Estimation de la rigidité de torsion de l'ADN

Sébastien Neukirch
Institut de Mathématiques Bernoulli,
École Polytechnique Fédérale de Lausanne,
CH-1015 Lausanne, Suisse
et
Laboratoire de Physique Statistique,
École Normale Supérieure,
F-75231 Paris CEDEX *05, France.*
sebastien.neukirch@lps.ens.fr

Résumé

Nous utilisons un modèle de tige élastique avec contact pour décrire les expériences d'étirement sous contrainte de torsion d'une molécule unique d'ADN. Ces expériences consistent à mesurer la distance bout à bout, notée z, de la molécule d'ADN en fonction du nombre n de tours de torsion qui lui est imposé. A fort sur-enroulement la courbe $z(n)$ est une droite de pente négative : la distance entre les deux extrémités de la molécule décroît linéairement avec n. Ceci correspond à la formation d'une structure en plectonèmes : enroulement en hélice de la molécule sur elle-même. Notre modèle reproduit cette réponse de sur-enroulement et permet d'extraire des données expérimentales : (1) le rayon ρ de sur-enroulement (qui est supérieur ou égal au rayon cristallographique de l'ADN) et (2) la rigidité en torsion K_3 de la molécule d'ADN. Il ressort que ρ dépend de la force d'étirement et de la nature de la solution tampon utilisée, alors que K_3 décroît avec cette dernière.

1 Introduction

La molécule d'ADN est tout d'abord le porteur de nos caractères héréditaires et nombre de recherches en génétique ne prennent pas (encore ?) en compte ses propriétés mécaniques. Néanmoins lorsqu'il s'agit de comprendre comment un double brin d'ADN de presque deux mètres de long est saucissonné dans un noyau de $10\,\mu m$ de rayon, il devient nécessaire de considérer ses propriétés physiques, en particulier le fait que la double hélice d'ADN est un filament élastique de grand rapport d'aspect qui peut s'enrouler sur lui-même ou autour d'autres structures (e.g. histones). De plus les propriétés élastiques de l'ADN jouent un rôle important dans la dynamique de divers processus cellulaires tels que la réplication ou la transcription. Bien que les caractéristiques principales de la molécule d'ADN aient été découvertes dans les années suivant l'établissement de la géométrie en double hélice, c'est seulement lors de la dernière décennie que quelques groupes dans le monde, au moyen de différentes micro-techniques, ont acquis la maîtrise nécessaire pour manipuler des molécules isolées.

Une première façon de manipuler une molécule unique d'ADN est d'attacher une bille de polystyrène à chacune de ses extrémités. Une des billes est maintenue par aspiration à l'embouchure d'une micro-pipette, tandis que l'autre est piégée dans un faisceau laser fortement localisé. A l'aide d'un dispositif piézo-électrique, on déplace la micro-pipette tout en mesurant la force appliquée via le déplacement de la bille dans le piège optique. Cet appareillage est souvent appelé *pinces optiques* [1].

Il apparaît évident que les propriétés mécaniques d'une molécule d'ADN dépendent de la séquence de paires de bases dont celle-ci est constituée. Cependant pour des assemblages comprenant plusieurs centaines de paires de bases, le comportement de la molécule en solution est décrit de manière satisfaisante par le modèle du ver [2]. Dans ce modèle, l'ADN est considéré comme un polymère semi-flexible doté d'une longueur de persistance en flexion notée A. Le long d'un polymère semi-flexible l'orientation relative moyenne de deux segments diminue exponentiellement avec la distance curviligne qui les sépare. La longueur de persistance est la longueur caractéristique de décroissance. Elle correspond au rapport entre la rigidité de courbure K_0 du polymère (vu comme une tige élastique) et l'énergie thermique $k_B T$, ainsi $K_0 = A\, k_B T$. Une valeur couramment acceptée est $A = 50\, nm$ en solution tampon physiologique.

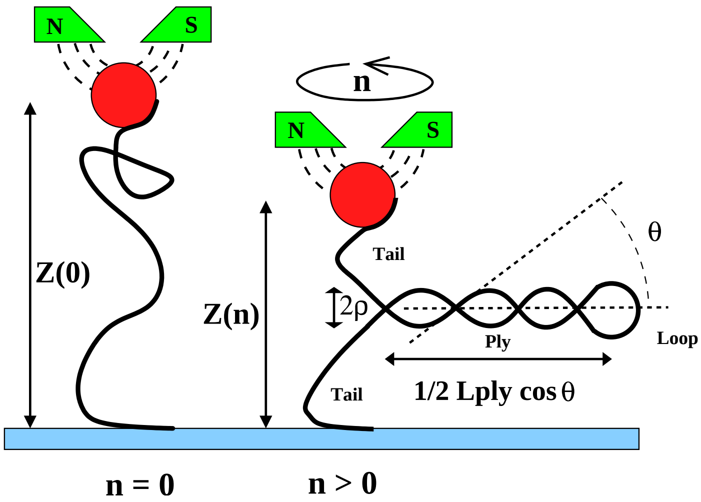

FIG. 1 – *Principe de l'expérience d'étirement sous contrainte de torsion à l'aide d'un aimant.*

Une autre façon de micro-manipuler une molécule unique d'ADN est d'utiliser *une pince magnétique* [3]. A l'aide de liguants chimiques, la molécule est alors "agrafée" sur une plaque de verre à un bout tandis que l'autre extrémité est "collée" à une bille paramagnétique. La bille est contrôlée par un aimant que l'on peut tourner pour introduire une contrainte de torsion dans le système. L'aimant exerce aussi une force verticale de tension sur la bille, force dont on règle l'intensité en changeant la distance aimant-bille. La distance séparant les deux extrémités de la molécule, *l'extension spatiale*, est mesurée grâce à un microscope qui en fait évalue la distance entre la bille et la plaque de verre. Les expériences, réalisées à force constante, consistent à graduellement tourner l'aimant autour d'un axe vertical tout en suivant l'extension spatiale Z de la molécule sous contrainte (voir fig. 1). La force est déduite du mouvement Brownien de la bille. On reporte sur un diagramme l'extension relative $z = Z/L$ (où L est la longueur cristallographique de la molécule) en fonction du nombre de tours n imposés à l'aimant. Tant que l'on ne tourne pas l'aimant, $n = 0$ (ce qui revient d'après l'équivalence des ensembles thermodynamiques, à n'imposer aucune contrainte de torsion) et l'ADN se comporte comme une chaîne semi-flexible, i.e. l'extension relative z est fonction de la température, de la longueur de persistance A et de la force de tension appliquée f :

$$z(n=0) = 1 - \left(\frac{4\, k_B T}{A\, f}\right)^{\frac{1}{2}}, \tag{1}$$

voir par exemple [4]. On utilise cette relation pour extraire la longueur de persistance A des données expérimentales. Puis lorsqu'on augmente la rotation, l'extension z décroît avec le nombre de tours et finalement la molécule en vient à s'enrouler sur elle-même. L'axe de la double hélice décrit alors lui-même une (super-) hélice, on parle de sur-enroulement. Chaque demi pas d'hélice est appelé un *plectonème*. Plusieurs travaux ont décrit cette expérience, introduisant les concepts de modèle du ver avec torsion [5] ou de marche au hasard biaisée par la torsion [6] mais sans jamais prendre en compte réellement la possibilité de contact de la chaîne avec elle-même, ou alors en introduisant les plectonèmes de manière ad-hoc [4].

2 Modèle pour le sur-enroulement

Nous présentons ici un modèle élastique qui prend en compte la possibilité de contact de l'ADN, mais néglige les fluctuations thermiques. Nous insistons sur le fait que, dans le régime où les plectonèmes sont formés, toute la physique nécessaire pour décrire quantitativement le sur-enroulement semble être présente dans ce modèle élastique avec contact et à température nulle. Au vue de la géométrie des paires de bases de l'ADN, il semble que si l'on veut considérer cette molécule comme une tige élastique, la section de cette tige ne doit par être prise symétrique, i.e. la tige à deux rigidités de courbure K_1 et K_2 différentes. Toutefois il a été montré que si l'on a affaire à une molécule d'ADN suffisamment longue (plusieurs dizaines de paires de bases), on peut utiliser un modèle effectif ne comprenant qu'une seule rigidité de courbure, celle-ci étant la moyenne harmonique de deux rigidités de départ [7] : $K_0^{-1} = (K_1^{-1} + K_2^{-1})/2$. Ainsi, afin de se concentrer sur le sur-enroulement, nous considérons ici le modèle de tige élastique le plus simple qui prenne en compte les effets de torsion et puisse avoir des déformations spatiales. Nous appuyant sur l'appellation classique d'*elastica d'Euler*, nous introduisons ici le terme d'*elastica de Kirchhoff* pour le présent modèle [8]. L'énergie de déformation élastique s'écrit :

$$E = \frac{1}{2} \int_0^L \left(K_0 \, \kappa^2(s) + K_3 \, \tau^2(s) \right) ds \tag{2}$$

où s est l'abscisse curviligne, $\kappa(s)$ la courbure de la ligne centrale et $\tau(s)$ la torsion du matériau (contenu dans la section d'abscisse s) autour de la ligne centrale, différente de la torsion géométrique de Frenet qui elle est la simple torsion géométrique de la ligne centrale. Dans le cas d'un elastica de Kirchhoff τ est une constante de s. Enfin K_0 et K_3 sont les rigidités de courbure et de torsion, repectivement. Les équations d'équilibre de Kirchhoff s'écrivent :

$$\boldsymbol{F}'(s) + \boldsymbol{p}(s) = \boldsymbol{0} \tag{3}$$
$$\boldsymbol{M}'(s) + \boldsymbol{R}'(s) \times \boldsymbol{F}(s) = \boldsymbol{0} \tag{4}$$

où $\boldsymbol{F}(s)$ and $\boldsymbol{M}(s)$ sont la force et le moment internes. La force externe par unité de longueur $\boldsymbol{p}(s)$ permet d'introduire l'effet d'une répulsion électrostatique, de la pesanteur, ou d'un contact de type cœur dur. La ligne centrale de la tige, notée $\boldsymbol{R}(s)$, a une tangente notée $\boldsymbol{t}(s) = \boldsymbol{R}'(s)$. Dans le cas d'un elastica de Kirchhoff, on peut montrer [9] que :

$$K_0 \, \boldsymbol{t}'(s) = \boldsymbol{M}(s) \times \boldsymbol{t}(s) \tag{5}$$
$$K_0 \, \boldsymbol{d_1}'(s) = \left(\boldsymbol{M}(s) - \tau \, (K_3 - K_0) \, \boldsymbol{t}(s)\right) \times \boldsymbol{d_1}(s) \tag{6}$$

où $\boldsymbol{d_1}(s)$ est un vecteur de norme unité, appartenant à la section droite de la tige et permettant de suivre la torsion de cette section autour de la ligne centrale. Pour une molécule d'ADN, ce vecteur est généralement pris comme pointant continuellement vers le grand sillon. Pour les parties de la tige qui sont libres de contact et de tout autre

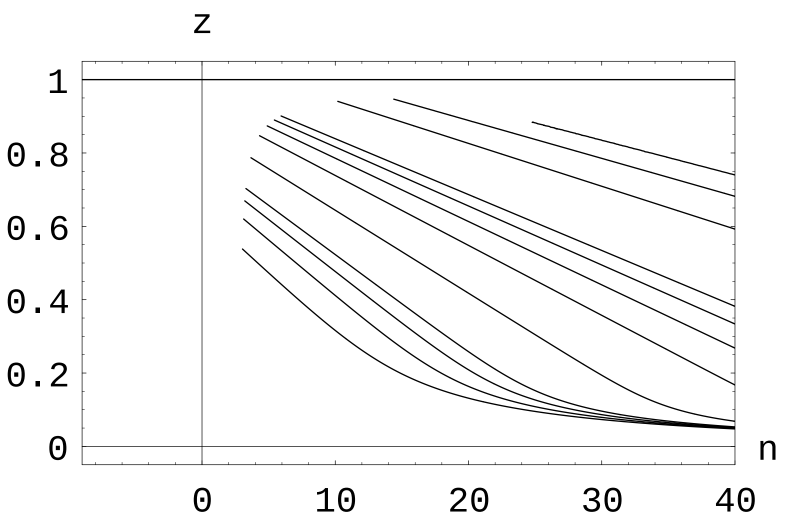

FIG. 2 – *Résultats numériques : extension relative z en fonction du nombre de tours n pour différentes valeurs de la tension f, mais à rapport d'aspect fixé $L = 3400\,\rho$.*

influence externe, on a $\boldsymbol{p}(s) \equiv \mathbf{0}$ et le vecteur force est constant de s. On note ρ le rayon de la section circulaire de la tige. Dans le cas d'un contact reflexif, il y a deux points le long de celle-ci, disons d'abscisse curviligne s_1 et s_2, qui sont à distance 2ρ l'un de l'autre : $|\boldsymbol{R}(s_1) - \boldsymbol{R}(s_2)| = 2\rho$. Au point d'abscisse s_1, nous imposons un saut vectoriel pour la force $\boldsymbol{F}(s)$:

$$\boldsymbol{F}(s < s_1) = \boldsymbol{F}(s > s_1) + \frac{\Delta F_{12}}{2\rho}\,(\boldsymbol{R}(s_1) - \boldsymbol{R}(s_2)) \qquad (7)$$

où ΔF_{12} est un réel positif. Le même traitement est réalisé au point s_2, avec la même intensité ΔF_{12} [9, 10]. Cela revient à introduire un delta de Dirac pour la force externe $\boldsymbol{p}(s)$. Dans le cas où le contact a lieu sur une partie continue de la tige, $\boldsymbol{p}(s)$ est une fonction vectorielle dont l'intensité et la direction sont continûment variables. Nous ne considérons ici que des cas où le contact entre deux parties de la tige intervient en des points isolés ou le long de lignes droites. Ce modèle a déjà été utilisé [11, 12] et est longuement décrit dans [10].

A priori nous cherchons des configurations d'équilibre d'un elastica de Kirchhoff qui satisfont aux conditions de bords correspondant à l'expérience d'étirement avec pince magnétique. Cependant dans le cas d'une tige à grand rapport d'aspect ($L \gg \rho$) soumise à une forte rotation ($n \gg 1$), les détails géométriques des conditions de bords importent peu. Nous choisissons donc des conditions d'ancrage fixe à bords alignés que nous avons déjà utilisées [9]. Nous isolons numériquement les configurations d'équilibre admissibles à l'aide de méthodes classiques de cheminement; tout d'abord en utilisant un algorithme "maison" construit sur une méthode de tir multiple, puis en faisant appel au code AUTO [13] qui discrétise le problème différentiel avec conditions de bords en suivant un schéma introduisant des polynômes de bas degré comme éléments finis. Différents types de solutions (droites, flambées, sur-enroulées) sont rencontrées. Nous commençons avec une tige droite sans rotation ($n = 0$). Puis nous tournons (numériquement s'entend) la tige graduellement (n croît). Pour une certaine valeur critique de n, l'ensemble des solutions droites intersecte (dans l'espace des paramètres) la courbe correspondant aux configurations flambées. Si l'on suit cette nouvelle courbe, on en croise une troisième, cette fois correspondant à des configurations à un point de contact. Cette dernière courbe croisera, plus loin dans l'espace des paramètres, la courbe des configurations à deux points de contact. Nous avons trouvé des solutions allant jusqu'à trois points distincts de contact [9]. Finalement ces solutions bifurquent vers des solutions développant une ligne continue de contact, que nous appelons *configurations sur-enroulées*. Dans une telle solution, les parties en contact continu ont une forme hélicoïdale. Deux parties de la tige se font face et s'enroulent en hélice l'une autour de l'autre pour former une *paire torsadée*. Cette double hélice est définie par son rayon d'enroulement, qui est égal au rayon ρ de la section de la tige, et par un angle θ (voir fig. 1). Chaque fois que l'on change le rapport d'aspect (L/ρ) de la tige ou la force de tension appliquée f, la continuation numérique doit être complètement recommencée. Etant donné que nous négligeons les effets de fluctuation thermique, la première partie de notre courbe de réponse numérique (i.e. à faible n) ne correspond pas à la courbe en chapeau trouvée expérimentalement. En revanche notre modèle reproduit précisément la partie de la courbe de réponse (n,z) où l'extension relative z décroît linéairement avec le nombre de tours n. Il suffit pour cela de considérer le rayon ρ non pas comme le rayon cristallographique de l'ADN mais comme un rayon effectif de sur-enroulement incorporant les effets aussi bien de répulsion électrostatique qu'entropiques.

3 Une formule pour la réponse plectonémique

On vérifie numériquement que pour une courbe à f et L/ρ donnés, l'angle hélicoïdal θ ne varie pas avec n. Nous avons conduit un nombre important de continuations numériques de façon à estimer la dépendance de l'angle hélicoïdal θ par rapport aux paramètres libres f, ρ (voir fig. 2). Puis nous avons fait varier continûment la force de tension f à rayon de sur-enroulement ρ fixé et ensuite nous avons fait varier ρ à f fixe. Enfin, en ajustant les résultats numériques (comme dans [14]) nous trouvons que θ dépend de f, ρ et K_0 de la façon suivante :

$$f = \frac{K_0}{\rho^2}\,\phi_3(\theta) \text{ avec } \phi_3(\theta) = 1.65805\,\theta^4 \,. \tag{8}$$

En fittant les données expérimentales à $n = 0$ avec la formule (1), on obtient que pour une solution tampon de phosphate à 10 mM, la rigidité de courbure vaut $K_0 = 51\,nm\,k_BT$ alors que pour une solution tampon de phosphate à 150 mM et de magnésium à 5 mM, la rigidité de courbure vaut $K_0 = 57\,nm\,k_BT$. Si maintenant on utilise la formule (8) couplée à une décomposition du nombre d'enlacements de la molécule d'ADN en twist et vrillage (formule de Călugăreanu), on peut extraire le rayon effectif d'enroulement ρ et la rigidité de torsion K_3 de chacune des courbes de réponse expérimentales [15]. On obtient, pour la solution tampon de phosphate à 10 mM, une rigidité de torsion valant $K_3 = (90 \pm 10)\,nm\,k_BT$, et pour la solution tampon de phosphate à 150 mM et de magnésium à 5 mM, une rigidité de torsion valant $K_3 = (60 \pm 2)\,nm\,k_BT$. On voit ainsi que si la rigidité de courbure de l'ADN ne varie apparemment pas de manière importante avec le type et la concentration de la solution tampon qui la baigne, il apparaît que la rigidité de torsion, elle, y est sensible. Nous pouvons donc faire l'hypothèse que la contribution électrostatique à la rigidité de torsion est importante, contrairement à ce qui a été avancé [16].

Je remercie ici Gilles Charvin, Vincent Croquette et David Bensimon de m'avoir fourni des données expérimentales parfois non encore publiées.

Références

[1] Stephen R. Quake, Hazen Babcock, and Steven Chu. The dynamics of partially extended single molecules of DNA. *Nature*, 388:151–154, 1997.

[2] O. Kratky and G. Porod. Rontgenuntersushung geloster fagenmolekule. *Rec. Trav. Chim.*, 68:1106–1123, 1949.

[3] T. R. Strick, J.-F. Allemand, D. Bensimon, A. Bensimon, and V. Croquette. The elasticity of a single supercoiled DNA molecule. *Science*, 271:1835–1837, 1996.

[4] J. F. Marko and E. D. Siggia. Statistical mechanics of supercoiled DNA. *Phys. Rev. E*, 52(3):2912–2938, 1995.

[5] C. Bouchiat and M. Mézard. Elastic rod model of a supercoiled DNA molecule. *Eur. Phys. J. E.*, 2:377–402, 2000.

[6] J. David Moroz and Philip Nelson. Torsional directed walks, entropic elasticity, and DNA twist stiffness. *PNAS*, 94:14418, 1997.

[7] S. Kehrbaum and J. H. Maddocks. Effective properties of elastic rods with high intrinsic twist. In Michel Deville and Robert Owens, editors, *Proceedings of the 16th IMACS World Congress 2000*, 2000. ISBN 3-9522075-1-9.

[8] Sébastien Neukirch and Michael E. Henderson. Classification of the spatial clamped elastica: symmetries and zoology of solutions. *Journal of Elasticity*, 68:95–121, 2002.

[9] G. H. M van der Heijden, S. Neukirch, V. G. A. Goss, and J. M. T. Thompson. Instability and self-contact phenomena in the writhing of clamped rods. *Int. J. Mech. Sci.*, 45:161–196, 2003.

[10] B. D. Coleman and D. Swigon. Theory of supercoiled elastic rings with self-contact and its application to DNA plasmids. *Journal of Elasticity*, 60:173–221, 2000.

[11] D. M. Stump, W. B. Fraser, and K. E. Gates. The writhing of circular cross-section rods: undersea cables to DNA supercoils. *Proc. R. Soc. Lond. A*, 454:2123–2156, 1998.

[12] Zolt Gáspár and R. Németh. A special shape of a twisted ring. In *Proc. of 2nd European Conference on Computational Mechanics*, page 11, Cracow, Poland, June 26-29 2001. CD.

[13] Eusebius Doedel, Herbert B. Keller, and Jean Pierre Kernevez. Numerical analysis and control of bifurcation problems (i) bifurcation in finite dimensions. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 1(3):493–520, 1991.

[14] D. M. Stump and W. B. Fraser. Multiple solutions for writhed rods: implications for DNA supercoiling. *Proc. R. Soc. Lond. A*, 456:455–467, 2000.

[15] Sébastien Neukirch. Extracting DNA twist rigidity from experimental supercoiling data. arXiv: q-bio.BM/0402036, 2004.

[16] Ramin Golestanian and Farshid Mohammad Rafiee. Electrostatic contribution to twist rigidity of DNA. arXiv: cond-mat/0305234, 2003.