

УДК 577.32

РАСПРЕДЕЛЕННАЯ МОДЕЛЬ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЕМ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ВЛАЖНОСТИ В ОБРАЗЦАХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

М.Е. Толсторуков, С.В. Гаташ, В.Я. Малеев

Кафедра молекулярной и прикладной биофизики, Харьковский государственный университет

Поступила в редакцию 15 мая 1998 г.

В работе представлена модель с пространственно распределенными параметрами, описывающая конформационные переходы нуклеиновых кислот, индуцированные изменением относительной влажности образца. Модель предполагает наличие трех основных конформационных состояний нуклеиновой кислоты. Проведено численное моделирование эволюции возмущений, наложенных на первоначально однородное конформационное состояние молекулы биополимера.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: динамические модели, бистабильность, бегущие фронты, нуклеиновые кислоты, конформационные переходы, гидратация

К настоящему моменту несомненным представляется тот факт, что нуклеиновые кислоты (НК) являются не просто хранилищем генетической информации – их конформационная динамика важна для функционирования живых организмов [1]. Одним из подходов к изучению конформационной динамики НК является ее математическое моделирование. Данному направлению исследований посвящено большое количество работ (для обзора см. [2, 3]).

Конформация НК определяется ее первичной структурой и условиями среды, в которой находится биополимер, такими как pH, полярность, ионная сила раствора, содержание воды и т.д. Различают семейства B-, A-, Z-конформаций, а также неупорядоченную форму, которая наблюдается для дегидратированных НК [4, 5]. В настоящей статье мы ограничиваем рассмотрение взаимодействием НК со своим гидратным окружением.

Гидратное окружение НК играет важную роль в определении ее конформации. Сорбированные на поверхности биополимера молекулы воды формируют многослойную гидратную оболочку с регулярной структурой водородных связей. Такие водные мостики вносят значительный вклад (до 70% энтальпии плавления B-ДНК в увлажненных пленках и гелях [5]) в стабилизацию двойных спиралей НК (упорядоченных конформаций). Связанные молекулы воды можно разделить на несколько групп, расположенных вблизи оснований, фосфатных групп и гликозидных связей остатков сахаров остова НК. Гидратные оболочки различных конформаций НК существенно различаются. В то же время, различные группы связанных молекул воды играют разную роль в стабилизации той или иной конформации [5]. Поэтому при моделировании конформационной динамики НК необходим прямой учет ее гидратной оболочки. Гидратная оболочка НК

формируется с ростом относительной влажности (ОВ) образца. При этом НК, такие как ДНК, совершают конформационные переходы от неупорядоченного состояния к А- или, при определенных экспериментальных условиях, к С-конформации (68-73% ОВ), а затем к В-конформации (92-96% ОВ) [4].

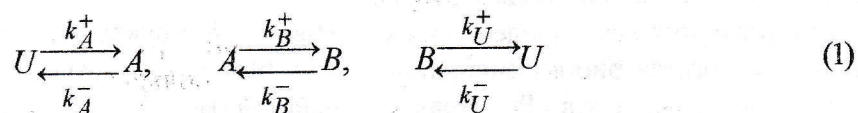
В работе [6] была предложена модель с пространственно сосредоточенными параметрами для описания конформационных переходов с гистерезисом, вызванных изменением ОВ образца НК. Однако, учет гетерогенности и возникновения пространственных неоднородностей конформационного состояния образцов НК необходим для более детального описания структурных перестроек биополимера. Кроме того, сорбированные молекулы воды могут диффундировать по матрице биополимера. Такая диффузия также несомненно оказывает влияние на конформационную динамику НК.

В данной работе предлагается математическая модель с пространственно распределенными параметрами, описывающая конформационные переходы, имеющие место в цикле гидратация – дегидратация и, в явном виде, учитывающая их взаимосвязь с изменением гидратного окружения НК.

МОДЕЛЬ

Конформационные переходы

Рассмотрим ограниченный объем, который содержит образец НК. В этом объеме поддерживается определенная ОВ, значение которой, однако, может быть произвольно изменено. Такая схема соответствует реальным экспериментам по увлажнению НК. Молекула НК моделируется последовательностью N мономерных звеньев, общей длиной L . Каждое звено соответствует паре нуклеотидов. Звенья цепи могут находиться в одном из трех конформационных состояний: неупорядоченной форме, А- или В-конформации. Между этими конформациями возможны обратимые кооперативные (за счет невыгодности образования границ раздела “фаз”) переходы. Таким образом, представленная модель является “моделью трех состояний”. Предполагается, что цепи не расходятся в процессе конформационных переходов в увлажненных образцах нуклеиновых кислот [7], поэтому мы моделируем конформационные переходы как одномолекулярные реакции.



здесь U – представляет неупорядоченную форму, A , и B – соответствующие конформации, k_i^\pm – кинетические константы соответствующих процессов, т.е. вероятность того, что данный процесс произойдет в единицу времени.

Введем безразмерные переменные U , A , и B , обозначающие вероятности обнаружить произвольное мономерное звено в соответствующей конформации. Между этими переменными существует простая зависимость:

$$U + A + B = 1 \quad (2)$$

С учетом (2) схеме (1) соответствует следующая система дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} \frac{\partial A}{\partial t} &= k_A^+ \left[1 - \left(1 + \frac{k_A^-}{k_A^+} \right) A - B \right] \\ \frac{\partial B}{\partial t} &= k_B^+ \left[A - B \frac{k_B^-}{k_B^+} \right] \end{aligned} \quad (3)$$

Учитывая взаимодействия только между ближайшими в цепи парами оснований, соотношения между кинетическими константами, которые характеризуют состояние конформационного равновесия в системе, могут быть представлены в виде:

$$\frac{k_A^-}{k_A^+} = \exp\left\{ \Delta F_{UA}^p(r) + \sigma_{UA}(r)[2(1 - A(r-a) - A(r+a)) - (B(r-a) + B(r+a))] + \right. \\ \left. + (\sigma_{AB}(r) - \sigma_{BU}(r))(B(r-a) + B(r+a)) + \Delta F_{UA}^w(r) \right\} \\ \frac{k_B^-}{k_B^+} = \exp\left\{ \Delta F_{AB}^p(r) + 2\sigma_{AB}(r)(A(r-a) - B(r-a) + A(r+a) - B(r+a)) + \right. \\ \left. + (\sigma_{BU}(r) - \sigma_{UA}(r))(U(r-a) + U(r+a)) + \Delta F_{AB}^w(r) \right\} \quad (4)$$

где, ΔF_{UA}^p , ΔF_{AB}^p – изменение свободной энергии моля звеньев полимерной цепи при конформационном переходе из неупорядоченной в А– форму и из А– в В–форму соответственно; ΔF_{UA}^w , ΔF_{AB}^w – изменение свободной энергии гидратной оболочки при конформационных переходах; σ_{ij} – свободная энергия за счет возникновения границы раздела между конформациями. Для упрощения модели при численном моделировании значения σ_{ij} брались равными для всех конформационных переходов ($\sigma_{UA} = \sigma_{AB} = \sigma_{BU} = \sigma$). r – пространственная координата, вдоль цепи мономеров. Зависимость параметров от пространственной переменной предполагается дискретной, т.е. значения всех параметров не могут изменить свое значение в

пределах пары оснований $a \cong 6.5 \text{ \AA}$, что соответствует среднему расстоянию вдоль цепи НК между фосфатами в А– и В–формах. Такая зависимость параметров от пространственной переменной определяет естественную пространственную дискретизацию при проведении численного моделирования.

Профиль изменения свободной энергии мономерных звеньев при конформационных переходах схематически изображен на рис. 1

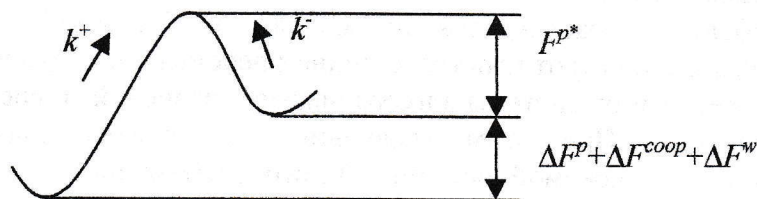


Рисунок 1. Энергетический профиль конформационного перехода F^{p*} – свободная энергия активации конформационного перехода, ΔF^{coop} – изменение свободной энергии за счет кооперативности конформационных переходов (члены пропорциональные σ в (4)).

На рис. 1 представлен случай, когда прямой конформационный переход невыгоден. Однако, рост ОВ приводит к увеличению (по модулю) члена ΔF^w , за счет увеличения числа сорбированных молекул воды, что изменяет соотношение минимумов и делает переход энергетически выгодным.

Сорбция воды

На мономерных звеньях НК расположены центры связывания молекул воды. Сорбция воды, в рамках представленной модели, происходит на центрах связывания лангмюровского и генриевского типов. Также возможна мультислойная сорбция, т.е. сорбция воды на уже занятые центры связывания за счет образования водородных связей с сорбированными молекулами воды.

В работе [6] для описания сорбции воды молекулой НК в рамках сосредоточенной модели использовалось уравнение изотермы сорбции, полученное на основе хорошо известного уравнения Гаскойна – Пэтига для случая сорбции различными типами центров связывания [8]:

$$X(X_e) = X_L + X_H + X_{ML}$$

$$X_L = \frac{v_L^m a_L X_e}{1 + a_L X_L}; \quad X_H = a_H X_H; \quad X_{ML} = (X_L + X_H) \frac{bX_e}{1 - bX_e} \quad (5)$$

Где X – общее число сорбировавшихся на одном мономерном звене молекул воды при относительной влажности X_e ; X_L , X_H , X_{ML} – число связанных молекул на центрах ленгмюровского, генриевского типов и за счет мультислойной сорбции соответственно, в расчете на одну пару оснований. Данное выражение может быть получено из изотермы Гаскойна – Пэтига путем соответствующего выбора статистических функций распределения для центров связывания воды и с учетом того факта, что мультислойная сорбция происходит только на уже занятых первичных центрах связывания [6, 9].

Для учета взаимосвязи процессов сорбции и конформационных переходов вводится зависимость констант сорбции от конформационных переменных модели:

$$a_L = a_L^0 \exp(\lambda^A A + \lambda^B B)$$

$$a_H = a_H^0 \exp(\gamma^A A + \gamma^B B) \quad (6)$$

$$b(r) = b^0 \exp(\beta^A A + \beta^B B)$$

где $\lambda^{A,B}$, $\gamma^{A,B}$, $\beta^{A,B}$ – разности между свободными энергиями ленгмюровской, генриевской и мультислойной гидратных оболочек неупорядоченной и соответствующей упорядоченной конформации НК.

Введение такой зависимости позволяет учесть образование специфичных для каждой упорядоченной конформации регулярных сеток водородных связей, образованных сорбированными молекулами воды.

Для описания сорбции в распределенной модели необходимо ввести зависимость параметров уравнений (5) от пространственной переменной и, для учета диффузии молекул воды, перейти от системы алгебраических уравнений к системе дифференциальных уравнений. При этом уравнения (5) должны являться стационарными решениями для искомой системы. Таким требованиям отвечает система дифференциальных уравнений следующего вида:

$$\frac{\partial X_L(t,r)}{\partial t} = k_L^+(r) X_e (V_L^m - X_L) - k_L^-(r) X_L + D_X \frac{\partial^2 X_L}{\partial r^2}$$

$$\frac{\partial X_H(t,r)}{\partial t} = k_H^+(r) X_e V_H^m(r) - k_H^-(r) X_H + D_X \frac{\partial^2 X_H}{\partial r^2} \quad (7)$$

$$\frac{\partial X_{ML}(t,r)}{\partial t} = k_{ML}^+(r) X_e (X_L + X_H + X_{ML}) - k_{ML}^-(r) X_{ML} + D_X \frac{\partial^2 X_{ML}}{\partial r^2}$$

При этом соотношения между константами скоростей сорбции k_X^+ и десорбции k_X^- равны:

$$\frac{k_L^+(r)}{k_L^-(r)} = a_L(r), \quad \frac{k_H^+(r)}{k_H^-(r)} = \frac{a_H(r)}{V_H^m(r)}, \quad \frac{k_{ML}^+(r)}{k_{ML}^-(r)} = b(r) \quad (8)$$

В уравнениях (7) фигурирует член, описывающий диффузию связанных молекул воды по матрице биополимера с коэффициентом диффузии D_X . Учет такой

диффузии необходим для описания конформационной динамики нуклеиновых кислот. В работе [10] был проведен расчет значений коэффициентов диффузии для различных конформаций НК. Эти данные, которые согласуются с экспериментальными [11], были использованы при численном моделировании.

Теперь мы можем в явном виде записать изменения свободной энергии гидратной оболочки при конформационных переходах НК, которые фигурируют в (4):

$$\begin{aligned} \Delta F_{UA}^w(r) &= \lambda^A(r)X_L(r) + \gamma^A(r)X_H(r) + \beta^A(r)X_{ML}(r) \\ \Delta F_{AB}^w(r) &= (\lambda^B(r) - \lambda^A(r))X_L(r) + (\gamma^B(r) - \gamma^A(r))X_H(r) + (\beta^B(r) - \beta^A(r))X_{ML}(r) \end{aligned} \quad (9)$$

Уравнения (3) и (9) образуют систему дифференциальных уравнений, которая описывает процессы сорбции молекул воды и связанные с ними конформационные переходы НК. Данная система уравнений позволяет не только получать стационарные значения конформационных и сорбционных переменных, но и описывать пути достижения такого стационарного состояния, а также поведение неоднородных образцов нуклеиновых кислот.

Разделение переменных на "быстрые" и "медленные"

Большое различие характерных времен процессов в системе НК – вода (время релаксации сорбированных молекул воды составляет 10^{-11} - 10^{-9} с., при времени конформационных переходов порядка часов [5]) позволяет разделить их на "быстрые" и "медленные". В рамках теории переходного состояния [12] можно оценить константу скорости сорбционных процессов: $k_X^+ = 7.71 \cdot 10^9 \gg 1$. Значение энергии активации бралось равным 22.5 кДж/моль, как для активации трансляционного движения молекулы воды в жидкой фазе [13] (данное значение энергии активации соответствует разрыву двух водородных связей). Таким образом, для описания медленных процессов (конформационных переходов), следуя стандартной процедуре [14], и отбрасывая член $(1/k_X^+) \partial X / \partial t$, систему уравнений (7) можно свести к системе граничных задач:

$$\begin{aligned} 0 &= X_e \left(V_L^m - X_L \right) - \frac{1}{a_L(r)} X_L + D_X \Delta X_L \\ 0 &= X_e - \frac{1}{a_H(r)} X_H + D_X \Delta X_H \\ 0 &= X_e (X_L + X_H + X_{ML}) - \frac{1}{b(r)} X_{ML} + D_X \Delta X_{ML} \\ \frac{\partial X_L}{\partial r} = \frac{\partial X_H}{\partial r} = \frac{\partial X_{ML}}{\partial r} &= 0, \text{ при } r = 0, L \end{aligned} \quad (10)$$

Сведение дифференциальных уравнений в частных производных к граничным задачам, хотя и несколько усложняет алгоритм численного моделирования, позволяет заметно уменьшить машинное время счета.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Стационарные решения сосредоточенной модели, соответствующей системе уравнений (3), (8) были найдены ранее [6]. Было показано, что в рамках такой модели могут быть объяснены конформационные и сорбционные гистерезисные явления, экспериментально наблюдаемые в цикле гидратация-дегидратация НК [15]. Эти решения являются однородными, устойчивыми по отношению к малым флуктуациям, стационарными решениями системы (3), (8). Их зависимость от управляющего параметра X_e представлена на рис. 2. Из этого рисунка видно, что

имеются интервалы значений X_e , в которых одновременно существуют два устойчивых решения системы (интервалы гистерезиса). Моделирование возможных автоволновых процессов, соответствующих конформационным переходам НК, наиболее интересно в этих интервалах. В данной работе для моделирования был выбран интервал $0.80 < X_e < 0.94$, т.е. интервал значений ОВ, в котором происходит биологически важный $A \leftrightarrow B$ переход.

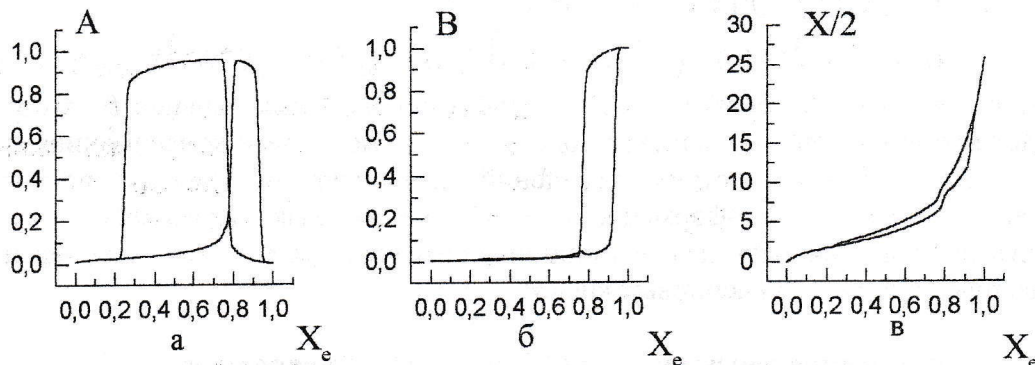


Рисунок 2. Зависимость однородных стационарных решений системы (3), (8) от управляющего параметра модели X_e .

- а – для вероятности обнаружить произвольный мономер в А-форме
- б – для вероятности обнаружить произвольный мономер в В-форме
- в – для полной сорбции

Понятно, что бистабильное поведение системы соответствует двухявному потенциалу (рис. 1). Причем, как было показано выше, соотношение между минимумами потенциального рельефа зависит от значения управляющего параметра X_e . Переходы между устойчивыми конформациями НК в пределах интервала бистабильности осуществляются за счет возникающих флуктуаций или возмущений, вызванных внешними факторами. Эти выводы согласуются с результатами численного моделирования. Действительно, при задании однородных начальных условий, которые соответствуют стационарным значениям переменных, система находится в таком состоянии сколь угодно долго, т.к. процедура численного моделирования не включает случайного возникновения неоднородностей.

Для исследования поведения возмущения, возникающего в первоначально однородной системе, было получено численное решение системы (3), (10) с заданием неоднородных начальных условий для конформационных переменных. Численное моделирование было проведено для последовательности из 200 однотипных мономерных звеньев, 140 из которых находились в А-форме и по середине размещалось 60 мономеров в В-форме (значения конформационных переменных соответствовали стационарным значениям). Начальные условия для сорбционных переменных задавались однородными и соответствовали А-форме НК. Граничные условия выбирались из условия отсутствия потоков на границе. На рис. 3, 4 представлены результаты численного моделирования при значениях параметра X_e равных соответственно 0.805 и 0.915.

Из результатов численного моделирования видно, как изменяется относительная стабильность А- и В-форм при изменении ОВ образца. Если А-форма более стабильна, т.е. ей соответствует более глубокий минимум потенциального рельефа, то фронты первоначального возмущения движутся по направлению друг к другу и возмущение исчезает за конечное время ($X_e = 0.805$, рис. 3). В случае более стабильной В-формы, фронты движутся в противоположных направлениях и, в

результате, вся молекула нуклеиновой кислоты переходит в В-форму ($X_e = 0.915$, рис. 4).

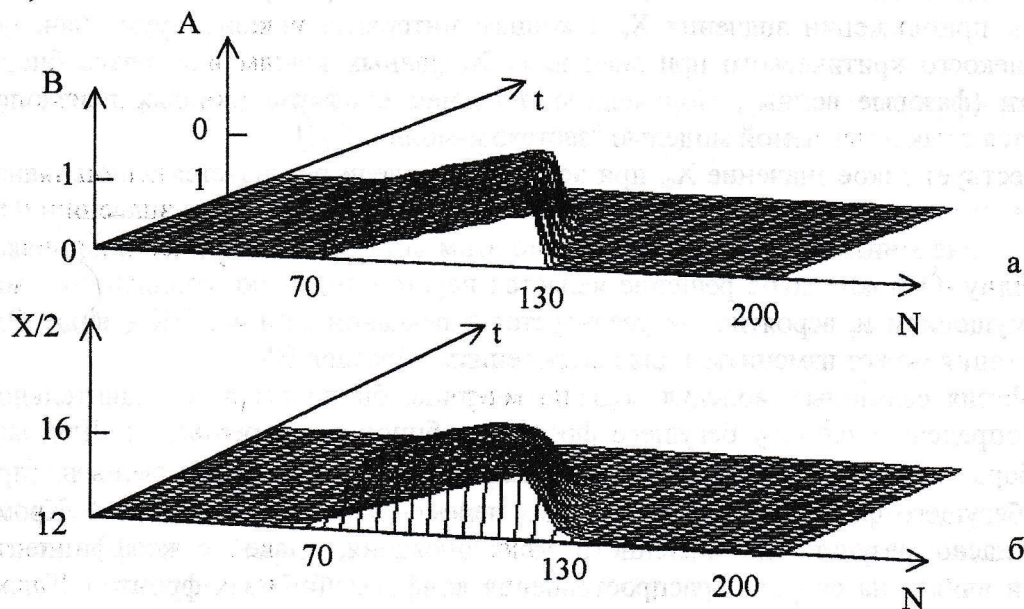


Рисунок 3. Результаты численного моделирования для случая $X_e = 0.805$
 а – временная и пространственная зависимость конформационных переменных
 б – временная и пространственная зависимость полной сорбции

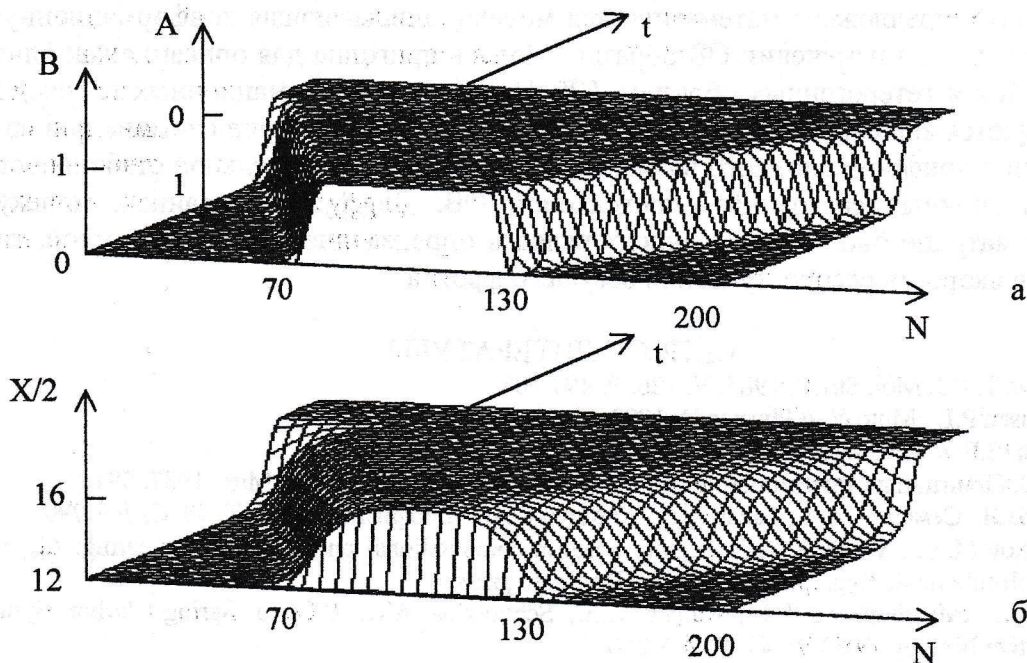


Рисунок 4. Результаты численного моделирования для случая $X_e = 0.915$
 а – временная и пространственная зависимость конформационных переменных
 б – временная и пространственная зависимость полной сорбции

Аналогичные результаты были получены для интервала бистабильности $0.25 < X_e < 0.78$, где одновременно могут существовать неупорядоченная и А-форма. Для численного моделирования использовались такие же значения параметров, как и в работе [6].

Математически данные решения являются бегущими фронтами и типичны для триггерных моделей такого типа [16], к которым относится рассматриваемая мо-

дель. Скорость распространения таких фронтов в пределах интервала бистабильности имеет единственное значение (триггерные волны), которое увеличивается по модулю при приближении значения X_c к концам интервала, и континуум значений больше некоего критического при значениях X_c равных концам интервала бистабильности (фазовые волны). Полученное описание конформационных переходов согласуется с так называемой моделью "застежки-молнии" [4].

Существует такое значение X_c , при котором в модели реализуется неподвижная доменная стенка, разделяющая различные конформации. При этом значении ОВ энергетические минимумы, соответствующие этим конформациям, имеют одинаковую глубину. Однако, такое решение является неустойчивым по отношению к малым возмущениям и, вероятно, не реализуется в реальной системе НК – вода. Однако, ситуация может измениться для гетерогенных образцов НК.

Диффузия связанных молекул воды по матрице биополимера в значительной степени определяет ширину бегущего фронта сорбционных переменных. Для данного набора значений параметров она составляет $\cong 60$ мономерных звеньев. (при ширине бегущего фронта конформационных переменных $\cong 20$ мономеров). Кроме того, согласно результатам численного моделирования, значение коэффициента диффузии влияет на скорость распространения конформационных фронтов. Таким образом, диффузионные эффекты могут быть ответственны за дальное действие в системе НК – вода.

ВЫВОДЫ

В работе предложена математическая модель, описывающая конформационную динамику НК при изменении ОВ образца. Модель пригодна для описания как однородных, так и гетерогенных образцов НК. Процессы конформационных переходов моделируются как бегущие конформационные фронты. Поведение системы при возникновении конформационного возмущения зависит от относительной стабильности конформационных состояний, определяемой ОВ. Диффузия связанных молекул воды по матрице биополимера вносит вклад в определение таких параметров, как ширина и скорость распространения бегущего фронта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miyazawa T. // J. Mol. Struct. 1985. V. 126. P. 493-508
2. Christiansen P.L., Muto V. // Physica D. 1993. V. 68. PP. 93-96
3. Стариков Е.Б. // Молекулярная биология. 1990, Т. 24 С. 1504-1524
4. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. М: Мир, 1987. 584 с.
5. Малеев В.Я., Семенов М.А., Гасан А.И., Кашпур В.А. // Биофизика. 1993. Т. 38. С. 768-790
6. Tolstorukov M.Ye., Virnik K.M in Lecture notes in computational physics and engineering: Algorithms for macromolecule modelling, Springer-Verlag, Berlin, in press
7. Ivanov V.I., Minchenkova L.E., Minyat E.E., Schyolkina A.K. // Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. 1983. V. 47. P. 243-250
8. Gascoyne P.R.C., Pethig R. // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1977. V. 1. P. 171-180
9. Стариков Е.Б., Большух Т.В., Семенов М.А. // Препринт № 359, Харьков: Изд. ИРЭ АН УССР, 1987. 19 с.
10. Virnik K.M., Tolstorukov M.Ye. // Proc. 17th Discussion Conf. "Surface and Interfacial Phenomena in Macromolecular Systems", Prague, 1997. P5
11. Lahajnar G., Zupancic I., Rupprecht A. in Biophysics of water, New York, Wiley, 1982. P. 231-234
12. Маршелл Э. Биофизическая химия. М.: Мир, 1981. 360 с.
13. Гордеев Г.П., Хайдаров Т. в книге Вода в биологических системах и их компонентах. Изд-во ЛГУ, 1983. С. 3-9
14. Васильев В.А., Романовский Ю.М., Яхно В.Г. Автоволновые процессы, М.: Наука, 1987. 240 с.
15. Волков В.В., Гасан А.И., Малеев В.Я. Препринт № 386, Харьков: Изд. ИРЭ АН УССР, 1989, 16 с.
16. M.Ye. Tolstorukov, S.V. Gatash // Int. J. Bif. and Chaos in press