

Beszámoló az OTKA IN 82349 nemzetközi kiegészítő pályázat eredményeiről

1. Bevezető

Az OTKA IN 82349 nemzetközi kiegészítő pályázat a K 68415 számú OTKA-NKTH pályázat kiegészítése. Az eredeti pályázat célja egyszerű rúdszerkezetek globális kihajlásvizsgálata és poszt-kritikus viselkedésének megértése, valamint a posztkritikus viselkedés vizsgálatára numerikus eljárások fejlesztése. A jelen nemzetközi kiegészítő pályázat keretében fő célunk az eredeti pályázat egyes eredményeinek alkalmazása volt a DNS térbeli szerkezetének vizsgálatára, részben a Pittsburgh-i Egyetem Matematika Tanszékén dolgozó David Swigon csoportjával együttműködve.

A DNS molekulák gyakran vannak kitéve egyidejű nyújtásnak és csavarásnak például bizonyos speciális enzimek hatására. Ezek a hatások fontos szerepet töltenek be a DNS reprodukciójának, javításának, másolásának szabályozásában [1]. Ezeknek a lényegében mechanikai folyamatoknak a megértése elengedhetetlen a DNS viselkedésének pontos leírásához. Nagyszámú kísérletet végeztek pl. mágneses és optikai csipeszekkel illetve mikropipettákkal a DNS mechanikai tulajdonságainak feltérképezése érdekében. E kísérletek nyomán mára bizonyosnak látszik, hogy a DNS húzási és csavarási tulajdonságai nem függetlenek egymástól [2].

A kísérletek egy része a DNS molekulák nagymértékű megnyúlását vizsgálta [1, 3, 4]. A kísérletek tanúsága szerint az erő–elmozdulás diagram kezdeti szakasza lineáris. Egy kritikus erő (pl. csavarásmentesen megfogott B-DNS esetén kb. 65 pN [3]) elérésekor azonban egy plató jelenik meg, az erő igen kis változása kb. 70 % nyúlást eredményez. Ez a DNS molekula térszerkezetének megváltozásával jár, azonban ennek a változásnak a részletei nem ismertek. Abban sincs egyetértés, hogy a DNS a húzás során fel-, vagy kitekeredik-e [5, 6, 7]. Úgy tűnik, hogy a DNS húzása során nemcsak térszerkezeti változások zajlanak le, hanem a nyújtás és a csavarodás közti csatlódás is fontos szerepet kap [1]. A kiegészítő pályázat fő célja numerikus vizsgálatok segítségével ennek a viselkedésnek a megértése volt.

2. Alkalmazott módszerek

A nyúlás és csavarás csatolt vizsgálatához a David Swigon és munkatársai által kidolgozott diszk-rét DNS modellt [8, 9] alkalmaztuk. Ez a modell, összhangban a „Cambridge Accord”-dal [10], figyelembe veszi a szomszédos bázispárok összes lehetséges egymáshoz képesti elmozdulását [11], és megadja a DNS-t felépítő egyes nukleotidok közti anyagegyenletet. A bázispárokat sík, merev téglalapoknak tekinti, amelyeket rugalmas kapcsolatok kötnek egymáshoz. Két egymás után következő bázispár egymáshoz képesti elmozdulását hat komponens jellemzi, amely megfeleltethető a hajlításnak (2 paraméter), csavarásnak, nyújtásnak és nyírásnak (2 paraméter) [11]. Korábbi numerikus vizsgálatok során [8, 9] feltételezték, hogy a DNS molekulának nincs nyúlása és nyírási alakváltozása, ekkor természetesen nem lehetett vizsgálni, hogy a nyírás illetve a nyúlás hogyan csatolódhat a hajlításhoz és a csavaráshoz. Ezek a numerikus vizsgálatok nem mutatták a kísérletekben tapasztalt platót az erő–megnyúlás diagramon. Mi a teljes problémát vizsgáltuk, mert éppen arra voltunk kíváncsiak, hogy a realisztikus csatolások hogyan befolyásolják a stabilitást és az egyensúlyi konfigurációkat.

Az általunk alkalmazott modellben a szabadsági fokok száma a bázispárok számának hatszorosa, ami realisztikus számú bázispárból álló DNS molekula esetén igen magas lehet. Így a megoldásokat egyértelműen bemutató Globális Reprezentációs Tér (GRT) igen magas dimenziószáma miatt nem várható, hogy adott teher esetén minden lehetséges egyensúlyi konfigurációt megtaláljunk. Mivel minket elsősorban az elcsavarodás és a nyúlás csatolt viselkedése és az alapvető mechanikai viselkedésformák érdekeltek, azt vártuk, hogy néhány bázispárból álló molekula vizsgálata is elegendő lesz, és már akár 3–4 bázispárból álló molekula is fontos információt szolgáltathat a DNS molekulák kísérletileg megfigyelt viselkedésének magyarázatához.

Realisztikus anyagtörvényeket (a bázispárok közti rugalmas modell paramétereit [12]) alkalmazva, néhány bázispárból álló DNS molekula egyensúlyi helyzetét kerestük a molekula megnyúlásának különböző értékeire. Olyan peremfeltételeket alkalmaztunk, hogy az eredmények általánosíthatók legyenek periodikusan kiterjesztett, hosszabb molekulákra is. Az egyensúlyi helyzetek keresésére a Szimplex Algoritmust használtuk [13, 14]. Ez az algoritmus kicsiny szimplexekre bontja a GRT-t, és a szimplexek csúcaiban meghatározott, az egyensúlyi helyzettől való távolságot jellemző hibafüggvények interpolációjával keresi meg a szimplex belsejében a globális egyensúlyi út egy-egy szegmensét.

3. Eredmények

A vizsgálatok során meghatároztuk rövid, kevés bázispárból álló DNS molekulák egyensúlyi helyzetait, illetve azt, hogy ezen egyensúlyi helyzetek hogyan függenek az alkalmazott megnyúlástól. Megvizsgáltuk, hogy az egyensúlyi konfigurációban mekkora szerepet játszanak ez egyes alakváltozások, a nyúlás, elcsavarodás, hajlítási és nyírási alakváltozások. Azt tapasztaltuk, hogy ez nagyban függ attól, hogy pontosan milyen bázispárok milyen sorrendben építik fel a DNS molekulát.

Numerikus vizsgálataink azt mutatták, hogy a kísérletekben látott nagymértékű megnyúlás oka nyírási instabilitás: szemléletesen, a megnyúlás bizonyos értékénél a bázispárok elfordulnak és egymáson elcsúszva nagy nyírási alakváltozást szenvednek. Ez egy lehetséges új magyarázata a kísérletekben megfigyelt viselkedésnek, és ez jelen kiegészítő pályázatunk fő eredménye [15, 16, 17].

Ezek az eredmények rávilágítottak a nyírási instabilitás fontosságára. Ezért megvizsgáltuk egy másik szerkezet, az eredeti K 68415 számú OTKA-NKTH pályázat során vizsgált rúdháló viselkedését. Megmutattuk, hogy a rúdháló triviális egyensúlyi helyzetében egytengelyű terhelés esetén egy kritikus pont van, ahol viszont tetszőleges geometriailag lehetséges elmozdulás létrejöhet. Ebben a tekintetben a rúdháló viselkedése olyan, mint egy hajlításra és normál irányú alakváltozásra képtelen, csak nyírható rúd kihajlása nyírási instabilitás által [18, 19].

Mindezzel párhuzamosan azt is megvizsgáltuk, hogy egy másik, biológiában kísérletileg igen sokat vizsgált rendszerben is tudunk-e mechanikailag releváns magyarázatot adni a mérési eredményekre. Sikeres modellt alkottunk az izomszalakat mozgató motorfehérjék mechanikai viselkedésére [20], amely erősen csillapított rendszerekben a konformációs változásokat leíró elmozdulások és sebességek szeparációját lehetővé tevő mechanizmuson alapul [21]. A bevezetett modell egy belső emelőkaron alapul, amely a korábban kísérletileg igazolt emelőkar mellett a motorfehérje fejrészében működve lehetővé teszi a motorfehérje mozgásának időbeli ütemezését, illetve a létrehozott elmozdulások megfelelő nagyságát.

4. Az eredmények hasznosíthatósága

A pályázat során nyert eredményeink elsősorban alapkutatási eredmények, nem volt cél gazdasági hasznosíthatóság. Az eredmények több területen hoztak azonban előrelépést. A DNS térbeli szerkezetének megértése igen fontos például gyógyászati szempontból is, hiszen nemcsak a DNS bázispárok sorrendje fontos a DNS működése során, hanem az is, hogy milyen térbeli konformációt vesz fel. Az erre vonatkozó kísérleti eredmények önmagukban nem nyújthatnak elegendő információt, szükséges, hogy elméletileg is megértsük a DNS mechanikai viselkedését. Eredményeink egy része ebbe az irányba tett lépéseket.

Hasonló, biológiailag releváns kérdés, hogy a motorfehérjék, amelyek pl. a vázizomzat összehúzódásáért felelnek, pontosan milyen mechanikai elveket használnak a működésük során. Vi-

selkedésük minél pontosabb megértése szükséges lehet pl. mesterséges izom készítéséhez, vagy hasonló elven működő berendezések készítéséhez. Vizsgálataink során azt jósoltuk, hogy a miozin II motorfehérje fejrésében egy belső emelőkar lehet, ennek kísérleti igazolása fontos fejlemény lehet a motorfehérjék működésének megértésében.

Pályázatunk eredményeinek fő üzenete, hogy komplex biológiai rendszerek megértéséhez hat-
hatós segítséget nyújthat mechanikai ismereteink megfelelő alkalmazása.

Hivatkozások

- [1] M.Y. Sheinin, M.D. Wang: Twist stretch coupling and phase transition during DNA supercoiling. *Physical Chemistry Chemical Physics* **11** (2009) 4800–4803.
- [2] F. Mosconi, J.F. Allemand, D. Bensimon, V. Croquette: Measurement of the torque on a single stretched and twisted DNA using magnetic tweezers. *Physical Review Letters* **102** (2009) 078301.
- [3] S.B. Smith, Y. Cui, C. Bustamante: Overstretching B-DNA: The elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules. *Science* **271** (1996) 795–799.
- [4] C. Danilowicz, C. Limouse, K. Hatch, A. Conover, V.W. Coljee, N. Kleckner, M. Prentiss: The structure of DNA overstretched from the 5'5' ends differs from the structure of DNA overstretched from the 3'3' ends. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **106** (2009) 13196–13201.
- [5] J.D. Moroz, P. Nelson: Torsional directed walks, entropic elasticity, and DNA twist stiffness. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **94** (1997) 14418–14422.
- [6] J. Gore, Z. Bryant, M. Nöllmann, M.U. Le, N.R. Cozzarelli, C. Bustamante: DNA overwinds when stretched. *Nature* **442** (2006) 836–839.
- [7] T. Lionnet, S. Joubaud, R. Lavery, D. Bensimon, V. Croquette: Wringing out DNA. *Physical Review Letters* **96** (2006) 178102.
- [8] B.D. Coleman, W.K. Olson, D. Swigon: Theory of sequence-dependent DNA elasticity. *Journal of Chemical Physics* **118** (2003) 7127–7140.
- [9] W.K. Olson, D. Swigon, B.D. Coleman: Implications of the dependence of the elastic properties of DNA on nucleotide sequence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A* **362** (2004) 1403–1422.
- [10] R.E. Dickerson, M. Bansal, C.R. Calladine, S. Diekmann, W.N. Hunter, O. Kennard, E. von Kitzing, R. Lavery, H.C.M. Nelson, W.K. Olson, W. Saenger, H. Sklenar, D.M. Soumpasis, C.-S. Tung, A.H.-J. Wang, V.B. Zurkin: Definition and nomenclature of nucleic acid structure parameters, „The Cambridge Accord”. *The European Molecular Biology Organization Journal* **8** (1988) 1–4.

- [11] M.A. El Hassan, C.R. Calladine: The assessment of the geometry of dinucleotide steps in double-helical DNA; a new local calculation scheme. *Journal of Molecular Biology* **251** (1995) 648–664.
- [12] W.K. Olson, A.A. Gorin, X.-J. Lu, L.M. Hock, V.B. Zhurkin: DNA sequence-dependent deformability deduced from protein-DNA crystal complexes. *PNAS Biophysics* **95** (1998) 11163–11168.
- [13] G. Domokos, I. Szeberényi: A hybrid parallel approach to nonlinear boundary value problem. *Computer Assisted Mechanics and Engineering Sciences* **11** (2004) 15–34.
- [14] G. Domokos, Zs. Gáspár: A global, direct algorithm for path-following and active static control of elastic bar structures. *International Journal of Structures and Machines* **23** (1995) 549–571.
- [15] A. Kocsis, D. Swigon: Modeling DNA stretching at the base-pair level. 3rd conference on nonlinear science and complexity, Ankara, 2010. (Előadás)
- [16] A. Kocsis, D. Swigon: Modeling DNA overstretching at the basepair level. SIAM conference on applications of dynamical systems, Snowbird, USA, 2011. (Előadás)
- [17] A. Kocsis, D. Swigon: DNA stretching modeled at the base pair level: Overtwisting and shear instability in elastic linkages. *International Journal of Non-Linear Mechanics*, Nyomdában, online már megjelent, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020746211002514> (2011)
- [18] R.K. Németh, A. Kocsis: Unfolding the catastrophe of the elastic web of links. SIAM conference on applications of dynamical systems, Snowbird, USA, 2011. (Előadás)
- [19] A. Kocsis, R.K. Németh, Gy. Károlyi: Spatially chaotic bifurcations of an elastic web of links. *International Journal of Bifurcation and Chaos* **20** (2010) 4011–4028.
- [20] A. Bibó, M. Kovács, G. Károlyi: Internal lever arm model for myosin II. In: G. Stépán, L.L. Kovács, A. Tóth (Eds.): IUTAM symposium on dynamics modeling and interaction control in virtual and real environments. IUTAM bookseries, Vol. 30, Budapest, Hungary, 2010, pp. 155–163. Springer, 2011.
- [21] A. Bibó, G. Károlyi: Spatial and temporal separation in overdamped systems. *Periodica Polytechnica Series Civil Engineering* **54** (2010) 89–94.