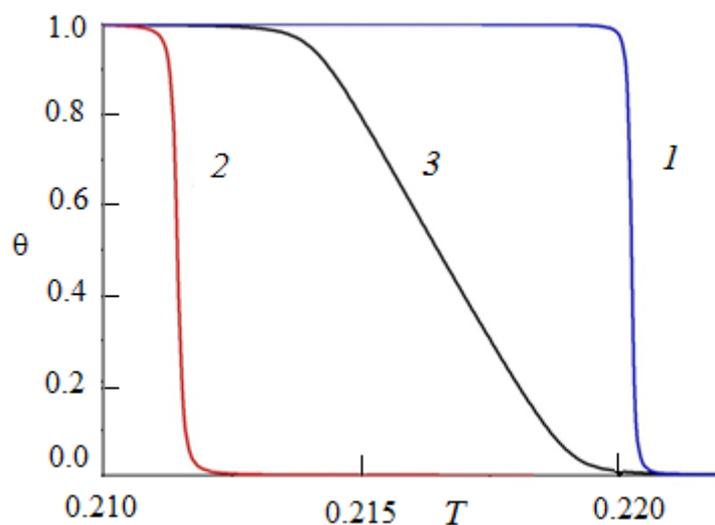


Рис. 5.3.1. Кривые зависимости степени спиральности  $\theta(T)$  от температуры  $T$  при следующих параметрах теории:  $Q_A = 71$ ,  $Q_B = 51$ ,  $U_A = 1$ ,  $U_B = 0.8$ ,  $x = 0.4$  и  $\Delta = 4$ : 1—кривая плавления для гомополимера В, 2—кривая плавления для гомополимера А, 3—кривая плавления для гетерополимера, состоящего из мономеров А и В.

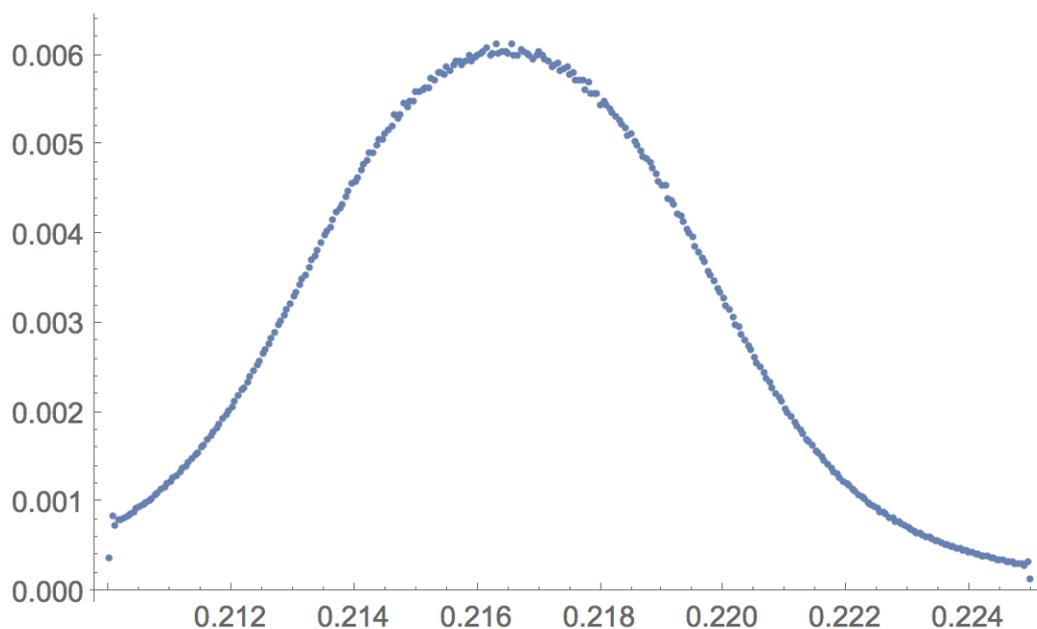


Рис. 5.3.2 Дифференциальная кривая плавления.

## 5.4. Результаты и обсуждение

Таким образом, учет гетерогенности путем непосредственного введения спиновой переменной в выражение для произведение матриц позволяет подойти к проблеме гетерогенности с более общих позиций, чем это было проделано в предыдущих главах. Более того, если для расчетов по гетерогенности по энергиям и числом конформаций приходилось писать отдельные программы, то теперь вполне возможно эти эффекты учитывать с единых позиций.

Далее, мы получили кривые плавления для бимодально гетерогенных биополимеров, гетерогенность которых обусловлена либо только различием энергий водородного связывания, либо гетерогенностью по числу конформаций. Если параметры энергий  $J$  и числа конформаций  $Q$  были выбраны таким образом, чтобы при обоих типах гетерогенности гомополимерные температурные кривые были бы идентичны для этих двух типов гетерогенности. Показано, что общие свойства кривых плавления совпадают, в обоих случаях интервал плавления примерно одинаков. Дальнейшие исследования предполагают изучения свойств плавления гетерополимеров на основе данного подхода с учетом взаимодействия с растворителем, как это нами было сделано для гомополимерного случая.

Далее были проведены прямые расчеты кривых плавления через произведение матриц, используя выражения типа (5.2.1) без усреднения. Полученные результаты для кривых плавления и дифференциальных кривых плавления представлены на рисунках (5.4.1-5.4.8) для рацемической бинарной гетерогенности.

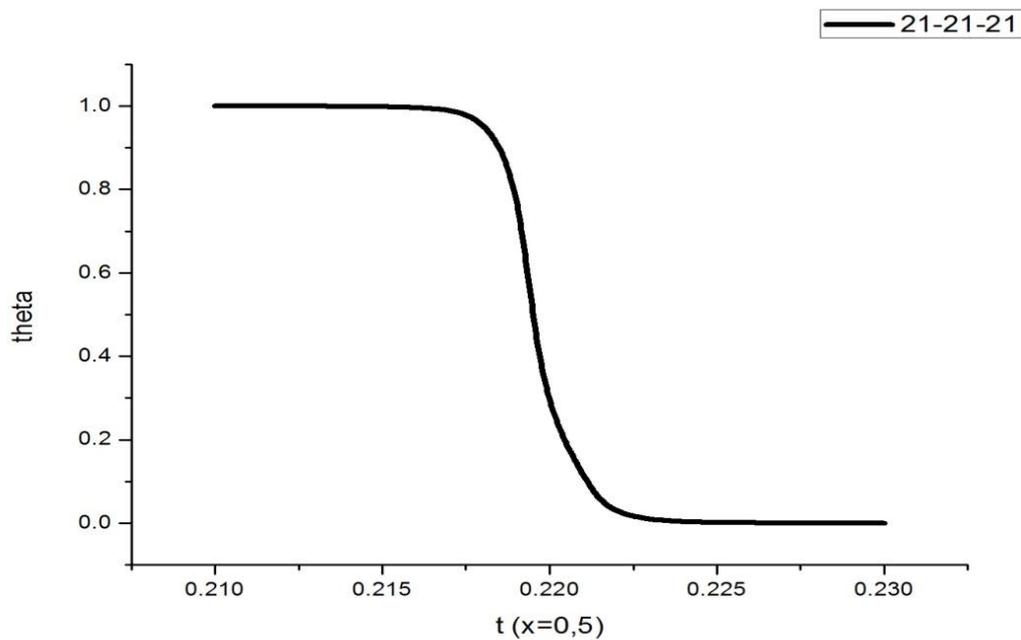


Рис 5.4.1 Кривая плавления для одной реализации последовательности.

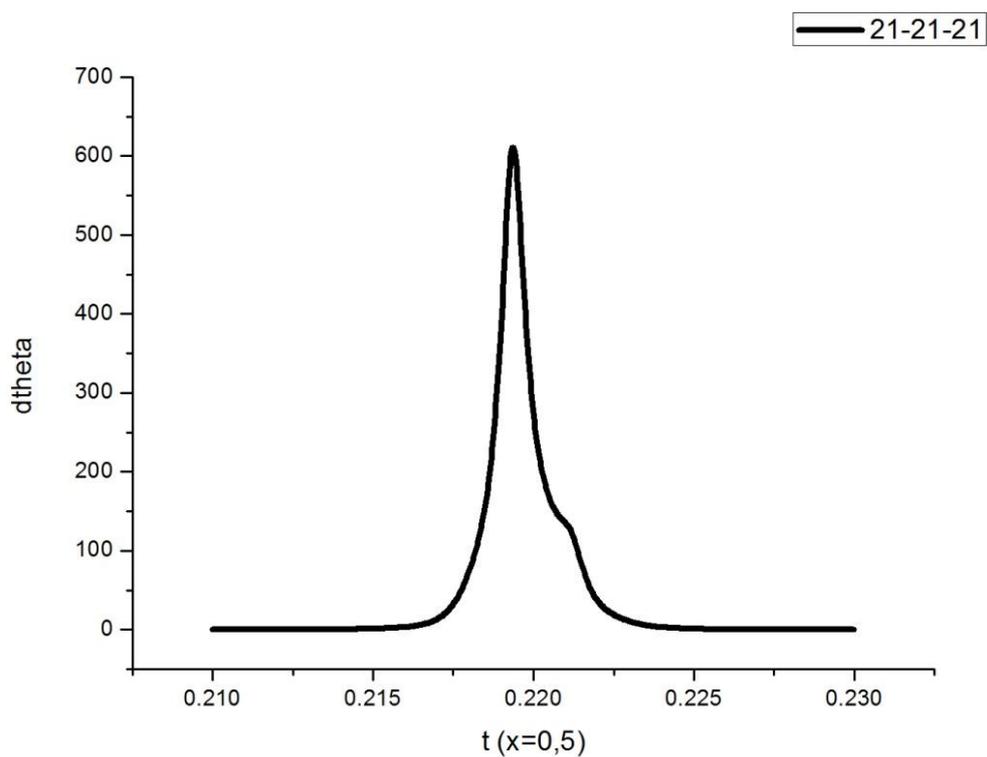


Рис 5.4.2 Дифференциальная кривая плавления для той же реализации

Получены ряд кривых денатурации и дифференциальных кривых денатурации

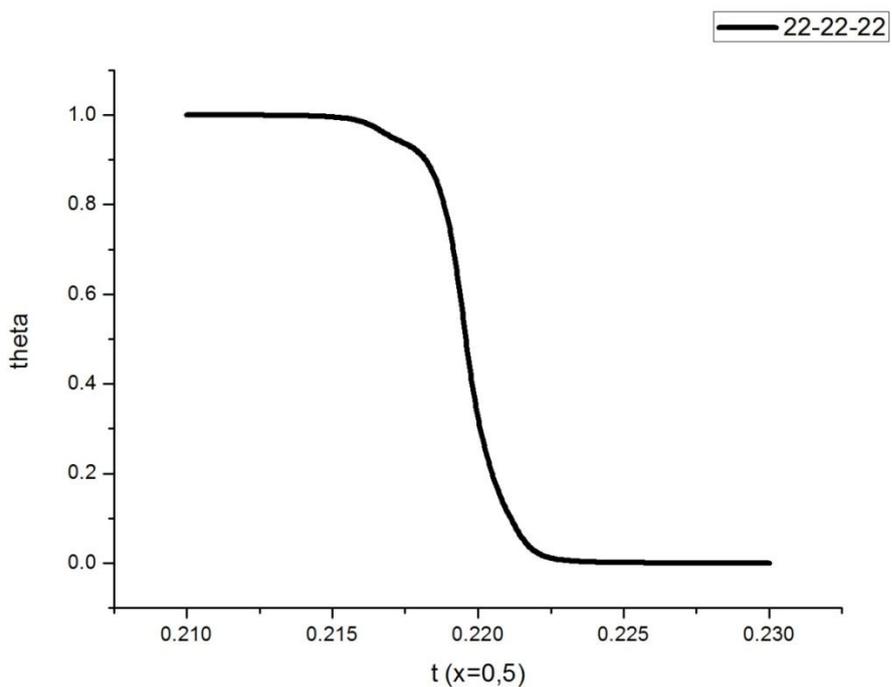


Рис 5.4.3 Кривая плавления для другой реализации.

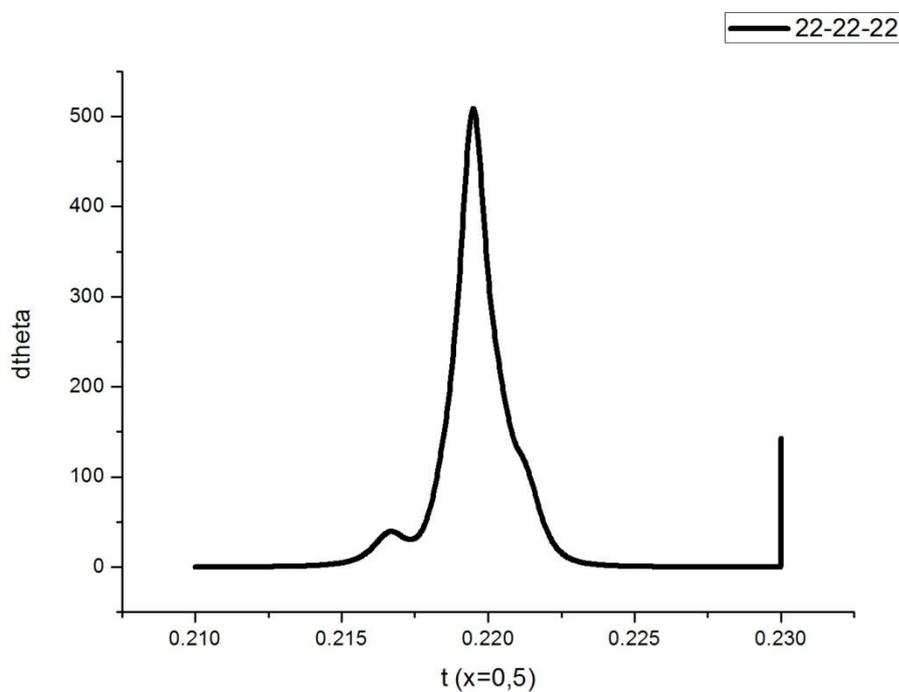


Рис 5.4.4 Соответствующая дифференциальная кривая.

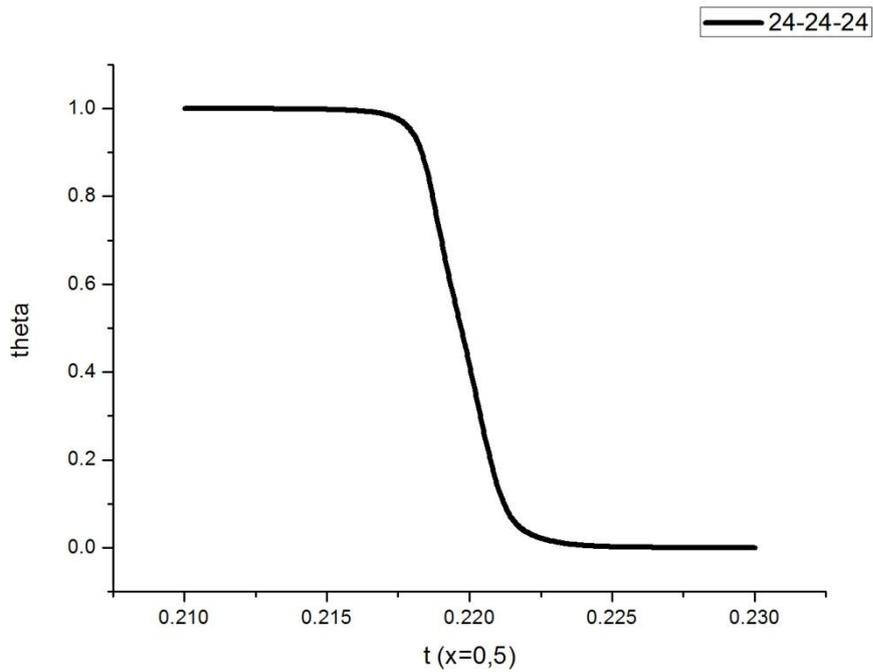


Рис 5.4.5

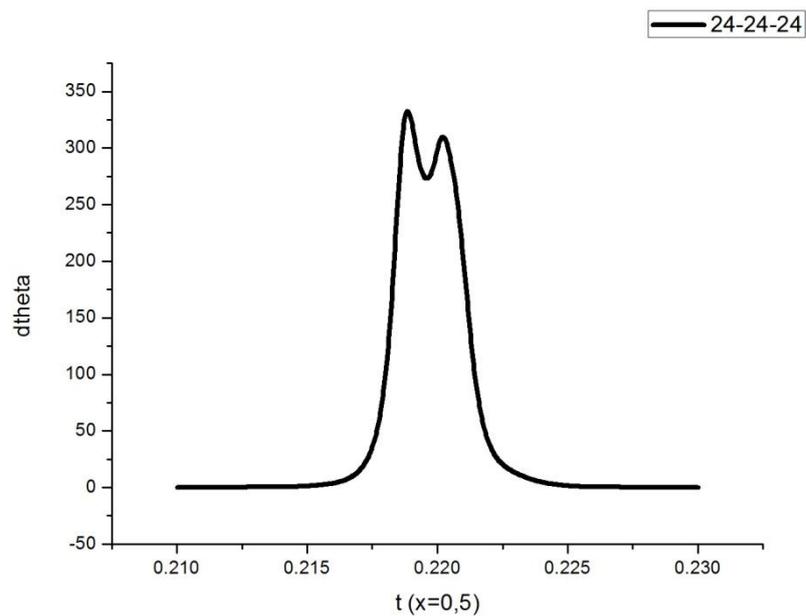


Рис 5.4.6

Из сравнении данных кривых видно, что при прямом вычислении степени спиральности общие закономерности (точка и интервал перехода) не меняются при изменении реализации случайной последовательности. В то же время тонкая структура оказывается весьма чувствительна к реализации. Это

более наглядно видно, когда несколько реализаций приведены на одной картинке.

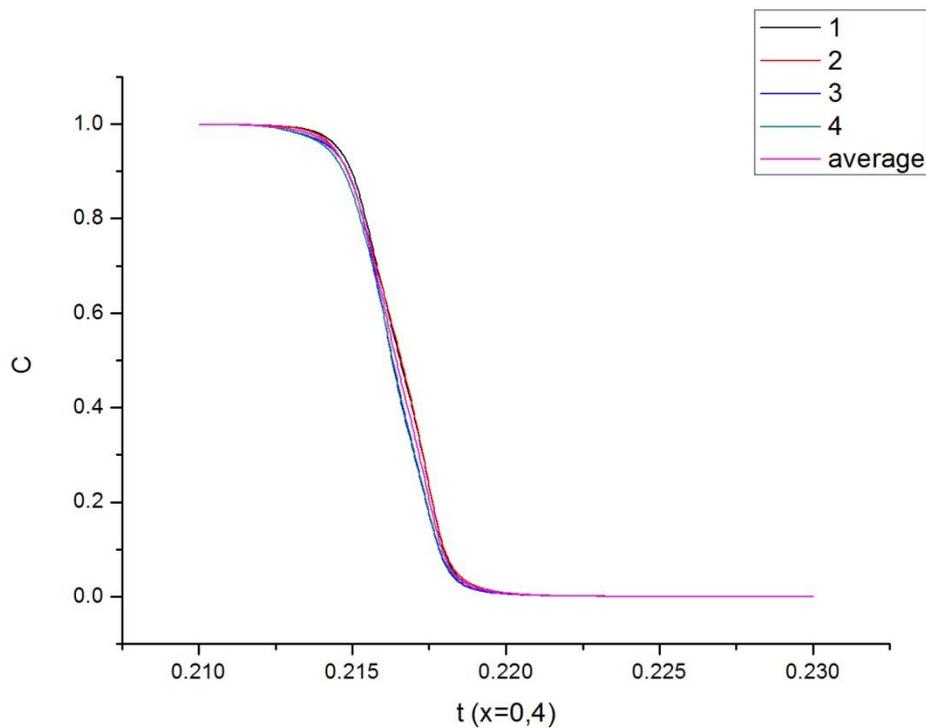


Рис 5.4.7 Кривые плавления для разных реализаций последовательности.

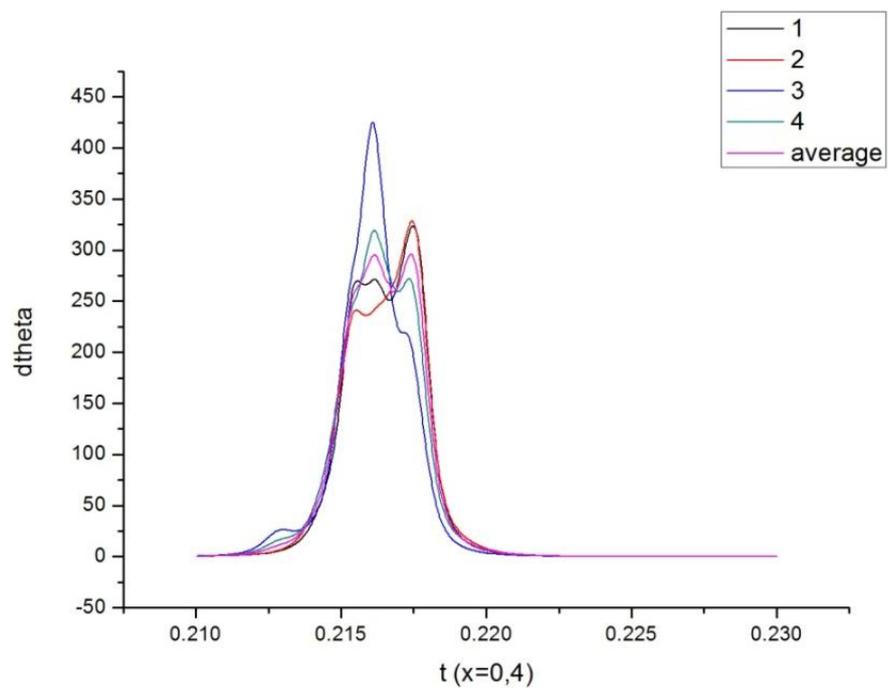


Рис 5.4.8. Соответствующие дифференциальные кривые

Из предварительного сопоставления прямого и приближенного подхода к денатурации видно, что приближение *constrained annealing* адекватно описывает процесс денатурации, хотя тонкую структуру оно не описывает.

## ГЛАВА 6

### ГИБРИДИЗАЦИЯ НА ГРАНИЦЕ РАЗДЕЛА ТВЕРДОЕ ТЕЛО-РАСТВОР

#### 6.1 Введение

ДНК-чипы являются одним из перспективных инструментов с большим разнообразием областей применения, таких как медицинская диагностика, мониторинг загрязнителей окружающей среды, защиты от биологического оружия и т. д. [116, 117]. Одним из важных направлений разработки ДНК-чипов является повышение их чувствительности за счет усиления электрического сигнала и стабильности целевого зонда гибридизации. Эффективность таких устройств, как ДНК-датчики и ДНК-чипы зависит от точности предсказания экспериментальных параметров, отвечающих за термостабильность дуплексов нуклеиновых кислот и время формирования дуплексов ДНК [118]. Некоторые из факторов влияют на термодинамику гибридизации, в частности, на поверхностную плотность одноцепочечных ДНК (длина 25–49 нуклеотидов), иммобилизованных на поверхности, и наличие конкурирующей гибридизации. Стабильность дуплексов ДНК–ДНК и ДНК–РНК определяется двумя ключевыми факторами: последовательностью и внешними факторами (такими, как рН, ионная сила, концентрация низкомолекулярных соединений (лигандов), наличие межфазных границ, геометрических ограничений и т. д.). Лучшее понимание физико-химических процессов, лежащих в основе гибридизации ДНК и РНК на поверхности электрического преобразователя имеет важное значение для улучшения эффективности ДНК-чипов и их изготовления [119].

Одним из основных требований, предъявляемых к ДНК-сенсорам является высокая чувствительность, которая, в свою очередь, требует максимальной эффективности гибридизации на границе раздела твердой и

жидкой фаз. Гибридизация нуклеиновых кислот в значительной степени зависит от температуры, концентрации солей, вязкости, GC-состава и других физико-химических характеристик.

Повышение чувствительности ДНК-датчиков может быть достигнуто с помощью электрохимически активных соединений с более высоким сродством к двухцепочечной ДНК, чем к одноцепочечной. Этот вид соединений может существенно повысить стабильность двухцепочечных участков и в то же время амплитуду генерируемого сигнала, что, в свою очередь, повысит чувствительность ДНК-датчика. Такими лигандами являются, например, интеркаляторы, молекулы с плоской гетероциклической структурой, которые помещаются между азотистыми основаниями и меняют локальную структуру двухцепочечной ДНК [120–122].

Термодинамика и кинетика гибридизации как в объеме [123, 124], так и на поверхности [119, 125–131] была тщательно изучена в последние годы. Спектр рассматриваемых проблем включает в себя, например, кинетику гибридизации на поверхности [127, 129], влияние солей на гибридизацию ДНК в объеме [124], изотермы гибридизации на поверхности [119] и т. д. В то же время взаимодействия ДНК–лиганд также были рассмотрены в большом количестве работ, посвященных интеркаляции [120–122] и связыванию лигандов в малой бороздке [132, 133], их кросс-докингу [134] и т.д. Однако, насколько нам известно, влияние взаимодействия ДНК–лиганд на термодинамику и кинетику гибридизации никогда не было рассмотрено ранее. В контексте развития ДНК-биосенсоров, теоретический анализ влияния интеркаляции лигандов на гибридизацию ДНК на поверхности становится необходимым.

Настоящая глава посвящена изучению изотермы гибридизации ДНК на поверхности в присутствии положительно заряженных лигандов, которые связываются с нативными участками ДНК. Хотя при практическом использовании ДНК-чипы погружаются в целевой раствор на относительно

короткий промежуток, где кинетика гибридизации играет важную роль. Понимание равновесных свойств также необходимо для сравнительной оценки важности кинетических и термодинамических факторов для производительности ДНК-чипов.

## 6.2 Свободная энергия при неконкурентной гибридизации с лигандами

Рассмотрим равновесную изотерму гибридизации для идеализированной, но экспериментально доступной ситуаций, когда ДНК-чип погружен в раствор, содержащий интеркалированные лиганды и имеем только один тип одноцепочечной мишени (Рис.6.2.1).

Рассмотрим совокупность  $N_0$  одонитевых пробных молекул ДНК  $p$ , где  $N_{pt}$  из них гибридизованы с мишенью  $t$ . Гибридизация  $p$  и  $t$  создает на поверхности двухцепочечный олигонуклеотид  $pt$ . В простейшем случае для одного вида мишени, состоящей из одноцепочечной ДНК, поверхность будет покрыта только свободными зондами  $p$  и гибридизованными олигонуклеотидами  $pt$ . В этом случае мы имеем одну реакцию:



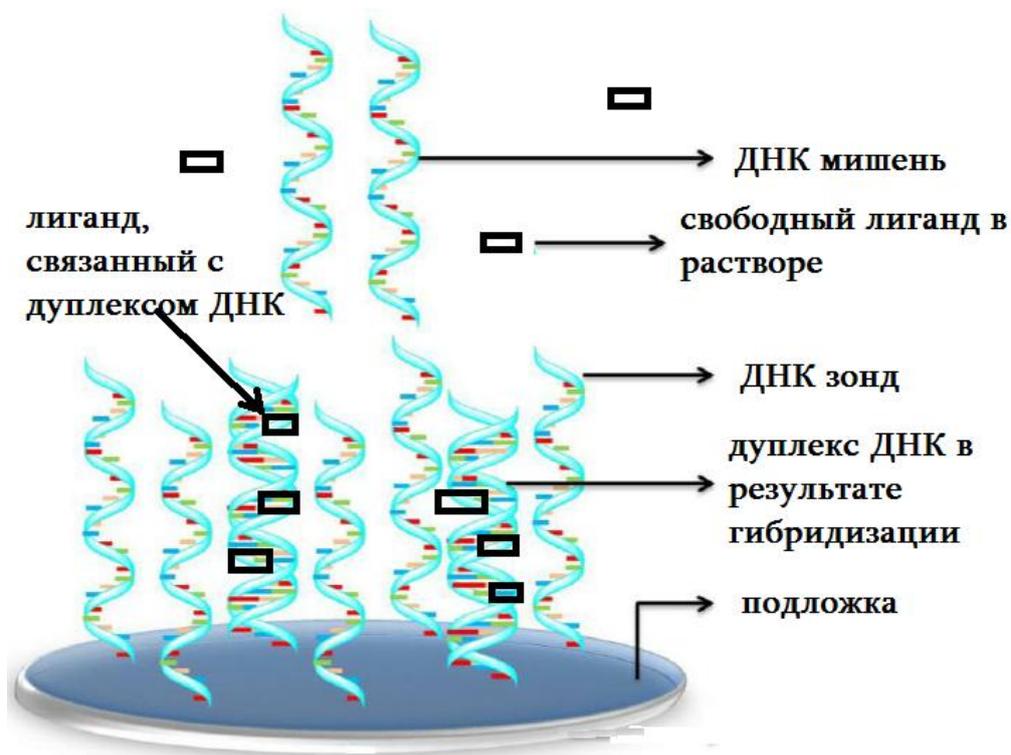
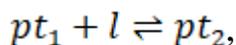
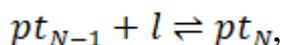


Рис. 6.2.1 Схема неконкурентной гибридизации на поверхности в присутствии лигандов

Реакции конкурентной гибридизации отсутствуют (Рис.6.2.1). Зависимость степени гибридизации  $\chi = N_{pt}/N_0$  от концентрации мишеней  $c_t$  описывается с помощью изотермы гибридизации. Для интеркалирующих лигандов  $l$  реакций связывания будут иметь следующий вид:



...



где  $pt$  является свободным дуплексом, а  $pt_j$  является дуплексом мишень–зонд, связанным с лигандом  $l$ .

В отсутствие лигандов свободная энергия слоя с зондами будет иметь следующий вид [126]:

$$G = G_0 + N_{pt}\mu_{pt}^0 + (N_0 - N_{pt})\mu_p^0 + N_0\Sigma Y_{el.} + k_B T \left[ N_{pt} \ln \left( \frac{N_{pt}}{N_0} \right) + (N_0 - N_{pt}) \ln \left( \frac{N_0 - N_{pt}}{N_0} \right) \right] \quad (6.2.3)$$

где  $\Sigma$  является площадью приходящаяся на один зонд,  $G_0$  - плотность свободной энергии голой поверхности,  $\mu_{pt}^0$  и  $\mu_p^0$  - химические потенциалы зондов  $pt$  и  $p$  в исходном состоянии, а  $Y_{el.}$  - электростатическая плотность свободной энергии зондирующего слоя.

Если интеркаляция является единственным механизмом связывания лигандов, то образование комплекса ДНК-лиганд будет ограничено только двуцепочечными областями и свободная энергия слоя с зондами

$$G_L = G + N_{pt} \left\{ m\mu_b^0 + k_B T \left[ m \ln \left( \frac{m}{N} \right) + (N - m) \ln \left( \frac{N - m}{N} \right) \right] \right\}, \quad (6.2.4)$$

где  $m$  это число связанных лигандов из расчета на одну гибридизованную пробу  $pt$ , а  $\mu_b^0$  - химический потенциал связанного лиганда в исходном состоянии. Предполагается, что доступное количество мест связывания на дуплексе  $pt$  совпадает с длиной  $N$ . Таким образом, свободная энергия слоя с зондами запишется в виде функции от независимых величин: числа гибридизованных зондов  $N_{pt}$  и числа связанных лигандов  $N_b = mN_{pt}$ .

Свободная энергия

$$G_L(N_{pt}, N_b) = G(N_{pt}) + N_b\mu_b^0 + k_B T \left[ N_b \ln \left( \frac{N_b}{NN_{pt}} \right) + (NN_{pt} - N_b) \ln \left( \frac{NN_{pt} - N_b}{NN_{pt}} \right) \right] \quad (6.2.5)$$

### 6.3 Изотермы адсорбции при гибридизации

Состояние равновесия для реакции (6.2.1) и (6.2.2) будет определяться с помощью условий

$$\mu_{pt} = \mu_p + \mu_t \quad (6.3.1)$$

и

$$\mu_b = \mu_l, \quad (6.3.2)$$

где величина  $\mu_{pt}$  является химическим потенциалом гибризованного зонда  $pt$ ,  $\mu_t$  – химический потенциал мишени,  $\mu_p$  – химический потенциал зонда, а величины  $\mu_b$  и  $\mu_l$  – химические потенциалы связанных и несвязанных лигандов соответственно [135].

Плотность электростатической свободной энергии слоя с зондами  $Y_{el}$  была оценена в работе [126] в приближении двухкомпонентного ящика [136–139]. В этом приближении ступенчатый профиль распределения мономеров позволяет рассматривать полиэлектролиты на поверхности как непрерывную область с равномерным распределением заряда. При высоком содержании солей, экранирование в заряженном слое приводит к следующему выражению для плотности электростатической свободной энергии

$$\frac{Y_{el}}{k_B T} = 4\pi\sigma^2 l_B \frac{r_D^2}{H}, \quad (6.3.3)$$

где величина  $l_B = \frac{e^2}{\epsilon k_B T}$  – длина Бюррума,  $\epsilon$  – диэлектрическая проницаемость,  $r_D$  – Дебаевская длина экранирования и  $\sigma$  – поверхностная плотность заряда. Здесь величина  $H$  – это толщина слоя с зондами. При этом предполагается, что заряды распределяются в этом слое равномерно. Так как каждая цепь содержит заряд  $-eN$ , поверхностная плотность заряда  $\sigma$  зависит от степени гибридизации  $x$  как

$$\sigma = \frac{NN_0 + NN_{pt} - N_b}{A}, \quad (6.3.4)$$

где  $A$  – это площадь поверхности сенсора.

С учетом зависимости поверхностной плотности электростатической свободной энергии (6.3.3) от числа гибризованных проб,  $N_{pt}$  и общего числа связанных лигандов,  $N_b$ , обменный химический потенциал гибризованного зонда ( $\Delta\mu_{pt} = \mu_p - \mu_t$ ) напишется в виде

$$\Delta\mu_{pt} = \frac{\partial G_L}{\partial N_{pt}} = \Delta\mu_{pt}^0 + N_0 \Sigma \frac{\partial Y_{el}}{\partial N_{pt}} + k_B T \ln \frac{x}{1-x} + k_B T \ln(1-r), \quad (6.3.5)$$

где  $r = \frac{N_b}{NN_{pt}}$  описывает степень адсорбции лигандов  $l$  в двухцепочечной ДНК.

Плотность электростатической свободной энергии  $Y_{el}$  рассматривается как функция от плотности зарядов на поверхности  $\sigma$ . В то же время, химический потенциал связанных лигандов [135]

$$\mu_b = \frac{\partial G_L}{\partial N_b} = \mu_b^0 + N_0 \Sigma \frac{\partial Y_{el}}{\partial N_b} + k_B T \ln \frac{r}{1-r}. \quad (6.3.6)$$

В приближении слабого раствора химический потенциал мишени будет иметь следующий вид

$$\mu_t = \mu_t^0 + k_B T \ln c_t, \quad (6.3.7)$$

а химический потенциал свободных лигандов в растворе

$$\mu_l = \mu_l^0 + k_B T \ln c_l, \quad (6.3.8)$$

где величины  $c_t$  и  $c_l$  являются объемными концентрациями мишеней и лигандов соответственно. Учитывая уравнения (6.3.1 – 6.3.8), получим изотерму гибридизации:

$$\frac{x(1-r)^N}{c_t(1-x)} = K_t \exp\left(-\frac{N_0 \Sigma \partial Y_{el}}{k_B T \partial N_{pt}}\right), \quad (6.3.9)$$

где  $K_t = \exp\left(-\frac{\Delta G^0}{k_B T}\right)$  и  $\Delta G^0 = \mu_{pt}^0 - \mu_p^0 - \mu_t^0$ . Равновесное распределение  $l$  между связанными и свободными состояниями будет описываться изотермой адсорбции

$$\frac{r}{c_l(1-r)} = K_l \exp\left(-\frac{N_0 \Sigma \partial Y_{el}}{k_B T \partial N_b}\right), \quad (6.3.10)$$

где  $K_l = \exp\left(-\frac{\Delta g^0}{k_B T}\right)$  и  $\Delta g^0 = \mu_b^0 - \mu_l^0$ . Система уравнений (6.3.9, 6.3.10) преобразуется как

$$\begin{aligned} \frac{x(1-r)^N}{(1-x)} &= c_t K_t \exp[-\Gamma(1+x-rx)] \\ \frac{r}{1-r} &= c_l K_l \exp\left[\frac{\Gamma}{N}(1+x-rx)\right], \end{aligned} \quad (6.3.11)$$

где  $\Gamma = 8\pi N \sigma_0 l_B \frac{r_D^2}{H}$  и  $\sigma_0 = \frac{NN_0}{A}$ .

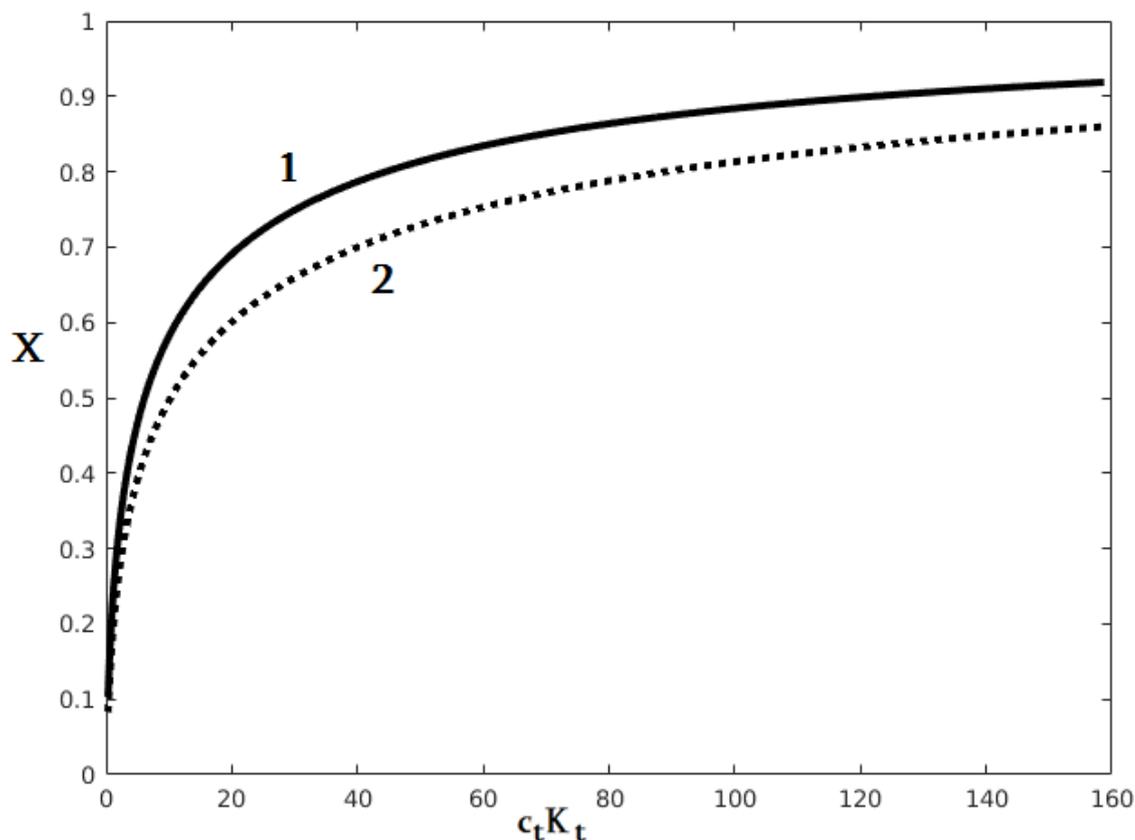


Рис. 6.3.1 1) Изотерма гибридизации для моновалентного положительного заряженного лиганда (сплошная линия). 2) Изотерма гибридизации для незаряженных лигандов (пунктирная линия). Кривые получены для следующих значений параметров:  $\ell_B \approx 7 \text{ \AA}$ ,  $r_D \approx 3 \text{ \AA}$ ,  $N = 16$ ,  $K_t = 10^8 \text{ M}^{-1}$ ,  $\Gamma \approx 2.57$ .

#### 6.4 Результаты и обсуждения

Численное решение системы уравнений (6.3.11) для случая моновалентных лигандов дает изотермы гибридизации и адсорбции приведенные на Рис. 6.3.1. Изотермы гибридизации для незаряженных лигандов были получены в работе [140]. Как было показано в [140], изотерма гибридизации для незаряженных лигандов имеет вид

$$\frac{x}{1-x} = c_t \tilde{K}_t e^{-\Gamma(1+x)}, \quad (6.4.1)$$

где  $\tilde{K}_t = K_t e^{-N \ln(1-r^*)}$  и  $r^* = \frac{c_\ell K_\ell}{c_\ell K_\ell + 1}$  - равновесная степень адсорбции.

Изотерма гибридизации для незаряженных лигандов также приведена на Рис. 6.3.1. Как видно на Рис. 6.3.1, степень адсорбции заряженных лигандов слабо зависит от концентрации ДНК – мишеней в растворе. В то же время, наличие заряда заметно усиливает гибридизацию мишень – зонд на поверхности сенсора при малых концентрациях мишеней,  $c_t$  Эффект, возможно обусловлен частичной нейтрализацией заряда поверхностного слоя.

Результаты, приведенные на Рис. 6.3.1 показывают, что наличие заряда у интеркалирующего лиганда усиливает гибридизацию на поверхности ДНК сенсора по – сравнению с таковой для незаряженного лиганда, вследствие чего повышается чувствительность ДНК – сенсора.

## 6.5 Заключение

Проанализированы факторы, влияющие как на термодинамику гибридизации, так и на стабильность дуплексов ДНК–ДНК. В настоящей работе исследованы случаи неконкурентной гибридизации ДНК при наличии в растворе моно- и бивалентных положительно заряженных лигандов и проведено сопоставление со случаем незаряженных лигандов. Показано, что заряженные лиганды усиливают чувствительности ДНК-чипов по сравнению с незаряженными.

Исследованы термодинамические свойства поверхности ДНК-сенсора с привитыми к нему ДНК-зондами, взаимодействующие с ДНК-мишенями и лигандами в растворе. Проанализированы некоторые факторы, влияющие на термодинамику гибридизации ДНК на границе раздела твердое тело – раствор. Для случаев неконкурентной гибридизации ДНК на поверхности исследованы такие термодинамические характеристики системы, как изотермы гибридизации ДНК-мишеней с ДНК-зондами и изотермы адсорбции интеркалирующих лигандов на комплексы зонд-мишень. Проведенный анализ показывает, что связывание с

заряженными интеркалирующими лигандами приводит к увеличению чувствительности ДНК-сенсоров.

## ВЫВОДЫ

Ниже приведены основные выводы, следующие из результатов диссертационной работы.

1. В рамках развитой базовой модели (ОМПЦ) исследовано поведение статистической суммы и кривых плавления для гетерополимера с гетерогенностью по энергии образования водородной связи методом микроканонического ансамбля. С применением микроканонического метода получено характеристическое уравнение для гетерополимера. Показано, что режим усреднения температурного параметра изменяется в процессе перехода спираль-клубок. Рассчитанные температура и интервал модели согласуются с классическими результатами по плавлению.
2. Показан и обоснован алгоритм описания перехода спираль-клубок на языке корреляционной длины. Корреляционная длина содержит в себе всю информацию из дифференциальной кривой плавления. В рамках развитой базовой модели (ОМПЦ) исследовано поведение статистической суммы гетерополимера. Показано, что разница между асимптотическим и точным выражением для степени спиральности максимальна вблизи точки перехода.
3. Сформулирована и решена модель гетерополимера с применением метода отжига с ограничением (constrain annealing). Задача сводится к гомополимерной с оптимизацией по лагранжевскому неопределенному параметру.
4. В рамках модели ОМПЦ с применением метода отжига с ограничением (constrain annealing) рассмотрена модель гетерополимера, с гетерогенностью по энергии водородного связывания. Получены кривые плавления и дифференциальные кривые плавления.

5. В рамках модели ОМЩ с применением метода отжига с ограничением (constrained annealing) рассмотрена модель гетерополимера, с гетерогенностью по числу конформаций. Получены кривые плавления и дифференциальные кривые плавления для данного случая.
6. На основе приближения constrain annealing получен алгоритм вычисления кривых плавления двухкомпонентного случайного гетерополимера с различным соотношением между компонентами, что позволяет рассмотреть такую систему, как ДНК с различным ГЦ составом. Показано, что изменение интервала плавления для случая обоих типов гетерогенности не являются суммированием двух простейших случаев.
7. Проанализированы факторы, влияющие как на термодинамику гибридизации, так и на стабильность ДНК–ДНК дуплексов на границе раздела твердое тело – раствор. Для случаев неконкурентной гибридизации ДНК на поверхности исследованы такие термодинамические характеристики системы, как изотермы гибридизации ДНК-мишеней с ДНК-зондами и изотермы адсорбции интеркалирующих лигандов на комплексы зонд-мишень. Проведенный анализ показывает, что связывание с заряженными интеркалирующими лигандами приводит к увеличению чувствительности ДНК-сенсоров.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях

### **Публикации**

1. Andriasyan, A. K. "Construction of Helix–Coil Transition Curves in Heterogeneous Biopolymers Based on Melting Curves of Homopolymers." Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences) 53.1 (2018), p. 95-98.
2. A.V. Asatryan, A.K. Andriasyan, A.A. Hakobyan, sh. A. Tonoyan, Y. Sh. Mamasakhlishov, V. F. Morozov "Straight Calculations of helix-coil transition parameters in heteropolymers" Proceedings of Yerevan State University. Physical and Mathematical Sciences, 52(1), (2018), p.47-54
3. А.В. Асатрян, А.К. Андриасян, Ш.А. Тоноян, Е.Ш. Мамасакхлисов, В.Ф. Морозов "Переход порядок - беспорядок в гетерогенных биологических макромолекулах" Вестник РАУ (принято)
4. Ш.А. Тоноян, А.А. Акопян, А.К. Андреасян, В.Ф. Морозов, Е.Ш. Мамасакхлисов, «Чувствительность ДНК сенсоров при наличии заряженных лигандов», Известия НАН Армении, Физика, т.53, No2, (2018), с.236–245

### **Конференции**

1. Shushanik A. Tonoyan\*, Arevik V. Asatryan, Aram K. Andriasyan, Yevgeni Sh. Mamasakhlishov and Vladimir F. Morozov "Helix-coil transitions in heteropolymers: the constrained annealing approach." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics 33.sup1 (2015), p. 126-126.
2. Aram K. Andriasyan, "GMPC model and the melting curves of heterogeneous biopolymers", New Trends in Life Sciences Place: Yerevan, Institute of Molecular Biology Dates: 26.09.2016 - 28.09.2016 Presentation on Poster Session.

3. Y. Mamasakhlisov, A. Andriasyan, A. Hakobyan, “Reentrant melting of single – stranded RNA with quenched sequence randomness”, Intl. Workshop and Young Scientist School on *Critical Phenomena and Phase Transition*, 20-24 September 2017, A.I. Alikhanyan National Science Laboratory, Yerevan, Armenia.

4. V. Morozov, A. Andriasyan, S. Mirtavoosi, Sh. Tonoyan, Y. Mamasakhlisov, “The helix-coil transition the frames of GMPC. Ligand effects”, Intl. Workshop and Young Scientist School on *Critical Phenomena and Phase Transition*, 20-24 September 2017, A.I. Alikhanyan National Science Laboratory, Yerevan, Armenia.

5. Sh. Tonoyan, A. Andriasyan, A. Hakobyan, V. Morozov, Y. Mamasakhlisov, “Constrained annealing approach for order – disorder transitions in heterogeneous macromolecular systems”, Intl. Workshop and Young Scientist School on *Critical Phenomena and Phase Transition*, 20-24 September 2017, A.I. Alikhanyan National Science Laboratory, Yerevan, Armenia.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, K. Roberts, J. D. Watson "Molecular Biology of the Cell" Garland publ., New-York, London (1983).
2. A. Yu. Grosberg, A. R. Khokhlov. "Statistical Physics of Macromolecules" AIP Press, New-York (1994).
3. C. R. Cantor, T. R. Shimmel, "Biophysical Chemistry", Freeman & Co., San-Francisco (1980).
4. В. Зенгер. "Принципы структурной организации нуклеиновых кислот", М. "Мир" (1987).
5. П. Флори. "Статистическая механика цепных молекул", М. "Мир" (1971).
6. W.L. Mattice, U.W. Suter, "The rotational isomeric state model in macromolecular systems", John Wiley & Sons, Inc., New York (1996).
7. D.C. Poland, H. A. Sheraga "The Theory of Helix-Coil Transition" Acad. Press, New-York (1970).
8. M.V. Volkenstein "Configurational Statistics of Polymeric Chains", Wiley Interscience (1963).
9. V. G. Dashevskii "Conformational Analysis of Macromolecules", Moscow (1987).
10. L. D. Landau, E. M. Lifshits "Statistical Physics" Pergomon Press, Oxford (1988).
11. В.Ф.Морозов, "Переходы порядок-беспорядок в одномерных макромолекулярных системах", докторская диссертация, Ереван (1996).
12. А.А. Vedenov, А. М. Dykhne, М.Д. Frank-Kamenetskii, Usp. Phys. Nauk, v. 105, p. 479 (1971).
13. R. M. Wartell, A. S. Benight, Phys. Rep., v. 126(2), pp. 67-107 (1985).
14. I.A. Shellman. The stability of Hydrogen Bonded peptide structures in aqueous solution. Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg, Ser. Chim., 29, 230 (1955).
15. I.A. Shellman. The stability of Hydrogen Bonded peptide structures in aqueous solution. Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg, Ser. Chim., 29, 223 (1955).

16. I.H. Gibbs, E.A. Dimarzio, "Statistical Mechanics of Helix-Coil Transitions Biological Macromolecules" *J. Chem. Phys.*, 30, 271 (1959).
17. T. L. Hill, "Generalization of the One-Dimensional Ising Model Applicable to Helix Transitions in Nucleic Acids and Proteins", *J.Chem.Phys.*, 30, № 2, 383 (1959)
18. B. H. Zimm, P. Doty, K. Iso, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 45, 1601-1607 (1959).
19. B. H. Zimm, J. K. Bragg, *J. Chem. Phys.*, v. 31, pp. 526-535 (1959).
20. B. H. Zimm, *J. Chem. Phys.*, v. 33, N. 5, pp. 1349-1356 (1960).
21. B. H. Zimm, N. Rice, *Mol. Phys.*, v. 3, N. 4, pp. 391-407 (1960).
22. S. Lifson, A. Roig, "On the theory of helix-coil transition in polypeptides", *J. Chem. Phys.* 34, 1963-1974 (1961).
23. S. Lifson, B. H. Zimm, *Biopolymers*, v.1, pp. 1-15 (1963).
24. S. Lifson, J. Allegra, *Biopolymers*, v. 2, N. 1, p. 65 (1964).
25. M. D. Frank-Kamenetskii, *Mol. Biol.*, v. 2, N. 3, p. 408 (1968).
26. M. D. Frank-Kamenetskii, A. T. Karapetyan, *Mol. Biol.*, v. 6, pp. 621 (1972).
27. M.D. Frank-Kamenetskii. *Biophysics-Nucleic Acids*. Springer, 1998.
28. M.D. Frank-Kamenetskii, A.D. Frank-Kamenetskii. *Mol. Biol. (Russ.)*, 3, 375 (1969).
29. M. Peyrard, A.R. Bishop. Statistical Mechanics of a Nonlinear model for DNA denaturation. *Phys. Rev. Lett.*, 62, № 23, 2755 (1989).
30. Thierry Dauxois, M. Peyrard, A.R. Bishop. Dynamics and thermodynamics of a nonlinear model for DNA denaturation. *Rap. Comm. Phys. Rev. E*, 47, № 1, 684 (1993).
31. Thierry Dauxois, M. Peyrard, A.R. Bishop. Entropy-drive DNA denaturation. *Phys. Rev. Lett*, 47, № 1, R44 (1993).
32. Nikos Theodorakopoulos, Thierry Sauxois, Michel Peyrard. Order of the phase transition in models of DNA thermal denaturation. *Phys. Rev. E*, 85, № 1, 6 (2000).
33. M. Peyrard. Nonlinear dynamics and statistical physics of DNA. *Nonlinearity*, 17, R1 (2004).

34. D. Cule, T. Hwa, "Denaturation of heterogeneous DNA", *Phys.Rev. Lett.* v. 79 (12) (1997).
35. A. Wada, A. Suyama, "Local stability of DNA and RNA secondary structure and its relation to biological functions", *Prog. Biophys. Mol Biol.*, v.47, pp.113-157 (1986).
36. M. Takano, K. Nagayama, A. Suyama, "Investigating a link between all-atom model simulation and the Ising-based theory of the helix-coil transition: Equilibrium statistical mechanics", *J. of Chem. Phys.*, 116, 5 (2002).
37. T. Garel, C. Monthus, H. Orland, "A simple model for DNA denaturation", *Europhysics Lett.*, 55 (1), (2001)
38. Marco Baiesi, Enrico Carlon, Enzo Orlandini, Attilio L. Stella, *Cond-Mat/0207122* v 1. (2002).
39. Yong-li Zhang, Wei-Mou Zheng, Ji-Xing Liu, Y.Z. Chen. Theory of DNA melting based on the Peyrard-Bishop model. *Phys. Rev. E*, 56, № 6, 7100 (1997).
40. D.C. Poland, H. A. Sheraga, "Comparison of theories of the helix-coil transition in polypeptides", *J.Chem.Phys.*, v 43, p. 2071, (1965).
41. N.A. Alves, U.H.E. Hansmann, "Partition function zeroes and finite size scaling of helix-coil transitions in a polypeptide", *Phys. Rev. Lett.*, v. 84, N. 8, pp. 1836-1839 (2000).
42. N. Foloppe, L. Nilsson, A.D. MacKerell Jr., "Ab initio conformational analysis of nucleic acid components: Intrinsic energetic contributions to nucleic acid structure and dynamics", *Biopolymers*, V. 61, Issue 1, pp. 61-76 (2001).
43. P-G de Gennes "Scaling Concept in Polymer Physics" Cornell University Press. Ithaca (1979).
44. N.S Ananikyan, Sh. A. Haryan, E. Sh. Mamasakhlisov, V. F. Morozov, *Biopolymers*, v. 30, pp. 357-367 (1990).
45. Sh. A. Haryan, E. Sh. Mamasakhlisov, V. F. Morozov, *Biopolymers*, v. 35, pp. 75-84 (1995).

46. N.S. Ananikyan, E. Sh. Mamasakhlisov, V. F. Morozov, Z. Phys. Chem, Leipzig, v. 27, N. 3, p. 603 (1993).
47. Ш. А. Айрян, Н.С. Ананикян, Е.Ш. Мамасахлисов, В.Ф. Морозов. Биофизика, 34, вып.3, 394 (1989).
48. V. F. Morozov, E. Sh. Mamasakhlisov, Sh. A. Haryan, Chin-Kun Hu, Physica A, v. 281, pp. 1-4, 51-59 (2000).
49. Wu. F. Y., Rev. Mod. Phys., v. 54, pp. 3720-3730 (1982).
50. R. Baxter, J. Phys. C., v. 6, pp. 445-449 (1973).
51. N. S. Ananikyan, N.S. Izmailyan, Phys. Lett. B., v. 151, pp. 142-144 (1985).
52. Z. Glumac, k. Uzelac, "The partition function zeros in the one-dimensional q-state Potts model", J. Phys. A, v.27, pp.7709-7717 (1994).
53. Seung-Yeon Kim, R.J. Creswick, "Fisher zeros of the Q-state Potts model in the complex temperature plane for nonzero external magnetic field", Phys. Rev.E, v.58, N6, pp. 7006-7012, (1998).
54. R.G. Ghulghazaryan, N.S. Ananikian, "Partition function zeros of the one-dimensional Potts model: the recursive method.", J. Phys. A, v.36, pp. 6297-6312, (2003).
55. M. Elstner, P. Hobza, T. Frauenheim, S. Suhai, E. Kaxiras, "Hydrogen bonding and stacking interactions of nucleic acid base pairs: A density-functional-theory based treatment", J.Chem.Phys., v.114, N12, pp.5149-5155 (2001).
56. L.R. Pratt, MOLECULAR THEORY OF HYDROPHOBIC EFFECTS: "She is too mean to have her name repeated.", Annu. Rev. Phys. Chem., v.53(1), pp. 409 - 436 (2002).
57. A. Irback, E. Sandelin, "On Hydrophobicity Correlations in Protein Chains", Biophys. J, pp. 2252-2258, Vol. 79, No. 5 (2000).
58. Ray Luo, Hillary S. R. Gilson, M.J. Potter, M.K. Gilson, "The Physical Basis of Nucleic Acid Base Stacking in Water", Biophys. J, pp. 140-148, Vol. 80, No. 1 (2001).

59. J.A. Vila, D.R. Ripoll, M.E. Villegas, Yury N. Vorobjev, H.A. Scheraga, "Role of Hydrophobicity and Solvent-Mediated Charge-Charge Interactions in Stabilizing  $\alpha$ -helices", *Biophys. J.*, pp. 2637-2646, Vol. 75, No. 6 (1998).
60. R.D. Parra, S. Bulusu, X.C. Zeng, "Cooperative effects in one-dimensional chains of three center hydrogen bonding interactions", *J.Chem.Phys.*, v.118, N8, p.3499 (2003).
61. Z.-C. OU-Yang, H. Zhou, Y. Zhang, "The elastic theory of a single DNA molecule", *Mod. Phys. Lett. B*, v.17, N1, pp. 1-10 (2003).
62. Z.-C. OU-Yang, "The elastic theory of a single DNA molecule", *Int. J. Mod. Phys. B*, v.17, N 1&2, pp. 69-75 (2003).
63. В.М. Асланян, Т.М. Бирштейн, П. Луизи. Оптическая активность и конформации макромолекул. В сб. "Оптические исследования в жидкостях и растворах". Изд. "Наука", 1965.
64. В.М. Волькенштейн, В.М. Асланян. Оптическая активность и межмолекулярное взаимодействие. *Оптика и спектроскопия*, 7, № 2, 208 (1959).
65. I. Rouzina, V.A. Bloomfield, „*Biophys. J.*”, v.80, 882-893 (2001).
66. I. Rouzina, V.A. Bloomfield, „*Biophys. J.*”, v.80, 894-900 (2001).
67. J.T. Alter, G.T. Taylor, H.A. Scheraga. Helix-Coil stability constants for the Naturally Occuring Amino Acids in Water. VI. Leucine Parameters from Random Poly (hydroxybutylglutamine-co-L-leucine). *Macromolecules*, 5, № 6, 739 (1972).
68. V.S. Ananthanarayanan, E. Levory & H.A. Scheraga. Helix-Coil Transition in Mixed Solvents. I. Optical Rotatory Dispersion Study of Poly(-benzyl-L-glutamate) in Dichloroacetic Acid-Dichloroethane Mixtures. *Macromolecules*, 6, № 4, 553 (1973).
69. V.S. Ananthanarayanan, R.H. Andreatta, D.C. Poland & H.A. Scheraga. Helix-Coil Stability Constants for the Naturally Occuring Amino Acids in Water. III. Glycine Parameters from Random Poly(hydroxybutylglutamine-co-glycine). *Macromolecules*, 4, № 4, 417 (1971).

70. П. Доти. Конфигурации биологически важных макромолекул в растворе. В сборнике "Современные проблемы биофизики", т.1, изд. "Ин. Лит.", стр. 138-151, 1961.
71. M. Vixon & S. Lifson. Solvent Effects on the Helix-Coil Transition in Polypeptides. *Biopolymers*, 4, №8, 815 (1966).
72. L. Peller. On a Model for the Helix-Random Coil Transition in polypeptides. I. The Model and its Thermal Behavior. *J. Phys. Chem.*, 63, № 7, 1194 (1959).
73. L. Peller. On a Model for the Helix-Random Coil Transition in polypeptides. II. The influence of Solvent Composition and Charge interactions on the Transition. *J. Phys. Chem.*, 63, № 7, 1199 (1959).
74. I. Haq, J. Ladbury, "Drug-DNA recognition: energetics and implications for design", *Journal of Molecular Recognition*, V. 13, Issue 4, pp. 188-197 (2000).
75. D. Sz wajkajzer, J. Carey, "Molecular and biological constraints on ligand-binding affinity and specificity", *Biopolymers*, V. 44, Issue 2, pp. 181-198 (1997).
76. J.A. Schellman, H.R. Reese, "Extensions to the theory of intercalation", *Biopolymers*, V. 39, Issue 2, pp. 161-171 (1996).
77. K. E. S. Tang, V. A. Bloomfield, "Assessing Accumulated Solvent Near a Macromolecular Solute by Preferential Interaction Coefficients", *Biophys. J.*, v.82(6), pp. 2876 - 2891 (2002).
78. V.S. Pande, A.Yu. Grosberg, T. Tanaka, "Heteropolymer freezing and design: Towards physical models of protein folding", *Rev. Mod. Phys.*, V. 72, No. 1, pp. 259-314 (2000).
79. A.S. Benight, F.J. Gallo, T.M. Paner, K.D. Bishop, B.D. Faldasz, M.J. Lane, "Sequence context and DNA reactivity: Application to sequence-specific cleavage of DNA", *Adv. Biophys. Chem.*, v.5, pp. 1-55 (1995).
80. R. Owczarzy, P.M. Vallone, F.J. Gallo, T.M. Paner, M.J. Lane, A.S. Benight, "Predicting sequence-dependent melting stability of short duplex DNA oligomers", *Biopolymers*, V. 44, Issue 3, pp. 217-239 (1997).

81. D.G. Wallace, K.A. Dill, "Treating sequence dependence of protein stability in a mean-field model", *Biopolymers*, V. 39, Issue 1, pp. 115-127 (1996).
82. C. Anselmi, G. Bocchini, P. De Santis, M. Savino, A. Scipioni, "A Theoretical Model for the Prediction of Sequence-Dependent Nucleosome Thermodynamic Stability", *Biophys J*, pp. 601-613, Vol. 79, No. 2 (2000).
83. A. E. Vinogradov, "DNA helix: the importance of being GC-rich" *Nucleic Acids Res.*, v. 31(7), pp. 1838 - 1844 (2003).
84. Б. Н. Белинцев, А.В. Гагуа, *Мол. Биол.*, т. 23, в.1, стр. 52-60 (1989).
85. Y. Zhang, D.M. Crothers, "Statistical Mechanics of Sequence-Dependent Circular DNA and Its Application for DNA Cyclization", *Biophysical J.*, v. 84, pp. 136-153 (2003).
86. M. Fixman and D. Zeroka. Helix-Coil Transition in Heterogeneous Chains. I. Protein Model. *J. Chem. Phys.*, 48, 5223 (1968).
87. W.B. Melchior, P.H. von Hippel. Alteration of the relative stability of dAodT and dGdC base pairs in DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 70, № 2, 298 (1973).
88. А.Д. Воскобойник, Д.Р. Монаселидзе, Г.Н. Мгеладзе и др. Исследование плавления ДНК в области инверсии относительной стабильности АТ- и GC-пар. *Молекул. биология*, 9, № 5, 783 (1975).
89. O. Farago, P. Pincus, "Solute effects on the helix-coil transition", *Eur. Phys. J. E*, v.8, pp. 393–396 (2002).
90. N. Go, M. Go and H.A. Scheraga. Molecular Theory of the Helix-Coil Transition in Polyamino Acids. III. Evaluation and Analysis of  $s$  and  $z$  for Polyglycine and Poly-L-Alanine in Water. *J. Chem. Phys.*, 54, № 10, 4489, (1971).
91. N. Go, M. Go and H.A. Scheraga. Molecular Theory of the Helix-Coil Transition in Polyamino Acids. IV. Evaluation Analysis of the  $s$  for Poly (L-valine) in the Absence and Presence of Water. *Macromolecules*, 7, № 4, 459 (1974).
92. M. Go and H.A. Scheraga. Molecular Theory of the Helix-Coil Transition in Polyamino Acids. V. Explanation of the Different Conformational Behavior of Valine, Isoleucine and Leucine in Aqueous Solution. *Biopolymers*, 23, 1961 (1984).

93. I.E. Alter, G.T. Taylor and H.A. Scheraga. Helix-Coil Stability Constants for the Naturally Occuring Amino Acids in Water. VI. Leucine Parameters from Random Poly(hydroxypropylglutamine-co-L-leu-cine and Poly(hydroxybutylglutamine-co-L-leucine). *Macromolecules*, 5, № 6, 739 (1972).
94. A. Kidera, M. Mochizuki, R. Hasegawa, T. Hayashi, H. Sato, A. Nakajima, R.A. Fredrickson, S.P. Powers, S. Lee and H.A. Scheraga. Helix-Coil Transition in Multicomponent Random Copolypeptides in Water. I. Theory and Application to Random Copolymers of (Hydroxypropyl)-L-glytamine, L-alanine and glycine. *Macromolecules*, 16, № 2, 162 (1983).
95. F.E. Karasz & T.M. O'Reilly. Deuteration and Solvent Composition Effects in the Helix-Coil Transition of Poly- - benzyl-L-glutamate. *Biopolimers*, 4, № 9, 1015 (1966).
96. K. Okita, A. Teramoto & H. Fujita. Solution Properties of Synthetic Polypeptides. VI. Helix-Coil Transition of Poly-N-(3-hydroxypropyl)-L-glutamine. *Biopolymers*, 9, № 6, 717 (1966).
97. R. Weil, J. Vinograd. The cyclic helix and cyclic coil forms of polyoma viral DNA. *Ibid*, 50, № 3, 730 (1963).
98. A. Colman, P.R. Cook. Transcription of superhelical DNA from cell nuclei. *Europ. J. Biochem.*, 76, № 1, 63 (1977).
99. Yu. L. Lyubchenko, M.D. Frank-Kamenetskii, A.V. Vologodskii, Yu.S. Lazurkin, G.G. Gause. *Biopolymers*, 15, 1019 (1976).
100. A.V. Gagua, B.N. Belintsev, Yu.L. Lyubchenko. Effect of base pairs stability on the melting of superhelical DNA. *Nature*, 294, 662 (1981).
101. А.В. Вологодский. Топология и физические свойства кольцевых ДНК. М. "Наука", 1988.
102. D. Sprous, R.K.-Z. Tan, S.C. Harvey, "Molecular modeling of closed circular DNA thermodynamic ensembles", *Biopolymers*, V. 39, Issue 2, pp. 243-258 (1996).

103. J.H. White, R.A. Lund, W.R. Bauer, "Twist, writhe, and geometry of a DNA loop containing equally spaced coplanar bends", *Biopolymers*, V. 38, Issue 2, pp. 235-250 (1996).
104. Y. Zhang, D. M. Crothers, "Statistical Mechanics of Sequence-Dependent Circular DNA and Its Application for DNA Cyclization", *Biophys. J.*, v. 84(1), pp. 136 - 153 (2003).
105. А.В. Бадасян, А.В. Григорян, А.Ю. Чухаджян, Е.Ш. Мамасакхлисов, В.Ф. Морозов. Переход спираль-клубок в кольцевых замкнутых ДНК в присутствии конкурентного растворителя. *Известия НАН Армении, Физика*, 37, N1, 59 (2002).
106. V. Munoz, L. Serrano, "Development of the Multiple sequence Approximation within the AGADIR model of alpha-helix formation: comparison with Zimm-Bragg and Lifson-Roig formalisms", *Biopolymers*, v. 41, pp. 495-509 (1997).
107. А.В. Бадасян, А.В. Григорян, А.Ю. Чухаджян, Е.Ш. Мамасакхлисов, В.Ф. Морозов, "Гамильтониан и характеристическое уравнение для обобщения модели перехода спираль-клубок с учетом стекинга", *Известия НАН Армении, Физика*, т.37, N5, с.320-322 (2002).
108. V.F. Morozov, A.V. Badasyan, A.V. Grigoryan, M.A. Sahakyan, E.Sh. Mamasakhlishov, "Stacking and Hydrogen Bonding. DNA Cooperativity at Melting.", *Biopolymers*, v.75, issue 5, pp. 434-439 (2004).
109. A. Crisanti, G.Paladin, A. Vulpiani, „Products of Random Matrices in Statistical Physics", Springer-Verlag, Berlin (1993).
110. А.В. Бадасян, "Переход спираль-клубок в гетерополимерах. Микроканонический метод.", *Известия НАН Армении, Физика*, т.39, N1, с. 53-59 (2004).
111. A.V. Badasyan, A.V. Grigoryan, E.Sh. Mamasakhlishov, V.F. Morozov, "Role of heterogeneity in helix-coil transition in biopolymers", *Statistical Physics and Dynamical Systems: Methods and Applications*, Nor-Amberd, Armenia, 2003, Book of abstracts, p.9.

112. A.V. Badasyan, A.V. Grigoryan, E.Sh. Mamasakhlisov, V.F. Morozov, "The helix-coil transition in heterogeneous double stranded DNA. Microcanonical method.", X International Conference on Symmetry Methods in Physics, Yerevan, Armenia, 2003, Book of Abstracts, Page 10.
113. A.V. Badasyan, A.V. Grigoryan, E.Sh. Mamasakhlisov, V.F. Morozov, "Order-disorder transition in one-dimensional system with disorder in composition.", *Physics of Atomic Nuclei*, v. 68, N. 8 (2005).
114. А.В. Бадасян, А.В. Григорян, А.Ю. Чухаджян, Е.Ш.Мамасахлисов, В.Ф. Морозов, "Переход спираль-клубок в кольцевых замкнутых гетерополимерных ДНК", *Известия НАН Армении, Физика*, т.37, N4, с. 250-253 (2002).
115. A.V. Badasyan, V.F. Morozov, E.Sh. Mamasakhlisov, "Influence of chain heterogeneity on the helix-coil transition in circular closed DNA", *StatPhys-Taiwan-2002, Lattice models and complex systems*, Book of abstracts, p. 37.
116. D. Ivnicki et al., *Biosensors and Bioelectronics* 14, 599 (1999).
117. J. Labuda et al., *Pure Appl. Chem.* 82, 1161 (2010).
118. J.H. Watterson, P.A.E. Piunno, U.J. Krull, *Anal.Chem.Acta* 457, 29 (2002).
119. A. Halperin, A. Buhot, and E. B. Zhulina, *J. Phys.: Condens. Matter* 18, S463 (2006).
120. G. Ananyan, A. Avetisyan, L. Aloyan, Y. Dalyan, *Biophys. Chem.* 156, 96 (2011).
121. A.A. Ghazaryan, Y.B. Dalyan, S.G. Haroutiunian, A. Tikhomirova, T.V. Chalikian, *J. Amer. Chem. Soc.* 128, 1914 (2006).
122. Pasternack R.F., J.I. Goldsmith, S. Szep, Gibbs E.J., *Biophys.J.* 75, 1024 (1998).
123. D. M. Hinckley, G. S. Freeman, J. K. Whitmer, and J. J. de Pablo, *J. Chem. Phys.* 139, 144903 (2013).
124. D. M. Hinckley, J. P. Lequieu, and J. J. de Pablo, *J. Chem. Phys.* 141, 035102 (2014).
125. A. W. Peterson, R. J. Heaton and R. M. Georgiadis, *Nucl. Acids Res.* 29, 5163 (2001).

126. A. Halperin, A. Buhot, and E. B. Zhulina, *Biophys. J.* 86, 718 (2004).
127. Hagan M.F., Chakraborty A.K., *J.Chem. Phys.* 120, 4958 (2004).
128. Seckar M.M.A., Bloch W., John P.M.S., *Nucleic Acids Res.* 33, 366 (2005).
129. N. V. Sorokin, et al., *J. Biomol. Struct. Dyn.* 24, 57 (2006).
130. D. Irving, P. Gong, and R. Levicky, *J. Phys. Chem. B* 114, 7631 (2010).
131. T.J. Schmitt and T. A. Knotts IV, *J. Chem. Phys.* 134, 205105 (2011).
132. S. M. Nelson, L. R. Ferguson, and W. A. Denny, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 623, 24 (2007).
133. V. V. Kostjukov, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.* 14, 5588 (2012).
134. C. G. Ricci, P. A. Netz, *J. Chem. Inf. Model.* 49, 1925 (2009).
135. C. Tanford, *Proceed. Natl. Acad. USA* 78, 270 (1981).
136. P. Pincus, *Macromolecules* 24, 2912 (1991).
137. J. Wittmer, and J. F. Joanny, *Macromolecules* 26, 2691 (1993).
138. O. V. Borisov, E. B. Zhulina, and T. M. Birshtein, *Macromolecules* 27, 4795 (1994).
139. I. Y. Wong and N. A. Melosh, *Biophys. J.* 98, 2954 (2010).
140. Y. Sh. Mamasakhlisov, A. P. Antonyan, A. A. Hakobyan, *Proceed. YSU* 51, 66 (2017).