Capitolo 2

Descrizione del modello

In questo capitolo introduciamo il nostro modello, schematizzato in figura 2.1. Le coppie di basi si avvolgono lungo l' asse della molecola, posto verticalmente e considerato dritto; esse sono numerate dall'indice $n = 1, \dots N$. Per ciascuna coppia di basi sono introdotti tre gradi di libertà: il raggio r_n, corrispondente a metà del diametro molecolare, l'angolo φ_n di rotazione, nel piano perpendicolare all'asse, rispetto ad un riferimento fisso e l'altezza z_n lungo l'asse . Lo scheletro zucchero fosfato è rappresentato da bastoncini rigidi di lunghezza $L = 6.9$Å. Questo introduce un vincolo tra una coppia di basi e la successiva, esso è espresso dalla relazione geometrica (vedi fig. 2.1):

$$\sqrt{(z_n - z_{n-1})^2 + r_n^2 + r_{n-1}^2 - 2r_n r_{n-1}\cos(\varphi_n - \varphi_{n-1})} = L \ . \tag{2.1}$$

che accoppia i gradi di libertà $r_n,\ r_{n-1},\ \varphi_n,\ \varphi_{n-1},\ z_n,\ z_{n-1}$.

L'identità (2.1) ci permette di esprimere $h_n = z_n - z_{n-1}$ come funzione di r_n, r_{n-1} e dell'angolo di twist $\theta_n = \varphi_n - \varphi_{n-1}$,

$$h_n(r_n, r_{n-1}, \theta_n) = \sqrt{L^2 - r_n^2 - r_{n-1}^2 + 2r_n r_{n-1}\cos\theta_n} \ , \tag{2.2}$$

e di scegliere i raggi r_n e gli angoli φ_n come i gradi di libertà indipendenti a partire dei quali la distanza assiale z_n viene ricavata. Questa scelta è motivata da una convenienza matematica, avremmo potuto ad esempio tenere, in modo analogo, r_n e z_n come gradi di libertà indipendenti ed esprimere φ_n in funzione di essi.

L'Hamiltoniana V associata ad una configurazione $\{r_n, \varphi_n\}$ dei gradi di libertà indipendenti è la somma di tre differenti contributi.

2.0.1 Potenziali

Potenziale di legame idrogeno V_m

Il legame idrogeno è rappresentato, come nel modello PB da un potenziale di Morse [Pey 89]:

$$V_m(r_n, r_{n-1}) = D(e^{-a(r_n - R)} - 1)^2 \tag{2.3}$$

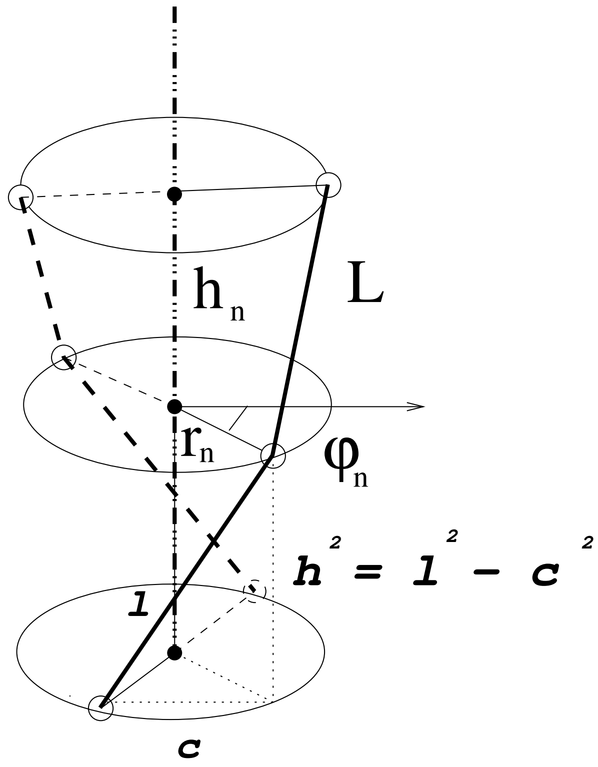

Figura 2.1: Rappresentazione schematica del modello introdotto : ogni base è modellizata attraverso il suo raggio r_n, l' angolo φ_n e l'altezza z_n. La distanza assiale tra due basi successive e l'angolo di twist sono rispettivamente denotati con $h_n = z_n - z_{n-1}$ e $\theta_n = \varphi_n - \varphi_{n-1}$. La distanza L tra due basi adiacenti lungo un filamento è fissa. La distanza assiale h_n è un cateto del triangolo rettangolo di cui l' altro cateto è la corda $c(r_n, r_{n-1}, \theta_n)$ e l'ipotenusa è L.

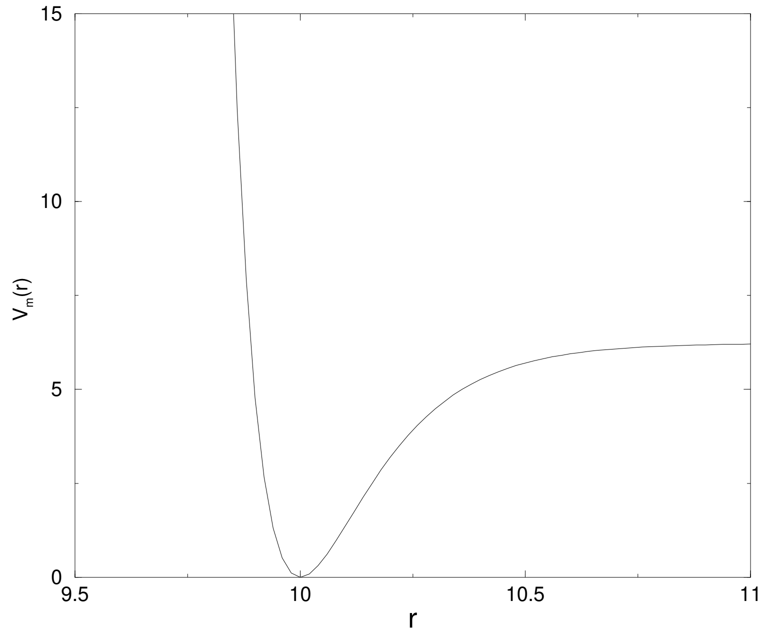

Figura 2.2: $V_m(r)$ in unità di k_BT (a temperatura ambiente) in funzione del raggio r. I parametri del potenziale sono $D = 0.16eV$,$a = 6.29\,\text{Å}^{-1}$, R=10Å

Esso è, come mostrato in figura 2.2, fortemente repulsivo per valori del raggio minori del valore di riposo $r_n < R$ con $R = 10$Å (interazione di contatto tra due coppie di basi) ed attrattivo (legame idrogeno), per $r_n > R$ su una portata limitata.

Potenziale di impilamento V_s

Il potenziale d'impilamento rappresenta l'interazione di contatto tra una coppia di basi rispetto e quella adiacente. Infatti le coppie di basi interagiscono elettrostaticamente nella struttura compatta del DNAB. La rappresentazione utilizzata del potenziale di impilamento è la seguente:

$$V_s(r_n, r_{n-1}) = E\, e^{-b(r_n + r_{n-1} - 2R)}\, (r_n - r_{n-1})^2 \qquad (2.4)$$

Esso è, come mostrato in figura 2.3, un potenziale quadratico nell'apertura di una coppia di basi rispetto a quella adiacente, con un prefattore $E\, e^{-b(r_n + r_{n-1} - 2R)}$ che decade esponenzialmente con la crescita del valore medio del raggio delle due coppie di basi, cioè con l'apertura della struttura elicoidale. Nell'inserto della figura è rappresentato l'andamento del prefattore in scala semilogaritmica.

Il potenziale di impilameno qui introdotto è molto simile a quello introdotto nel modello PB da T. Dauxois e M.Peyrard per ottenere un effetto cooperativo nella transizione di denaturazione ed il corretto andamento di quest'ultima in funzione della temperatura

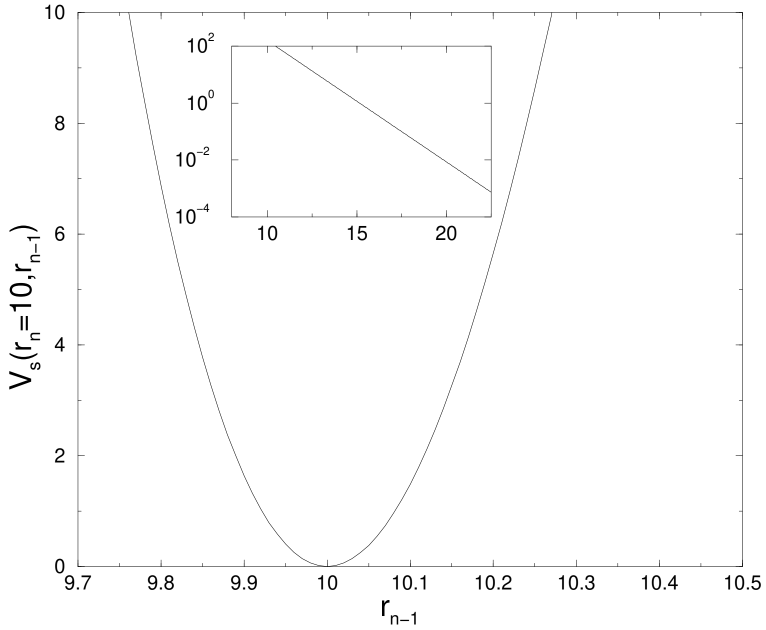

Figura 2.3: $V_s(r_n, r_{n-1})$ in unità di $k_B T$ (a temperatura ambiente) in funzione del raggio r_{n-1} quando il raggio r_n è fissato a 10 Å. Inserto: il prefattore $E\, e^{-b(r_n+r_{n-1}-2R)}$ in scala semilogaritmica in funzione di $(r_n + r_{n-1})/2$, esso decade diventando trascurabile su un raggio medio di 20 Å. i parametri usati sono $E = 4eV/\mathring{A}^2$,$b = 0.49\,\mathring{A}^{-1}$, $R = 10\mathring{A}$.

([Dau 95],[Cul 97]). Nel modello PB la sua espressione è :

$$V(r_n, r_{n-1}) = E\,(1 + \rho\, e^{-b(r_n + r_{n-1} - 2R)})(r_n - r_{n-1})^2 \tag{2.5}$$

esso contiene una costante in più (ρ), infatti descrive insieme l'impilamento e lo scheletro molecolare. Il prefattore a molecola aperta tende ad un valore non nullo e costante E, questo mantiene nella fase denaturata a singolo filamento una dipendenza tra la posizione di una coppia di basi e quella adiacente.

Potenziale di scheletro V_b

Il potenziale di scheletro V_b, chiamato così perché nella funzione h_n é contenuto il vincolo rigido L, descrive le fluttuazioni della struttura elicoidale del DNAB, e si esprime nel modo seguente:

$$V_b(r_n, r_{n-1}, \theta_n) = K(h_n - H)^2 \tag{2.6}$$
$$V_b(r_n, r_{n-1}, \theta_n) = \infty \quad \text{se} \quad h_n^2 < 0 \tag{2.7}$$

con $K = 0.0137\, eV/\text{Å}^2$ e $H = 3\text{Å}$. La distanza assiale h_n fluttua, come è mostrato nell'equazione (2.6), intorno al valore $H = 3$ Å. Il valore $H < L$ riproduce la tendenza della molecola di DNA B ad impacchettarsi, eliminando l'acqua dal suo interno (interazioni idrofobiche) e formando una doppia elica in cui ciascuna coppia di basi ruota, rispetto alla precedente, di un angolo di twist θ_n ([Cal 97]).

L'argomento della radice nella 2.6 è negativo quando il cateto c, cioè la proiezione della distanza tra i due raggi sul piano ortogonale all'asse, diventa più grande dell'ipotenusa L nel triangolo rettangolo che definisce h_n ; situazione incompatibile con un vincolo rigido di lunghezza L tra due basi adiacenti (vedi fig 2.1). I valori r_n, r_{n-1}, θ_n per cui questo avviene sono esclusi ponendo $V_b = \infty$. In figura 2.4 è mostrato l'andamento del potenziale di scheletro con raggi fissi, in funzione dell'angolo di twist. Per i valori dei raggi di riposo del potenziale di Morse $r_n = r_{n-1} = 10$ Å il potenziale è minimo e nullo per il valore di riposo $\theta_n \equiv \Theta = 2\pi/10$. Come è illustrato in figura l' apertura dei raggi è accompagnata da una diminiuzione dell'angolo di twist ovvero da uno srotolamento della doppia elica. Inoltre i valori dell'angolo sono sempre più costretti dalla forma del potenziale intorno al valore che rende minimo il potenziale. In figura 2.5 è mostrato l'andamento del potenziale di scheletro in funzione di r_{n-1} con r_n e θ_n fissati. Ci sono sempre due posizioni radiali per il quale il potenziale è nullo, ma l'altezza della barriera tra di esse varia tra $0.1 k_B T$ e $10 k_B T$ a seconda dell'angolo di twist prescelto.

2.0.2 Costanti del modello

Possiamo dunque dividere i parametri in tre classi:

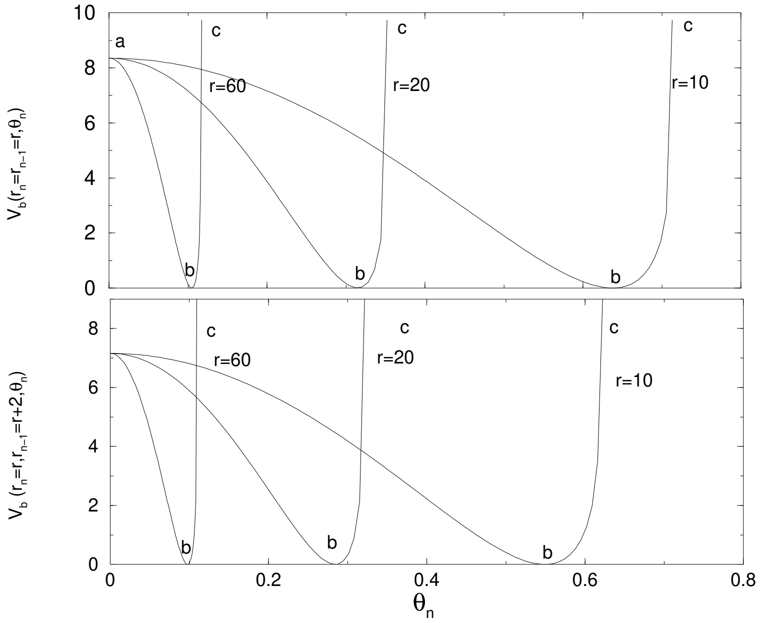

Figura 2.4: Potenziale $V_b(r_n, r_{n-1}, \theta_n)$ in unità di $k_B T$ (a temperatura ambiente) in funzione dell'angolo di twist θ_n. I raggi sono fissati, nella figura di sopra a $r_n = r_{n-1} = 10, 20, 60\,\text{Å}$, nella figura di sotto a $r_n = r_{n-1} - 2\,\text{Å} = 10, 20, 60\,\text{Å}$. Nei punti (a) la distanza assiale vale $h_n = \sqrt{L^2 - (r_n - r_{n-1})^2}$ cioè è massima e pari ad L nella figura di sopra, nei punti (b) la distanza assiale è al suo valore di riposo a temperatura nulla $h_n = H = 3\,\text{Å}$ ed il potenziale è nullo, L'angolo di twist θ_n in (b) è definito da $\cos\theta_n = (-L^2 + r_n^2 + r_{n-1}^2 + H^2)/2r_n r_{n-1}$. Nella figura di sopra per i valori dei raggi che rendono minimo il potenziale di Morse $r_n = R = 10\,\text{Å}$ esso vale $\Theta = 2\pi/10$, e diminuisce tendendo a zero all'aumentare dei raggi. Aprendo una coppia di basi rispetto alla successiva l'angolo di twist al quale il potenziale è nullo diminuisce (punti (b) della figura in basso). Per $\cos\theta_n = (-L^2 + r_n^2 + r_{n-1}^2)/2r_n r_{n-1}$ $h_n^2 = 0$, oltre il potenziale diventa infinito (punti c).

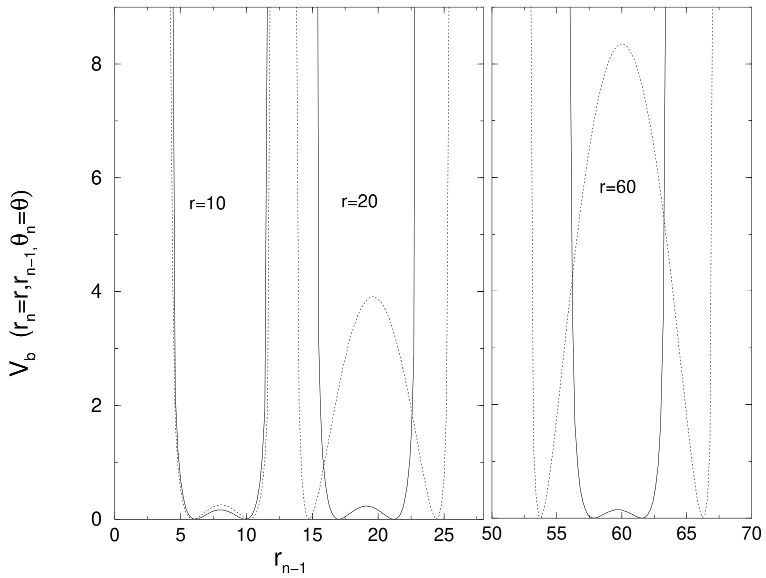

Figura 2.5: $V_b(r_n, r_{n-1}, \theta_n)$ in unità di k_BT (a temperatura ambiente) in funzione del raggio r_{n-1} I raggi r_n sono fissati a $10, 20, 60\,\text{Å}$, per ciascun raggio sono stati scelti due angoli, rispettivamente $\theta_n = 0.64, 0.63$, $\theta_n = 0.3, 0.2$,$\theta_n = 0.1, 0$, il primo di questi valori dà barriere di potenziale più basse ed è vicino al valore che si ottiene nel minimo della figura precedente per $r_n = r_{n-1}$.

I parametri geometrici H, L

I valori di $H = 3\,\text{Å}$, $L = 6.95\,\text{Å}$, sono stati scelti per riottenere a temperatura ambiente, come medie termodinamiche, i valori della distanza assiale $< h_n >= 3.4\,\text{Å}$ e dell'angolo di twist $< \theta_n >= 2\pi/10.4$ conosciuti sperimentalmente (vedi rispettivamente paragrafi 3.1.2, 3.4.3).

Le distanze di interazione a,b

I valori di $a = 6.29 \equiv \sqrt{2}\ 4.45\,\text{Å}^{-1}$ e $b = 0.49 \equiv \sqrt{2}\ 0.35\,\text{Å}^{-1}$ sono stati fissati dai valori del modello PB [Dau 95],[Dau 93a] (il fattore $\sqrt{2}$ deriva dalla diversa definizione della variabile radiale). Gli stessi valori sono utilizzati anche in [Zha 97] e in [Cam 98] per b, (mentre $a_{AT} = 5.93\,\text{Å}^{-1}, a_{GC} = 9.75\,\text{Å}^{-1}$).

La costante a determina la portata massima di azione del potenziale di Morse a $3/a \simeq 0.5\,\text{Å}$ (vedi figura 2.2) Al di là di questo valore il legame idrogeno è rotto ed il valore del potenziale è costante, tale ordine di grandezza è compatibile con l'ampiezza del movimento delle coppie di basi (dell'ordine di $1\,\text{Å}$ [Mac 87])

I valori di a forniti da Prohofsky, $a \simeq 5\,\text{Å}$ con una dipendenza dal tipo di legame idrogeno e dalla coppia di basi ([Pro 95]) sono dello stesso ordine di grandezza.

La costante $b = 0.49\text{Å}^{-1}$ determina invece il raggio di azione dell'interazione di impilamento: il prefattore tende a zero su una apertura radiale di $R + 5b^{-1} \simeq 20\,\text{Å}$; $5b^{-1}$ coincide come ordine di grandezza con il diametro di una coppia di basi (vedi inserto della figura 2.3).

Le costanti di forza: D,E,K

$D = 0.16eV$ ed $E = 4eV/\text{Å}^2$ $(E/a^2 = 0.1eV)$ sono state fissate per riottenere la temperatura di denaturazione della sequenza poli(dGdT)-poli(dAdC) a una concentrazione ionica di 19mM Na^+, come verrà descritto nei paragrafo 1.2,3.4.23.4.4.

$K = 0.0137eV/\,\text{Å}^2$ è direttamente collegato all' elasticità torsionale del DNA ed è stato scelto per riottenere a temperatura ambiente il valore di essa conosciuto sperimentalmente 3.5.3. Il valore della costante D fornisce correttamente l'ordine di grandezza dalla frequenza di vibrazione delle coppie di basi nel legame idrogeno, individuata sperimentalmente a partire dallo spettro Raman della molecola [Ura 81]. Nel capitolo 5 saranno studiati i modi di vibrazione del modello, la relazione di essi con le costanti D,E,K e la relazione con lo spettro Raman della molecola sarà discussa in modo approfondito. Lo stesso ordine di grandezza $D \simeq 0.1\,eV$ è stato fornito da Prohofsky[Pro 95], con dipendenza dal tipo di legame idrogeno e dalla coppia di basi, attraverso l'analisi teorica dei modi basata sul metodo dei fononi selfconsistenti. Dunque, mentre gli ordini di grandezza di D e K sono ben determinati,la costante piú difficile da valutare é E. La discussione sul suo valore sará ripresa nel capitolo 3 e nel capitolo 5.

Nel modello PB i parametri D ed E e ρ sono fissati per ottenere una data temperatura di denaturazione. Valori forniti in letteratura sono ad esempio $D = 0.04eV, E =$

$0.04eV\,\text{Å}^{-2}, \rho = 0.5$ [Dau 93a],[Zha 97] $D = 0.03eV E = 0.06eV\,\text{Å}^{-2}, \rho = 1$ [Dau 95]. $D_{AT} = 0.05eV$, $D_{GC} = 0.07eV$ $E = 0.025eV\,\text{Å}^{-2}, \rho = 2$[Cam 98] .

2.0.3 Vibrazioni di apertura e torsione nel DNAB

Mettendo insieme i tre potenziali possiamo dare una valutazione dell'ordine di grandezza delle fluttuazioni termiche sul raggio e sull'angolo nel DNAB.

Nello stato legato ($r < 10.5$Å) le costanti di forza del potenziale di Morse ($D \times a^2$) e dell'interazione di impilamento E sono dello stesso ordine di grandezza e permettono fluttuazioni termiche (a costo energetico di $1k_B T$) dell'ordine di 0.1 Å nel raggio di una coppia di basi, intorno al valor medio $\langle r_n \rangle \simeq 10.01$, (vedi fig 2.2) o in quella dell'apertura relativa rispetto alla coppia di basi adiacente dell'ordine di 0.2Å intorno al valor medio $r_n - r_{n-1} = 0$ (vedi fig 2.3).

Come mostrato in figura 2.5 le barriere di potenziale di scheletro sono irrilevanti su fluttuazioni radiali di questo ordine di grandezza intorno a $r = 10$ Å. La costante di forza del potenziale di scheletro K fissa invece le fluttuazioni della distanza assiale tra due basi ad un'ampiezza dell'ordine di 1 Åe come mostrato in figura 2.4 ($r = 10$ Å) le fluttuazioni termiche angolari ad una ampiezza dell'ordine di 0.1 rad intorno al valore $\langle \theta \rangle \simeq 0.61$ rad.

2.0.4 Descrizione della fase denaturata

Un'altra scala spaziale è in gioco nella descrizione della fase denaturata: quella di valori radiali superiori a 20 Å. Su questa scala l'unico potenziale a cui sono sottoposti i gradi di libertà angolari e quelli radiali è quello dello scheletro ed in particolar modo la condizione di vincolo rigido, cioè le divergenze del potenziale. Come mostrato in figura 2.4 l'angolo di *twist* tende a zero cioè si perde la struttura a doppia elica , e come verrà più ampiamente descritto nel paragrafo 3.3.4 il potenziale di scheletro riproduce bene una fase denaturata puramente entropica.