

НЕУСТОЙЧИВЫЕ И МЕТАСТАБИЛЬНЫЕ СОСТОЯНИЯ МОЛЕКУЛЫ ДНК ПРИ ЕЕ СВЕРХРАСТЯЖЕНИИ

Немцов В.Б., Ширко А.В., Камлюк А.Н.

On the basis of thermodynamical description of the nonlinear overstretching of DNA molecule it is shown that the force-deformation equation is similar to the van der Waals equation. The B-DNA to S-DNA transition is considered as the stability breaking. The coexistence and spinodal curves were obtained. Position of the accompanied plateau is determined by means of Maxwell rule analogously to the case of van der Waals equation. The "critical" point for the overstretching DNA molecule is predicted.

В настоящее время с помощью техники лазерных пинцетов (захватов) проведены уникальные опыты по растяжению одиночной молекулы ДНК (см., например, [1]). Соответствующая диаграмма растяжения, отвечающая значительному увеличению (в 1.5–2 раза) исходной длины молекулы ДНК (сверхрастяжение), имеет характерное плато, напоминающее площадку текучести для металлических образцов. Однако в отличие от металлов растяжение молекулы ДНК обратимо.

Появление плато на диаграмме сверхрастяжения молекулы ДНК можно объяснить потерей устойчивости при растяжении [2].

Интересным является то, что для процесса сверхрастяжения молекулы ДНК можно установить некоторые аналогии с термодинамическими фазовыми переходами. Естественно речь не идет о переходе среды из одного агрегатного состояния в другое, а имеется в виду качественный переход от стандартной формы молекулы ДНК, так называемой В-формы, к сверхрастянутому состоянию S-форме. Данное допущение дает возможность использовать термодинамические выражения для описания сверхрастяжения молекулы.

Следуя этим соображениям, на кривой растяжения явно можно выделить три характерные зоны: область устойчивой линейной деформации, область потери устойчивости и область дальнейшей устойчивой деформации, вплоть до разрыва (рис. 1).

Найдем выражение для свободной энергии молекулы ДНК. Пусть конечная деформация растяжения молекулы описывается лагранжевой мерой деформации $\varepsilon = 0.5(\lambda^2 - 1)$ (здесь λ – кратность удлинения, то есть отношение длины молекулы в растянутом состоянии к ее исходной длине). Тогда выражение для свободной энергии F молекулы, растягиваемой силой P , можно представить в виде отрезка ряда по деформации ε подобно разложению свободной энергии в теории Ландау фазовых переходов первого рода [3, 4]

$$F = a\varepsilon^2 - b\varepsilon^3 + c\varepsilon^4 - P\varepsilon, \quad (1)$$

где a , b и c – параметры, которые могут зависеть от температуры и концентрации ионов в окружающей молекулу среде.

Используя условие равновесия молекулы ДНК при ее сверхрастяжении $dF/d\varepsilon = 0$, установим зависимость растягивающей силы от деформации:

$$P = 4c\varepsilon^3 + 2a\varepsilon - 3b\varepsilon^2. \quad (2)$$

Вводя безразмерную силу $P^* = P/P_0$ ($P_0 = 4c$), получим уравнение для кривой растяжения в виде

$$P^* = \varepsilon^3 - 2\alpha\varepsilon^2 + \beta\varepsilon, \quad (3)$$

где $2\alpha = 3b/(4c)$, $\beta = 2a/(4c)$.

Из условия отсутствия точек пересечения кривой (3) с осью абсцисс находим, что $\alpha^2 > \beta$. При $\alpha^2 = \beta$ кривая касается оси абсцисс.

Исследуя уравнение (3) на экстремумы, установим максимум и минимум функции соответственно

$$\varepsilon_2 = \frac{2\alpha}{3} - \sqrt{\frac{4\alpha^2}{9} - \frac{\beta}{3}}, \quad \varepsilon_3 = \frac{2\alpha}{3} + \sqrt{\frac{4\alpha^2}{9} - \frac{\beta}{3}}.$$

Величины ε_2 и ε_3 будут вещественными при $\beta \leq 4\alpha^2/3$. Таким образом, получаем ограничения для параметров α и β :

$$\alpha^2 \leq \beta \leq \frac{4}{3}\alpha^2 \quad (4)$$

Для удобства сопоставления теоретических результатов с экспериментальными данными перейдем от лагранжевой меры деформации ε к кратности удлинения λ . В это случае экстремумы функции (3) будут соответственно

$$\lambda_2 = \sqrt{\left(\frac{4\alpha}{3} + 1\right) - 2\sqrt{\frac{4\alpha^2}{9} - \frac{\beta}{3}}} \quad \text{и} \quad \lambda_3 = \sqrt{\left(\frac{4\alpha}{3} + 1\right) + 2\sqrt{\frac{4\alpha^2}{9} - \frac{\beta}{3}}},$$

а выражение для растягивающей силы примет вид

$$P = \frac{1}{8}\lambda^6 - \left(\frac{\alpha}{2} + \frac{3}{8}\right)\lambda^4 + \left(\alpha + \frac{\beta}{2} + \frac{3}{8}\right)\lambda^2 - \left(\frac{\alpha}{2} + \frac{\beta}{2} + \frac{1}{8}\right). \quad (5)$$

Несложно аппроксимировать экспериментальные точки кривой сверхрастяжения с помощью теоретической кривой, задаваемой функцией (3) в безразмерной форме. В результате получаем численные значения коэффициентов $\alpha = 0.674$ и $\beta = 0.517$, а также параметр $P_0 = 1439$.

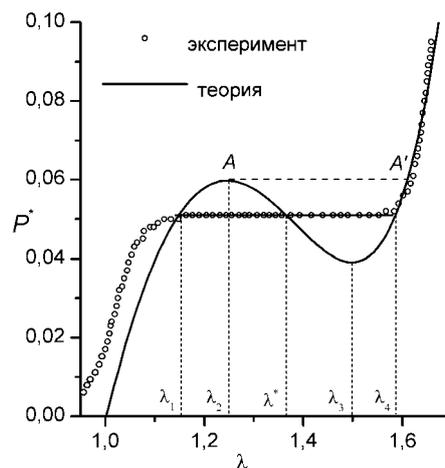


Рис. 1. Результат аппроксимации экспериментальных данных.

Переход с одной устойчивой ветви на другую может происходить мгновенно по линии AA' (рис. 1), однако при квазистатическом деформировании, когда переход осуществляется

бесконечно медленно, переход с одной устойчивой ветви на другую происходит по иной линии, положение которой определяется термодинамическими соображениями.

Положение плато ($\lambda_1 - \lambda_4$) определяется с помощью правила Максвелла, предложенного для уравнения Ван-дер-Ваальса, описывающего процессы, протекающие в реальных газах. С учетом этого правила на рис. 1 проведена горизонтальная площадка так, чтобы отсеченные площади аппроксимирующей кривой были равны между собой.

Так как уравнение для растягивающей силы, записанное с помощью лагранжевой меры деформации ε , гораздо проще аналогичного уравнения, записанного через кратность удлинения λ , то расчеты параметров плато будем вести с помощью выражения (3), а затем перейдем к кратностям удлинений.

Равенство площадей описывается уравнением

$$\int_{\varepsilon_1}^{\varepsilon^*} P^*(\varepsilon) d\varepsilon - (\varepsilon^* - \varepsilon_1) P_p^* = - \int_{\varepsilon^*}^{\varepsilon_4} P^*(\varepsilon) d\varepsilon + (\varepsilon_4 - \varepsilon^*) P_p^*,$$

или после преобразования

$$\int_{\varepsilon_1}^{\varepsilon_4} P^*(\varepsilon) d\varepsilon = (\varepsilon_4 - \varepsilon_1) P_p^*, \quad (6)$$

где $P^*(\varepsilon)$ – функция, задаваемая выражением (3); P_p^* – значение силы, при которой наблюдается появление плато, ε^* соответствует λ^* (см. рис. 1).

Так как уравнение (6) содержит три неизвестных параметра ε_1 , ε_4 и P_p^* , то для их определения запишем еще два дополнительных соотношения, которые следуют из результатов аппроксимации эксперимента

$$P^*(\varepsilon_1) = P_p^* \text{ и } P^*(\varepsilon_4) = P_p^*. \quad (7)$$

Решая совместно (6) и (7) с помощью ЭВМ, получаем следующие значения параметров плато:

$$\varepsilon_1 = \frac{2\alpha}{3} - \sqrt{\frac{4\alpha^2}{3} - 3}, \quad \varepsilon_4 = \frac{2\alpha}{3} + \sqrt{\frac{4\alpha^2}{3} - 3}, \quad P_p^* = \frac{2\alpha\beta}{3} - \frac{16\alpha^3}{27}. \quad (8)$$

Выражения (8) можно получить иначе. Для этого в уравнении (3) перейдем к новой переменной $\tilde{\varepsilon}$ ($\varepsilon = \frac{2\alpha}{3} + \tilde{\varepsilon}$)

$$P^* - \bar{P} = -\tilde{\varepsilon}^3 + \tilde{\varepsilon} \left(\frac{4\alpha^2}{3} - \beta \right), \quad (9)$$

где $\bar{P} = \frac{2\alpha\beta}{3} - \frac{16\alpha^3}{27}$.

Функция (9) является нечетной. Рассматривая равенство сил на границах плато, можно записать соотношение

$$P^*(\tilde{\varepsilon}_1) - \bar{P} = P^*(\tilde{\varepsilon}_4) - \bar{P}. \quad (10)$$

Если решить уравнение (10) с учетом, что $\tilde{\varepsilon}_1 = -\tilde{\varepsilon}_4$, то в результате будут получены те же выражения для параметров ε_1 , ε_4 , которые представлены в (8).

Запишем ε_1 и ε_4 через λ_1 и λ_4 соответственно

$$\lambda_1 = \sqrt{\left(\frac{4\alpha}{3} + 1\right) - 2\sqrt{\frac{4\alpha^2}{3} - \beta}}, \quad \lambda_4 = \sqrt{\left(\frac{4\alpha}{3} + 1\right) + 2\sqrt{\frac{4\alpha^2}{3} - \beta}}$$

Для параметров α и β , отвечающим экспериментальным данным, можно рассчитать параметры плато теоретической кривой $\lambda_1 = 1.141$, $\lambda_4 = 1.579$ и значение безразмерной силы $P_p^* = 0.051$. В итоге, как видно на рис. 1, полученная теоретическая кривая растяжения хорошо согласуется с экспериментальной.

Неточность на начальном этапе теоретической кривой растяжения связана с тем, что описываемая термодинамическая модель не учитывает начальной силы, которая имеет место в эксперименте при $\lambda = 1$ и соответствует $P_n = 28$ пН. Это объясняется тем, что молекула ДНК, как и прочие полимерные молекулы в результате энтропийных эффектов закручена в клубок и для раскручивания ее до прямолинейной формы необходимо некоторое усилие. Значение этого усилия, направленного на устранение энтропийных эффектов P_n (раскручивание клубка) можно полагать одинаковым для различных термодинамических состояний. Поэтому, когда необходимо будет учесть данный фактор, в уравнение (3) следует добавить некоторую константу.

В связи с принятыми термодинамическими соображениями можно предположить, что на характер процесса сверхрастяжения молекулы ДНК влияют температура окружающей среды, ионное окружение, давление и прочие термодинамические характеристики. Данные факторы учитываются в уравнении для свободной энергии (1) коэффициентами a , b и c , и, следовательно, выражены через них параметрами α и β .

Таким образом, можно получить семейство кривых (рис. 2), характеризующих процесс сверхрастяжения молекулы ДНК при различных термодинамических условиях. Для этого примем $\alpha = 0.674$, которое соответствует эксперименту, а параметр β , играющий роль "температуры", будем менять в пределах, определяемых неравенством (4).

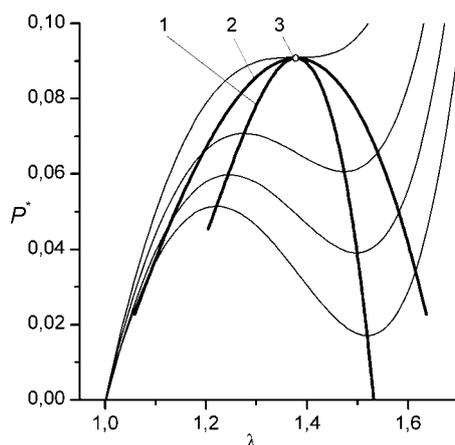


Рис. 2. Построение бинадали и спинодали.

По аналогии с Ван-дер-Ваальсовыми кривыми на рис. 2 можно выделить область, ограничивающую неустойчивые формы молекулы ДНК. Эта область характеризуется кривой, называемой в термодинамике спинодалью (рис. 2, кривая 1), являющейся геометрическим местом экстремумов кривых растяжения, построенных при различных значениях параметра β .

Существование спинодали приводит к возможности равновесия двух различных форм молекулы ДНК (В- и S-формы) – "фазовое" равновесие. Эти формы разделены областью неустойчивых состояний, и так как они не реализуются, то невозможен непрерывный переход одной формы в другую. Напомним, что в данной работе фазовый переход понимается не в обычном смысле этого слова, так как в одномерных системах фазовый переход невозможен. Здесь имеется в виду переход от одной устойчивой формы молекулы ДНК (В-формы) к другой ее форме (S-форме), который так же будем называть фазовым.

Линия бинодали определяется равенством растягивающих сил на границах плато и правилом Максвелла (рис. 2, кривая 2).

Между бинодалью и спинопалью существуют области метастабильных форм молекулы, в которых каждая из форм может существовать только при отсутствии другой.

При изменении параметров α и β , обусловленные изменением температуры и концентрации ионов в окружении ДНК, можно достигнуть ситуации, когда $\beta = 4\alpha^2/3$. В этом случае длина плато равна нулю и кривая "сила-деформация" имеет точку перегиба 3 (рис. 2), которая аналогична критической точке жидкости, для которой жидкая фаза и пар неразличимы. В нашем случае "критическая" точка – это точка, где В- и S-формы неразличимы. Мы надеемся, что предсказание "критической" точки в процессе сверхрастяжения найдет экспериментальное подтверждение.

В результате анализа кривой сверхрастяжения молекулы ДНК удалось выявить важные особенности тех процессов, которые приводят к образованию плато на диаграмме растяжения молекулы. Плато разделяет две устойчивые ветви на кривой растяжения. И как оказывается, оно формируется наложением двух состояний: метастабильного и неустойчивого состояний растягиваемой молекулы.

Метастабильные состояния являются относительно устойчивыми состояниями, из которых возможен переход в другие более устойчивые состояния. Метастабильные состояния расположены между бинодалью и спинопалью. Спинопаль ограничивает область неустойчивых нереализуемых состояний. С помощью комбинирования указанных двух состояний осуществляется переход с левой, устойчивой ветви диаграммы растяжения молекулы ДНК на правую, также устойчивую ветвь кривой ее растяжения.

Данная работа носит предсказательный характер, так как в ней прогнозируется возможность получения различных кривых растяжения молекулы ДНК при изменении параметров α и β .

Таким образом, на основе представления о том, что при конечном растяжении молекулы ДНК происходит потеря устойчивости, можно описать экспериментальные данные по уникальному явлению сверхрастяжения рассматриваемой молекулы.

Полученные результаты носят, вообще говоря, качественный характер. Более точная модель была построена с помощью статистической теории в работе [5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Haijun Zhou, Yang Zhang, Zhong-can Ou-Yang. Elastic property of single double-stranded DNA molecules. Theoretical stade and comparison with experiments // *Phys. Rev. E.* – 2000. – Vol. 62, № 1. – P. 1045–1058.
2. Немцов В.Б., Камлюк А.Н., Ширко А.В. Построение модели сверхрастяжения молекулы ДНК // *Труды БГТУ. Сер. физ.-мат. науки и информатика: Тр. / Бел. гос. технол. ун-т.* – Мн., 2003. – Вып. 11. – С. 45–49.
3. Nemtsov V.B. Nonlinear Overstretching of DNA Molecule As the Stability Breaking // *Nonlinear Phenomena in Complex Systems.* – 2003. – Vol. 6, № 1. – P. 568–571.
4. Немцов В.Б., Камлюк А.Н., Ширко А.В. Нелинейные и динамические свойства молекулы ДНК // *ФТТ 2005. Актуальные проблемы физики твердого тела: Материалы Международной научной конференции / ИФТТиП.* – Мн., 2005. – С. 309–311.
5. Белов В.В., Немцов В.Б. Статистическая модель сверхрастяжения молекулы ДНК // *Весці АН РБ. Сер. фіз.-мат. навук.* – 2005. – № 4. – С. 90–93.