

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱՍԱՏՐՑԱՆ ԱՐԵՎԻԿ ՎԱՐԴԱՆԻ

ՑԱԾՐԱՍՈՒԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ՋՐԱՅԻՆ ԼՈՒԾՈՒՅԹՆԵՐԻ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀՆՏԵՐՈԳԵՆ ԿԵՆՍԱՊՈԼԻՄԵՐՆԵՐՈՒՄ
ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՄԱՆ ՎՐԱ

Գ.00.02–Կենսաֆիզիկա և կենսաինֆորմատիկա մասնագիտությամբ
ֆիզիկամաթեմատիկական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ-2020

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

АСАТРЯН АРЕВИК ВАРДАНОВНА

ВЛИЯНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЛИГАНДОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ
НА ПЕРЕХОД СПИРАЛЬ-КЛУБОК В
ГЕТЕРОГЕННЫХ БИОПОЛИМЕРАХ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
физико-математических наук по специальности
03.00.02–Биофизика и биоинформатика

ЕРЕВАН-2020

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝ ֆիզմաթ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր
Վ.Ֆ. Մորոզով

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր
Պ.Հ.Վարդևանյան
ֆիզմաթ.գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր
Ա.Թ.Վարապետյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Միջազգային գիտակրթական
կենտրոն

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2020թ. ապրիլի 2-ին ժամը 14⁰⁰-ին Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈԿ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փողոց 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2020թ. փետրվարի 13-ին

051 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. թեկնածու, դոցենտ

Մ.Ա.Փարսադանյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель: доктор физ.-мат. наук, профессор
В.Ф.Морозов

Официальные оппоненты: доктор биол. наук, профессор
П.О.Вардеванян
доктор физ.-мат. наук, профессор
А.Т. Карапетян

Ведущая организация: Международный научно-
образовательный центр НАН РА

Защита диссертации состоится 2-го апреля 2020г. в 14⁰⁰ часов на заседании специализированного совета 051 по Биофизике ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат разослан 13-го февраля 2020г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,
кандидат биол. наук, доцент

М.А.Парсаданян

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Различные процессы в биологических системах часто приводят или сопровождаются переходом порядок-беспорядок в биополимерах. Начиная с 1960-х годов переход спираль-клубок в биополимерах активно исследовался и до сих пор активно обсуждается. Традиционно большинство теорий представляют собой модели двух состояний, и для перехода они предполагают, что каждая повторяющаяся единица может находиться либо в спиральном, либо в клубкообразном состоянии. Это предположение делает удобным использование моделей подобным модели Изинга. Большинство традиционных теорий используют приближение среднего поля. Гамильтонианы этих моделей используют параметры, которые являются средними по всем конформациям молекулы (например, параметр кооперативности в теории Зимма-Брэгга (Z-V) или свободная энергия перехода).

Несмотря на достигнутые успехи, проблема перехода спираль-клубок до сих пор остается одной из самых популярных проблем в структурной биологии. Существует ряд проблем, связанных с влиянием неоднородностей на кооперативность. Результаты, полученные в последние десятилетия при переходе спираль-клубок с использованием модели Поттса, свидетельствуют об обоснованности этого подхода для описания такого перехода как в полипептидах, так и в ДНК. Однако в рамках этого подхода структурный беспорядок (неоднородность) не был исследован с той полнотой, которая была бы необходима для адекватного описания кооперативной системы. Мы построили гамильтониан и рассчитали основные параметры в рамках Обобщенной Модели Полипептидной Цепи (ГМПЦ), где учитываются взаимодействия с гомополимерами и гетерополимерами.

Целью работы является:

1. Развитие ОМПЦ для случая гомополимера с учетом каждой повторяющейся единицы, взаимодействующей с молекулами растворителя и лиганда в разных центрах связывания;
2. Применение ОМПЦ для гетерополимеров в вакууме (базовый гетерополимер) с помощью умножения трансфер-матриц;
3. Исследование термодинамических свойств биомолекул в рамках ОМПЦ;
4. Развитие ОМПЦ для гетерополимеров в растворителе;
5. Применение прямых расчетов для случайных гетерополимеров, регулярных гетерополимеров, последовательностей с корреляцией и блочных полимеров.

Научная новизна В рамках ОМПЦ мы изучили стабильность (температуру перехода) и кооперативность (интервал перехода) гомополимеров при определенных условиях. Предполагается, что взаимодействия молекул растворителя и лиганда с гомополимерами происходят в разных центрах связывания. В результате, теоретически было получено немонотонное поведение температуры плавления в зависимости от концентрации лиганда. Эти результаты качественно описывают результаты экспериментов. С последними обновлениями, ОМПЦ впервые качественно описывает как монотонное, так и немонотонное поведение температуры плавления.

Были исследованы те же свойства биополимеров с бимодальной гетерогенностью. Расчеты проводились путем перемножения трансфер-матриц. Обсуждается минимальная модель для различных гетерополимеров с учетом растворителя. Были исследованы селективные и неселективные взаимодействия. В случае неселективного (неизбирательного) взаимодействия гетерополимера с

растворителем параметры взаимодействия молекул растворителя с разными типами повторяющихся единиц одинаковые.

Есть много работ, где корреляция между повторяющимися единицами обсуждается с разных точек зрения. Однако, одна из основных проблем, а именно “влияние корреляции между повторяющимися единицами на переход порядок-беспорядок в биополимерах” остается нерешенной. Нам впервые удалось объяснить тонкую структуру ДКП гетерополимеров не только присутствием макроскопических блочных систем в структуре биополимеров, но и мелко-масштабными корреляциями в последовательности.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Исследован переход спираль-спираль гомополимеров, взаимодействующих с раствором в различных центрах связывания. Было получено как монотонное, так и немонотонное поведение температуры плавления в зависимости от концентрации лиганда. Показано, что изменение режима устойчивости спирального состояния не всегда связано с конкуренцией стабилизирующих и дестабилизирующих взаимодействий компонентов смеси, но может быть результатом кумулятивного эффекта обоих компонент.
2. Создан алгоритм расчета свободной энергии, степени спиральности и т. д. для случайного бимодального гетерополимера. Был исследован термодинамический предел свободной энергии. Было показано, что приведенная свободная энергия достигает своего термодинамического предела для гетерополимера с $N > 3000$ повторяющимися единицами. Кроме того, флуктуации свободной энергии возникают из-за флуктуаций в составе гетерополимера.
3. В рамках базовой модели получены ДКП случайных и регулярных гетерополимеров. Показано, что ДНК регулярных гетерополимеров ведут себя как гомополимерные с небольшими различиями в максимуме, однако количество стыков между спиральным и клубкообразными состояниями различаются больше. Этот эффект более выражен для случайных гетерополимеров. Средняя длина спирального состояния ведет себя соответственно, и ее зависимость от реализации больше для $x = 0.5$, где x - это доля одного типа повторяющейся единицы.
4. Были исследованы блок-сополимеры различных случайных последовательностей с разными и одинаковыми фракциями. Формы ДКП более сложны для этих систем. На некоторых из этих кривых наблюдается тонкая структура. Кроме того, ДКП нескольких соединенных гетерополимеров, отличаются от усредненного ДКП исходных последовательностей. Таким образом, объединение последовательностей не приводит к усреднению ДКП.
5. Также обсуждались системы с бимодальной гетерогенностью с корреляцией в последовательности. Корреляция определяется как повышенная вероятность того, что соседи являются однотипными повторяющимися единицами. Показано, что термодинамический предел приведенной свободной энергии для этих систем сильно зависит от реализации.

6. Исследован также интервал плавления биополимера с бимодальной гетерогенностью в зависимости от разности температур плавления гомополимеров. Было показано, что зависимость квадратичная, что подтверждает другие теоретические результаты и экспериментальные данные, полученные для случайных бимодальных последовательностей.
7. Тонкие структуры на ДКП были получены не только для гетерополимеров с макроскопической блочной структурой (объединенные последовательности), а также для гетерополимеров с корреляцией в последовательности (как для базовых, так и для взаимодействующих с растворителем).

Научная и практическая ценность работы Научная и практическая ценность работы обусловлена важной ролью структурных изменений биополимеров в их функционировании. Работа биополимеров в клетках зависит от их структурных характеристик, стабильности, кооперативности. Поэтому были исследованы эти параметры макромолекул в зависимости от их первичной структуры и характеристик растворителя. Результаты, относящиеся к зависимости температуры плавления от концентрации лиганда, позволяют лучше понять экспериментальные результаты, механизмы взаимодействия макромолекул и молекул растворов. Это, в свою очередь, может привести к улучшению других теоретических моделей, описывающих переход спираль-клубок в биополимерах.

Полученная тонкая структура на ДКП гетерополимеров с корреляцией в последовательности дает дополнительную информацию об изменениях переходов спираль-клубок в разных системах. Это может позволить детальное объяснение тонкой структуры на ДКП биополимеров. Принимая во внимание тот факт, что расчеты были выполнены с помощью прямого умножения трансфер-матриц, можно использовать последовательности, соответствующие реальным макромолекулам.

Апробация работы

Материалы диссертации были представлены и докладывались на

- Advanced Nanomaterials and Methods: International Young Scientists School and Workshop "Fine structure of DMC for helix-coil transition in heterogeneous biopolymers", Ani Plaza, Yerevan, Armenia, September 26 - October 2, 2019.
- Advanced Nanomaterials and Methods: International Young Scientists School and Workshop "Stability of Biopolymers in Aqueous Solution. GMPC Approach", Regineh hotel, Yerevan, Armenia, September 26 - October 2, 2019.
- Conference on Atomistic Simulations of Biomolecules: towards a Quantitative Understanding of Life Machinery "Stability of Biopolymers in Aqueous Solution. GMPC Approach", The Abdus Salam International Centre for Theoretical Physics (ICTP), Trieste, Italy, March 6-10, 2017.
- New Trends in Life Sciences "GMPC and possible mechanism of non- monotone behavior of helix-coil transition temperature in two-component solvent", Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan, Armenia, September 26-28, 2016.
- 11th International Conference on Protein Stabilization "Stability of Helicity State in the Framework of Generalized Model of Polypeptide Chain", Harbiye,

- Workshop on Water at the Interface between Biology, Chemistry, Physics and Material Sciences "Water Induced Helix-Coil Transition in Biopolymers", The Abdus Salam International Centre for Theoretical Physics (ICTP), Trieste, Italy, October 5-9, 2015.

Материалы диссертации также докладывались на научных семинарах кафедры молекулярной физики Ереванского государственного университета.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 13 работ (7 статей и 6 тезисов докладов на международных конференциях).

Структура диссертации.

Диссертация состоит из Введения, четырех глав и выводов (118 стр. текста). Она содержит 59 рисунков и список литературы из 152 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

В первой главе описан объект исследования диссертационной работы. Значительная часть обзора посвящена описанию разных теоретических моделей описывающих переход спираль-клубок в биополимерах. Рассмотрены как экспериментальные, так и теоретические аспекты. В частности, описаны основные предположения и результаты моделей биополимеров: Зимма и Брегга, Лифсона и Роига, Нагаи и Обобщенной Модели Полипептидной Цепи (ОМПЦ). В рамках модели ОМПЦ рассмотрены комбинированная модель конкурентных и неконкурентных взаимодействии с растворителем, и переход спираль-клубок в гетерогенных биополимерах.

Во Второй главе диссертационной работы изучено влияние взаимодействий растворителя (малых молекул) с биополимерами на переход спираль-клубок в рамках ОМПЦ. Показано, что и для данных случаев модель сводится к базовой модели, то есть модели без растворителя путем переопределения энергетических и энтропийных параметров. В отличие от чистого растворителя, на эти параметры влияют как конкурентные, так и неконкурентные взаимодействия. В результате на кривой плавления появляется больше переходов. Гамильтониан системы полимер - двухкомпонентный растворитель записывается следующим образом:

$$\begin{aligned}
 -\beta H &= -\beta H_0 - \beta H_s \times \mathcal{H}(p - f) - \beta H_L \mathcal{H}(f - p) = \\
 &= -\beta H_0(\gamma) - \beta (H_{st}^S + H_{dst}^S + H_h^S + H_c^S) \times \mathcal{H}(p - f) - \\
 &- \beta (H_{st}^L + H_{dst}^L + H_h^L + H_c^L) \mathcal{H}(f - p),
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

где βH_0 - гамильтониан базовой модели, H_{st} и H_{dst} - гамильтонианы стабилизирующих и дестабилизирующих взаимодействий соответственно, H_h и H_c - гамильтонианы взаимодействий со спиралью и клубком, индексы S и L соответственно относятся к

растворителю и лиганду, $\mathcal{H}(x)$ является функцией Хевисайда и определяется следующим образом $\mathcal{H}(x) = \begin{cases} 0, & x < 0 \\ 1, & x \geq 0 \end{cases}$, i - это номер центра связывания а p - номер молекул растворителя и лиганда.

В предыдущих работах (Tonoyan Sh. A. et al 2010 Tonoyan Sh. A. et al 2015), посвященных переходу спираль-клубок в макромолекулах, исследования проводились в рамках модели ОМПП. Основной гамильтониан ОМПП имеет вид

$$-\beta H = H = -J \sum_{i=1}^N \delta(\gamma_{i-2}, 1) \delta(\gamma_{i-1}, 1) \delta(\gamma_i, 1) = J \sum_{i=1}^N \delta_i^A \quad (2)$$

Это и называется базовой моделью.

В большинстве случаев зависимость температуры плавления от концентрации лиганда является монотонной (Тоноян. Ш. А. 2010). Тем не менее, ряд исследований показал другие результаты. В экспериментах наблюдается не монотонная зависимость T_m от концентрации лиганда (Vardevanyan P. et al 2016). Таким образом, в GMPC были сделаны улучшения, которые привели к описанию обоих типов отношений.

Для рассмотрения принципиальной возможности такого поведения, введем простейший гамильтониан для системы полимер-растворитель-лиганд, где предполагается, что растворитель и лиганд взаимодействуют с повторяющейся единицей в разных местах посадки, не взаимодействуют друг с другом. Пусть оба взаимодействия стабилизирующие.

$$-\beta H = \sum_{i=1}^N \left[J \delta_i^A + J_L \delta_i^A \mathcal{H}(p - f_i^L) \delta(l_i, 1) + J_S \delta_i^A \mathcal{H}(f_i^S - p) \delta(s_i, 1) \right]. \quad (3)$$

Здесь $J_i = \frac{\tilde{u}_i}{T}$, U - энергия внутримолекулярной водородной связи, U_L и U_S - энергии взаимодействия спираль-лиганд и спираль-растворитель соответственно. Гамильтониан состоит из трех частей: базового, взаимодействия полимер-растворитель и полимер-лиганд.

Температура плавления определяется из условия

$$\tilde{W} = \tilde{Q}, \quad (4)$$

Откуда, после несложных преобразований получается:

$$e^{\frac{U}{T_m}} \left(1 + c \frac{e^{\frac{U_L}{T_m}} - 1}{q_L} \right) \left(1 + (1 + c) \frac{e^{\frac{U_S}{T_m}} - 1}{q_S} \right) = Q. \quad (5)$$

Здесь q_i конформационный параметр (взаимодействия растворителя или лиганда с повторяющийся единицей). Т. е. зависимость температуры плавления от концентрации лиганда квадратичная и может привести к не монотонному поведению температуры плавления T_m , в таких случаях кривая может иметь максимум. Этот результат показан

на рис. 1.

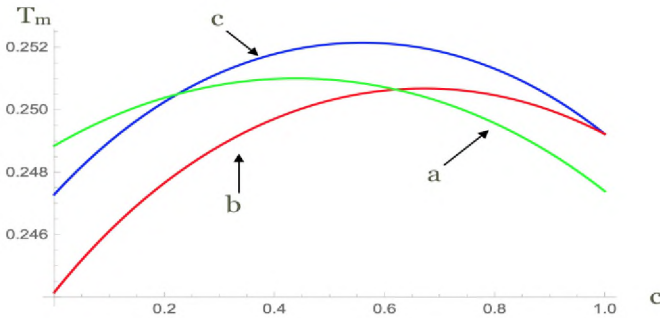


Рис. 1. Зависимость приведенной температуры перехода спираль-клубок от концентрации лиганда для модели с Гамильтонианом (6). (a) $\alpha_L = 0.48$, $\alpha_S = 0.55$, $Q = 91$, (b) $\alpha_L = 0.55$, $\alpha_S = 0.5$, $Q = 100$, (c) $\alpha_L = 0.55$, $\alpha_S = 0.53$, $Q = 86$.

Аналогично, при введении взаимодействия растворителя и лиганда стабилизирующего клубкообразную структуру на кривой может получиться минимум.

Таким образом в рамках ОМЩ возможно **качественно** описывать температуру перехода биополимеров как монотонную, так и не монотонную. Изменения режима стабильности спирального состояния не всегда связаны с конкуренцией стабилизирующих и дестабилизирующих взаимодействий компонентов смеси, но могут быть результатом совокупного эффекта обеих компонент.

В Третьей главе диссертационной работы представлены исследования гетерогенных биополимеров для системы с бимодальной гетерогенностью, с повторяющимися единицами “A” и “B”. В рамках ОМЩ были вычислены: свободная энергия, степень спиральности, средняя длина спирального состояния и т.д. Параллельно рассматривались регулярные гетерополимеры, макроскопические блочные системы и гетерополимеры с мелкомасштабной корреляцией.

В рамках ОМЩ гамильтониан гетерополимерной системы выглядит следующим образом:

$$-\beta H = \sum_{i=1}^N J_i \delta_i^{(A)}, \quad (6)$$

где в отличие от гомополимера приведенная энергия J_i зависит от номера повторяющейся единицы и в нашем случае может принимать значения J_A или J_B .

Случайные последовательности генерировались следующим образом: случайным образом, была генерирована последовательность из “-1” и “1”, где “1” появлялось в последовательности с вероятностью “x”, а “-1”: с вероятностью “1 - x”.

Таким образом $x_A = \frac{N_A}{N_A+N_B}$ это доля повторяющейся единицы типа “ A ” в последовательности. Для таких случайных гетерополимеров мы рассчитали приведенную свободную энергию.

$$f = \frac{\ln Z}{N} \quad (7)$$

Результаты показывают, что для коротких цепей приведенная свободная энергия f строго зависит от первичной структуры, однако при больших N стремится к пределу, т.е. систему можно считать термодинамической. Приведенная свободная энергия в термодинамическом пределе зависит от “ x ” и от температуры. Замечается также интересная корреляция между флуктуациями приведенной свободной энергии и флуктуациями величины “ x ” (рис. 2).

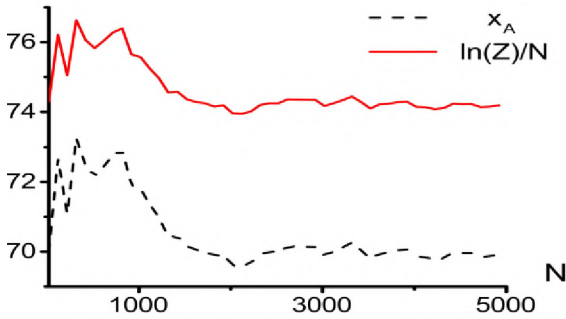


Рис. 2. Зависимости приведенной свободной энергии $f_N = -\frac{F}{NkT}$ и $x_N = \frac{N_A}{N}$ от числа повторяющихся единиц для одной реализации с параметрами: $x = 0.5$, $t = 0.213$, $\Delta = 4$, $U_A = 1$, $U_B = 0.8$, $Q_A = 71$, $Q_B = 51$. Масштаб и местоположение x_A изменены для сравнения со свободной энергией.

В рамках трансфер-матричного представления статистической суммы для степени спиральности J_A получим

$$\theta_N = \frac{1}{NZ} \sum_i Tr \prod_{k=1}^{i-1} G_k G_i' \prod_{k=i+1}^N G_k. \quad (8)$$

Где G' есть матрица G , в которой есть только один ненулевой элемент $G_{i,11} = \exp^i$. После ряда преобразований для степени спиральности получаем:

$$\theta_N = \frac{Tr[E,O] \prod_{i=1}^N M_i \begin{matrix} O \\ E \end{matrix}}{N Tr[E,O] \prod_{i=1}^N M_i \begin{matrix} E \\ O \end{matrix}} \quad (9)$$

где $M = \begin{pmatrix} G_i & G'_i \\ 0 & G_i \end{pmatrix}$, а E единичная матрица. Аналогично выражению (9) мы

также вычислили долю стыков η между спиральными и клубкообразными состояниями повторяющихся единиц и среднюю длину спирального участка ν .

Для начала мы рассмотрели дифференциальную кривую плавления (ДКП) регулярных гетерополимеров типа $(AB)_n$, $(AABB)_n$ и $(AAAAABBBBB)_n$. Как и предполагалось они очень похожи на гомополимерные и слегка отличаются по максимуму.

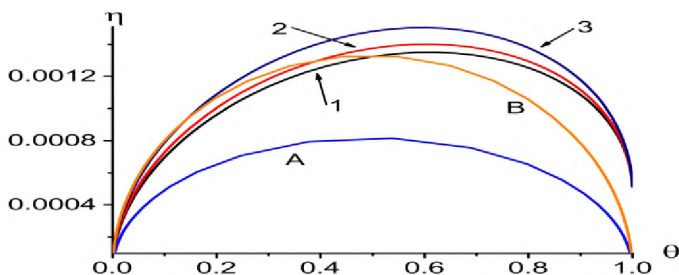


Рис.3. Зависимости доли стыков от степени спиральности для гомополимеров “A” и “B” и гетерополимеров 1. $(AB)_n$, 2. $(AABB)_n$, 3. $(AAAAABBBBBBAAAAA)_n$, где $u_A = 1$, $u_B = 0,8$, $Q_A = 71$, $Q_B = 51$, $N = 5000$, $\Delta = 4$.

Тем не менее доля стыков между спиральными и клубкообразными состояниями повторяющихся единиц показывают отличие от гомополимерных (рис. 3). Чем больше размер блока тем больше максимум доли стыков. Во всех случаях эти максимумы выше гомополимерных. На рисунке 3 изображены зависимости доли стыков от степени спиральности. Они имеют максимум в районе $\theta = 0.5$ у менее стабильного гомополимера “B” максимум выше. Максимумы для регулярных гетерополимеров расположены выше гомополимерных. Объяснение заключается в следующем. В гомополимере A существуют стыки $(A(h)A(c))$ $(A(c)A(h))$, аналогично и в гомополимере B. В гетерополимере наряду с гомополимерными появляются новые стыки $(A(h)B(c))$ и $(B(h)A(c))$. Тот же результат следует и для случайных гетерополимеров.

Как указано в литературе, тонкая структура ДКП является следствием блочной последовательности. Мы также рассмотрели гетерополимеры с макроскопической блочной структурой с одинаковыми и с разными “x”.

ДКП таких систем иногда имеет тонкую структуру (рис. 4). Тем не менее усреднение ДКП по первичным структурам приводит к исчезновению тонкой структуры ДКП.

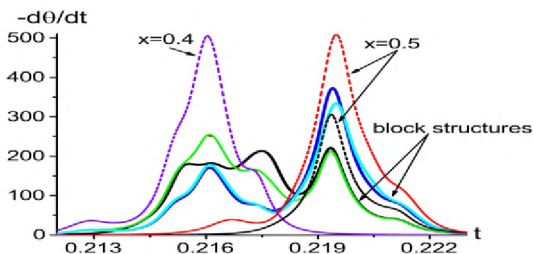


Рис. 4. Пунктирные линии слева: ДКП случайных гетерополимеров с $x = 0.4$, пунктирные линии справа: ДКП случайных гетерополимеров с $x = 0.5$. Сплошные линии: ДКП блочных последовательностей с разными x : $x = 0.4$, $x = 0.5$. Используется приведенная температура $t = T/u$.

Отсюда можно сделать вывод, что тонкая структура ДКП, это следствие первичной структуры. Мы также рассмотрели гетерополимеры с корреляциями в последовательности между повторяющимися единицами. Генерировалась последовательность с увеличением вероятности одноименных соседей и уменьшением вероятности разноименных, т.е. Вероятность последовательности “AA” выше, чем x и вероятность $P_{BB} > (1 - x)$. Таким образом введенная простейшим образом корреляция приводит к резкой зависимости приведенной свободной энергии от Δx , при x , отличающейся от 0.5. Как видно из рис. 5 при $x = 0.5$ различия незначительны.

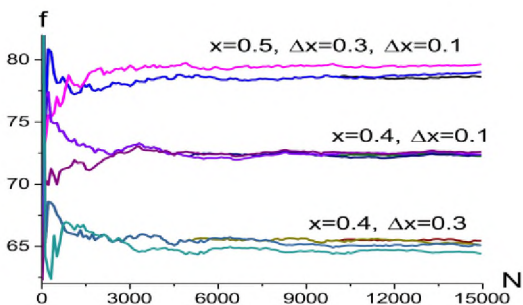


Рис. 5. Приведенная свободная энергия для гетерополимеров с корреляцией в последовательности, для различных степеней корреляции $\Delta x = P_{AA} - P_A$.

Четвертая глава диссертационной работы посвящена влиянию взаимодействия растворитель-биополимер на переход спираль-клубок в бимодальном гетерополимере в рамках ОМПЦ. Здесь так же как в главе 2 модели, энергетический и энтропийный параметры переопределены. Мы рассматривали самый простой случай, когда растворитель взаимодействует с биополимером, конкурируя за образование

водородных связей. Тогда, в простейшем случае энтропийный параметр Q представляет из себя просто константу а энергетический параметр пишется в виде:

$$\bar{W} = \frac{D_{base} D_{st}}{D_{dst}}, \quad (11)$$

где $D_i = 1 + \frac{u_i}{e^T - 1}$, а $D_{base} = D_i (q = 1)$. Температура плавления определяется из следующего выражения:

$$\bar{W} = Q. \quad (12)$$

В рамках этой модели мы рассматривали неизбирательные взаимодействия. Тогда в D_i параметры U_i и q_i одинаковые для “A” и “B” типов повторяющихся единиц. При неизбирательных взаимодействиях замечается только сдвиг ДКП (рис. 6), более того, этот сдвиг намного меньше сдвига соответствующих гомополимерных ДКП. Было показано, что сдвиг зависит от разностей температур плавления гомополимеров. При неизбирательном взаимодействии параметры взаимодействия зависят от типа повторяющихся единиц.

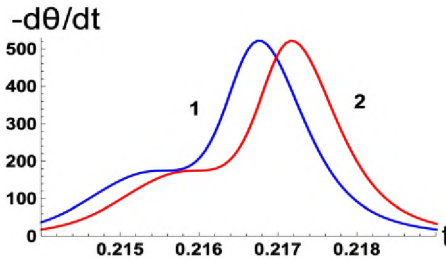


Рис. 6. ДКП для случайной первичной структуры гетерополимера, который не избирательно взаимодействует с лигандом (2) и ДКП не взаимодействующего гетерополимера (1). $U_A = 1$, $U_B = 0.8$, $Q_A = 71$, $Q_B = 51$, $U_{st} = 0.2$, $U_{dst} = 0.22$, $q_{st} = 5$, $q_{dst} = 6$, $x = 0.4$. Используется приведенная температура $t = T/u$.

Очевидно, что такое взаимодействие полимер-растворитель должно привести к более разнообразным эффектам. Потому можно предположить, что некоторые эффекты на ДКП, наблюдаемые на экспериментах, возникают и из-за избирательных взаимодействий. В рамках нашей модели при близости температур плавления соответствующих гомополимеров ДКП гетерополимеров гладкая и похожа на

гомополимерную ДКП (рис. 7). Форма ДКП гетерополимера становится менее гладкой, когда температуры плавления гомополимеров отдаляются.

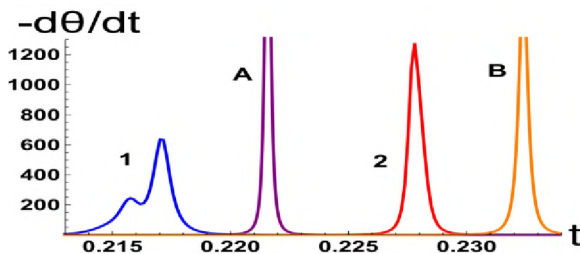


Рис. 7. ДКП базовой модели (1) и ДКП для случайной последовательности, при избирательном взаимодействии (2). Используется приведенная температура $t = T/u$.

$$U_A = 1, U_B = 0.8, Q_A = 71, Q_B = 51, U_{st}^A = 0.5, U_{st}^B = 0.4, U_{dst}^A = 0.4, U_{dst}^B = 0.3, q_{st}^A = 15, q_{st}^B = 5, q_{dst}^A = 5, q_{dst}^B = 15, x = 0.4.$$

Существуют малые молекулы, которые избирательно взаимодействуют с биомолекулами, т.е. параметры взаимодействия биополимер-растворитель зависят от типа повторяющейся единицы. Более того, было замечено, что при некоторых параметрах, ДКП гетерополимера имеет инверсный вид, если $|T_A^0 - T_B^0| = |T_B - T_A|$ (рис. 8). Где T_A^0 и T_B^0 начальные, а T_A и T_B конечные температуры плавления гомополимеров.

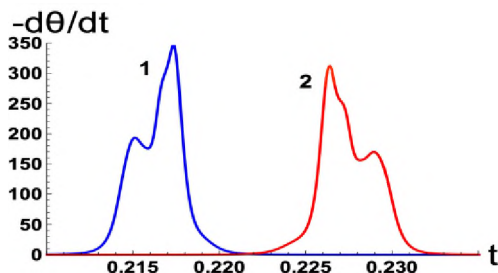


Рис. 8. ДКП для случайной первичной структуры гетерополимера не взаимодействующего (1) и ДКП гетерополимера избирательно взаимодействующего с растворителям (2).

$$U_A = 1, U_B = 0.8, Q_A = 71, Q_B = 51, U_{st}^A = 0.5, U_{st}^B = 0.5, U_{dst}^A = 0.5, U_{dst}^B = 0.4, q_{st}^A = 15, q_{st}^B = 5, q_{dst}^A = 5, q_{dst}^B = 15, x = 0.4.$$

Нами также исследована зависимость интервала перехода $\Delta T = T(\theta = 0.83) - T(\theta = 0.17)$ случайных гетерополимеров от $(T_B - T_A)$. Было показано, что эта зависимость

квадратичная (рис.9), что согласуется с другими теоретическими и экспериментальными данными для ДНК со случайной последовательностью.

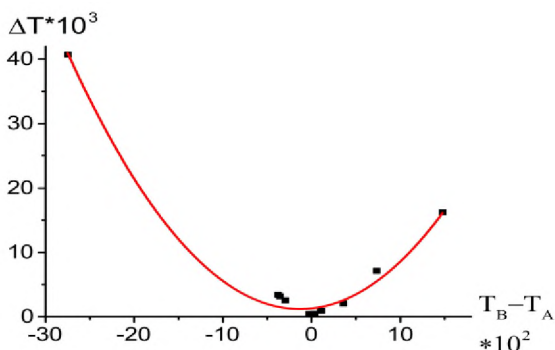


Рис. 9 Зависимость интервала плавления гетерополимера от разности температур плавления гомополимеров, где добавлена кривая соответствия (fitted curve).

Далее мы более подробно исследовали возможность образования тонкой структуры на ДКП. Для случайных гетерополимеров на теоретических ДКП тонкая структура была получена только в тех случаях, когда разности температур плавления соответствующих гомополимеров очень большие и далеки от реальности (рис. 10). В этом случае $T_B/T_A = 0.06$. Экспериментально это число порядка единицы $T_B/T_A = 0.83$ (Harutyunyan S. G. et al 1990).

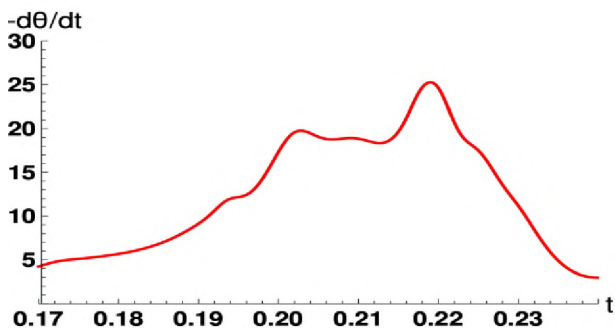


Рис. 10 ДКП-с для случайной первичной структуры гетерополимера, который избирательно взаимодействует с лигандом. $U_A = 1, U_B = 0.8, Q_A = 71, Q_B = 51, U_{st}^A = 0.9, U_{st}^B = 0.08, U_{dst}^A = 0.1, U_{dst}^B = 0.83, q_{st}^A = 15, q_{st}^B = 5, q_{dst}^A = 5, q_{dst}^B = 15, \chi = 0.4$.

Т. о. учет только взаимодействия с растворителем приводит к тонкой структуре лишь в нереальных случаях. Мы наряду со взаимодействием с растворителем, ввели мелкомасштабную корреляцию в первичной структуре, как изложено в третьей главе. При этом тонкая структура получается на ДКП при значениях $T_A/T_B = 0.8$, что наблюдается в реальных экспериментах. Рис. 11 иллюстрирует данное утверждение.

Т.о. тонкая структура может быть получена в гетерополимере без макроскопической блочной организации. Этому способствует взаимодействие с растворителем и лигандами и мелкомасштабная корреляция, что реально наблюдается на эксперименте.

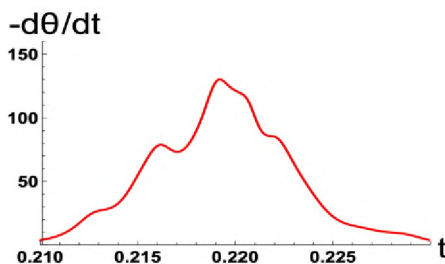


Рис. 11 ДКП-с для гетерополимера с корреляцией в первичной структуре, который избирательно взаимодействует с растворителем. $U_A = 1$, $U_B = 0.8$, $Q_A = 71$, $Q_B = 51$, $U_{st}^A = 0.2$, $U_{st}^B = 0.1$, $U_{dst}^A = 0.1$, $U_{dst}^B = 0.2$, $q_{st}^A = 12$, $q_{st}^B = 10$, $q_{dst}^A = 10$, $q_{dst}^B = 12$, $x = 0.4$, $\Delta x = 0.3$.

ВЫВОДЫ

1. В рамках ОМЩ было показано что немонотонное поведение температуры плавления не всегда связано с конкуренцией стабилизирующих и дестабилизирующих взаимодействия растворителя и лиганда, а может быть результатом кумулятивного эффекта одинаково взаимодействующих молекул растворителя и лиганда.
2. Было показано, что для случайных гетерополимеров приведенная свободная энергия имеет термодинамический предел, а корреляции приводят к зависимости термодинамического предела свободной энергии от реализации случайной последовательности.
3. Дифференциальные кривые плавления различных регулярных гетерополимеров ведут себя как гомополимерные ДКП. Зависимость числа стыков между спиральным и клубкообразным состоянием повторяющийся единиц от степени спиральности показывает что это число больше, чем у гомополимеров.
4. Подтверждено, что ДКП макроскопически блочных структур могут иметь тонкую структуру для данной последовательности. Усреднение ДКП по различным первичным структурам приводит к исчезновению тонкой структуры.

5. Показано, что ДКП при избирательном взаимодействии с растворителем и лигандом зависит от разности ($T_A - T_B$). При малом ΔT гетерополимер ведет себя как гомополимер, при больших ΔT ДКП может проявить тонкую структуру.
6. В рамках наших расчетов тонкая структура ДКП получается не только при блочной гетерогенности, но и при мелкомасштабной корреляции первичной структуры с учетом взаимодействия с растворителем.
7. Наши расчеты приводят к квадратичной зависимости интервала плавления от ($T_A - T_B$), что согласуется с другими теоретическими и экспериментальными результатами для случайных бимодальных последовательностей.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Asatryan A., Tonoyan Sh., Mamasakhlisov Y. Morozov V. Fine structure of DMC for helix-coil transition in heterogeneous biopolymers Advanced Nanomaterials and Methods: International Workshop and Young Scientist School, Yerevan, Sept. 26-Oct. 02, 2019 (Book of abstracts, p.55-56).
2. Asatryan A., Tonoyan Sh., Mamasakhlisov Y. Morozov V. Helix-Coil transition in in heterogeneous biopolymers. The GMPC. Advanced Nanomaterials and Methods: International Workshop and Young Scientist School, Yerevan, Sept. 26- Oct. 02, 2019 (Book of abstracts, p.69-70).
3. Asatryan A., Tonoyan Sh., Mamasakhlisov Y., and Morozov V. Concentrational dependence of melting temperature: possible explanation of non-monotonic behavior." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, vol. 37, p. 77-78. 530, 2019.
4. Асатрян А.В., Андриасян А.К., Тоноян Ш.А., Мамасахлисов Е.Ш., Морозов В.Ф., Переход спираль порядок-беспорядок в гетерогенных биологических макромолекулах, Вестник РАУ, 2018, N1, с. 41-54.
5. Asatryan A.V., Andriasyan A.K., Nakobyan A.A., Tonoyan Sh.A., Mamasakhlisov Y.Sh. and Morozov V.F. Straight Calculation of helix -coil transition parameters in heteropolymers. Proceedings of the Yerevan State University. 2018, v.52, N1, p.47-54.
6. Asatryan A.V. Algorithm of Calculations of Helix-Coil Transition Parameters in Heteropolymeric Biopolymers on the Bases of Generalized Model of Polypeptide Chain. Armenian Journal of Physics, 2018, v.11, N1, p.18-24.
7. Тоноян Ш.А., Асатрян А.В., Айрапетян Д.Л., Мамасахлисов Е.Ш., Морозов В.Ф. Возможный механизм немонотонного поведения температуры перехода спираль – клубок в двухкомпонентном растворителе. Известия НАН Армении, Физика, 2016 т.51, N1, с.122-129.
8. Asatryan A., Tonoyan Sh., Hayrapetyan D., Morozov V. GMPC and possible mechanism of non- monotone behavior of helix-coil transition temperature in two-component solvent. New Trends in Life Sciences: Yerevan, Institute of Molecular Biology, 26-28.09.2016 , In abstract book, p.36.

9. Tonoyan Sh. A., Asatryan A.V., Andriasyan A.K., Mamasakhlishov Y.Sh. and Morozov V.F. Helix-coil transitions in heteropolymers: the constrained annealing approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2015, v. 33.supl., p.126-126.
10. Asatryan A.V., Tonoyan Sh.A., Mirtavoosi S., Mamasakhlishov Y.Sh. and Morozov V.F. The helix-coil transition in two-component solvent in the frames of GMPC. Ligands effects on the characteristics of the transition. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2015, v.33, supl., p.126-127.
11. Tonoyan Sh.A., Grigoryan Z.A., Asatryan A.V., Mamasakhlishov Y.Sh. Helix-coil transition in macromolecules with sequence heterogeneity. *Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2015, v.15, N4, p.195-199.
12. Тоноян Ш.А., Асатрян А.В., Миртавоуси С., Мамасахлисов Е.Ш., Морозов В.Ф. Обобщенная модель полипептидной цепи для перехода спираль-клубок в двухкомпонентном растворителе, *Известия НАН Армении, Физика*, 2015, т. 50, N4, с.503-510.
13. Тоноян Ш., Асатрян А., Мамасахлисов Е., Морозов В. Переход спираль – клубок в биополимерах с многокомпонентной гетерогенностью по энергии и числу конформаций, *Известия НАН Армении, Физика*, 2014, т.49, N3, с.209-218.

ԱՍՍՏՐՅԱՆ ԱՐԵՎԻԿ ՎԱՐԴԱՆԻ

ՑԱՐԲԱՍՈՒԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ԶՐԱՅԻՆ ԼՈՒԾՈՒՅԹՆԵՐԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀՆՏԵՐՈԳԵՆ ԿԵՆՍԱՊՈՒԼԻՄԵՐՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՄԱՆ ՎՐԱ

ԱՍՓՈՓԱԳԻՐ

Հանգուցային բառեր. ԴՆԹ, ՌՆԹ, սպիտակուցներ, պարույր կծիկ անցում, հետերոպոլիմեր լուծույթ, հալման կորերի նուրբ կառուցվածք:

Ատենախոսությունը նվիրված է նուկլեինաթթուների և սպիտակուցների մեջ պարույր-կծիկ անցումների ուսումնասիրմանը: Գիտական նորույթը կայանում է փորձերում դիտվող անցումային կետի ոչ մոնոտոն վարքի համար տեսական բացատրության մեջ: Նաև գտել ենք այն պարամետրերը, որոնց համար հետերոպոլիմերները կարելի է ուսումնասիրել որպես թերմոդինամիկական համակարգեր: Ավելին, մակրոմոլեկուլների հալման դիֆերենցիալ կորերի (ՀԴԿ) վրա նուրբ կառուցվածքը ստացվել է Պոլիպեպտիդային Շոթայի Ընդհանրացված Մոդելի (ՊՇԸՄ) շրջանակներում առանց բոկային հաջորդականության:

Լուծույթի մոլեկուլների հետ փոխազդելիս մակրոմոլեկուլներում կայունության փոփոխությունը բացատրելու համար ենթադրվել է, որ լուծիչի և լիզանդի մոլեկուլների փոխազդեցությունը հոմոպոլիմերների հետ սեղի է ունենում տարբեր կապման կետերում: Արդյունքում տեսականորեն ստացվել է, լիզանդի կոնցենտրացիայից կախված հալման ջերմաստիճանի ոչ մոնոտոն վարք: Այս արդյունքները որակապես նկարագրում են փորձարարական տվյալները: Այս մոտեցմամբ, ՊՇԸՄ-ն առաջին անգամ որակապես նկարագրում է հալման ջերմաստիճանի ինչպես մոնոտոն, այնպես էլ ոչ մոնոտոն վարքը:

Ուսումնասիրվել են նաև երկմոդալ հետերոգենությամբ կենսապոլիմերներ: Հաշվարկներն արվել են տրանսֆեր-մատրիցների բազմապատկման միջոցով: Մակրոմոլեկուլների թերմոդինամիկական հատկությունները ուսումնասիրելու համար մենք ստացել ենք բերված ազատ էներգիայի կախվածությունը կրկնվող միավորների քանակից: Պատահական հետերոպոլիմերների համար գտել ենք, որ կա թերմոդինամիկական սահման: Քննարկվել է նաև հետերապոլիմերների նվազագույն մոդելը, որտեղ հաշվի ենք առել լուծիչի հետ փոխազդեցությունը: Ուսումնասիրվել են ընտրողական և ոչ ընտրողական փոխազդեցությունները: ՀԴԿ-ի ձևի ոչ մի փոփոխություն չի նկատվել հետերոպոլիմերի լուծույթի մոլեկուլների հետ ոչ ընտրողական փոխազդեցության դեպքում: Այնուամենայնիվ, ՀԴԿ-ի շեղում է եղել, և նկատել ենք, որ այդ շեղումը կախված է համապատասխան

հոմոպոլիմերների հալման ջերմաստիճանների տարբերությունից: Այնուամենայնիվ, առկա է ՀԴԿ-ի ձևի փոփոխություն հետերոպոլիմերների համար, որոնք ընտրողականորեն են փոխազդում լուծիչի և լիզանդի մոլեկուլների հետ: Դրա ձևը սահուն է և մոտ է հոմոպոլիմերների ՀԴԿ-ին, եթե նրանց հալման ջերմաստիճանները մոտ են: Բայց այն հարթ չէ և փոխվում է, երբ այդ հալման կետերի տարբերությունը մեծանում է: Ցույց է տրվել, որ սկզբնական և վերջնական հալման ջերմաստիճանների տարբերությունների նույնը լինելու դեպքում հետերոպոլիմերների ՀԴԿ-ները (ընտրողականորեն փոխազդելու դեպքում) ունեն հայելային տեսք:

Հետերոպոլիմերի ՀԴԿ-ի վրա առաջնային կառուցվածքի ազդեցությունը հետազոտելու համար, մենք ստեղծեցինք հաջորդականություններ պարզ կորեյացիայով: Կորեյացիան մեծացնում է հարևան կրկնվող միավորների նույն տեսակը լինելու հավանականությունը: Հաջորդականության մեջ կորեյացիան հանգեցնում է ՀԴԿ -ի փոփոխության: ՀԴԿ-ի վրա նուրբ կառուցվածք ենք ստացել հոմոպոլիմերների հալման ջերմաստիճանների այնպիսի հարաբերակցության համար, որը համապատասխանում է փորձարարական տվյալներին ($T_B/T_A = 0.84$): Առաջին անգամ հնարավոր եղավ բացատրել հետերոպոլիմերների ՀԴԿ-ների նուրբ կառուցվածքը ոչ միայն դրանց կառուցվածքում մակրոտոկոպիկ բոկային համակարգերի առկայությամբ, այլև հաջորդականության մեջ կարճ մաշտաբի կորեյացիայի միջոցով:

ASATRYAN AREVIK VARDAN

INFLUENCE OF AQUEOUS SOLUTIONS OF LOW-MOLECULAR
LIGANDS ON HELIX-COIL TRANSITION IN HETEROGENEOUS
BIOPOLYMERS

SUMMARY

Key words: DNA, RNA, proteins, helix-coil transitions, heteropolymer in solvent, fine structure of melting curves.

The dissertation is devoted to investigation of helix-coil transitions in nucleic acids and proteins. The scientific novelty consists of reaching a theoretical explanation for non-monotone behavior of transition point depending on concentration observed in experiment. Also, we found out the parameters for which heteropolymers can be investigated as thermodynamic systems. Moreover, fine structure on differential melting curves (DMC) of macromolecules were obtained in frame of Generalized Model of Polypeptide Chain (GMPC) without block sequences.

To explain change of stability in macromolecules while interacting with solution molecules it was assumed that interactions of solvent and ligand molecules with homopolymers are in different binding sites. As a result non-monotone behaviour of melting temperature on concentration of ligand was obtained theoretically. These results qualitatively describe the ones from experiments. With this approach, for the first time GMPC qualitatively describes both monotone and non-monotone behaviour of melting temperature.

Biopolymers with bimodal heterogeneities have also been investigated. Calculations have been done by means of straight multiplication of transfer-matrices. To investigate thermodynamic properties of macromolecules we obtained dependence of reduced free energy on number of repeated units. For random heteropolymers we found that there is thermodynamic limit. Minimal model for various heteropolymers with solvent taken into account has also been discussed. Selective and non-selective interactions have been investigated. No change in shape of DMC was observed for heteropolymer interacting non-selectively with solvent molecules. However, there was a shift of DMC and that shift was found to be dependent on difference between transition temperatures of corresponding homopolymers. However, there is change of shape of DMC for heteropolymers interacting with solvent and ligand molecules selectively. Its shape is smooth and it's similar to DMC of homopolymer in case the melting temperatures of homopolymers are close. But it is not smooth and changes when the difference of these transition points increases. It has been shown that for the same differences

between initial and final melting temperatures DMCs of heteropolymers (interacting selectively) have reflecting appearance.

To investigate the influence of correlation in primary structure on DMC we generated sequences with simple correlation. Correlation increases the probability of neighbor repeated units to be the same type. Correlation in sequence leads to changes in DMC. Fine structure on DMC was obtained for such fraction of melting temperatures of homopolymers which is in correspondence with experimental data ($T_B/T_A = 0.84$). For the first time it was possible to explain fine structure of DMCs of heteropolymers not only by consistence of macroscopic block systems in their structure but also by short range correlations in sequence.