

Filaments enroulés en paires torsadées : application aux plasmides d'A.D.N.

S. Neukirch, J. M. T. Thompson et G. H. M. van der Heijden

*Centre for Nonlinear Dynamics and its Applications, University College London
Gower Street, London WC1E 6BT, U.K. s.neukirch@ucl.ac.uk*

Résumé

L'étude des configurations d'équilibre de filaments soumis à des contraintes de torsion et tension peut être appliquée aux brins d'A.D.N. si l'on considère la double hélice comme un filament élastique plein. Pour expliquer le sur-enroulement de l'A.D.N., le modèle doit alors prendre en compte la possibilité de contact du filament avec lui-même. Récemment des configurations d'équilibre de filaments clos en boucle ont été calculées en prenant en compte une force de contact sans friction [2].

Sous certaines conditions, le filament peut s'enrouler sur lui-même le long d'une ligne de contact. Les deux brins peuvent alors être considérés comme un système élastique à part entière: un toron de 2 fils ou paire torsadée. Pour ce système nous établissons par une analyse énergétique la relation entre l'angle d'enroulement et la torsion dans les deux filaments. L'extension de ce résultat à une paire torsadée soumise à un couple et à une tension externes nous permet d'établir une relation de constitution qui relie la longueur et l'enroulement de la paire à la charge appliquée. Des expériences avec des filaments élastiques montrent un très bon accord avec le modèle théorique.

L'application de ce modèle aux plasmides d'A.D.N. à fort twist permet de calculer une approximation du lien topologique d'un plasmide à partir de la simple donnée de l'angle d'enroulement.

1 Introduction

Les propriétés biologiques d'une molécule d'A.D.N. dépendent fortement de sa configuration spatiale. Par exemple lors de la phase de transcription, la molécule d'A.D.N. voit l'A.R.N. polymérase passer à travers elle, ce qui implique une rotation de plusieurs tours/seconde, rotation qui crée une contrainte de torsion importante.

La double hélice de la plus-part des molécules d'A.D.N. est orientée droite et si cette torsion intrinsèque est augmentée (diminuée) par les contraintes extérieures on dit que la molécule est sur-enroulée (sous-enroulée). Le sur-enroulement tend à vriller la molécule. Si celle-ci est par trop vrillée, elle devient inapte à fonctionner normalement. L'enzyme topoisomerase est là pour réguler la torsion de l'A.D.N. suivant les besoins immédiats de la cellule.

La structure et les propriétés mécaniques de la molécule d'A.D.N. peuvent être étudiée à plusieurs échelles. Si l'on considère un brin de grande longueur, les déformations spatiales ont lieu à un niveau où la structure interne en double hélice peut être oubliée et où on peut considérer la molécule comme un filament élastique. De nombreux travaux ont été réalisés récemment sur la modélisation de la molécule d'A.D.N. comme longue fibre élastique [2, 3, 4, 5, 6].

Lorsqu'un filament initialement droit est soumis à une contrainte de torsion, sa première réponse est d'encaisser la torsion en tournant sur lui même. Néanmoins si la

torsion devient trop grande le filament va flamber en 3D, partageant l'énergie potentielle qu'on lui impose en une énergie de torsion et une énergie de courbure. Si la torsion est encore augmentée la déformation globale du filament est telle qu'il entre en contact avec lui-même. Le filament commence alors à s'enrouler sur lui-même [7] formant des plectonèmes. Les points de self-contact sont d'abord isolés le long du filament puis, après un certain nombre limite, le contact se fait linéique, le filament s'enroulant sur lui-même en hélice pour former une paire torsadée. Ceci a été observé numériquement [8] et expérimentalement [9] pour des filaments tenus à leurs extrémités de manière à pouvoir varier la distance entre ces extrémités mais aussi pouvoir tourner les extrémités l'une par rapport à l'autre.

Dans certains cas une molécule d'A.D.N. peut se refermer sur elle-même de manière à former un plasmide. Une fois refermée, l'enzyme topoisomerase peut agir pour augmenter le lien topologique et par là former des plectonèmes. Ces configurations de plasmides avec contact ont été calculées [2] en modélisant l'A.D.N. comme un filament élastique et les configurations en hélice (paires torsadées) apparaissent dès que le nombre de point de contact est supérieur à trois [6].

Tout d'abord, nous montrons comment on peut facilement obtenir la configuration d'équilibre d'une paire torsadée que celle-ci soit ou non soumise à une contrainte extérieure. Puis nous vérifions expérimentalement le résultat obtenu en soumettant une paire torsadée en silicone à une charge en tension. Enfin nous montrons comment notre résultat peut servir à donner une approximation du lien topologique et du vrillage d'un plasmide d'A.D.N. depuis un cliché au microscope à balayage électronique.

2 Modélisation de la paire torsadée

Nous voulons calculer les configurations d'équilibre de la paire torsadée en fig. 1. Nous utilisons des hypothèses d'élasticité classiques : filament hyperélastique, relation de constitution linéaire entre contraintes et déformations, inextensibilité du filament. La gravitation n'est pas prise en compte ni les effets de déchirement. De plus le filament est considéré à section symétrique. Nous nous restreignons au cas où le contact sur fait le

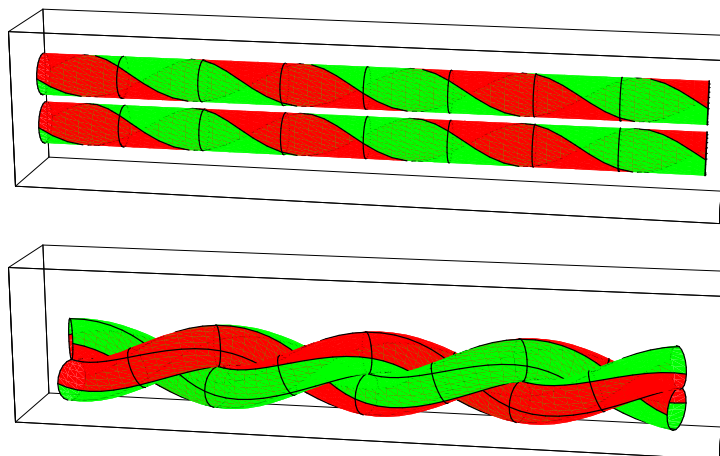


FIG. 1 – Deux filaments originaires droits et tournés (fig. du haut), qui s'enroulent spontanément pour former une paire torsadée (fig. du bas), de façon à réduire la torsion.

long d'une ligne droite. Chacun des deux filaments est donc enroulé suivant une hélice (à angle θ fixe ou variable) de rayon r commun aux deux filaments. La force de contact est sans friction, elle agit perpendiculairement à la ligne de contact.

3 Equilibre de la paire torsadée, analyse énergétique

Considérons la paire torsadée soumise à une contrainte externe de torsion (N) et de tension (G) et calculons son énergie potentielle (déformation élastique et travail des forces externes) :

$$V = V_{elas} + V_G + V_N \quad (1)$$

$\theta(s)$ est l'angle entre la tangente en un point d'abscisse curviligne s du filament et l'axe de contact \mathbf{e}_z . L'énergie élastique de déformation des deux filaments de la paire :

$$V_{elas} = 2 \int_0^L W_{elas}(s) ds \quad (2)$$

se divise en une partie due à la courbure et une partie due à la torsion :

$$W_\kappa = \frac{1}{2} EI \kappa(s)^2 \quad W_\tau = \frac{1}{2} GJ \tau(s)^2 \quad (3)$$

Une fois les deux termes $\kappa(s)$ et $\tau(s)$ calculés, l'équilibre de la paire torsadée est associé à l'extremum de V .

3.1 Courbure d'une hélice généralisée

La ligne centrale de chacun des filaments décrit une hélice dont l'angle peut varier le long du filament. La tangente \mathbf{t} de la ligne centrale s'écrit :

$$\mathbf{t}(s) = \mathbf{e}_z \cos(\theta(s)) - \mathbf{e}_z \times \mathbf{e}_r \sin(\theta(s)) \quad (4)$$

où \mathbf{e}_r est le vecteur radial orthogonal à l'axe \mathbf{e}_z de l'hélice. La tangente \mathbf{t} et sa dérivé (par rapport à l'abscisse curviligne s) $\dot{\mathbf{t}}$ permettent de calculer la courbure de l'hélice de rayon r :

$$|\mathbf{t} \times \dot{\mathbf{t}}|^2 = \kappa(s)^2 = \dot{\theta}^2 + \frac{\sin^4(\theta)}{r^2} \quad (5)$$

3.2 Lien topologique et vrillage de deux hélices

Le vrillage d'une courbe fermée décrit la façon (plus ou moins compliquée) dont cette courbe s'enroule autour d'elle même. Considérant les deux hélices comme reliées l'une à l'autre de chaque côté par un segment droit, nous pouvons écrire le vrillage de la paire torsadée comme :

$$2 \pi W_r = -\frac{L}{r} \sin(2\theta) \quad (6)$$

où L est la longueur de chacun des filaments et r leur rayon commun.

Considérons maintenant la torsion présente dans chacun des filament. Celle-ci a pour effet de tourner le filament, c'est le twist. Si nous intégrons cette torsion sur toute la longueur ($2L$) de la paire torsadée, nous obtenons simplement :

$$2 \pi T_w = 2 L \tau \quad (7)$$

car la torsion est constante le long de chacun des filaments puisque ceux ci ont été choisis à section symétrique [1].

Lorsque nous changeons la torsion (et donc T_w) dans un filament quelconque à l'équilibre, celui-ci va changer sa configuration spatiale et part là son vrillage W_r afin de retrouver une configuration d'équilibre. Néanmoins la somme $T_w + W_r$ reste constante [11]. On appelle cette somme le lien topologique :

$$L_k = T_w + W_r = \frac{\tau L}{\pi} - \frac{L}{2\pi r} \sin(2\theta) \quad (8)$$

3.3 Travail des contraintes externes

La tension externe G (parallèle à \mathbf{e}_z) appliquée à la paire torsadée fournit à celle-ci une énergie potentielle :

$$V_G = -G \ell = -G \int_0^L \cos(\theta) ds \quad (9)$$

où ℓ est la longueur de la paire torsadée. Le moment externe N (parallèle à \mathbf{e}_z) appliquée à la paire torsadée fournit à celle-ci une énergie potentielle :

$$V_N = -N n = -N \int_0^L \frac{\sin(\theta)}{r} ds \quad (10)$$

où n est la rotation (en radians) de la paire par rapport à l'axe \mathbf{e}_z .

3.4 Equation d'équilibre

Ajoutant tout les termes dans l'équation (1), nous obtenons la fonctionnelle :

$$V[\theta, \dot{\theta}] = \int_0^L W(\theta(s), \dot{\theta}(s)) ds \quad \text{avec équilibre pour} \quad \frac{\partial W}{\partial \theta} = \frac{d}{ds} \frac{\partial W}{\partial \dot{\theta}} \quad (11)$$

$$2r^2 EI \ddot{\theta} = 4EI \sin^3(\theta) \cos(\theta) + GJ \left(\frac{2\pi}{L} L_k r + \sin(2\theta) \right) \cos(2\theta) + Gr^2 \sin(\theta) - Nr \cos(\theta) \quad (12)$$

cette équation généralise [6] et [3]. L'équation (12) correspond à un système dynamique Hamiltonien dans le plan dont les trajectoires sont les courbes de niveaux du Hamiltonien et dont le 'temps' est l'abscisse curviligne s . Une configuration de la paire torsadée s'obtient en intégrant (12) entre $s = 0$ et $s = L$. Les conditions initiales $\theta(0)$ et $\dot{\theta}(0)$ et finales $\theta(L)$ et $\dot{\theta}(L)$ sélectionnent les trajectoires à considérer. Dans la limite où la longueur L devient très grande (infinie), seule les trajectoires de période infinie sont à considérer. Ces trajectoires sont soit des points fixes soit des courbes homoclines ou hétéroclines reliant ces points fixes. Pour notre problème, le point de selle du plan de phase correspondra à une paire torsadée d'angle θ constant est défini par l'équation (12) avec $\ddot{\theta} = 0$.

La paire torsadée de la fig. 1 a été construite à partir de deux filaments tournés ayant chacun un lien topologique $L_k = 3$. Pour trouver l'angle $\theta = 23.4^\circ$ qui correspond à la paire torsadée constante et sans contrainte externe, il suffit de résoudre (12) avec $\ddot{\theta} = G = N = 0$ et $L_k = 6$ (EI et GJ dépendants du matériaux).

4 Vérification expérimentale

Un test expérimental a été réalisé avec l'assistance de Ben Thompson (petit-fils d'un des auteurs). Une paire torsadée en silicone ($\frac{GJ}{EI} = \frac{2}{3}$) constituée de 20 tours est pendue à une potence. Des poids de différentes masses sont accrochés à l'extrémité inférieure de la paire afin de réaliser une charge G d'intensité ajustable. Aucun moment N n'est appliqué et la paire est lubrifiée avec de l'huile d'olive pour réduire les forces de friction. A charge nulle, la paire torsadée ressemble à celle de la fig. 1. Puis au fur est à mesure que la charge

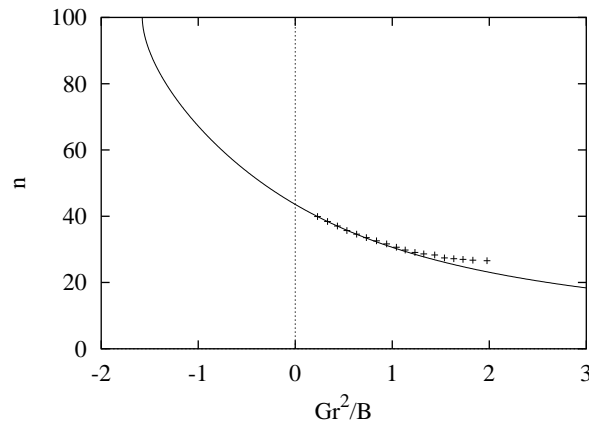


FIG. 2 – Relevés expérimentaux (croix) de la rotation n de la paire torsadée en fonction de la charge G appliquée. La courbe théorique est obtenue en remplaçant $n = \frac{L}{r} \sin(\theta)$ dans l'équation (12) avec $N = \dot{\theta} = 0$, $L_k = -20$, $\frac{L}{r} = 119$ et $\frac{GJ}{EI} = \frac{2}{3}$.

G augmente, la paire torsadée tourne sur elle même tandis que son angle θ diminue. Un relevé de la rotation de la paire en fonction de la charge est tracé en fig. 2. Les mesures expérimentales sont en très bon accord avec la courbe théorique (eq. (12) avec $N = \dot{\theta} = 0$ et $\frac{L}{r} = 119$). La séparation à forte charge est très probablement due à l'extensibilité du silicone non prise en compte dans le modèle, ainsi que la contraction de Poisson du rayon du filament.

5 Estimation du lien topologique et du vrillage d'un plasmide d'A.D.N.

Une application intéressante de l'équation (12) est l'estimation du lien topologique d'un plasmide d'A.D.N. à partir de la simple donnée de l'angle d'enroulement (θ) [10]. Un cliché au microscope à balayage électronique ressemble typiquement au filament montré en fig. 3 (qui est en fait une configuration calculée dans [6] avec $L_k = 10$). Comment peut-on à partir d'un simple cliché donner une estimation du lien topologique? Cette valeur est importante car les propriétés biologiques du plasmide dépendent fortement de L_k . A partir du cliché, il faut mesurer l'angle d'enroulement θ . Puis on résout l'équation (12) avec $N = G = \dot{\theta} = 0$ pour L_k . Il s'agit évidemment de connaître le nombre de bases dont est constitué le plasmide ainsi qu'une valeur de $\frac{GJ}{EI}$ pour l'A.D.N.



FIG. 3 – *Filament clos enroulé sur lui même [6] avec $L_k = 10$.*

6 Conclusion

Nous avons calculés les configurations d'équilibre d'une paire torsadée constituée de deux filaments identiques s'enroulant en hélice l'un autour de l'autre. Cette configuration est importante car elle apparaît dès qu'un filament est soumis à une contrainte de torsion importante. Nous avons montré comment on peut utiliser ce résultat pour estimer le lien topologique d'un plasmide d'A.D.N. enroulé sur lui même depuis la simple donnée du nombre de bases et de l'angle d'enroulement. Une extension possible serait de calculer des configurations où la ligne de contact est un cercle, les filaments s'enroulant sur un tore.

Références

- [1] S. S. Antman, *Nonlinear Problems of Elasticity* (Springer-Verlag, Berlin, 1995),
- [2] D. Swigon, B. Coleman & I. Tobias, *The elastic rod model for DNA and its application to the tertiary structure of DNA minicircles in mononucleosomes*, *Biophysical Journal* **74**, pp. 2515-2530 (1998),
- [3] D. M. Stump et W. B. Fraser, *Multiple solution for writhed rods : implications for DNA supercoiling*, *Proc. R. Soc. Lond. A* **454**, pp. 2123-2156 (2000),
- [4] P. B. Furrer, R. S. Manning et J. H. Maddocks, *DNA rings with multiple energy minima*, *Biophysical Journal* **79**, pp. 116-136 (2000),
- [5] C. Bouchiat et M. Mézard, *Elasticity model of a supercoiled DNA molecule*, *Physical Review Letters* **80**, pp. 1556-1559 (1998),
- [6] B. Coleman et D. Swigon, *Theory of supercoiled elastic rings with self-contact and its application to DNA plasmids*, *Journal of Elasticity*, in press (accepté en Nov. 2000),
- [7] S. Neukirch, G. H. M. van der Heijden et J.M.T. Thompson, *Finite size effects in the stability of twisted rods*, in preparation (2001),
- [8] G. H. M. van der Heijden, S. Neukirch et J. M. T. Thompson, *Contact and contact free configurations for the spatial elastica*, in preparation (2001),
- [9] G. Goss, *Experiments on snap buckling, hysteresis and loop formation in twisted rods*, in preparation (2001),
- [10] J. M. T. Thompson, G. H. M. van der Heijden et S. Neukirch, *Supercoiled D.N.A. plasmids : the generalised ply*, in preparation (2001),
- [11] G. Calugareano, *Sur les classes d'isotopie des noeuds tridimensionnels et leurs invariants*, *Czech. Math. J.* **11**, pp. 558-625 (1961).