

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ЗАКРЕПЛЕНИЯ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЯЖЕНИЯ ДНК

© 2024 г. М.А. Дидин*,#

*Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
Институтский пер., 9, Долгопрудный, Московская область, 141701, Россия

#E-mail: didin.maxim@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.12.2023 г.

После доработки 12.02.2024 г.

Принята к публикации 21.02.2024 г.

Рассматривается задача растяжения гибкой полимерной молекулы с заданными условиями на концах, под действием фиксированной силы. Построена математическая модель для различных энергетических функций, описывающих упругость полимера, и различных способов закрепления. Показано, что зависимость растяжения от длины полимера линейна. Приведены результаты численных расчетов. Полученные результаты позволяют улучшить анализ экспериментальных данных по растяжению полимеров. Теория дает несколько верифицируемых предсказаний, в том числе предлагаются экспериментальные методы, позволяющие повысить точность измерений.

Ключевые слова: персистентная длина, ДНК, растяжение, способ закрепления.

DOI: 10.31857/S0006302924060021, EDN: NLYXZB

Упругие свойства полимеров важны для химии и биологии. Один из наиболее прямых методов их исследования — эксперимент по растяжению закрепленной полимерной молекулы малой силой. Такие эксперименты проводятся, начиная с 1990-х годов [1], с тех пор, как появилась возможность закреплять отдельные молекулы полимеров (в первую очередь, ДНК) и прикладывать к их концам регулирующую силу. Тем не менее, точность полученных результатов до сих пор низкая [2]. Зависимость растяжения от силы давно исследовалась теоретически [1]. Если приложенная сила F мала, полимерная нить образует клубок. С увеличением силы клубок постепенно растягивается в прямую нить. При растяжении нити энтропия цепи уменьшается. Энтропия определяется разнообразием конформаций. На больших масштабах нить выглядит как траектория случайного блуждания в пространстве, тогда как на малых масштабах возможности изгиба ограничены упругостью нити.

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ МОДЕЛЬ ДНК

Поскольку все эксперименты с ДНК проводят в водно-солевом растворе, электростатическое

поле экранируется ионами. Поэтому взаимодействием удаленных в пространстве частей системы будем пренебрегать. Удаленные (вдоль нити) участки могут взаимодействовать, сближаясь в пространстве. В работе [1] показано, что этот эффект заметен только при малых силах F , и найдена верхняя граница $F_{\min} = 0.1$ пН для двухцепочечной ДНК. Будем считать, что удаленные от мест прикрепления участки нити взаимодействуют лишь с соседними такими же участками.

Полагаем также, что локальные упругие свойства нити описываются зависимостью энергии малого участка нити от деформации изгиба. Чем больше жесткость на изгиб, тем меньше разнообразие конформаций нити, и тем меньше будет сила при данном растяжении [3]. Зависимость жесткости на изгиб от направления изгиба и от последовательности ДНК не учитывается.

Относительная деформация растяжения при малых силах невелика. Например, ДНК при $F < 10$ пН обычно моделируют как нерастяжимую нить [4]. Более общая модель описана в работе [5]. Деформация кручения также невелика, если один из концов нити может свободно прокручиваться вокруг своей оси. Далее растяжение и кручение нити не учитываются.

Полимерную молекулу можно моделировать как непрерывную нить [6] или как дискретную цепочку звеньев [7, 8]. Ниже используется дис-

Сокращения: WLC — модель “worm-like-chain”, ECH — модель “energy convex hull”, SEQ — модель “subelastic chain”, FWLC — модель “finite worm-like chain”.

клетчатая модель — цепочка недеформируемых звеньев, связанных шарнирами. Упругая энергия деформации E есть некоторая функция от угла α изгиба. Шарниры считаются независимыми, а их энергии суммируются. В работе [6] изучалась модель Кратки—Порода — частный случай, когда длина l звена мала, а зависимость $E(\alpha)$ — квадратичная (модель WLC, сокращение от «Worm-like chain»):

$$E = \frac{L_p}{2 \cdot l} \alpha^2 k_B T. \quad (1)$$

В этом случае, макроскопические свойства нити не зависят от длины l единичного звена. Единственный описывающий их параметр размерности длины — персистентная длина L_p . Если конец A длинной нити зафиксировать, а конец B не фиксировать, то среднее (по ансамблю конформаций) положение конца B будет находиться на расстоянии L_p от точки A [6]. Для двухцепочечной ДНК $L_p \approx 50$ нм.

Эксперименты по циклизации коротких (100–200 нм) фрагментов ДНК показали, что сильные изгибы появляются гораздо чаще, чем предсказывает модель WLC [11]. Это означает более медленный рост энергетической функции $E(\alpha)$, чем квадратичный. Теоретическое описание таких моделей (модели ECH, сокращение от «Energy Convex Hull») есть в работе [12]. В модели ECH функция $E(\alpha)$ гладкая и состоит из двух участков: квадратичного при $\alpha < \alpha_1$ и линейного при $\alpha > \alpha_1$.

Физический смысл модели ECH виден при малых значениях длины l и температуры T . Тогда ненагруженная цепь прямая. Если приложить к ней небольшую нагрузку на изгиб, она станет дугой окружности с кривизной не более $k_1 = \alpha_1/l$. При увеличении нагрузки возникнут изломы [13]. В пределе $\alpha_1 \rightarrow 0$ получается линейная функция $E(\alpha)$ (модель SEQ — «subelastic chain», [9]). В пределе $\alpha_1 \rightarrow \infty$ получается модель WLC. В работе [12] значение $k_1 = \alpha_1/l$ было рассчитано двумя способами (ECH1 и ECH2) и получены значения $k_1 = 0.12/\text{нм}$ и $k_1 = 0.08/\text{нм}$ соответственно.

Представляемая нами ниже теория работает для произвольной непрерывной функции $E(\alpha)$. Такая модель ДНК рассматривалась теоретически в работе [9]. Мы назовем ее «модель Виггинса» в честь автора этой статьи. В частности, в работе [9] получена зависимость растяжения нити от силы F для очень длинной ДНК.

Для наглядного описания модели одним параметром и сравнения разных моделей мы будем использовать персистентную длину L_p . В общем виде она равна

$$L_p = \frac{l}{1 - \langle \cos \alpha \rangle}, \quad (2)$$

где среднее значение $\langle \cos \alpha \rangle$ вычисляется по распределению Гиббса [6].

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО РАСТЯЖЕНИЮ ДНК

Опишем схему типичного эксперимента. Чтобы растянуть нить ДНК, необходимо закрепить ее концы. Простейший вариант — крепление одного конца к плоской поверхности. Обычно для того, чтобы приложить к молекуле регулируемую силу, второй конец крепят к большому (по сравнению с $L_p \approx 50$ нм) шару, к которому уже прикладывают силу при помощи оптической ловушки [4] или магнитного поля [2].

Простейшая математическая модель такого эксперимента [1] описывает длинную нить. Всеми граничными эффектами пренебрегают, а растяжение x получается пропорциональным длине L . Но такой подход работает только при $L \gg 1$ мкм для ДНК. Поэтому в работе [4] для описания ДНК длиной в сотни нанометров построена модель FWLC («finite worm-like chain»), учитывающая способ закрепления концов нити. В отличие от WLC, это не модель нити ДНК, а математическая модель эксперимента по растяжению ДНК.

Простые способы закрепления. Поскольку в работе [4] была использована непрерывная модель нити, поддающаяся вычислениям математической модели FWLC получалась только в случае, когда ограничения наложены лишь на наклон конца нити к оси x . Мы назовем такие способы закрепления простыми. В работе [4] выделены изотропный способ закрепления, когда на конец нити не наложено никаких ограничений, полуизотропный способ закрепления, когда угол между концом нити и приложенной к нему силой F острый, и нормальный способ закрепления, когда конец нити жестко зафиксирован и сонаправлен силе F . Мы рассмотрим также касательный способ закрепления, когда конец нити зафиксирован перпендикулярно силе F . Различные виды простых способов закрепления (в модели Виггинса [9]) изображены на рис. 1а.

Еще один тип простых способов закрепления, рассмотренный в работе [4], моделирует крепление ДНК к твердому большому шару, к центру которого приложена сила. В работе [4] предполагалось, что направление конца на стыке с шаром может быть произвольным, но не пересекающим шар (полуизотропный способ закрепления). Мы рассмотрим также касательные и нормальные условия на стыке с шаром.

Тем не менее, простые способы закрепления неточно описывают даже простейший вариант крепления нити — стык с бесконечной плоскостью. Основная проблема модели FWLC в том, что участок существенной длины, близкий к кон-

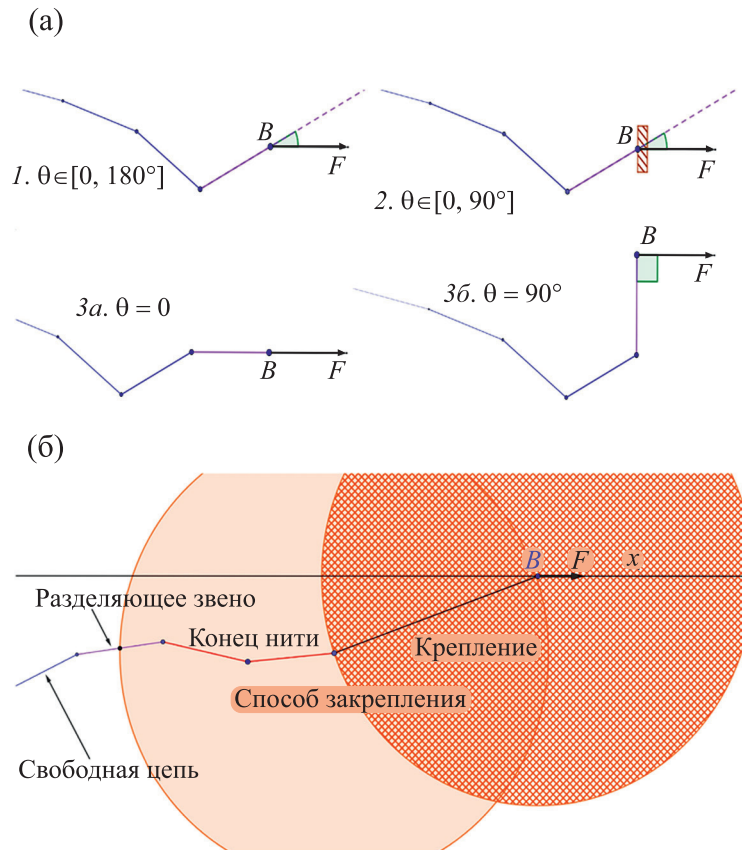


Рис. 1. Обозначения для различных способов закрепления. (а) — Простые способы закрепления содержат лишь первое или последнее звено цепи (фиолетовый цвет). Его направление задается углом θ к силе F . Рассматриваются частные случаи: изотропный способ закрепления (1), полуизотропный способ закрепления (2), нормальный способ закрепления (3а) и касательный способ закрепления (3б). Все простые способы закрепления совместимы как с дискретной [8], так и с непрерывной [4] моделью нити. (б) — Сложный способ закрепления состоит из крепления (оранжевое тело), к точке B которого приложена сила F , и конца нити (красный цвет), который взаимодействует с креплением. Способ закрепления отделен от свободной цепи разделяющим звеном.

цу нити, тоже взаимодействует с креплением. Кроме того, он может быть химически модифицирован (например, ковалентно связан с биотином [4]).

Структура способа закрепления. Чтобы получить возможности преодолеть вышеописанные проблемы, мы введем максимально широкое определение способа закрепления. Назовем креплением часть экспериментальной установки, взаимодействующую с нитью, а концом нити — концевой участок, взаимодействующий с креплением. Назовем разделяющими 2 звена, соседние с концами, а участок между разделяющими звеньями, содержащий n шарниров, назовем свободной цепью (рис. 1б). Крепление может иметь сложную структуру (например, содержать молекулы белка, химически взаимодействующие между собой и с нитью ДНК). Назовем объединение крепления и взаимодействующего с ним конца способом закрепления.

Условия на способ закрепления. Нам понадобятся следующие условия на способ закрепления:

1. Крепления не взаимодействуют между собой.
2. Свободная цепь длинная, $n \cdot l \gg L_p$.
3. Способ закрепления при каждом значении силы F из диапазона измерений имеет определенное множество конформаций, не зависящее от предыстории. Все конформации из данного множества могут приниматься за время измерений. Этот факт позволяет нам использовать распределение Гиббса.
4. Хотя бы один из двух способов закрепления предусматривает возможность вращения вокруг оси нити. Это позволяет избежать существенной нагрузки на кручение.
5. Хотя бы один из двух способов закрепления подвижен. Энергия каждой из его конформаций не меняется при параллельном переносе. Предполагается, что сила F приложена к подвижному

креплению и постоянна на масштабе его тепловых флуктуаций.

6. Хотя бы один из двух способов закрепления осесимметричен. Энергия каждой из его конформаций не меняется при повороте вокруг силы \mathbf{F} .

Класс способов закрепления, удовлетворяющих вышеописанным условиям, широк по сравнению с изученными в литературе [4] простыми способами закрепления.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В этой статье мы покажем, что при выполнении условий 1–6 на способ закрепления среднее по ансамблю конформаций растяжение x разбивается на три слагаемых:

$$x = \Delta x_1 + \Delta x_2 + L \cdot p, \quad (3)$$

где L — длина нити, Δx_1 и Δx_2 определяются способом закрепления и силой \mathbf{F} , а p — только силой \mathbf{F} . Таким образом, вклад свободной цепи описывается одной безразмерной функцией $p(\mathbf{F})$, а вклад каждого способа закрепления описывается одной функцией $\Delta x_1(\mathbf{F})$ (вклад Δx_2 описывается той же самой функцией $\Delta x_1(\mathbf{F})$, зависящей от способа закрепления на другом конце).

Идея разделения x на отдельные слагаемые согласно уравнению (3) не встречалась ранее в тематической литературе [10], что затрудняло анализ экспериментальных данных [4]. Функция $p(\mathbf{F})$ изучалась еще в первых статьях по растяжению ДНК [1], поскольку она описывает относительное растяжение длинной нити. Кроме того, $p(\mathbf{F})$ изучалась и в общем случае модели Виггинса. Разработаны алгоритмы вычисления $p(\mathbf{F})$ и приведены расчеты для одной из энергетических функций, отличных от WLC (модель SEQ) [9].

Тем не менее, с момента выхода работы [9] появились новые экспериментальные данные и теоретические модели. Поэтому, после теоретического расчета p , в статье построены графики для различных энергетических функций. Они сравниваются с экспериментальными данными [4].

Анализ функции $\Delta x_1(\mathbf{F})$ сложнее. Эта функция ранее в литературе не использовалась. Физический смысл $\Delta x_1(\mathbf{F})$ — разность проекций конца и участка свободной цепи такой же длины на ось x . Поскольку эта разность не зависит ни от L , ни от выбора разделяющего звена, именно $\Delta x_1(\mathbf{F})$ представляет из себя естественный метод описания сложных и разнообразных способов закрепления, встречающихся в экспериментах. Но в данной статье мы ограничимся вычислением $\Delta x_1(\mathbf{F})$ для простых способов закрепления.

Вывод формулы для $x(\mathbf{F})$. Основная цель данной работы — вычисление $x(\mathbf{F})$ в виде уравнения (3). Попутно мы получим численные алго-

ритмы вычисления $\Delta x_1(\mathbf{F})$ и $p(\mathbf{F})$. Чтобы не упустить применение приближений, мы выведем все используемые формулы, даже если они известны.

В каждый момент времени система находится в определенной конформации \mathbf{C} из множества \mathcal{S} всевозможных доступных конформаций. Положение системы случайно, вероятности описываются распределением Гиббса и пропорциональны $\exp(W_{\mathbf{C}}/k_{\text{B}}T)$, где k_{B} — постоянная Больцмана, T — температура, а W — энергия конформации \mathbf{C} .

В модели, где к каким-то двум точкам \mathbf{A} и \mathbf{B} системы приложены постоянные внешние силы \mathbf{F} и $-\mathbf{F}$, энергия складывается из двух частей: слагаемого $W_{\mathbf{C}0}$, не связанного с силой \mathbf{F} , и потенциальной энергии, зависящей от \mathbf{AB} и \mathbf{F} , в поле силы \mathbf{F} . Для удобства направим ось x вдоль силы \mathbf{F} и обозначим $x_{\mathbf{C}}$ проекцию \mathbf{AB} на ось x в конформации \mathbf{C} . Тогда энергия вычисляется как

$$W_{\mathbf{C}} = W_{\mathbf{C}0} - Fx_{\mathbf{C}}. \quad (4)$$

В эксперименте измеряется среднее значение $x_{\mathbf{C}}$ по всем конформациям. Оно вычисляется как $x = X/Z$, где

$$Z = \int \exp\left(-\frac{W_{\mathbf{C}}}{k_{\text{B}}T}\right), \quad (5)$$

$$X = \int x_{\mathbf{C}} \exp\left(-\frac{W_{\mathbf{C}}}{k_{\text{B}}T}\right), \quad (6)$$

а интегралы берутся по всему множеству конформаций \mathcal{S} . Из формул (4), (5) и (6) несложно выразить X через производную от Z :

$$X = k_{\text{B}}T \frac{dZ}{dF}. \quad (7)$$

Таким образом, x вычисляется как

$$x = k_{\text{B}}T \frac{d(\ln Z)}{dF}. \quad (8)$$

Формула (8) хорошо известна в литературе [4]. Единственное приближение, используемое при ее выводе — независимость силы \mathbf{F} от конформации \mathbf{C} . Но при вычислении статистической суммы $Z(\mathbf{F})$ нам потребуется еще несколько приближений.

Статистическая сумма является кратным интегралом по множеству \mathcal{S} всех доступных конформаций системы. Важно понимать разницу между \mathcal{S} и пространством всевозможных конформаций \mathcal{S}_0 .

Если крепления на обоих концах велики по сравнению с $k_{\text{B}}T/F$ (что верно для большинства экспериментов), то пространство \mathcal{S} ограничено топологией нити. Так, прямая нить и нить с узлом не могут быть переведены друг в друга и, следовательно, не могут входить в одну и ту же статистическую сумму. Точный учет топологии сложен, и

в литературе вместо S используют пространство S_0 всевозможных конформаций. Это приближение работает при больших (>0.1 пН для двуцепочечной ДНК) силах, когда вероятность случайного сближения удаленных участков нити мала [1], и только для случая нити без узлов.

Еще одно ограничение на пространство S связано с вращением нити вокруг своей оси. Чтобы обойти это ограничение, нить обычно (см. работу [4]) одним концом крепят к шару, позволяя шару свободно вращаться вокруг прикрепленного к нему конца (условие 4 на способ закрепления). Далее мы считаем, что пространство S совпадает с S_0 .

Конформация всей системы определяется конформацией способов закрепления $C3_A$ и $C3_B$

и направлениями $n-1$ звена свободной цепи, а также двух разделяющих звеньев. Взаимодействием удаленных друг от друга участков цепи пренебрегаем. Энергию W_{c0} цепи равна

$$W_{c0} = W_{b1} + W_{b2} + \sum_{i=1}^n W_i, \quad (9)$$

где W_{b1} и W_{b2} — энергия способов закрепления $C3_A$ и $C3_B$, а W_i — энергия i -го шарнира свободной цепи.

Пусть

$$u(\alpha) = e^{-E(\alpha)/k_B T}. \quad (10)$$

Тогда статистическая сумма Z — это интеграл от

$$Y = \exp\left(-\frac{W_c}{k_B T}\right) = \exp\left(-\frac{W_{b1}}{k_B T}\right) \exp\left(-\frac{W_{b2}}{k_B T}\right) \exp\left(\frac{F \cdot x_c}{k_B T}\right) \cdot \prod_{i=1}^n u_i(\alpha_i) \quad (11)$$

по всевозможным конформациям C . Кратный интеграл от (11) берется по всем направлениям каждого из n звеньев свободной цепи и по всевозможным конформациям $C3_A$ и $C3_B$.

Вычисление $x(F)$. Сократим количество параметров, описывающих способ закрепления. Зафиксируем одно из разделяющих звеньев $C_A D_A$, чтобы разбить формулу (11) на произведение двух независимых множителей и интегрировать эти множители по отдельности. Для более аккуратного разбиения экспоненты $\exp\left(\frac{F \cdot x_c}{k_B T}\right)$, отнесем к

$C3_A$, кроме m_A первых звеньев, половину $C_A M_A$ разделяющего звена $C_A D_A$. Кратный интеграл по всевозможным конформациям $C3_A$

$$Z_A(C_A, D_A) = \int \exp\left(-\frac{W_{b1}}{k_B T}\right) \exp\left(\frac{(F, A M_A)}{k_B T}\right) dp \quad (12)$$

берется по всевозможным параметрам p , описывающим $C3_A$. Аналогично зафиксируем второе разделяющее звено $C_B D_B$ и возьмем кратный интеграл по конформациям $C3_B$.

Теперь статистическая сумма Z является $(2n+5)$ -кратным интегралом от

$$Y_1 = Z_A(C_A, D_A) \cdot Z_B(C_B, D_B) \cdot \exp\left(\frac{(F, M_A M_B)}{k_B T}\right) \cdot \prod_{i=1}^n u_i(\alpha_i). \quad (13)$$

Параметры, по которым интегрируется формула (13) — направления $n-1$ звена свободной цепи и 2 разделяющих звеньев, а также координата начала C_A одного из разделяющих звеньев.

Упростим множитель $Z_A(C_A, D_A)$, описывающий статистическую сумму по $C3_A$, используя условие подвижности одного из способов закрепления, не умаляя общности, $C3_B$. Это условие означает, что статистическая сумма $Z_B(C_B, D_B)$ по

$C3_B$ зависит лишь от вектора $D_B C_B$. Таким образом, множитель $Z_A(C_A, D_A)$ — единственный зависящий от координат точки C_A в формуле (13). Проинтегрируем $Z_A(C_A, D_A)$, по всевозможным положениям C_A , вынеся все остальное за знак интеграла. Статистическая сумма по каждому из двух способов закрепления становится функцией от вектора соответствующего разделяющего звена, а статистическая сумма Z становится $(2n+2)$ -кратным интегралом от

$$Y_2 = Z_A(C_A D_A) \cdot Z_B(D_B C_B) \cdot \exp\left(\frac{(F, M_A M_B)}{k_B T}\right) \cdot \prod_{i=1}^n u_i(\alpha_i). \quad (14)$$

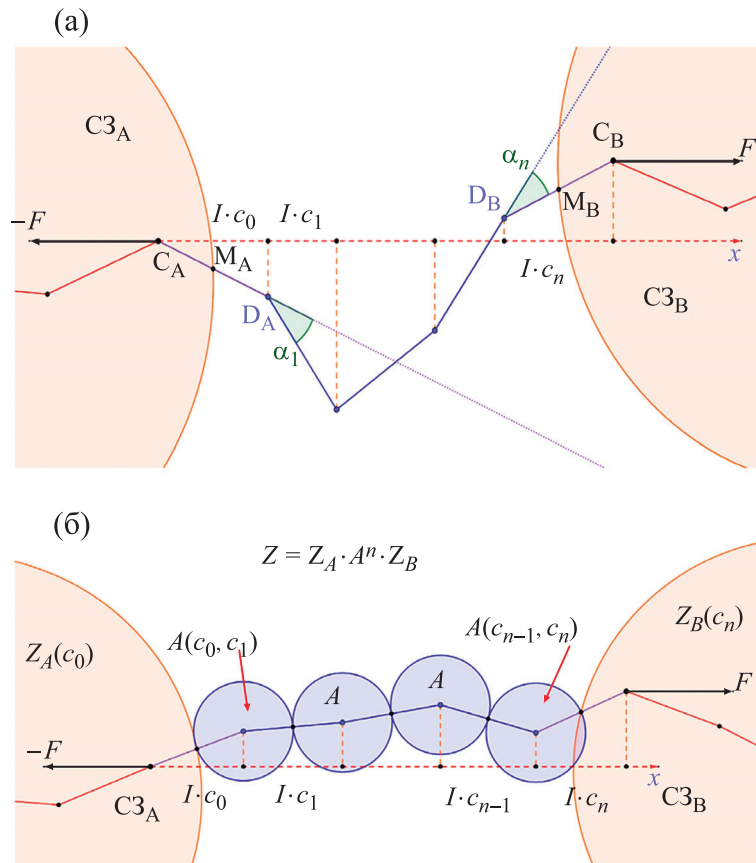


Рис. 2. Вычисление статистической суммы. (а) – Цепь состоит из концов, входящих в $C3_A$ и $C3_B$ (красный цвет), и свободной цепи $M_A M_B$ (синий цвет). Разделяющие звенья $C_A D_A$, $C_B D_B$ (фиолетовый цвет) взаимодействуют и с концами, и со свободной цепью. Зададим свободную цепь как проекции $I \cdot c_0, \dots, I \cdot c_n$ звеньев на ось x и углы $\varphi_1, \dots, \varphi_n$ между проекциями соседних звеньев на плоскость yz . Потенциальная энергия свободной цепи определяется суммой проекций $I \cdot c_i$ звеньев на ось x . Упругая энергия свободной цепи определяется углами $\alpha_i (c_{i-1}, c_i, \varphi_i)$ в шарнирах. (б) – Упрощенная модель цепи: концы, входящие в $C3_A$ и $C3_B$, а также n одинаковых фрагментов, образующих свободную цепь. Статистические суммы по $C3_A$ и $C3_B$ – функции $Z_A(c_0)$ и $Z_B(c_n)$ одной переменной, статистическая сумма по каждому из фрагментов – симметричная функция двух переменных $A(c_{i-1}, c_i)$. Статистическая сумма по всей системе – $(n+1)$ -кратный интеграл от произведения статистических сумм по ее частям (формула (22)). Дискретизация позволяет рассматривать этот интеграл как матричное произведение (формула (24)).

Интеграл от (14) берется по направлениям $n-1$ звена свободной цепи и 2 разделяющих звеньев.

Чтобы еще упростить формулу (14), воспользуемся осевой симметрией одного из способов закрепления, не умаляя общности, $C3_B$. Для этого зададим направления всех $n+1$ звеньев с помощью цилиндрических координат. Пусть c_i – косинус угла между (ориентированным) i -м звеном свободной цепи и осью x , а c_0, c_n – косинусы углов между (ориентированными) разделяющими звеньями и осью x (рис. 2а). Тогда проекцию свободной цепи на ось x считаем как

$$(e_x, M_A M_B) = \frac{l}{2} \sum_{i=1}^n (c_{i-1} + c_i) \quad (15)$$

Второй параметр, описывающий φ -направление i -го звена свободной цепи, – (ориентированный) угол φ_i между проекциями i -го и $(i-1)$ -го звеньев на плоскость yz . Последнее разделяющее звено аналогично описывается углом φ_n , а первое разделяющее звено описывается углом φ между его проекцией на ось x и осью y . Из осевой симметрии $C3_B$, статистическая сумма Z_B по $C3_B$ зависит только от c_n . Таким образом, статистическая сумма Z_A по $C3_A$ является единственным множителем в формуле (14), зависящим от φ . Поэтому можно проинтегрировать $Z_A(C_A, D_A)$ по φ , сведя выражение (14) к $(2n+1)$ -кратному интегралу от выражения

$$Y_3 = Z_A(c_0) \cdot Z_B(c_n) \cdot \exp \frac{(F, M_A M_B)}{k_B T} \cdot \prod_{i=1}^n u_i(\alpha_i). \quad (16)$$

Формулу (16) нужно проинтегрировать по всем $c_i \in [-1, 1]$, $i \in \{0, \dots, n\}$ и по всем $\varphi_i \in (-\pi, \pi]$, $i \in \{1, \dots, n\}$.

Заметим, что каждый из углов φ_i влияет на единственный множитель $u_i(\alpha_i)$ в формуле (16), причем

$$\cos \alpha_i = c_{i-1} c_i + (1 - c_{i-1}^2)^{\frac{1}{2}} (1 - c_i^2)^{\frac{1}{2}} \cos \varphi_i. \quad (17)$$

Это позволяет вычислить интегралы по каждому из углов φ_i как

$$f(c_{i-1}, c_i) = \int_{-\pi}^{\pi} u_i(\alpha_i(c_{i-1}, c_i, \varphi_i)) d\varphi_i. \quad (18)$$

Поскольку все звенья свободной цепи одинаковы, получим одну и ту же симметричную поло-

жительную функцию f от двух переменных. Интеграл (18) не берется аналитически даже для квадратичной энергетической функции (1), но мы будем численно вычислять f по функции E из модели Виггинса.

Итак, статистическая сумма Z — это $(n+1)$ -кратный интеграл от

$$Y_4 = Z_A(c_0) * Z_B(c_n) * \exp \frac{(F, M_A M_B)}{k_B T} * \prod_{i=1}^n f(c_{i-1}, c_i). \quad (19)$$

Параметры интегрирования в выражении (19) — все $c_i \in [-1, 1]$, $i \in \{0, \dots, n\}$.

Подставляем выражение (15) в (19) и получаем

$$Y_4 = Z_A(c_0) \cdot Z_B(c_n) \cdot \prod_{i=1}^n f(c_{i-1}, c_i) \cdot \exp \frac{F \cdot l \cdot (c_{i-1} + c_i)}{2k_B T}. \quad (20)$$

Делаем замену

$$A(c_{i-1}, c_i) = f(c_{i-1}, c_i) \cdot \exp \frac{F \cdot l \cdot (c_{i-1} + c_i)}{2k_B T}. \quad (21)$$

Получаем выражение:

$$Y_4 = Z_A(c_0) \cdot Z_B(c_n) \cdot \prod_{i=1}^n A(c_{i-1}, c_i). \quad (22)$$

Физический смысл формулы (21) для функции A — статистическая сумма по фрагменту, состоящему из шарнира номер i и двух соединенных с ним половинок ребер. Таким образом, свободная цепь разбивается на n одинаковых фрагментов (рис. 26). Картинка не только наглядно показывает смысл формулы (22), но и дает представление о том, как учитывать зависимость жесткости ДНК от последовательности и другие неоднородности (например, одноцепочечные разрывы). Построить модель, состоящую из разных (в том числе, по размеру) фрагментов несложно, но ее численные расчеты выходят за рамки данной статьи.

Интегралы типа (22) изучались в литературе, в том числе, по растяжению ДНК [5]. Для их вычисления, используют дискретизацию параметров c_i , переводя задачу вычисления статистической суммы Z на язык линейной алгебры.

Множество значений каждого из параметров c_i — отрезок $[-1, 1]$. Разобьем его на k равных частей. Считаем, что переменные c_i пробегает множество C , состоящее из k значений, соответствующих серединам этих отрезков

$$C = \left\{ -1 + \frac{1}{k}, -1 + \frac{3}{k}, \dots, 1 - \frac{1}{k} \right\}. \quad (23)$$

Функции Z_A и Z_B , определенные на отрезке $[-1, 1]$, описываются k -мерными векторами. Аналогично, функция A , определенная на квадрате $[-1, 1] \times [-1, 1]$, описывается как матрица $k \times k$. Интеграл от непрерывной функции $g(c)$ по отрезку $[-1, 1]$ вычисляется приближенно как сумма координат вектора g , а множитель $2/k$, равный шагу интегрирования, выносится за скобку.

Такая формула численного интегрирования известна как средняя сумма Римана.

Кратный интеграл (22) можно рассматривать [5] как матричное произведение:

$$Z = \frac{2^{n+1}}{k^{n+1}} \cdot Z_A \cdot A^n \cdot Z_B. \quad (24)$$

Следующий шаг – применение приближенной формулы для степени симметричной матрицы A из неотрицательных элементов. Пусть $\lambda_1 > 0$ – наибольшее собственное число, а v^- – соответствующий ему единичный собственный вектор. Тогда

$$A^n = \lambda_1^n v^- \cdot v^-, \quad (25)$$

где произведение векторов дает матрицу.

Погрешность формулы (25) пропорциональна $(\lambda_2/\lambda_1)^n$, где λ_2 – второе по абсолютной величине собственное число. Далее мы получим численные оценки на n при заданных силе F и энергетической функции. Но общий вывод в том, что погрешность падает экспоненциально с ростом n .

Подставляя формулу (25) в (24), получаем итоговое выражение для статистической суммы

$$Z = \frac{2^{n+1}}{k^{n+1}} \cdot \lambda_1^n (Z_A, \bar{v}) \cdot (Z_B, \bar{v}). \quad (26)$$

Чтобы найти x , подставим формулу (26) для Z в формулу (8).

$$x = k_B T \frac{d(\ln Z)}{dF} = k_B T \frac{d}{dF} (n \ln \lambda_1 + \ln(Z_A, \bar{v}) + \ln(Z_B, \bar{v})). \quad (27)$$

Приведем формулу (27) к виду (3). Мы доказали линейность $x(L)$, откуда видно выражение для p :

$$p = \frac{k_B T d(\ln \lambda_1)}{l dF}. \quad (28)$$

Разность равна

$$x - L \cdot p = k_B T \frac{d}{dF} (\ln(Z_A, \bar{v}) + \ln(Z_B, \bar{v}) - (m_A + m_B + 1) \ln \lambda_1). \quad (29)$$

Она разбивается на 2 слагаемых одного вида:

$$\Delta x_1 = k_B T \frac{d}{dF} (\ln(Z_A, \bar{v}) - (m_A + \frac{1}{2}) \ln \lambda_1), \quad (30)$$

$$\Delta x_2 = k_B T \frac{d}{dF} (\ln(Z_B, \bar{v}) - (m_B + \frac{1}{2}) \ln \lambda_1). \quad (31)$$

Физический смысл первого слагаемого в формуле (30) – проекция отрезка AM_A , соединяющего конец $CЗ_A$ с точкой A приложения силы, на ось x . Физический смысл второго слагаемого – проекция участка свободной цепи такой же длины как конец цепи, входящий в $CЗ_A$, на ось x . Поэтому Δx_1 окажется независимым от большого m_A .

Формула (26) позволяет численно вычислить p во всех случаях, а Δx_1 – для простых способов закрепления и в других случаях, когда вычислена функция $Z_A(c_0)$. Для этого, написана программа на языке python. Приведенный выше алгоритм и написанная на его основе программа были тщательно проверены на арифметические ошибки и погрешности численных вычислений.

ЧИСЛЕННЫЕ РАСЧЕТЫ

Ниже мы оценим минимальный размер свободной цепи L_{\min} , начиная с которого примени-

ма формула (3), а также вычислим $p(F)$ для различных энергетических функций и $\Delta x_1(F)$ для различных простых способов закрепления.

Нижняя граница применимости теории. Размер L_{\min} определяется погрешностью, связанной с применением формулы (25) для степени симметричной матрицы. Поскольку эта погрешность падает экспоненциально с ростом L , а показатель экспоненты не зависит от способа закрепления, полученная нами оценка применима для всех сложных способов закрепления. Для численной оценки L_{\min} , посчитаем $x(F)$ как с использованием формулы (25), так и без использования этой формулы. Разность Δx этих результатов построим на рис. 3. При $L > 300$ нм эта разность ничтожно мала. Тем не менее, в работе [4] описаны эксперименты со 172-нм ДНК, а в работе [2] – с 67-нм ДНК. Погрешность этих экспериментов колоссальна, но в будущих более точных экспериментах условие $L > L_{\min}$ может оказаться важным.

Вычисление $p(F)$ и сравнение с экспериментом. Чтобы исследовать влияние энергетической функции $E(\alpha)$ на вклад $p(F)$ свободной цепи, построим графики (рис. 4). Мы рассмотрим квадратичную зависимость энергии от угла (1) (модель WLC [6]), линейную зависимость из статьи [9] (модель SEQ) и энергетические функции из работы [12] (ЕСН1, ЕСН2). Для моделей ЕСН выберем

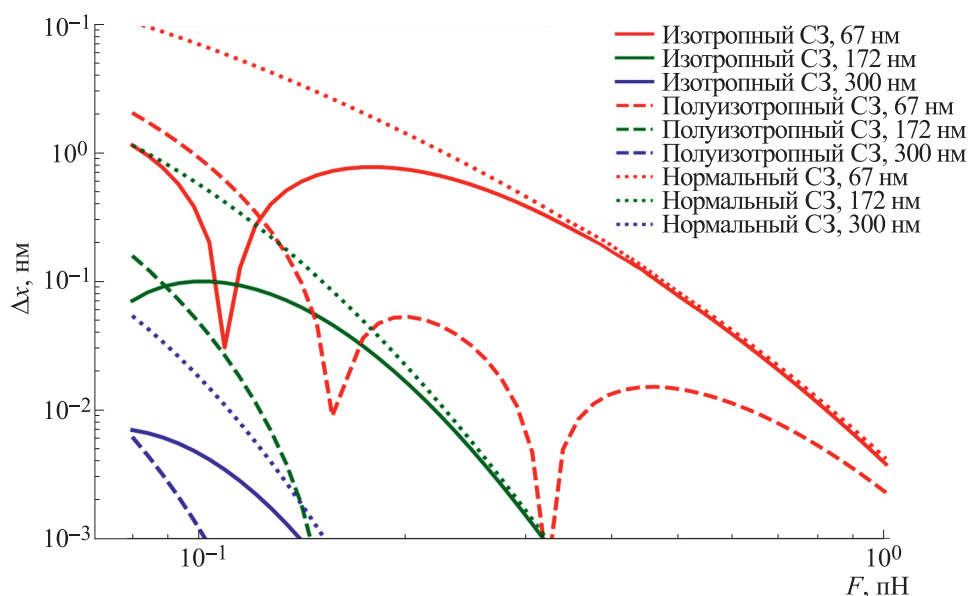


Рис. 3. Нелинейность зависимости растяжения x от длины L молекулы ДНК при малых L . По оси у отложена разница $\Delta x = |x - L \cdot p - 2 \cdot \Delta x_1|$ между точным значением x и приближенным значением, вычисленным по формуле (3) как сумма длины $L \cdot p$ в приближении длинной нити и двух слагаемых Δx_1 , отвечающих за одинаковые способы закрепления (СЗ) на концах. Длины 67 и 172 нм — значения, для которых есть экспериментальные данные [2, 4]. Рассматриваются изотропный, полуизотропный и нормальный способы закрепления. При $L = 300$ нм разница Δx ничтожно мала, но при низкой требуемой точности или больших силах формула (3) применима и при $L < 300$ нм.

длину единичного звена $l = 3$ нм порядка периода двойной спирали. Чтобы результаты были нагляднее, вычтем из всех графиков функцию $p(F)$ для $L_p = 50$ нм из работы [3].

Обратим внимание на пересечение графиков для моделей ECH, SEQ с графиками для модели WLC с разной персистентной длиной. Оно означает, что при больших силах ДНК должна растягиваться сильнее, чем в модели WLC с той же персистентной длиной, а при малых силах — слабее. Причина в том, что в модели ECH за гибкость отвечают сильные изгибы. При больших силах нить близка к прямой, сильных изгибов мало, и нить менее гибкая.

Тот же (по знаку и порядку) эффект дает и учет деформации растяжения [5], для различения этих двух поправок потребуется как теория [5], так и точные экспериментальные данные.

Точность данных, полученных в работе [4], позволяет выявить систематическое отклонение функции $x(F)$ от теоретических предсказаний, основанных на модели WLC. К сожалению, описание этого эффекта дано крайне неудачно [4]. Все графики $x(F)/L$ (даже при малых длинах ДНК) подгоняли под функцию $p(F)$ для модели WLC. В качестве параметров, регулируемых для максимального совпадения, брали персистентную длину, длину L ДНК и x -координату начала ДНК (точно не известную). Естественно, вычисленная таким образом «персистентная длина» зависела

от длины L , что связано с вкладом Δx_1 способа закрепления.

Но, кроме того, была обнаружена убывающая зависимость «персистентной длины» L_p от максимальной силы в эксперименте (L_p составляла 48 нм для диапазона сил 0.5–8 пН и 52 нм для диапазона сил 0.5–6 пН для 2500-нм ДНК). Тот же результат был виден как при малых, так и при больших L . Это означает отклонение зависимости $x(F)$ от теоретических предсказаний модели WLC. К сожалению, в работе [4] отсутствуют как исходные результаты, так и графики $x(F)$, построенные в масштабе, годном для сравнения. Поэтому, нам придется оценивать эффект лишь по порядку и по знаку.

По величине эффект вполне согласуется с рис. 4. Но знак «изменения L_p » противоположный! Наиболее простое объяснение выявленному противоречию таково. В работе [4] из аппроксимации моделью WLC вычислялась не только персистентная длина L_p , но и длина ДНК L . В статье не приведена «зависимость L от максимальной силы», лишь сказано, что она мала. Тем не менее, как видно из графиков, «изменение L » даже на 1% достаточно для компенсации «изменения персистентной длины».

Мы не будем изучать эту аппроксимацию детально, поскольку она не имеет физического смысла. Вместо этого нужно нарисовать экспери-

ментальный график $p(F)$, как только он будет доступен.

Вычисление вклада простых способов закрепления. Мы вычислим вклад $\Delta x_1(F)$ для изотропного, полуизотропного, нормального и касательного способов закрепления, немного обобщив результаты работы [4], и построим графики (рис. 5а). Оценим влияние энергетической функции на Δx_1 . Чтобы показать, что эффект мал, сравним графики для двух наиболее различающихся моделей — WLC и SEQ. Незначительные (порядка 1 нм) различия заметны только для касательных способов закрепления. Значит, можно использовать графики для модели WLC, даже не зная энергетическую функцию. Итак, сведений на рис. 5а достаточно для полного описания рассмотренных типов простых способов закрепления.

Чтобы получить результаты для простого способа закрепления «Большой шар», зафиксируем конец нити и проинтегрируем энергию шара по всевозможным его положениям. Поскольку закрепление «Большой шар» подвижно и осесимметрично, мы сразу получим функцию $Z_A(c_0)$ и посчитаем Δx_1 по формуле (30). Следуя работе [4], вычтем из Δx_1 радиус шара (рис. 5б).

На рис. 5 бросается в глаза сходство между графиками Δx_1 для шаров разного размера. Этому есть элементарное объяснение. Разобьем Δx_1 на вклад Δx_n конца нити и вклад $\Delta x_{ш}$ самого шара. Поскольку колебания шара вблизи положения равновесия малы, Δx_n оценивается как вклад простого способа закрепления на стыке «нить—шар». Чтобы оценить вклад $\Delta x_{ш}$ шара, пренебрежем влиянием нити на колебания шара. У шара есть 2 колебательных степени свободы, средняя энергия каждой из которых составляет $k_B T/2$. Тогда суммарная энергия $k_B T = -F \Delta x_{ш}$, а $\Delta x_{ш} = -k_B T/F$ не зависит от размеров шара.

Для проверки описанной теории мы посчитали разность $\Delta x(F) = \Delta x_1 - \Delta x_{ш} - \Delta x_n$. Для шара радиусом 1400 нм $\Delta x < 0.5$ нм для всего диапазона рассматриваемых сил, всех типов способов закрепления и моделей ДНК. Для шара радиусом 250 нм разность $\Delta x(F)$ построена на графике 5в. Она тоже мала по сравнению со случайной погрешностью экспериментов [4].

Анализ способа закрепления «Большой шар» — пример эффективности подхода с разбиением x на отдельные слагаемые. Так, в работе [4] основные выводы об эффективности теории способов закрепления, связанные с уменьшением «персистентной длины» при малых x , были качественными, а ключевую роль в эффекте играл способ закрепления «Большой шар». Из нашей же теории ясно, что постоянный и не связанный

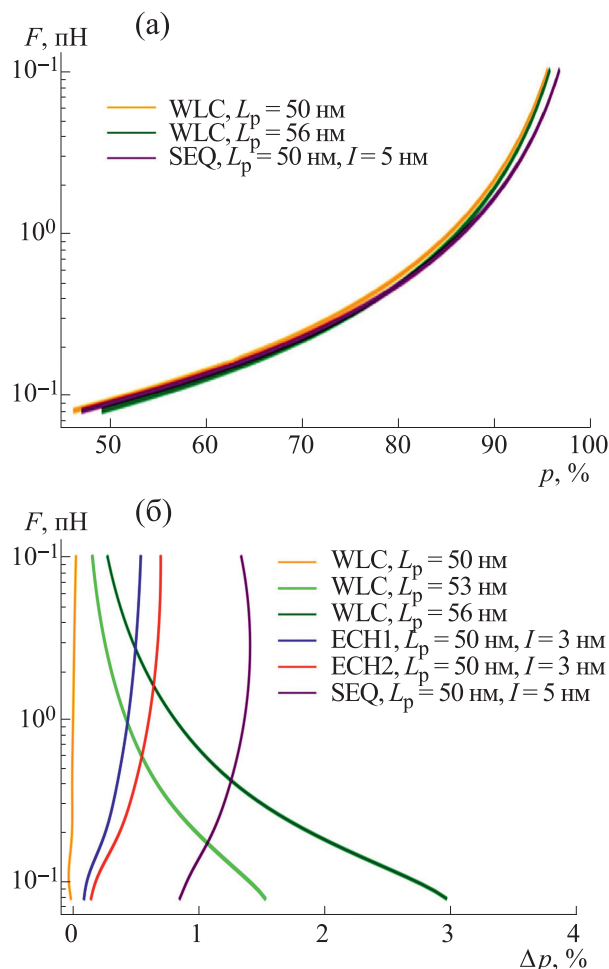


Рис. 4. Различия в значениях растяжения x , вычисленного при помощи различных моделей ДНК. (а) — Зависимость $p(F)$. Угловой коэффициент p функции $x(L)$ принимает значения от 0 до 1 и может измеряться в процентах. Графики $p(F)$ для различных энергетических функций визуально похожи, а график близок к известным [1, 9]. (б) — Разница $dp(F)$ в функции $p(F)$ между разными моделями ДНК (WLC с различной персистентной длиной, ECH1, ECH2, SEQ) и моделью WLC ($L_p = 50$ нм, $l \ll L_p$) [1]. В модели ECH и ее предельном случае SEQ при больших силах растяжения больше, чем в WLC, а при малых силах — меньше. Это, на первый взгляд, противоречит экспериментальным данным [4].

с ДНК вклад $\Delta x_{ш}$ шара надо исключить из x еще до построения графиков.

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ПОГРЕШНОСТЕЙ И ОГРАНИЧЕНИЙ

Разберем основные приближения, сделанные в работе, и связанные с ними погрешности, а также предложим методы их уменьшения.

Один из важнейших источников случайной погрешности, не описанный в литературе по растяжению ДНК, связан с топоизомерией нити.

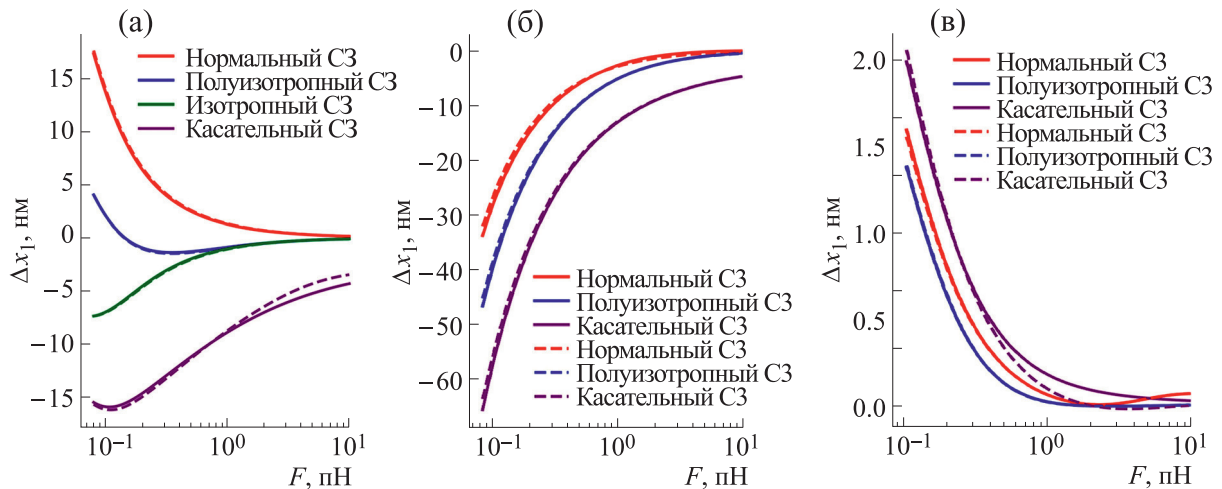


Рис. 5. Вклад Δx_1 в общее растяжение при различных способах закрепления (СЗ). (а) — Зависимость вклада Δx_1 различных простых способов закрепления от силы F для двуцепочечной ДНК. Сплошная линия — модель WLC, пунктирная — модель SEQ с той же персистентной длиной $L_p = 50$ нм. Эти результаты позволяют вычислить зависимость $x(F)$ для ДНК любой длины $L > L_{\min} = 300$ нм, с любой комбинацией описанных способов закрепления на концах. (б) — Зависимость вклада Δx_1 простого способа закрепления «Большой шар» от силы F для двуцепочечной ДНК. Во всех случаях мы вычитаем из Δx_1 радиус R шара. Сплошная линия — шар радиуса 1400 нм, используемый в эксперименте [2], пунктирная — шар радиуса 250 нм, используемый в эксперименте [4]. Видно, что Δx_1 во всех случаях слабо зависит от R . (в) — Разница $\Delta x = \Delta x_1 - \Delta x_1' - \Delta x_{ш}$ между точным значением вклада Δx_1 способа закрепления «Большой шар» и приближенным значением, вычисленным как сумма вклада $\Delta x_1'$ простого способа закрепления на стыке «нить—шар» и вклада $\Delta x_{ш} = -k_B T/F$ самого шара. Радиус шара $R = 250$ нм. Сплошные графики построены для модели WLC, пунктирные — для модели SEQ. Разница Δx невелика по сравнению с погрешностью экспериментов [2, 4], что позволяет использовать упрощенную модель способа закрепления «Большой шар» для всех типов способов закрепления на стыке «нить—шар» и всевозможных версий модели Виггинса.

Ключевую роль в данном эффекте играет размер подвижного крепления. Для образования/исчезновения узла нужно, чтобы крепление радиуса R прошло через образованную нитью петлю длиной не менее $2\pi R$. Возникновение такой петли приводит к увеличению потенциальной энергии на $2\pi R F = 40 k_B T$ при минимальных изучавшихся $R = 250$ нм, $F = 0.1$ пН [4].

Поэтому во всем диапазоне используемых сил потенциальный барьер высокий, и топоизомерию важно учитывать. Особенно интересно поведение заузленных топоизомеров ДНК, но его теоретическое описание требует серьезной работы. Узлы неизбежно возникают при подготовке эксперимента с длинными ($L = 30$ мкм $= 600 L_p$ в экспериментах, описанных в работе [1]) молекулами ДНК.

Тем не менее, при силах $F < 0.1$ пН и длине нити $L > 2\pi R$ возникает ситуация, когда переходы между топоизомерами происходят, но редко, и их можно отследить в реальном времени. Поскольку не слишком редки переходы, когда увеличение потенциальной энергии составляет порядка $k_B T$, масштаб эффекта $k_B T/F$ такой же, как и у вклада большого шара. Значит, скачкообразные изменения x при постоянной силе $F < 0.1$ пН должны быть заметны на стандартной эксперименталь-

ной установке [4] с оптической ловушкой при правильном подборе R , F и L . Так как множество простых узлов дискретно, должны быть видны переходы между дискретным набором значений x . Поскольку эксперимент позволит измерить как характерное время переходов, так и вероятности нахождения в каждом из состояний, полезна будет и теория, описывающая эти величины. Итак, топоизомерия должна быть превращена из источника случайной погрешности в область экспериментальных и теоретических исследований.

Далее, используемая нами модель Виггинса включает приближения, описанные в разделе «Используемая модель ДНК» и в тематической литературе [1]. Зависимость упругих свойств от последовательности ДНК, растяжение и кручение нити ведут к небольшому изменению x . Учет этих поправок требует теории, обобщающей формулу (3) на другие модели ДНК. Он будет особенно актуален, если удастся повысить точность экспериментов [4].

Далее, условия 1–6, наложенные нами на способ закрепления, достаточно слабые. Тем не менее, они часто не выполняются в экспериментах. В первую очередь, может нарушаться подвижность способа закрепления (условия 5 или 1). Во всех теоретических статьях по теме растяжения

ДНК, включая эту, предполагается, что отклонение подвижного способа закрепления от среднего положения, рассчитанного теоретически, ограничено лишь большой энергией или низкой энтропией полученных конформаций. Среднеквадратичное отклонение рассчитано в работе [10].

Тем не менее, в экспериментах [1, 2, 4] часто используют нить, идущую практически параллельно твердой поверхности. В этом случае тепловые флуктуации «подвижного» способа закрепления ограничены этой поверхностью. Кроме того, малый размер оптической ловушки или непостоянный градиент магнитного поля приводят к зависимости силы F от положения «подвижного» способа закрепления. Описанные эффекты приводят к систематической погрешности значения x , полученного по формулам (3) и (8), и могут изучаться теоретически. Но необходимая теория должна зависеть от типа экспериментальной установки.

Вторая проблема связана с использованием двух асимметричных способов закрепления (нарушение условия 6). Она актуальна в экспериментах, где сила создается градиентом магнитного поля [2], поскольку подвижный способ закрепления асимметричен.

Условие на размер свободной цепи $L > L_{\min} = 300$ нм выполняется почти для всех экспериментов [1, 2, 4]. Численная проверка условия 2 универсальна и легко применима. Остальные условия на способ закрепления выполнены практически всегда.

Наиболее очевидное приближение, используемое в математической модели эксперимента по растяжению ДНК, связано с тем, что сложные экспериментальные способы закрепления (содержащие, например, крепление молекулы ДНК к поверхности с помощью пары «стрептавидин–биотин») заменяют на простые модели (например, на полуизотропный способ закрепления). Для улучшения этого приближения, нужен теоретический анализ сложных способов закрепления (например, крепления нити к большому шару и к бесконечной наклонной плоскости, как в работе [4]).

Однако на этом пути имеется качественное препятствие. Использование какой-либо модели предполагает, что все способы закрепления, полученные одинаковыми экспериментальными методами, дают одинаковый вклад Δx_1 . Таким образом, погрешность, связанная со способом закрепления, должна быть систематической. Тем не менее, в экспериментах в работах [2] и [4] видна большая случайная погрешность, значительная часть которой может быть связана с способом закрепления. Это означает, что, несмотря на одинаковый подход к креплению нити, способы закрепления получились разными.

Возможны два принципиально разных подхода к борьбе со случайной погрешностью способа закрепления. Первый подход основан на том, что направление конца ДНК в экспериментах, описанных в работе [4], могло быть случайным образом зафиксировано в креплении. Это давало разброс способов закрепления — от касательных до нормальных (рис. 5а). Но можно сделать концевой участок ДНК одноцепочечным. Поскольку жесткость одноцепочечной ДНК мала, получится более-менее воспроизводимый осесимметричный способ закрепления, близкий к полуизотропному.

Второй подход основан на том, что способы закрепления, имеющиеся для одной конкретной молекулы ДНК, не меняются в ходе экспериментов. Поэтому предлагается провести серию экспериментов с одной и той же ДНК, не трогая способы закрепления. В частности, серия может содержать:

- А) Создание одноцепочечных разрывов в ДНК сайт-специфической рестриктазой;
- Б) Гибридизация ДНК с помещенными в раствор одноцепочечными фрагментами;
- В) Превращение одноцепочечных участков в двухцепочечные с помощью полимеразы;
- Г) Устранение одноцепочечных разрывов с помощью лигазы.

На каждом этапе можно контролировать ход экспериментов по изменению функции $x(F)$. Если, например, удастся вставить в двухцепочечную ДНК длинный периодический фрагмент, используя пункты А–Г, возможно измерить $p(F)$ для этого фрагмента, сведя случайную погрешность способа закрепления к нулю.

Тем не менее, второй подход полезен лишь при условии, когда способы закрепления вносят основной вклад в случайную погрешность измерений. Итак, даже при выполнении всех условий на способы закрепления, они могут создавать различные погрешности. Тем не менее, все эти погрешности имеют общую черту: из формулы (3) следует, что они никак не зависят от длины нити. Это позволяет отделить их от других типов погрешностей.

Наконец, наиболее сложны в теоретическом описании эффекты, напрямую не связанные со свойствами нити, но влияющие на $x(F)$. Таковы, например, конвекционные течения, создающие вязкое трение, и неточность измерения силы, создаваемой оптической ловушкой. Отличительной их чертой является возможность измерить разные значения $x(F)$ для одной и той же молекулы ДНК, ничего не меняя в системе.

Связанную с этим случайную погрешность несложно оценить. Для этого достаточно провести следующую серию экспериментов. Во-первых,

можно измерять x в течение длительного времени. Во-вторых, можно много раз увеличить и уменьшить силу F , а затем сравнить графики $x(F)$. В-третьих, для осесимметричных способов закрепления, можно изменять направление силы F . Все это было проделано в работе [4], но в текст статьи вошли лишь усредненные графики $x(F)$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы доказали, что формула (3) для разбиения $x(F)$ на отдельные слагаемые, работает при достаточно широких предположениях. Это позволяет рассматривать способ закрепления как самостоятельный объект, характеризующийся только вкладом Δx_1 и размером. Такое рассмотрение упрощает численные расчеты. Описанная теория позволяет улучшить работу как с простыми способами закрепления, так и со сложными, в том числе невозпроизводимыми. Полученные результаты позволяют предложить новые экспериментальные методы для точного измерения $x(F)$. Используемая нами математическая модель приближенная. Тем не менее, три основных типа погрешности — топоизомерию, погрешность, связанную со способом закрепления, и неустранимую погрешность, не связанную со свойствами нити, — легко различить. Это поможет бороться с ними по отдельности.

По результатам данного исследования остаются несколько открытых теоретических вопросов. Во-первых, не хватает точного вычисления вклада конкретных сложных способов закрепления, например, вклада крепления к наклонной плоскости или твердому подвижному шару. Во-вторых, полезно теоретически описать топоизомерию, в особенности, поведение заузленной ДНК при растяжении. В-третьих, нужно обобщить формулу (3) для неоднородной ДНК, содержащей одноцепочечные разрывы, участки с разными последовательностями, модифицированные основания и т.д., и получить численные значения вклада этих неоднородностей в $x(F)$.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит И.Ю. Гущина за помощь в подготовке текста статьи, А. Онуфриева — за знакомство с темой и тематической литературой, В. Дидину — за помощь в доступном изложении материала.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (номер темы FSMG-2021-0002, соглашение 075-03-2023-106).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания собственных исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Marko J. F. and Siggia E. D. Stretching DNA. *Macromolecules*, **28** (26), 8759–8770 (1995). DOI: 10.1021/ma00130a008
2. Shon M. J., Rah S. H., and Yoon T. Y. Submicrometer elasticity of double-stranded DNA revealed by precision force-extension measurements with magnetic tweezers. *Sci. Adv.*, **5** (6), eaav1697 (2019). DOI: 10.1126/sciadv.aav1697
3. Smith S. B., Finzi L., and Bustamante C. Direct mechanical measurements of the elasticity of single DNA molecules by using magnetic beads. *Science*, **258** (5085), 1122–1126 (1992). DOI: 10.1126/science.1439819
4. Seol Y., Li J., Nelson P. C., Perkins T. T., and Betterton M. D. Elasticity of short DNA molecules: theory and experiment for contour lengths of 0.6–7 microm. *Biophys J.*, **93** (12), 4360–4373. (2007). DOI: 10.1529/biophysj.107.112995
5. Fiasconaro A. and Falo F. Elastic traits of the extensible discrete wormlike chain model. *Phys. Rev. E.*, **107** (2), 024501 (2023). DOI: 10.1103/PhysRevE.107.024501
6. Kratky-Porod Chain [Electronic resource]. URL: <https://www.polymerdatabase.com/polymer%20physics/Wormlike%20Chain.html> (accessed: 01.08.2023).
7. Livadaru L., Netz R. R., and Kreuzer H. J. Stretching Response of discrete semiflexible polymers. *Macromolecules*, **36** (10), 3732–3744 (2003). DOI: 10.1021/ma020751g
8. Koslover E. F. and Spakowitz A. J. Discretizing elastic chains for coarse-grained polymer models. *Soft Matter*, **9** (29), 7016–7027 (2013). DOI: 10.1039/C3SM50311A
9. Wiggins P. A. and Nelson P. C. Generalized theory of semiflexible polymers. *Phys. Rev. E. Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* **73** (3, Pt 1), 031906 (2006). DOI: 10.1103/PhysRevE.73.031906
10. Andersen N. T., Teng Y., and Chen J. Z. Y. Stretching a Semiflexible Polymer of Finite Length // *Macromolecules*, **55** (1), 210–216 (2022). DOI: 10.1021/acs.macromol.1c02087
11. Vologodskii A. and Frank-Kamenetskii M. D. Strong bending of the DNA double helix. *Nucl. Acids Res.*, **41** (14), 6785–6792 (2013). DOI: 10.1093/nar/gkt396
12. Drozdetski A. V., Mukhopadhyay A., and Onufriev A. V. Strongly bent double-stranded DNA: reconciling theory and experiment. *Front. Phys.* **7**, 195 (2019). DOI: 10.3389/fphy.2019.00195
13. Fosdick R. L. and James R. D. The elastica and the problem of the pure bending for a non-convex stored energy function. *J. Elasticity*, **11** (2), 165–186 (1981).

Impact of Immobilization Method on DNA Stretching Characteristics

М.А. Didin*

**Moscow Institute of Physics and Technology, Institutskii per. 9, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701 Russia*

The problem of stretching a flexible polymer with given conditions at the ends, under the action of a fixed force, is considered. A mathematical model is constructed for different energy functions describing the elasticity of the polymer and different immobilization methods. It is shown that the dependence of stretching on the polymer length is linear. Numerical results are given. The results obtained allow to improve the analysis of experimental data on polymer stretching. The theory offers several verifiable predictions, and experimental methods are proposed to improve the accuracy of measurements.

Keywords: persistence length, DNA, stretching, immobilization method