

DNA Kraftspektroskopie

Kevin Krug

15.2.2008



Übersicht

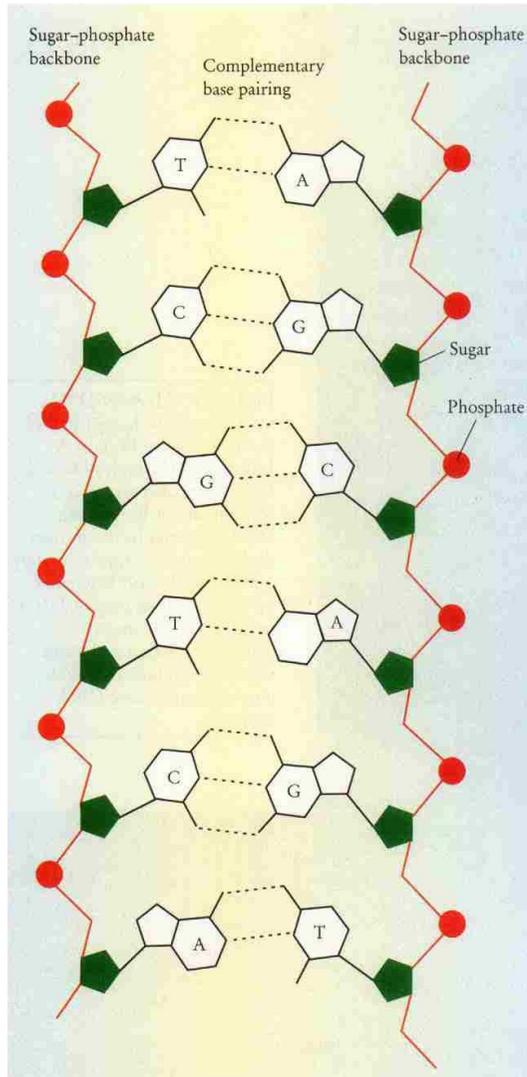
- Vorstellung einiger DNA Konformationen
- FJC: allgemeines einfaches Modell zur Beschreibung der Elastizität eines Polymers
- DNA Übergang bei höheren externen Kräften
- Kramers escape problem: Teilchenfluchtrate über Potentialbarriere
- Zusammenfassung

Intro/Motivation

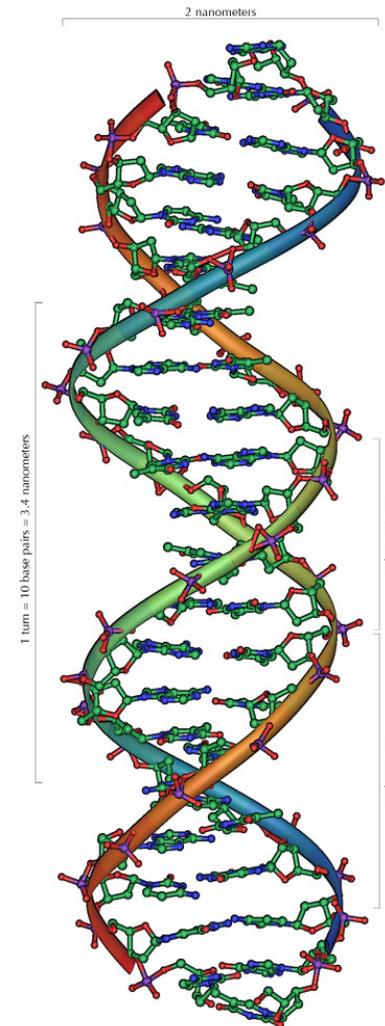


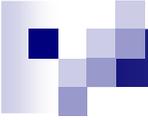
- DNA ist in 46 linearen Molekülen (Chromosomen) unterteilt
- DNA in einer menschlichen Zelle (Diploid) ist ca. $3 \cdot 10^6$ Basenpaare oder **1m** lang
- Chromosomen passen in den Nukleus (einige **μm**) aufgrund der DNA **Konformation**

Intro/Motivation



- DNA ist ein Polymer aus Nukleotiden: stickstoffhaltige Base (A,T,G,C) + Phosphat-Zucker Rest
- Basensequenz = genetischer Kode
- Konformation in Lösung: rechtsdrehende Helix (eine Drehung alle 3.4 nm) = **B-DNA**





Intro/Motivation

- Louis Henri Sullivans architektonisches Diktum: „**Form folgt Funktion**“
- Unter verschiedenen physikalischen Bedingungen nimmt DNA verschiedene Konfigurationen an: A-DNA, Z-DNA
- Während der **Replikation** und der **Transkription** (DNA → RNA) wird das DNA Molekül entwindet
- Wenn DNA für replikative und transkriptionale Maschinerie unzugänglich ist, ist DNA „supercoiled“ gewickelt

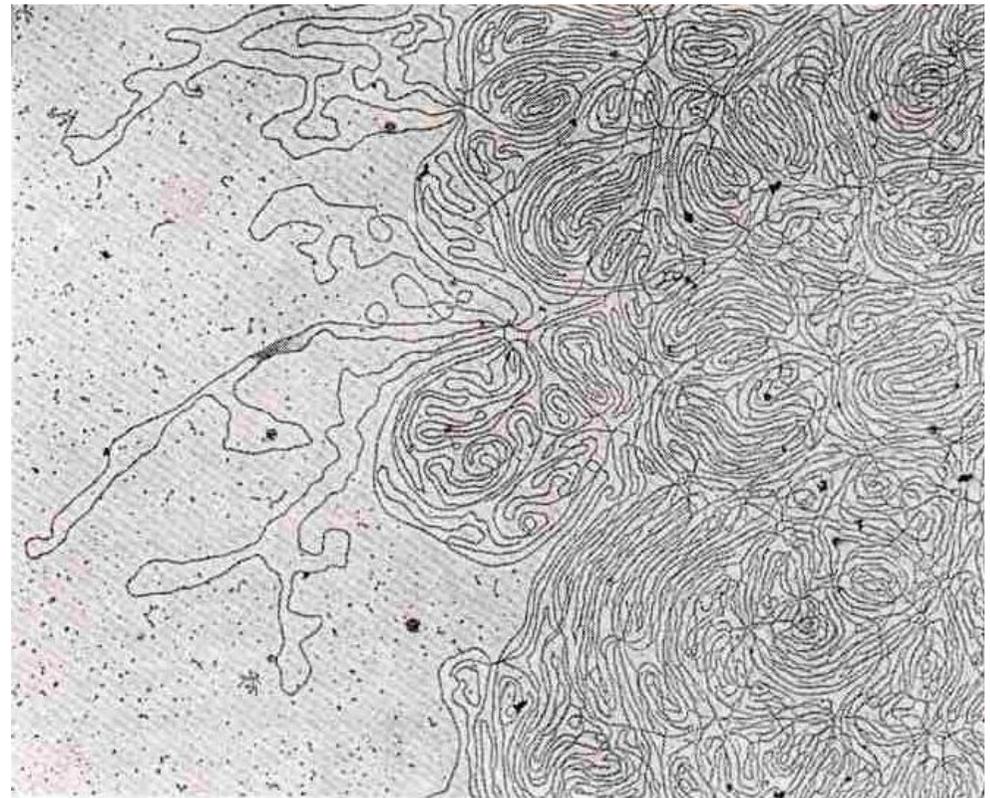


Intro/**Motivation**

- ⇒ **Mechanische** Prozesse an essentiellen biologischen Funktionen beteiligt
- Neue Technologien erlauben es *einzelne* DNA Moleküle zu manipulieren (z.B zu dehnen)
- ⇒ Existenz neuer Konformationen
- ⇒ Entwicklung neuer Labortechniken für die Analyse, Fraktionierung und Sequenzierung von DNA

Intro/Motivation

- Im thermodynam. GG: zufällig verteilte molekulare Konfigurationen
⇒ Statistischer Zugang
- GLC:
⇒ Hooksches Gesetz: unrealistisch für zunehmend große Kräfte
- WLC:
 - gute Übereinstimmung mit DNA Experimente
 - numerisch
- FJC:
 - $f \rightarrow \infty$ für $R \rightarrow L$
 - Analytisch

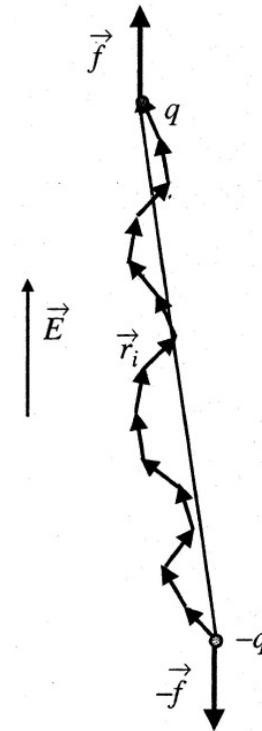


Einfaches Polymer (FJC):

Auslenkung in Abhängigkeit einer externen Kraft



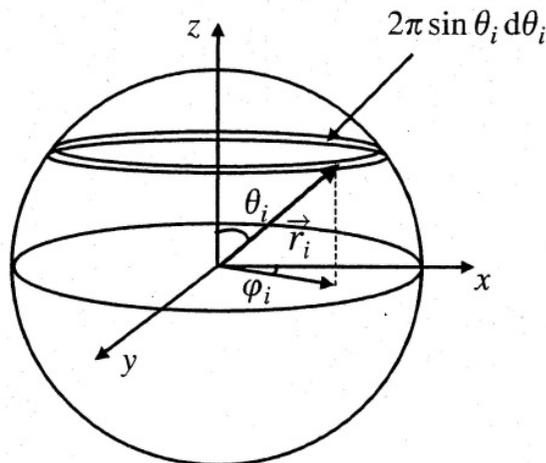
- Modell einer Kette von N Bindungen unter konstanter Auslenkungskraft: $\vec{f} = q\vec{E}$
- z.B. mit entgegen gesetzten Ladungen an den Enden in einem E-Feld ($\vec{E} \parallel \vec{z}$)



Einfaches Polymer (FJC):

Auslenkung in Abhängigkeit einer externen Kraft

- Elektrostat. Energie der Kette: $U = -q\vec{E} \cdot \vec{R} = -\vec{f} \cdot \vec{R} = -fR_z$
- Kettenkonstellationen seien Boltzmann verteilt: $e^{-\frac{U}{k_0T}}$
- ⇒ Zustandssumme : $Z = \sum_{\text{Zustände}} e^{\frac{-U}{k_0T}} = \sum_{\text{Zustände}} e^{\frac{fR_z}{k_0T}}$
- Verschiedene Konstellationen entsprechen verschiedenen Orientierungen (θ_i und ϕ_i) der Bindungsvektoren \vec{r}_i



Einfaches Polymer (FJC):

Auslenkung in Abhängigkeit einer externen Kraft

⇒ Integration über alle Winkel ($d\Omega = d\theta_i \sin \theta_i d\phi_i$) jedes Monomers:

$$Z = \sum_{\text{Zustände}} e^{\frac{-fR_z}{k_0T}} = \int e^{\frac{-fR_z}{k_0T}} \prod_{i=1}^N \sin \theta_i d\theta_i d\phi_i$$

- $R_z = \sum_{i=1}^N b \cos \theta_i$

$$\Rightarrow Z = \int e^{\frac{-fb}{k_0T} \sum_{i=1}^N \cos \theta_i} \prod_{i=1}^N \sin \theta_i d\theta_i d\phi_i = \left[\int_0^\pi 2\pi \sin \theta e^{\frac{-fb}{k_0T} \cos \theta} d\theta \right]^N$$

- Substitution: $x := -\cos \theta \implies dx = \sin \theta d\theta$

$$\Rightarrow Z(T, f, N) = \left[2\pi \int_{-1}^1 dx e^{\frac{-fb}{k_0T} x} \right]^N = \left[2\pi \frac{k_0T}{bf} \left(e^{\frac{fb}{k_0T}} - e^{-\frac{fb}{k_0T}} \right) \right]^N$$

Einfaches Polymer (FJC):

Auslenkung in Abhängigkeit einer externen Kraft

$$\Rightarrow Z(T, f, N) = \left[4\pi \frac{k_0 T}{fb} \sinh\left(\frac{fb}{k_0 T}\right) \right]^N$$

⇒ Gibb'sche Freie Energie:

$$\begin{aligned} G(T, f, N) &= -k_0 T \ln Z(T, f, N) \\ &= k_0 T N \left[\ln\left(4\pi \sinh\left(\frac{fb}{k_0 T}\right)\right) - \ln\left(\frac{fb}{k_0 T}\right) \right] \end{aligned}$$

- Die durchschnittliche Länge $\langle R \rangle$ bei einer gegebenen Kraft:

$$\begin{aligned} \langle R \rangle &= -\frac{\partial G}{\partial f} = bN \left[\coth\left(\frac{fb}{k_0 T}\right) - \frac{1}{\left(\frac{fb}{k_0 T}\right)} \right] \\ &= bNL \left(\frac{fb}{k_0 T} \right) \end{aligned}$$

Einfaches Polymer (FJC):

Auslenkung in Abhängigkeit einer externen Kraft

- Mit der Langevin Funktion $L(\beta) = \coth(\beta) - \frac{1}{\beta}$

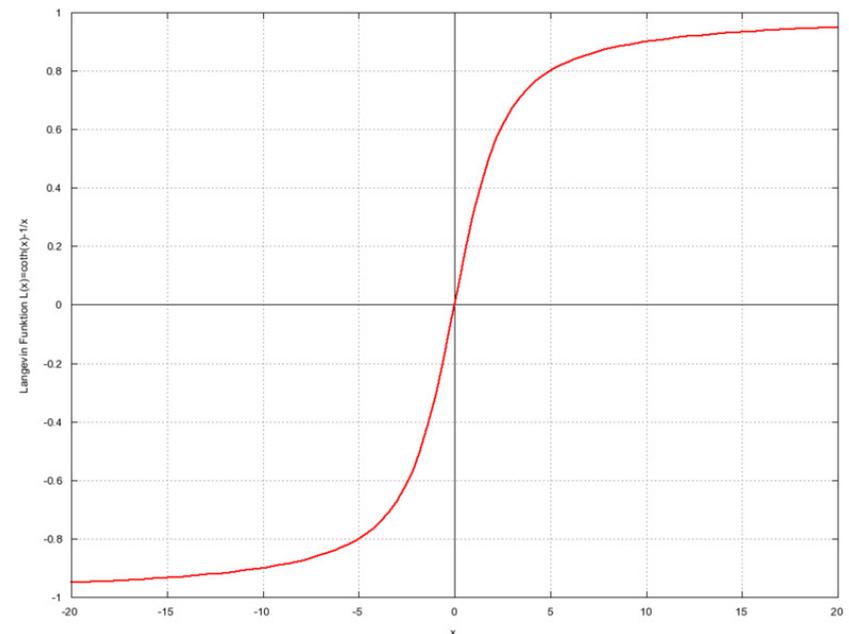
- Die Langevin Funktion gibt den Zusammenhang zwischen der mittleren Kettenauslenkung $\langle R \rangle / R_{max}$ und der normalisierten Dehnkraft

an $\beta = fb/k_0T$

- Grenzfunktionen:

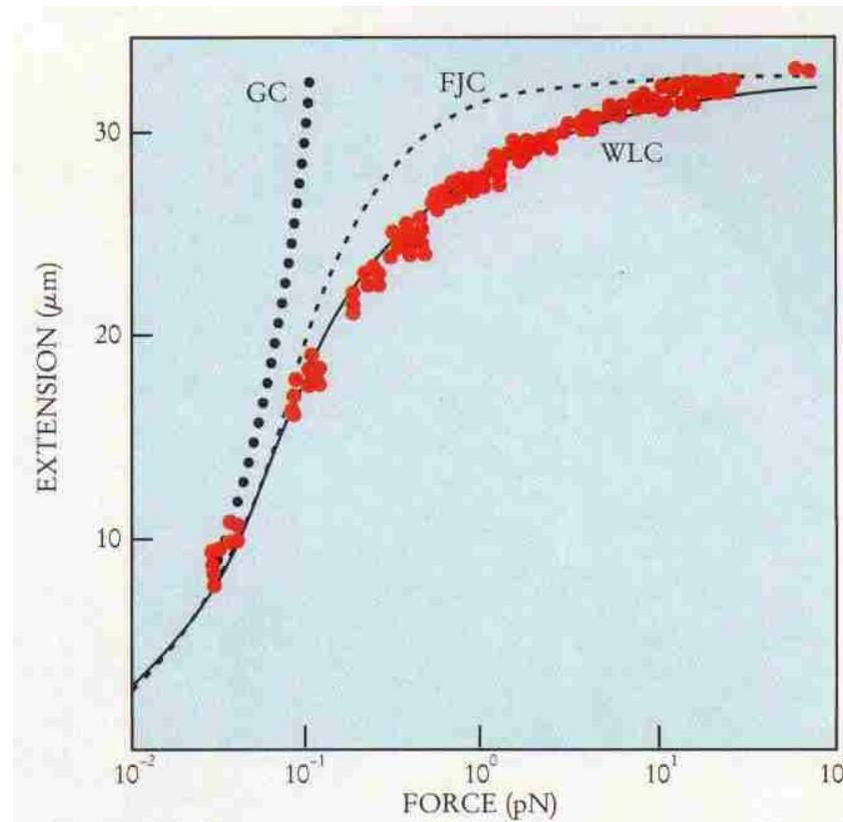
- Für $f \rightarrow 0 : \langle R \rangle = \frac{1}{3} b^2 \frac{N}{k_0 T} f$

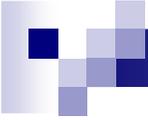
- Für $f \rightarrow \infty : \langle R \rangle = Nb \left(1 - \frac{k_0 T}{fb}\right)$



Einfaches Polymer (FJC):

Auslenkung in Abhängigkeit einer externen Kraft

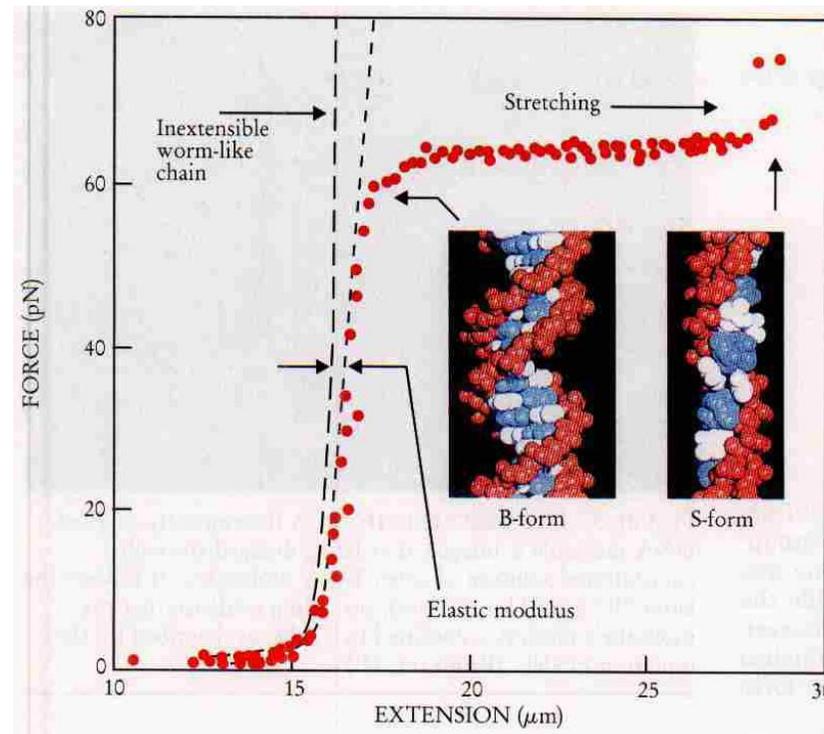




DNA Übergang bei höheren externen Kräften

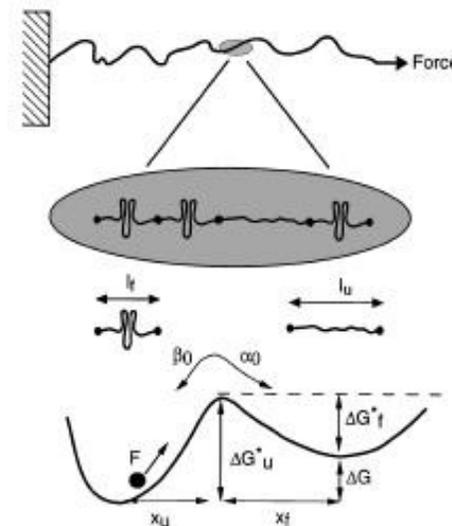
- Durch Strecken der DNA über die natürliche Länge hinaus könnte die Elastizität von den chemischen Bindungen des molekularen Rückgrats abhängig sein
- Experiment:
 - Fixieren der DNA zwischen einer optischen Fiber und einer Mikrokugel
 - Kraft auf Mikrokugel über Piezoelektrischen Translator / Auslenkungsmessung über die Verwindung des optischen Fibers
- Resultat:
 - $F = 50$ pN: DNA konnte um 110% ausgedehnt werden (in Bezug zur DNA Länge in Lösg.)
 - $F \rightarrow 70$ pN: abruptes Entspannen der DNA auf 2 * Normallänge

DNA Übergang bei höheren externen Kräften



- ⇒ Reversibler Übergang zu **S-DNA** (S=stretched)
- Präzise Struktur hängt von DNA Freiheitsgraden während der Auslenkung ab: - entweder stellen sich die Stränge parallel ein oder die Basen neigen sich (wie dargestellt)

Motivation: Kramers escape problem



- Einfaches Modell: Polymere bestehen aus Module die einen Übergang zwischen zwei energetisch verschiedenen Zuständen durchmachen können

Kramers escape problem

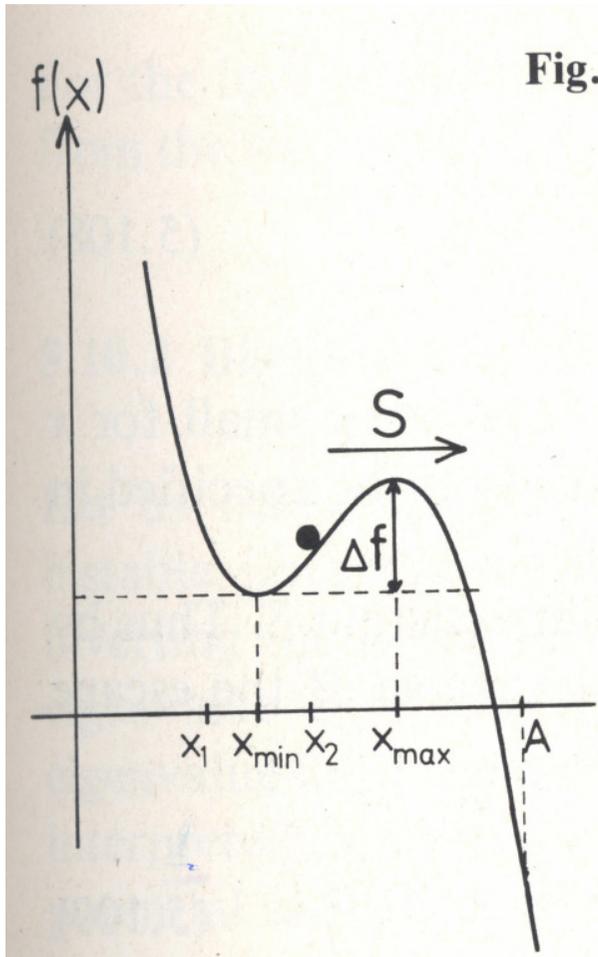


Fig.

- Gesucht: Fluchrate eines brownischen Teilchens über Potentialbarriere im Limit hoher Barriere Δf
- Ähnlichkeit zum quantenmech. Tunnelprozess eines Teilchens durch eine endliche Potentialbarriere (Schrödingergleichung ist eine Diffusionsgleichung)



Kramers escape problem

1. Wahrscheinlichkeitsfluss $S(x,t)$:

Smoluchowski Gleichung (Diffusionsgleichung mit äußerem Feld):

$$\begin{aligned}\frac{\partial P}{\partial t} &= -\frac{\partial}{\partial x} S(x,t) \\ &= -\frac{\partial}{\partial x} \left(D\phi'(x)P + D\frac{\partial P}{\partial x} \right)\end{aligned}$$

Mit der Wahrscheinlichkeitsverteilung $P \equiv P(x,t)$

und dem einheitslosen Potential $\phi(x) = \frac{f(x)}{k_0T}$



Kramers escape problem

$$\Rightarrow S(x,t) = -D(\phi'(x)P + \frac{\partial P}{\partial x}) = -De^{-\phi(x)} \frac{\partial}{\partial x} (e^{\phi(x)} P(x,t))$$

$$\Rightarrow \frac{1}{D} S(x,t) e^{\phi(x)} = -\frac{\partial}{\partial x} (e^{\phi(x)} P(x,t))$$

$$\begin{aligned} \Rightarrow \int_{x_{min}}^A dx' \frac{1}{D} S(x',t) e^{\phi(x')} &= (-e^{\phi(x)} P(x,t)) \Big|_{x_{min}}^A \\ &= e^{\phi(x_{min})} P(x_{min},t) - e^{\phi(A)} P(A,t) \end{aligned}$$



Kramers escape problem

Annahme: Barrierenhöhe sehr groß

für große A : $P(A, t) \approx 0$:

$$\Rightarrow \int_{x_{min}}^A dx' \frac{1}{D} S(x', t) e^{\phi(x')} \approx e^{x_{min}} P(x_{min}, t) \quad (2)$$

Annahme

\Rightarrow $P(x, t)$ verändert sich nur langsam mit der Zeit/ „Leckrate“
der Wahrscheinlichkeit ist klein $\left(\frac{\partial P}{\partial t} \approx 0\right)$

$\Rightarrow \frac{P}{\partial t} \stackrel{Gl.1}{=} -\frac{\partial}{\partial x} S(x, t) \approx 0 \implies S$ ist näherungsweise konstant
im Raum

Kramers escape problem

$$\begin{aligned} \xRightarrow{\text{Gl.2}} \frac{S}{D} \int_{x_{min}}^A dx' e^{\phi(x')} &= e^{\phi(x_{min})} P(x_{min}, t) \\ &= e^{\phi(x_{min})} P_{stat}(x_{min}) \end{aligned}$$

$$\boxed{\xRightarrow{\text{Gl.2}} P_{stat} = \frac{S}{D} e^{\phi(x')} = \frac{S}{D} e^{-\phi(x_{min})} c} \quad (3)$$

- Annahme: Für die Wahrscheinlichkeitsverteilung $P_{stat}(x)$ um x_{min} gilt:

$$\begin{aligned} P_{stat} &= \frac{S}{D} e^{-\phi(x)c} \\ &= P_{stat}(x_{min}) e^{-(\phi(x) - \phi(x_{min}))} \end{aligned}$$



Kramers escape problem

2. Aufenthaltswahrscheinlichkeit $P_{x_1 x_2}$ für x in der Nähe von x_{\min} :

⇒ Aufenthaltswahrscheinlichkeit zwischen $x_1 < x_{\min}$ und $x_2 > x_{\min}$:

$$P_{x_1 x_2} = \int_{x_1}^{x_2} dx P_{stat}(x) = P_{stat}(x_{min}) e^{\phi(x_{min})} \int_{x_1}^{x_2} dx e^{-\phi(s)} \quad (4)$$

Kramers escape problem

3. Flucht-/Ausströmrate r : Def.: $P_{x_1 x_2} \cdot r = S$

Aus Gleichungen (3) und (4):

$$\begin{aligned} \Rightarrow \frac{1}{r} &= \frac{P_{x_1 x_2}}{S} \stackrel{\text{Gl. (3), (4)}}{=} \frac{P_{stat}(x_{min}) e^{\phi(x_{min})} \int_{x_1 x_2} dx e^{-\phi(x)}}{D e^{\phi(x_{min})} P_{stat}(x_{min}) \frac{1}{\int_{x_{min}}^A dx' e^{\phi(x')}}}} \\ &= \frac{1}{D} \underbrace{\int_{x_{min}}^A dx' e^{-\phi(x')}}_{I_1} \underbrace{\int_{x_1}^{x_2} dx' e^{\phi(x')}}_{I_2} \end{aligned}$$

Kramers escape problem

- Die Integrale werden durch Taylorentwicklung von ϕ abgeschätzt:

I_1 : Entwicklung um x_{\min}

I_2 : Entwicklung um x_{\max}

$$\Rightarrow I_1 = \int_{x_1}^{x_2} dx e^{-\phi(x_{\min})} e^{-\frac{1}{2}\phi''(x_{\min})(x-x_{\min})^2} = e^{-\phi(x_{\min})} \left(\frac{2\pi}{\phi''(x_{\min})} \right)^{\frac{1}{2}}$$

$$I_2 = \int_{x_1}^{x_2} dx e^{\phi(x_{\max})} e^{-\frac{1}{2}|\phi''(x_{\max})|(x-x_{\max})^2} = e^{-\phi(x_{\max})} \left(\frac{2\pi}{|\phi''(x_{\max})|} \right)^{\frac{1}{2}}$$

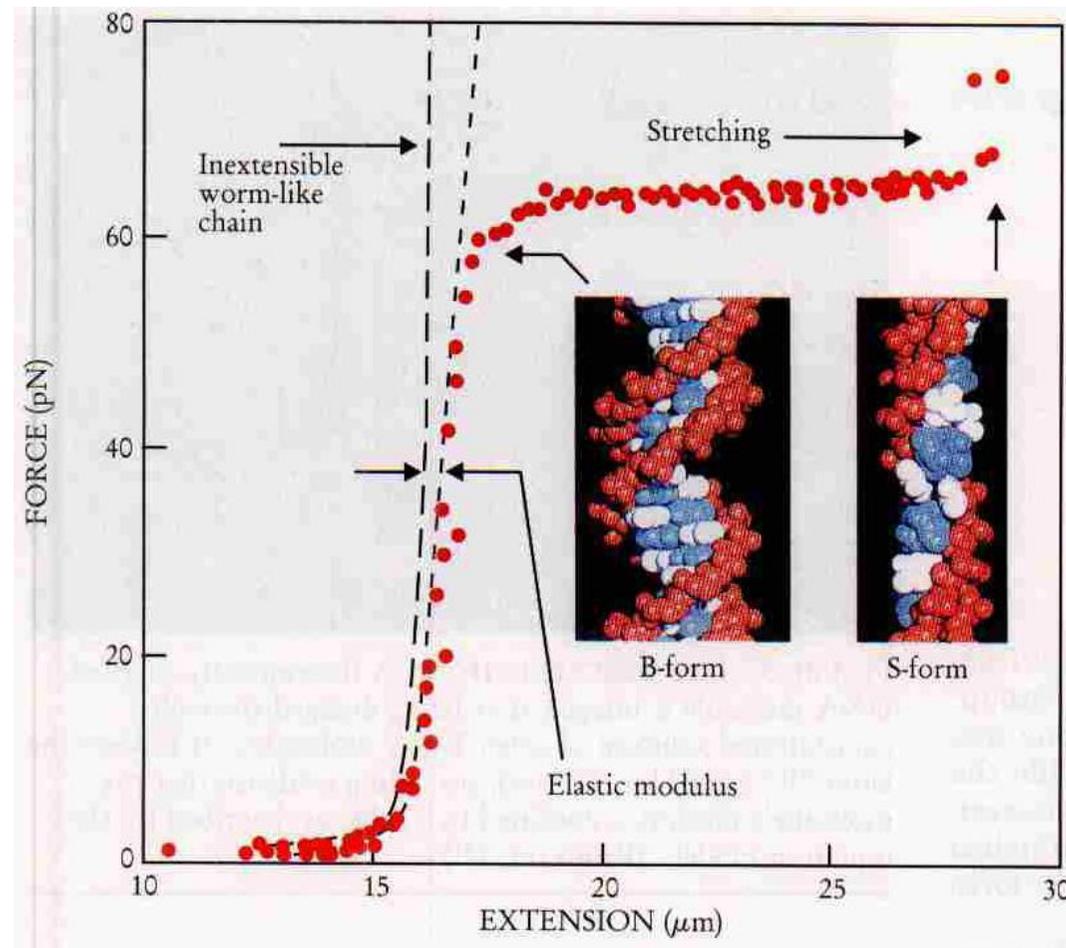


Kramers escape problem

$$\Rightarrow r = \frac{D}{2\pi} (\phi''(x_{min}) |\phi''(x_{max})|)^{\frac{1}{2}} e^{-(\phi(x_{max}) - \phi(x_{min}))}$$

Arrhenius-artige Gleichung

DNA Übergang bei höheren externen Kräften



Zusammenfassung

- DNA-Konformationen in essentiellen biologischen Prozessen von Bedeutung
- Im Bereich kleiner externen Kräfte ist FJC ein anschauliches Modell zur Beschreibung der Elastizität von DNA

$$R \propto f \quad \text{für kleine } f$$

$$R \propto 1 - \frac{1}{f} \quad \text{für große } f$$

- Das Prinzip des Konformations-Übergangs (in DNA) wird durch Kramers escape problem wiedergegeben

$$r \propto e^{\phi_{\text{Barriere}}}$$