

## ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ИДЕАЛЬНОГО ГАЗА НЕЛИНЕЙНЫХ КОНФОРМАЦИОННЫХ ВОЗМУЩЕНИЙ – КИНКОВ, АКТИВИРОВАННЫХ В КОЛЬЦЕВОЙ ПЛАЗМИДЕ pTTQ18

Краснобаева Л.А.<sup>1,2</sup>, Якушевич Л.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет,  
Московский тр-т 2, г. Томск, 634050, РФ

<sup>2</sup> Томский государственный университет,

пр. Ленина 36, г. Томск, 634050, РФ; e-mail: kla1983@mail.ru

<sup>3</sup> Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»

ул. Институтская, 3, г. Пущино, 142290, РФ; e-mail: kind-@mail.ru

Поступила в редакцию: 29.06.2020

**Аннотация.** Нелинейные конформационные возмущения – кинки, представляющие собой локально расплетенные участки двойной спирали ДНК, играют важную роль в процессах транскрипции, репликации, денатурации. В «нерелятивистском» приближении кинки ДНК можно рассматривать как квазичастицы, обладающие определенной массой, скоростью и энергией покоя. Если в молекуле ДНК образовался не один, а  $N$  кинков, то правомерно поставить вопрос о статистике ансамбля из  $N$  кинков ДНК. Статистические свойства такого ансамбля до сих пор остаются малоизученными. В данной работе рассматривается вопрос о статистике ансамбля кинков, активированных в плазмиде pTTQ18. Для расчета термодинамических потенциалов применяется приближение идеального газа. Представлены аналитические формулы для статистической суммы, свободной энергии и энтропии в параметрах плазмиды pTTQ18. Построены графики температурной зависимости этих характеристик. Показано, что с ростом температуры свободная энергия ансамбля кинков уменьшается, а средняя энергия и энтропия увеличиваются, причем на одном и том же заданном интервале температур увеличение энтропии происходит довольно заметно, а увеличение средней энергии происходит очень медленно. Показано, что теплоемкость ансамбля кинков не зависит ни от температуры, ни от вида последовательности, а функция распределения кинков по скоростям имеет форму колокола, высота которого достигает максимума при нулевой скорости кинка.

**Ключевые слова:** плазида pTTQ18, кинки ДНК, статистика ансамбля кинков, статистическая сумма, свободная энергия, энтропия.

### Введение.

Плазида pTTQ18 широко используется в генной инженерии для передачи генетической информации и для генетических манипуляций [1]. Длина последовательности составляет 4563 оснований [2]. Из них 1105 аденинов, 1090 тиминнов, 1193 гуанинов и 1175 цитозиннов. Динамические свойства этой плазмиды, включая возможность образования нелинейных конформационных возмущений – кинков, были исследованы в работах [3-4]. Наиболее ярким и обсуждаемым примером кинка, является транскрипционный пузырь (transcription bubble) [5-7], который представляет собой локально расплетенный участок двойной спирали, формирующийся в начальной стадии процесса транскрипции в результате взаимодействия РНК полимеразы с промоторным участком ДНК [8-9].

Статистические свойства плазмиды pTTQ18 до сих пор остаются малоизученными. Известно, что кинки, активированные в плазмиде, обладают определенной массой, скоростью и энергией покоя, что позволяет рассматривать их как квазичастицы. Если в ДНК образовался не один, а ( $N$ ) кинков, то правомерно рассмотреть вопрос о статистике ансамбля из  $N$  кинков и рассчитать термодинамические потенциалы этого ансамбля. До настоящего момента такие расчеты никем не проводились, хотя метод расчета статистических характеристик кинков ДНК в приближении идеального газа был совсем недавно детально описан в работах [10-11]. В данной работе с помощью этого метода мы рассчитываем термодинамические потенциалы ансамбля кинков, активированных в плазмиде pTTQ18.

### Динамические свойства кинков плазмиды pTTQ18.

Для моделирования внутренней динамики однородной (синтетической) молекулы ДНК часто используют уравнение синус-Гордона:

$$I \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} = K'a^2 \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} - V \sin \phi. \quad (1)$$

Здесь  $\phi(z, t)$  – угловое отклонение азотистого основания, находящегося в момент времени  $t$  в точке  $z$ ;  $I$  – момент инерции азотистого основания;  $K'$  – константа, характеризующая крутильную жесткость сахара-фосфатной

Таблица 1. Коэффициенты уравнений (2) [12]

Вид основания	$I_j \times 10^{-44}$ , кг·м <sup>2</sup>	$K'_j \times 10^{-18}$ , Дж	$V_j \times 10^{-20}$ , Н/м
A	7,61	2,35	2,09
T	4,86	1,61	1,43
G	8,22	2,27	3,12
C	4,11	1,54	2,12

цепочки;  $V$  – константа, характеризующая взаимодействие между комплементарными основаниями внутри пар;  $a$  – расстояние между ближайшими парами оснований.

В случае плазмиды значения коэффициентов  $I$ ,  $K'$  и  $V$  уравнения (1) не являются константами, а будут меняться вдоль последовательности ДНК. Однако, в квазиоднородном приближении коэффициенты уравнения (1) снова становятся постоянными величинами в результате усреднения по всей длине последовательности плазмиды [12]:

$$\begin{aligned} \bar{I} &= I_A c_A + I_T c_T + I_G c_G + I_C c_C, \\ \bar{K}' &= K'_A c_A + K'_T c_T + K'_G c_G + K'_C c_C, \\ \bar{V} &= V_A c_A + V_T c_T + V_G c_G + V_C c_C, \end{aligned} \tag{2}$$

где  $I_j$ ,  $K'_j$ ,  $V_j$  – значения коэффициентов уравнения (1), рассчитанные для разных видов однородных полинуклеотидных цепочек ( $poly(A)$ ,  $poly(T)$ ,  $poly(G)$ ,  $poly(C)$ ),  $c_j = n_j / n$  – концентрация оснований  $j$ -го типа;  $n_j$  – количество азотистых оснований  $j$ -го типа ( $j = A, T, G, C$ ),  $n$  – общее количество оснований в последовательности плазмиды. Значения коэффициентов  $I_j$ ,  $K'_j$ ,  $V_j$  представлены в таблице 1.

С учетом соотношений (2) модельное уравнение (1) приобретает вид:

$$\bar{I} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} = \bar{K}' a^2 \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} - \bar{V} \sin \phi. \tag{3}$$

Мы рассчитали значения коэффициентов  $\bar{I}$ ,  $\bar{K}'$  и  $\bar{V}$  для последовательности плазмиды рТТQ18. Результаты этих расчетов представлены в таблице 2.

Решение уравнения (3) в виде кинка определяется формулой:

$$\phi_k(z, t) = 4 \operatorname{arctg} \left\{ \exp \left[ \frac{\gamma}{d_k} (z - v_k t - z_0) \right] \right\}, \tag{4}$$

где  $v_k$  – скорость кинка,  $d_k = (\bar{K}' a^2 / \bar{V})^{1/2}$  – размер кинка,  $\gamma = (1 - v_k^2 / C^2)^{-1/2}$ ,  $C = (\bar{K}' a^2 / \bar{I})^{1/2}$  – скорость звука в ДНК.

Гамильтониан, отвечающий уравнению (3), имеет вид:

$$H = \int_{-\infty}^{\infty} \left[ \frac{\bar{I}}{2} \left( \frac{\partial \phi_t}{\partial t} \right)^2 + \frac{\bar{K}' a^2}{2} \left( \frac{\partial \phi_t}{\partial z} \right)^2 + \bar{V} (1 - \cos \phi) \right] \frac{dz}{a}. \tag{5}$$

Подстановка решения (4) в формулу (5), дает аналитическую формулу для полной энергии кинка:

Таблица 2. Коэффициенты уравнения (3)

Последовательность	$\bar{I} \times 10^{-44}$ , кг·м <sup>2</sup>	$\bar{K}' \times 10^{-18}$ , Дж	$\bar{V} \times 10^{-20}$ , Н/м	$a \times 10^{-10}$ , м
рТТQ18	6,21	1,95	2,21	3,4

$$E_k = 8\gamma\sqrt{K'V}. \quad (6)$$

В «нерелятивистском» пределе, когда скорость кинка,  $v_k$ , мала по сравнению со скоростью звука в ДНК, формула (6) примет вид:

$$E_k \cong 8\sqrt{K'V} \left( 1 - \frac{1}{2} \frac{v_k^2}{C^2} \right) = E_{0k} + \frac{8\sqrt{K'V}}{C^2} \frac{v_k^2}{2}, \quad (7)$$

где первое слагаемое  $E_{0k} = 8\sqrt{K'V}$  определяет энергию покоя кинка.

Из (7) следуют аналитические формулы для массы покоя ( $m_k$ ), кинетической ( $T_k$ ) и потенциальной ( $U_k$ ) энергии кинка:

$$m_k = \frac{8\sqrt{K'V}}{C^2}, \quad (8)$$

$$T_k = \frac{8\sqrt{K'V}}{C^2} \frac{v_k^2}{2}, \quad (9)$$

$$U_k = 8(\sqrt{K'V}). \quad (10)$$

Импульс кинка определяется формулой:

$$p_k = m_k v_k. \quad (11)$$

Мы рассчитали значения основных динамических характеристик кинков и представили их в таблице 3.

#### Статистические свойства ансамбля кинков плазмиды рТТQ18.

Формулы (7)-(11) «подсказывают» простую модель ансамбля кинков плазмиды в виде обычной классической системы, состоящей из  $N$  взаимодействующих материальных частиц, обладающих размером  $d_k$ , массой  $m_k$ , импульсом  $p_k$  и энергией покоя  $E_{0k}$ . Если число  $N$  фиксировано, взаимодействие между кинками пренебрежимо мало и все кинки одинаковые, то полную энергию ансамбля можно записать в виде:

$$E(P, Q) = NE_{0k} + \sum_i^N \frac{p_{ki}^2}{2m_{ki}} = 8N\sqrt{K'V} + \sum_i^N \frac{8\sqrt{K'V}}{C^2} \frac{v_{ki}^2}{2} \quad (12)$$

а статистическую сумму  $Z$  [13] и распределение Гиббса  $\rho(P, Q)$  [14] – в виде:

$$Z = \frac{L^N}{N!} \left( e^{-\frac{E_{0k}}{k_B T}} \sqrt{\frac{m_k k_B T}{2\pi\hbar^2}} \right)^N = \frac{L^N}{N!} \left( \frac{2}{\hbar C} e^{-\frac{8\sqrt{K'V}}{k_B T}} \sqrt{\frac{\sqrt{K'V} k_B T}{\pi}} \right)^N, \quad (13)$$

$$\rho(P, Q) = \frac{1}{(L\sqrt{2\pi m_k k_B T})^N} \exp \left[ -\frac{\sum_i^N p_{ki}^2}{2m_k k_B T} \right], \quad (14)$$

где  $L$  – длина последовательности ДНК,  $T$  – абсолютная температура,  $k_B$  – постоянная Больцмана,  $Q = \{q_1, q_2, \dots, q_N\}$ ,  $P = \{p_{k1}, p_{k2}, \dots, p_{kN}\}$  – наборы координат и импульсов кинков.

**Таблица 3.** Динамические характеристики кинков плазмиды рТТQ18

Последовательность	$m_k \times 10^{-24}$ , кг	$E_{0k} \times 10^{-17}$ , Дж	$d_k \times 10^{-10}$ , м
рТТQ18	457,87	1,66	31,91

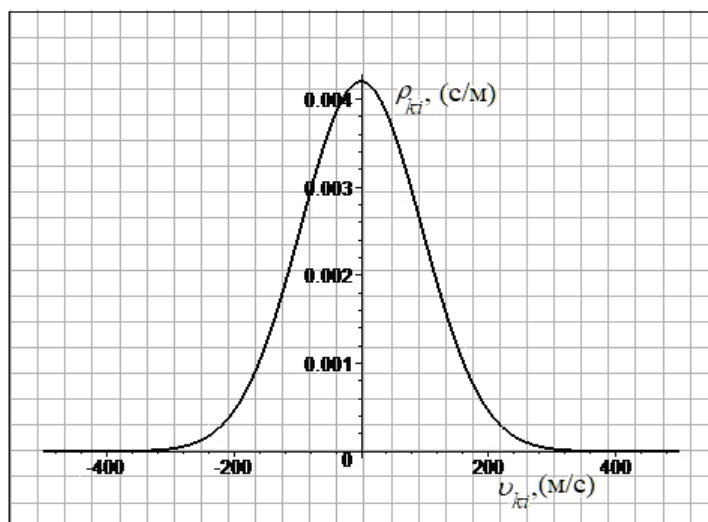


Рисунок 1. Функция распределения кинков плазмиды рТТQ18

Из формулы (14) следует, что в рассматриваемом приближении кинки являются статистически независимыми, причем функция распределения отдельного  $i$ -го кинка имеет вид:

$$\rho_{ki}(p_{ki}) = \frac{e^{-\left(\frac{p_{ki}^2}{2m_k k_B T}\right)}}{L \sqrt{2\pi m_k k_B T}}. \quad (15)$$

Сделав в (15) замену переменных:  $p_{ki} = m_k v_{ki}$  получим:

$$\rho_{ki}(p_{ki}) = \frac{1}{L} \rho_{ki}(v_{ki}) \quad (16)$$

где  $\rho_{ki}(v_{ki}) = \sqrt{\frac{m_k}{2\pi k_B T}} e^{-\left(\frac{m_k v_{ki}^2}{2k_B T}\right)}$  – функция распределения кинков по скоростям (распределение Максвелла).

На рисунке 1 представлена функция распределения кинков плазмиды рТТQ18 по скоростям.

В приближении идеального газа свободная энергия ансамбля определяется формулой [15]:

$$F = -k_B T \ln Z = N \left[ 8\sqrt{K'V} - k_B T \ln \left( \frac{2L}{\hbar c} \frac{e}{N} \sqrt{\frac{k_B T}{\pi}} \sqrt{K'V} \right) \right], \quad (17)$$

средняя энергия – формулой [16]:

$$\varepsilon = (k_B T)^2 \frac{\partial \ln Z}{\partial (k_B T)} = N \left( 8\sqrt{K'V} + \frac{k_B T}{2} \right), \quad (18)$$

энтропия и теплоемкость – формулами [17]:

$$S = \frac{\varepsilon - F}{k_B T} = N \left[ \frac{1}{2} + \ln \left( \frac{2L}{\hbar c} \frac{e}{N} \sqrt{\frac{k_B T}{\pi}} \sqrt{K'V} \right) \right], \quad (19)$$

$$C_{v,k} = \frac{\partial \varepsilon_k}{\partial T} = \frac{N k_B}{2}. \quad (20)$$

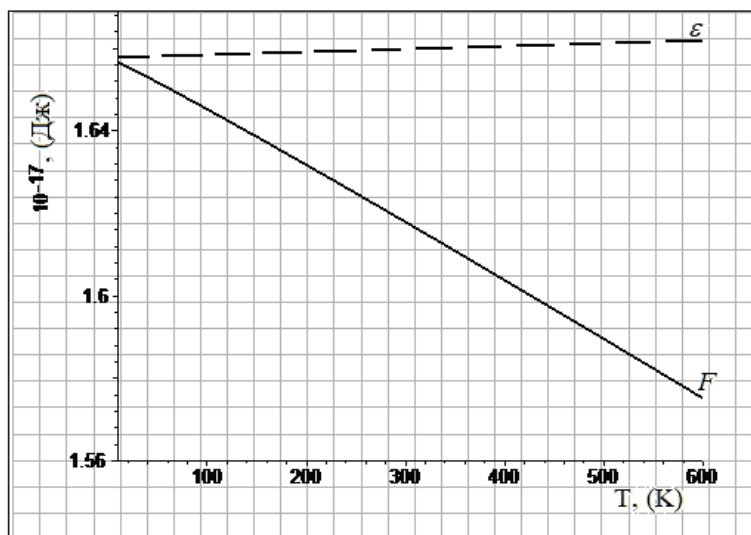


Рисунок 2. Свободная энергия и средняя энергия ансамбля из  $N$  кинков плазмиды рТТQ18

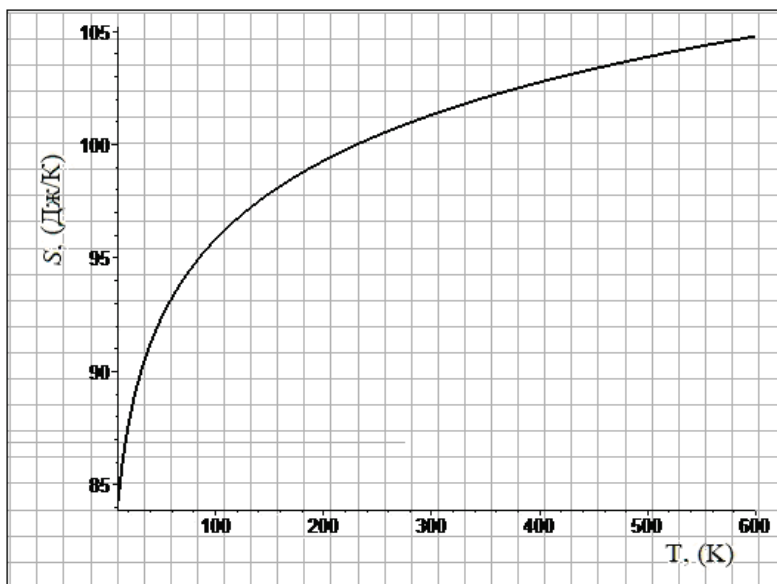


Рисунок 3. Энтропия ансамбля из  $N$  кинков плазмиды рТТQ18

Мы построили графики температурной зависимости свободной энергии  $F$  и средней энергии  $\varepsilon$ , а также энтропии  $S$  ансамбля кинков плазмиды рТТQ18. Результаты расчетов представлены на рисунках 2 и 3.

Из полученных аналитических формул (17)-(19), а также графиков, представленных на рисунках 2, 3 видно, что в рассматриваемом приближении с ростом температуры средняя энергия  $\varepsilon$  и энтропия  $S$  ансамбля возрастают, в то время как свободная энергия  $F$  уменьшается, а теплоемкость  $C_{v,k}$  остается постоянной величиной для любого значения температуры  $T$ .

#### Обсуждение и выводы.

В данной работе был рассмотрен вопрос о статистике ансамбля нелинейных конформационных возмущений – кинков, активированных в плазмиде рТТQ18. Для расчета термодинамических потенциалов применялось приближение идеального газа. Аналитические формулы для статистической суммы, свободной энергии и энтропии представлены в параметрах плазмиды. Построены графики температурной зависимости свободной энергии, средней энергии и энтропии, а также функция распределения кинков ДНК по скоростям. Эти характеристики были рассчитаны для случая фиксированного числа одинаковых кинков и при условии пренебрежимо малого взаимодействия между ними. В расчетах были использованы новые данные о динамических параметрах кинков ДНК.

Показано, что с ростом температуры свободная энергия ансамбля кинков уменьшается, а средняя энергия и энтропия увеличиваются, причем на одном и том же заданном интервале температур увеличение энтропии происходит довольно заметно, а увеличение средней энергии происходит очень медленно (практически незаметно). Расчеты показали, что в рассматриваемом приближении теплоемкость ансамбля кинков не зависит

ни от температуры, ни от вида последовательности, а функция распределения кинков по скоростям имеет форму колокола, высота которого достигает максимума при  $v_k = 0$

Следует отметить, однако, что все эти результаты получены в рамках упрощенной модели ДНК, которая ограничена рассмотрением только одного вида внутренних движений ДНК – угловых колебаний азотистых оснований. Другие виды внутренних движений, такие, например, как продольные и поперечные смещения оснований, а также движения сахаров и фосфатов, не учитывались. Еще одно ограничение нашего подхода связано с использованием квазиоднородного приближения. В этом приближении учитывается состав полинуклеотидных цепочек, но не учитывается расположение азотистых оснований в последовательности ДНК. Тем не менее, можно предположить, что изложенные выше методы и подходы имеют более общее значение и могут быть успешно использованы для исследования статистических и динамических свойств молекул в рамках более сложных и более реалистичных моделей ДНК.

#### Список литературы / References:

1. Stark MJR. Multicopy expression vectors carrying the lac repressor gene for regulated high-level expression of genes in *Escherichia coli*. *Gene*, 1987, vol. 51, no. 2-3. pp. 255–67.
2. The pTTQ18 DNA sequence [link]. URL: <https://media.addgene.org/snapgene-media/v1.6.2-0-4b4ed87/sequences/18/42/121842/addgene-plasmid-69122-sequence-121842.gbk>
3. Grinevich A.A., Ryasik A.A., Yakushevich L.V. Trajectories of DNA bubbles. *Chaos, Solitons & Fractals*, 2015, vol. 75, pp. 62-75. DOI: 10.1016/j.chaos.2015.02.009.
4. Якушевич Л.В., Балашова В.Н., Закирьянов Ф.К. О движении кинка ДНК под действием постоянного торсионного момента. *Математическая биология и биоинформатика*, 2016, т. 11, № 1, с. 81-90, DOI: 10.17537/2016.11.81. [Yakushevich L.V., Balashova V.N., Zakiryaynov F.K. On the DNA kink motion under the action of constant torque. *Mathematical biology and bioinformatics*, 2016, vol. 11, no.1, pp. 81-90, DOI:10.17537/2016.11.81. (In Russ.)]
5. Shikhovtseva E.S., Nazarov V.N. Non-linear longitudinal compression effect on dynamics of the transcription bubble in DNA. *Biophysical Chemistry*, 2016, vol. 214-215, pp. 47-53. DOI: 10.1016/j.bpc.2016.05.005.
6. Grinevich A.A., Ryasik A.A., Yakushevich L.V. Modeling the DNA bubbles dynamics. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2015, vol. 33, p. 84. DOI: 10.1080/07391102.2015.1032763.
7. Grinevich A.A., Yakushevich L.V. The influence of the DNA torque on the dynamics of transcription bubbles in plasmid pTTQ18. *J. Theor. Biol.*, 2018, vol. 453, pp. 68-77. DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.04.036.
8. Forth S., Sheinin M.Y., Inman J. et al. Torque measurement at the single-molecule level. *Annu Rev Biophys.*, 2013, vol. 42, no. 1, p. 583-604. DOI: 10.1146/annurev-biophys-083012-130412.
9. Severin E.S. *Biochemistry*. Moscow: GEOTAR–Media, 2016, 750 p.
10. Yakushevich L.V., Krasnobaeva L.A. Ensemble of DNA Kinks. *EPJ Web of Conferences*, 2019, vol. 224, p. 03005. DOI: 10.1051/epjconf/201922403005.
11. Краснобаева Л.А., Якушевич Л.В. Динамические и статистические свойства кинков ДНК. *Биофизика*, 2020, т. 65, № 1, с. 29-35. DOI: 10.1134/S0006350920010091. [Krasnobaeva L.A., Yakushevich L.V. The Dynamic and Statistical Properties of DNA Kinks. *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 29-35. DOI: 10.1134/S0006350920010091. (In Russ.)]
12. Yakushevich L.V., Krasnobaeva L.A. A new approach to studies of nonlinear dynamics of kinks activated in inhomogeneous polynucleotide chains. *Int. J. Nonl. Mech.*, 2008, vol. 43, pp. 1074-1081. DOI: 10.1016/j.ijnonlinmec.2008.05.00.b0100.
13. Караваев Г.Ф. *Основные принципы статистической физики*. Томск: ТГУ, 1993, 75 с. [Karavaev G.F. *Basic Principles of Statistical Physics*. Tomsk: TSU, 1993, 75 p. (In Russ.)]
14. Квасников И.А. *Термодинамика и статистическая физика*. Москва: Эдиториал УРСС, 2010, 448 с. [Kvasnikov I.A. *Thermodynamics and Statistical Physics*. Moscow: Editorial URSS, 2010, 448 p. (In Russ.)]
15. Базаров И.П. *Термодинамика*. Москва: Высшая школа, 1991, 376 с. [Bazarov I.P. *Thermodynamics*. Moscow: Higher School, 1991, 376 p. (in Russ.)]
16. Леванов А.В., Антипенко Э.Е. *Определение термодинамических свойств статистическими методами. Классический идеальный газ*. Москва: МГУ, 2006, 44 с. [Levanov A.V., Antipenko E.E. *Determination of thermodynamic properties by statistical methods. Classic perfect gas*. Moscow: MSU, 2006, 44 p. (in Russ.)]
17. Зоммерфельд А. *Термодинамика и статистическая физика*. Москва, 1955, 482 с. [Sommerfeld A. *Thermodynamics and Statistical Physics*. Moscow, 1955, 482 p. (in Russ.)]

**THERMODYNAMIC POTENTIALS OF THE IDEAL GAS OF NONLINEAR CONFORMATIONAL PERTURBATIONS – KINKS ACTIVATED IN THE RING PLASMID pTTQ18****Krasnobaeva L.A.<sup>1,2</sup>, Yakushevich L.V.<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Siberian State Medical University*Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050, Russia*<sup>2</sup>Tomsk State University,*prosp. Lenina 36, Tomsk, 634050, Russia; e-mail: kla1983@mail.ru*<sup>3</sup>Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences*ul. Institutskaya 3, Pushchino, 142290, Russia; e-mail: kind-@mail.ru*

**Abstract.** The nonlinear conformation distortions – kinks, which are locally unwound regions of the DNA double helix, play an important role in the processes of transcription, replication and denaturation. In the “nonrelativistic” approximation, the DNA kinks can be considered as quasiparticles with a certain mass, velocity, and rest energy. If not one, but  $N$  kinks are formed in the DNA molecule, then it is legitimate to raise the question of the statistics of an ensemble of  $N$  DNA kinks. The statistical properties of the ensemble are still poorly understood. In this paper, we consider the question of the statistics of an ensemble of kinks activated in the plasmid pTTQ18. The ideal gas approximation is used to calculate the thermodynamic potentials. Analytical formulas for the partition function, free energy, and entropy in the parameters of the plasmid are presented. The temperature dependence graphs of these characteristics are constructed. It is shown that with increasing temperature the free energy of the kink ensemble decreases, and the average energy and entropy increase, and in the same given temperature range, the increase in entropy is quite noticeable, and the average energy increases very slowly. The calculations show that the heat capacity of the kink ensemble does not depend either on temperature or on the type of sequence, and the kink velocity distribution function has the shape of a bell, the height of which reaches a maximum at zero kink velocity.

**Key words:** *plasmid pTTQ18, DNA kinks, statistics of the ensemble of kinks, statistical sum, free energy, entropy.*