

В.І. ТЕСЛЕНКО, О.Л. КАПІТАНЧУК

Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України  
(Вул. Метрологічна, 14-б, Київ 03143; e-mail: vtes@bitp.kyiv.ua)

## НАДАННЯ НАДЧУТЛИВИМ ДО ТЕМПЕРАТУРИ ПЕРЕХОДАМ У БІОЛОГІЧНИХ МАКРОМОЛЕКУЛАХ ЗМІСТУ ЕНТРОПІЙНО-КЕРОВАНИХ ПРОЦЕСІВ РОЗГОРТАННЯ

УДК 530.1, 536.1

---

*Для узгодженого виводу рівняння, яке характеризує термодинамічну ймовірність надчутливих до температури ентропійно керованих процесів розгортання використано двокоординатне наближення, яке ґрунтується на термодинамічному підході до опису конформаційних переходів у фізіологічно значущих біологічних макромолекулах. Показано, що з точністю до введених параметрів це рівняння збігається з рівнянням, яке отримано з використанням мікроскопічного підходу. Результати розрахунків порівнюються з експериментальними даними.*

*Ключові слова:* термочутливість, ентропійно керовані процеси, біологічні макромолекули.

### 1. Вступ

Загальновідомо, що замкнена динамічна (механічна) система прямує до рівноважного стану завдяки спонтанним процесам, що відбуваються в ній. У результаті потенціальна енергія системи повинна зменшуватися, досягаючи свого мінімуму, і процес досягнення рівноваги системою керується ентальпією. З іншого боку, якщо система обмінюється речовиною або енергією з навколишнім середовищем (наприклад, біологічна система), то така система є відкритою. Отже, ентропія системи відіграє визначальну роль таким чином, що її значення збільшується до досягнення свого максимуму. Тому в цьому випадку процес рівноваги системи керується ентропією. Крім того, з термодинамічної

точки зору, процес, що керується ентальпією, приводить систему до такого рівноважного стану, заселеність якого не збільшується з температурою, тоді як процес, керований ентропією, приводить систему до такого рівноважного стану, заселеність якого зростає з температурою. Іноді останнє явище дуже виражене, так що в цьому випадку можна навіть говорити про зумовлену ентропією температурну надчутливість системи.

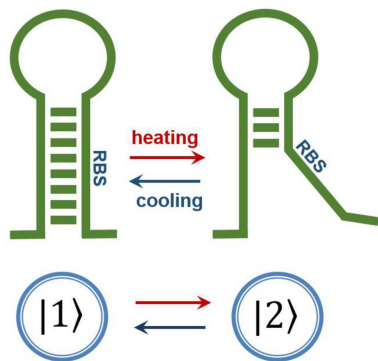
Схематичний приклад, що ілюструє ентропійно зумовлені надзвичайно чутливі до температури переходи між розгорнутою та згорнутою конформаціями молекули мРНК, показано на рис. 1. Примітно, що саме ці молекули мРНК специфічних бактеріальних мікроорганізмів мають унікальну властивість надзвичайно різко регулювати швидкість ініціації трансляції зі зміною температури навколишнього середовища. Така властивість цих мРНК, які завдяки цьому називають РНК-термометрами, визначається їхніми специфічними структурними особливостями й послідовністю азотистих основ. Було встановлено, що найважливішим етапом процесу термосенсорики є плавлення

---

Цитування: Тесленко В.І., Капітанчук О.Л. Надання надчутливим до температури переходам у біологічних макромолекулах змісту ентропійно-керованих процесів розгортання. *Укр. фіз. журн.* 71, № 5, 423 (2026).

© Видавець ВД "Академперіодика" НАН України, 2026. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

*ISSN 2071-0194. Укр. фіз. журн. 2026. Т. 71, № 5*



**Рис. 1.** Схематичне представлення структурних елементів РНК, що зазнають переходів згортання-розгортання, які маскують або демаскують місце зв'язування рибосоми (МЗР) у відповідь на зміну температури. Переходи, показані нижньою або верхньою стрілкою (термометр), можуть бути пов'язані зі станами  $|1\rangle$  або  $|2\rangle$  відповідно у рівнянні 1

ділянки зв'язування рибосом мРНК [1–3] шляхом ініціювання процесу розгортання, як показано на рис. 1. Однак бракує розуміння базового фізичного механізму, який лежить в основі цього явища плавлення, а також того, якою мірою різні підходи, запропоновані на сьогодні для переходів у молекулах мРНК, можна вважати загальноприйнятими чи незвичайними з термодинамічної точки зору, навіть для найпростішого двоконфігураційного наближення, як показано на рис. 1.

У цій роботі ми використовуємо двоконфігураційне наближення при виведенні узгодженого рівняння, що визначає термодинамічну ймовірність керованого ентропією процесу розгортання. Це рівняння порівнюється з рівнянням, отриманим у мікроскопічному підході двох станів, і з експериментальними даними. Отримані результати обговорюються, і робляться відповідні висновки.

## 2. Термодинамічна ймовірність ентропійно керованої розгорнутої конфігурації

Для аналізу різних можливостей опису експериментальних даних щодо розгортання молекул РНК, почнемо з простої, але загальної моделі з двома станами для знаходження ймовірностей того, що РНК перебуває в різних структурних станах,  $|j = 1\rangle$  і  $|j = 2\rangle$ , визначених відносно основ, що беруть участь у спарюванні. Пов'яжемо стан  $|1\rangle$  зі стеблоподібною структурою, у якій всі основи спа-

рені, тобто розглядаючи як термочутливу область таку структуру, яка секвеструє ділянку зв'язування рибосоми (ribosome binding site, RBS) гена. З іншого боку, стан  $|2\rangle$  пов'язаний з відкритою структурою РНК, коли деякі специфічні кислотно-основні залишки не є спареними (наприклад, показано, що залишок гуаніну репресора експресії генів теплового шоку в положенні 83, спарений навпроти послідовності Шайна–Далгарно в структурі шпильки, відіграє ключову роль у здатності РНК змінювати свою експресію зі зміною температури [1,3–5]). Отриману кінетичну схему переходів між такими узагальненими станами можна представити таким чином:

$$|1\rangle \rightleftharpoons |2\rangle. \quad (1)$$

Нехай кожен стан  $|j = 1, 2\rangle$  у схемі (1) характеризується вільною енергією макромолекули

$$G_{j=1,2} = (j - 1)(\epsilon - \mu) \equiv (j - 1)(\Delta H - T\Delta S), \quad (2)$$

яка є адитивною сумою всіх відповідних внесків власної енергії  $\epsilon$  (ентальпії  $\Delta H$ ) і хімічного потенціалу  $\mu$  (парціальної ентропії  $\Delta S$ ) при заданій температурі  $T$ . Як правило, останні величини зростають з кожним окремим актом розпаровування основ на величину, що приблизно дорівнює  $\epsilon - \mu$  і залишається однаковою для всіх пар основ. Таке припущення підтверджується висновком, що внески ентальпії та ентропії пар основ у приріст теплоємності дуплексу ДНК (аналогічно стеблоподібній структурі РНК) є адитивними й однаковими для пар основ АТ та СГ [6]. Використаємо позначення

$$P_j(T) = \frac{\exp\left(-\frac{G_j}{RT}\right)}{\sum_j \exp\left(-\frac{G_j}{RT}\right)}$$

для температурної залежності ймовірності Гіббса для стану  $|j\rangle$ . Тоді, загальна ймовірність  $P_2(T) = 1 - P_1(T)$  для наявної в РНК розплавленої (тобто розгорнутої) структури пар основ матиме вигляд

$$P_2(T) = \left\{ 1 + \exp\left[\frac{(\Delta H/T - \Delta S)}{R}\right] \right\}^{-1}, \quad (3)$$

де  $R \approx 8,314$  Дж/(моль · К) – газова стала.

Порівняємо отриманий вище розподіл з його аналогами, відомими в літературі для РНК-

термометрів. Однак тут слід зазначити, що існують два сценарії опису даних. Один із цих сценаріїв, який зазвичай використовується в більшості робіт – це компенсація ентропії-ентальпії. Він стверджує, що сувора кореляція між внесками ентропійних та ентальпійних приростів має першочергове значення для апроксимації даних за температурою. За великих, а також корельованих змін ентропії та ентальпії – таких що виконується співвідношення  $\Delta S \sim \Delta H/T \gg R$  – рівняння (3) добре описує експериментальні дані. Дійсно, компенсація ентальпії та ентропії за температури плавлення  $T_m$  як  $\Delta S = \Delta H/T_m$  надає формулі (3) вигляду

$$P_2(T) = \frac{1}{2} \left\{ 1 + \tanh \left[ \frac{(T_m^{-1} - T^{-1})\Delta H}{2R} \right] \right\}. \quad (4)$$

Примітно, що саме цей вираз був використаний для апроксимації експериментальних кривих у роботі [7] для процесу розгортання (плавлення) РНК-термометра ціанобактерій hsp17 з такими термодинамічними параметрами:  $\Delta H = 431$  ккал/моль,  $\Delta S = 1278$  Дж/(моль · К),  $T_m = 64$  °С. У цьому випадку, як критерій кореляції ентропії-ентальпії, так і умова компенсації приростів ентропії та ентальпії за температури плавлення,  $\Delta S/R = \Delta H/(RT_m) \approx 154 \gg 1$ , виконуються, що додатково безпосередньо вказує на вірогідність результатів дослідження.

Водночас це порушує принципове питання: якщо експериментальні дані добре описуються співвідношенням (4), що передбачає кореляцію ентропія-ентальпії, то чому автори дослідження [7] не використали фізичну модель для пояснення цих добре компенсованих змін ентальпії  $\Delta H$  та ентропії  $\Delta S$ ? Крім того, обидві ці величини здаються занадто великими, щоб задовольняти фундаментальним припущенням будь-якої моделі розгортання ДНК/РНК. Однак, з іншого боку, вони навряд чи узгоджуються з експериментальними даними щодо значень їх приростів. Наприклад, як було встановлено в роботі [6], обидва ці значення виявилися приблизно в двадцять разів меншими за ті, які можна було б вважати описом надзвичайно крутих кривих плавлення в РНК-термометрах (пор. з роботами [6, 7]).

Інший сценарій відтворення крутих кривих розгортання РНК-термометрів – це сценарій, керований ентропією. Він вказує на вірогідне збільшення ролі ентропії завдяки її лінійному зростанню

зі зміною температури, що спостерігається в багатьох органічних матеріалах, таких як скло або полімери [8]. У цьому випадку можна масштабувати лінійну залежність приросту ентропії від різниці температур  $\Theta = T - T_0$  у градусах Цельсія таким чином  $\Delta S(\Theta) = \Delta S^\circ + \sigma_T \Theta$ , де  $T_0 \geq 0$  °С – це температура відліку,  $\sigma_T = \partial \Delta S / \partial T$  – похідна за температурою, а  $\Delta S^\circ \equiv \Delta S(0)$ . Водночас з'являються можливості, необхідні для успішного врахування низьких приростів ентальпії при поясненні крутих кривих розгортання, завдяки можливості заміни внеску ентальпії на внесок ентропії в залежності (3). Єдине, що тут потрібно, це використовувати керований ентропією критерій у формі  $|\Delta S| \gg \Delta H/T$ .

У результаті, в температурній шкалі за Цельсієм можна отримати таке логістичне рівняння з двома ефективними параметрами,  $s \equiv \Delta S^\circ / R < 0$  і  $q \equiv \sigma_T / R > 0$ :

$$P_2(\Theta) = \{1 + \exp[-(s + q\Theta)]\}^{-1}. \quad (5)$$

Така феноменологічна форма рівняння (5) з не зовсім чітко визначеними параметрами була використана в роботі [9] для вивчення термосенсорної властивості 100 випадково вибраних мРНК, а також трьох відомих термометрів, тобто послідовностей groN, ibpA і agsA з *E. coli*. Було показано, що мРНК мають властиву їм тенденцію плавитися зі збільшенням температури відповідно до логістичного закону в досліджуваних випадках; разом із тим вони забезпечували помітний негативний приріст ентропії  $\Delta S^\circ < 0$ ,  $|\Delta S^\circ| \gg R$ . Цей результат, який, на жаль, залишився непоясненим у роботі [9], все ж дає змогу говорити про РНК-термометри як про певні вторинні структури, які реалізують у собі саме ентропійно керований сценарій конфігураційних переходів для реалізації своєї термочутливої функції. Однак це реалізується шляхом негативного приросту ентропії для цих переходів, що може відбуватися, наприклад, шляхом особливого, невідомого типу, структуривання молекул води навколо неполярних залишків у процесі переходу від вищих температур до нижчих.

Для більшої узгодженості та ясності ентропійно керованого сценарію, слід зазначити, що з чисто термодинамічного погляду [10], завжди існує температурний інтервал – скажімо, від  $T_0$  до  $T$  – в якому надлишкова теплоємність за сталого тиску  $p$ ,  $\Delta C_p$ , майже постійна. У цьому інтервалі,

який треба віддалити від того, де враховується перехід розгортання поблизу температури плавлення  $T_m$ , прирости ентальпії та ентропії є такими:

$$\Delta H(T) = \int_{T_0}^T \Delta C_p dT + \Delta H(T_0) \quad (6)$$

та

$$\Delta S(T) = \int_{T_0}^T \frac{\Delta C_p}{T} dT + \Delta S(T_0) \quad (7)$$

відповідно, де  $\Delta H(T_0)$  і  $\Delta S(T_0) = \Delta S^\circ$  – це їх відповідні зміни за температури  $T_0$ . Якщо  $\Delta C_p$  – це стала величина, то рівняння (6) і (7) можна привести до вигляду

$$\begin{aligned} \Delta H(T) &= \Delta H(T_0) + \Delta C_p \cdot (T - T_0); \\ \Delta S(T) &= \Delta S^\circ + \Delta C_p \ln(T/T_0) \cdot \theta(T - T_0), \end{aligned} \quad (8)$$

де  $\theta(x)$  – це ступінчаста функція Хевісайда (дорівнює 0 коли  $x < 0$  і 1 коли  $x \geq 0$ ), необхідна для збереження скінченного стрибка ентропії за температури 0 К.

Примітно, що факт незалежності температури приросту теплоємності на рівні  $\Delta C_p \approx 0,1$  кДж/(моль · К) і лінійна температурна залежність зміни ентальпії в рівнянні (8) з  $\Delta H(T_0)$  –  $-\Delta C_p T_0 \approx 25$  кДж/моль нещодавно спостерігалися в роботі [6] для кооперативної асоціації/дисоціації дуплексу ДНК.

Отже, встановлення ентропійно керованого критерію  $|\Delta S(T)| \gg \Delta H(T)/T$  зводить рівняння (3) у цьому інтервалі до специфічного температурного надчутливого рівняння гіперболічної форми

$$P_2(T) = \frac{T^h}{T_m^h + T^h}. \quad (9)$$

Це рівняння нагадує класичне рівняння Хілла (але якщо його розглядати стосовно температури, а не концентрації ліганду) для опису кооперативного зв'язування розчинного ліганду з макромолекулою, де параметри  $h = \Delta C_p/R$  та  $T_m = T_0 \exp(-\Delta S^\circ/\Delta C_p)$  є так званим “коефіцієнтом Хілла” та температурою плавлення відповідно.

Тут слід зазначити, що рівняння (9), фактично задеклароване ad hoc у роботі [11] (див. також роботу [4]), було використано, як загальнови-знано, для опису не зовсім чітко визначеного по-

няття кооперативності РНК у випадку 4U РНК-термометра як засобу для аналізу його температурної чутливості. Однак, незважаючи на відповідність апроксимації цього задекларованого ad hoc рівняння до експериментальних даних, коли “коефіцієнт Хілла”  $h = 10,6$  і  $18,6$ , а також  $h \approx 12$  для моделі (5), оцінка міри числа кооперативності, скажімо, від десяти до вісімнадцяти або більше здається занадто великою.

Ще одним недоліком як “рівняння Хілла”, задекларованого ad hoc у роботі [11], так і логістичного рівняння (5) з роботи [9] є необґрунтоване використання в цих рівняннях температури Цельсія замість температури Кельвіна. Подолання цього недоліку фактично означало б усунення “рівняння Хілла” з розгляду. Тому далі ми використовуємо термодинамічно коректне рівняння (9) для його кількісного узгодження з наявними даними.

Таким чином, з погляду термодинамічної структури, простий ймовірнісний аналіз поведінки термочутливих структур із двома станами дає змогу зробити правдоподібний висновок, що РНК-термометр працює за ентропійно керованим сценарієм, у якому зміна ентальпії вважається незначною, тоді як зміна ентропії превалює й зростає з температурою, незалежно від того, збільшується вона логарифмічно чи лінійно. Отже, цікаво запропонувати конкретну молекулярну модель термодинамічної системи з двома станами, для якої можна окремо визначити додаткові внески як у лінійну, так і в логарифмічну області додавання ентропії до вільної енергії (2), а потім їх порівняти. У результаті можна зробити висновок про те, який внесок дійсно переважає, і які термодинамічні параметри системи зазвичай відповідають за цей переважаючий внесок.

Однак існує проблема практичного розрахунку внеску нормальних коливань решітки, подібного до того, що було виконано для деяких керамічних кристалів, таких як MgO [12] і TcS [13], з використанням теорії збурень функціоналу щільності в квазігармонічному наближенні. У цьому випадку дійсно можна отримати лінійне температурне зростання ентропії в робочому температурному інтервалі, але лише якщо калібрувати значення ентропії на низькому рівні 30 Дж/(моль · К), що виявляється майже в сорок разів нижчим, ніж експериментально обґрунтоване значення 1,3 кДж/(моль · К) [7]. Водночас на порядок

менше значення  $\sim 1$  Дж/(моль · К) оцінюється для приросту ентропії графіту з урахуванням логарифмічного зростання його ентропії зі зміною температури [14]. Тим не менш, саме це значення має бути достатньо малим, щоб можна було адекватно апроксимувати отриману формулу (9) до наявних експериментальних даних, за необхідного значення температури плавлення.

### 3. Спрощена мікроскопічна модель з двома станами

Щоб об'єднати різні обговорювані вище підходи в єдиній фізичній моделі, розглянемо, як і раніше, лише спрощений випадок (1) процесу розгортання РНК з двома основними конфігураціями, як на рис. 1. Існує два способи побудови фізичної моделі структурних станів молекули мРНК у розчині. Один із них – зробити це макроскопічно, тобто оперувати такими величинами, як загальний реакційний об'єм, кількість молів, енергія, ентропія й температура, щоб описати термодинамічну поведінку системи в цілому. Інший спосіб – мікроскопічний, який ґрунтується на використанні величин, що характеризують стани окремих атомів, а не всю систему загалом.

У цьому випадку, знання початкових положень та імпульсів атома визначає атомну динаміку згідно з рівняннями руху, які враховують повну енергію системи, включно з кінетичною енергією, а також енергію найважливіших міжатомних взаємодій, представлених у вигляді потенціалу середньої сили. Рівноважні ймовірності структурних станів системи отримують шляхом усереднення всіх можливих атомних конфігурацій, тобто мікроскопічних станів. Але якщо кінцеві молекулярні конфігурації всієї системи перебувають у рівновазі, тобто враховуються макроскопічні стани, тоді слід розглядати різні структурні стани молекули мРНК як окремі системи, екземпляри яких утворюють статистичний ансамбль.

Відповідно, для процесу розгортання РНК з двома структурними конфігураціями ми отримаємо дві різні системи, що співіснують у розчині (рис. 1), а саме: молекулу мРНК зі стеблородібною структурою (система |1>) і молекулу мРНК з певною кількістю неспарених пар основ у розгорнутій області (система |2>). Тому метою є визначення для кожної системи її ймовірності, пов'язаної з

ентропією, яка, у свою чергу, логарифмічно пропорційна кількості всіх доступних молекулярних конфігурацій, тоді як інші макроскопічні параметри мають певні значення.

Таким чином, згідно з основним постулатом статистичної механіки, ми повинні припустити, що, хоча обидві системи перебувають у взаємній термодинамічній рівновазі, всі їхні макроскопічні конфігурації реалізуються з однаковою ймовірністю, тобто будуть визначатися єдиним контуром однакових рівнів вільної енергії, властивих системам. Але як кількість цих ізоенергетичних рівнів у відповідному наборі, що формують ентропійний внесок у вільну енергію кожної системи, так і ентальпійний внесок до неї від енергетичної щільності між відповідними наборами рівнів загалом змінюються завдяки їхній залежності від середовища через взаємодію, за допомогою якої зрівноважуються сукупні ймовірності цих двох систем.

Наведені вище аргументи дають нам змогу представити дві досліджувані системи мРНК як такі, що постійно взаємно перетворюються у водному розчині з ймовірностями переходу  $W_{12}$  і  $W_{21}$ , які в термодинамічній рівновазі підпорядковуються принципу макроскопічної оборотності (умові повного балансу) у вигляді  $W_{12}/W_{21} = P_1/P_2$ . Фактично це означає, що тепер можна говорити про одну систему з двома станами, кожен з яких, позначений, як і раніше, |1> або |2>, характеризується одним, але виродженим рівнем енергії  $E_{i=1,2} = E_{i=1,2}(T)$  і виродженням  $g_{i=1,2} = g_{i=1,2}(T)$ , причому обидва параметри є функціями температури за постійного об'єму і тиску. Крім того, без втрати загальності, температурну залежність виродження можна масштабувати таким чином:

$$g_i(T) = z_i^\circ(T) m_i(T),$$

де  $m_i(T)$  – це молярне число молекули мРНК як функція температури у стані  $|i = 1, 2\rangle$ , а  $z_i^\circ(T) = \exp[\mu_i^\circ(T)/RT]$  – це стандартна летючість, пов'язана зі стандартним хімічним потенціалом  $\mu_i^\circ$ , визначеним як хімічний потенціал  $\mu$  у рівнянні (2) на рівні  $m_i(T) = 1$  моль.

У цьому контексті розгляд різних сценаріїв для опису індукованої температурою поведінки молекул РНК є простим. Дійсно, оскільки молекула мРНК є одним і тим самим об'єктом в обох станах |1> та |2>, рівноважна ймовірність стану  $|i\rangle$  визна-

чається як

$$P_i(T) = \frac{m_i(T)}{m_1(T) + m_2(T)}. \quad (10)$$

Отже, взаємна рівновага між станами |1⟩ і |2⟩ досягається коли  $P_1(T_m) = P_2(T_m)$  або  $m_1(T_m) = m_2(T_m)$ , де  $T_m$  – температура плавлення. Будь-яке зміщення температури  $T$  від  $T_m$  збурює молярні числа  $m_1(T)$  і  $m_2(T)$ , що призводить до їх зміщення від рівноважних значень  $m_2(T_m)$  і  $m_1(T_m)$ . Це відбувається унаслідок збільшення хімічного потенціалу

$$\Delta\mu(T) \equiv \mu_2(T) - \mu_1(T) = \ln \frac{m_2(T)}{m_1(T)},$$

що забезпечує рушійну силу для процесу плавлення/згорання молекули мРНК. Однак, щоб зберегти термодинамічну рівновагу в загальному об'ємі реакції, така “локальна” взаємна нерівновага між станами в рівнянні (10), викликана відповідною зміною температури навколишнього середовища  $T$ , повинна компенсуватися відповідною зміною або члена стандартної ентропії  $\Delta S^\circ(T) = [\mu_2^\circ(T) - \mu_1^\circ(T)]/T$ , або члена ентальпії дисоціації пар основ

$$\frac{\Delta H(T)}{RT} \equiv \frac{\varepsilon(T)}{RT} = \frac{E_2(T) - E_1(T)}{RT},$$

або обох. Залежно від того, який із цих членів переважає, ми отримуємо різні сценарії для молекул РНК. Звичайно, у разі температурно незалежної (або постійної) стандартної ентропії  $\Delta S^\circ(T) \equiv \Delta S^\circ = \text{const}$  та ентальпії дисоціації  $\Delta H(T) \equiv \varepsilon = \text{const}$ , ми отримуємо сценарій компенсації ентропії-ентальпії, обговорений вище стосовно рівняння (3), але для його виникнення в молекулах РНК необхідні нереально великі значення обох цих величин, пов'язаних співвідношенням  $\Delta S^\circ = \varepsilon/T_m$ . Натомість якщо ентальпії дисоціації є значно меншою порівняно зі стандартною ентропією, сценарій є ентропійно керованим, але лише тоді, коли відповідний приріст ентропії стає лінійно (5) або логарифмічно (8) залежним від температури. Зрештою, при дуже великій енергії дисоціації  $\varepsilon(T) \gg \Delta S(T)$  з сильно зростаючою температурною залежністю – такою, принаймні, як  $\varepsilon(T) \sim T \ln T$  або  $\varepsilon(T) \sim T^{3/2}$  і більше – реалізується сценарій, керований ентальпією. Однак цей сценарій стає майже нездійсненним внаслідок ентальпійних обмежень для молекул РНК [6].

Серед різних розглянутих вище варіантів ентропійно керована поведінка розгортання мРНК відтворюється також іншим шляхом. Це – ситуація, коли внутрішня нерівновага виникає в загальній термодинамічній системі, яка перебуває не в повній термодинамічній рівновазі, а лише в частковій термодинамічній рівновазі відносно двох розчинених у водному розчині речовин. Для РНК-термометрів, це призводить до різниці в рівнях розчинності для двох форм структур мРНК, тобто стеблоподібної форми молекули мРНК та її форми з певною кількістю неспарених пар основ.

Загальновідомо [15], що зміна температури  $T$  є фактором, який впливає на рівновагу будь-якої розчиненої речовини: зі збільшенням  $T$  молярне число насичення або збільшується, якщо розчинення є ендотермічним, або зменшується, якщо розчинення є екзотермічним. Часто спостерігається майже лінійна температурна залежність розчинності [16]. Однак у більш загальних випадках ця залежність є немонотонною, демонструючи насичення або температурний максимум [17]. Цей ефект пояснюється виразом (10), якщо замінити поточні числа молярності  $m_i(T)$  молекули мРНК на числа розчинності мРНК за насичення  $m_i^{\text{sat}}(T)$ , враховуючи власну температурну залежність, і тому розглядаючи виниклу різницю хімічних потенціалів  $\Delta\mu^{\text{sat}}(T) = \ln[m_2^{\text{sat}}(T)/m_1^{\text{sat}}(T)]$  як нову рушійну силу для розгортання мРНК. Роблячи це згідно з модифікованим рівнянням Апелблата [18] для водного розчину за кімнатної температури  $T > T_0$ , ми масштабуємо  $m_{i=1,2}^{\text{sat}}(T)$  таким чином:

$$m_i^{\text{sat}}(T) = A_i \left(\frac{T}{T_0}\right)^{n_i} \exp\left(\frac{B_i}{RT}\right), \quad (11)$$

де  $A_i, B_i$  та  $n_i$  – це емпіричні сталі, а  $T_0 > 0^\circ\text{C}$  – температура калібрування. Коли  $n_2 - n_1 \equiv n > 0$  і

$$T_m(T) = T_0 \left(\frac{A_2}{A_1}\right)^{1/n} \exp\left(\frac{B_2 - B_1}{nRT}\right)$$

вираз (10) знову зводиться до рівняння температурної чутливості

$$P_2(T) = \frac{T^n}{T_m^n(T) + T^n}, \quad (12)$$

аналогічного рівнянню (9). Але тепер показник степеня  $n$  є не зовсім визначеним, і температура

плавлення  $T_m$  експоненціально залежить від температури  $T$ . Однак, за достатньо великих  $n \gg 1$  – скажімо,  $n > 10$  або більше, як у (9) – і коли  $B_1 \approx B_2$ , температурна залежність  $T_m(T)$  зникає, таким чином апроксимуючи температуру плавлення як сталу величину,  $T_m(T) \approx T_0$ . З іншого боку, якщо  $n_2 - n_1 \equiv n < 0$ , то отримується протилежне рівняння температурної чутливості,

$$P_2(T) = \frac{T_m^{-n}(T)}{T^{-n} + T_m^{-n}(T)}, \quad (13)$$

що приводить до залежності від оберненої температури порівняно з залежністю рівняння (12).

#### 4. Порівняння з експериментом

Враховуючи отримані рівняння (9) і (12) для надчутливої до температури ймовірності розгорнутої конфігурації РНК-термометрів, порівняємо їх з відповідними експериментальними даними. Тут ми обмежимося порівнянням лише з кількома прикладами надчутливих до температури даних, отриманих різними експериментальними методами. Ми використовували власний код Python для ідентифікації параметрів моделі  $h$  і  $T_m$  у рівнянні (9) шляхом мінімізації середньоквадратичної похибки (СКП) моделі при порівнянні з експериментальними даними. Отримані криві найкращого наближення зображені на рис. 2 і 3, а відповідні оцінки параметрів наведено в табл. 1.

На рис. 2 зображено дані для зразка 4U РНК, дослідженого за допомогою швидкої релаксаційної візуалізації. Як бачимо, нормалізований сигнал D/A FRET як функція температури добре описується рівнянням (9) як для 4U РНК, так і для її низькоплавкого варіанта lm-4U РНК, з відповідними параметрами  $h$  і  $T_m$ , вказаними на рисунку.

Таблиця 1. Значення параметрів  $h$  та  $T_m$  у рівнянні (9) і надлишкової теплоємності  $\Delta C_p$ , отримані шляхом достосування моделі до експериментальних даних

№	Тип РНК	$h$	$T_m$ , °C	$\Delta C_p$ , Дж / моль · К	Середньоквадратична похибка	$T_m$ , °C (експ.)
1	4U	80,34	53,2	668	$6,58 \times 10^{-3}$	53 [19]
2	lm-4U	61,74	47,4	513	$4,82 \times 10^{-3}$	47 [19]
3	hsp17	38,80	45,7	323	$4,45 \times 10^{-3}$	46 [7]
4	hsp17 <sup>rep</sup>	121,12	63,9	1007	$1,11 \times 10^{-2}$	64 [7]
5	hsp17 <sup>stab</sup>	105,09	50,8	874	$2,69 \times 10^{-3}$	51 [7]

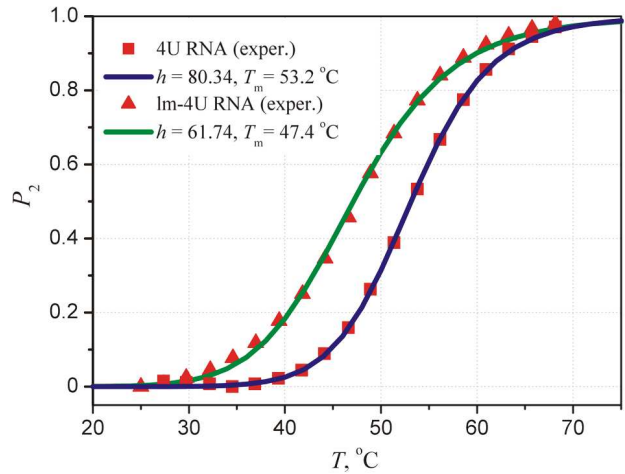


Рис. 2. Температурні залежності (суцільні криві) загальних розподілів ймовірностей для розгорнутих структур пар основ, розраховані відповідно до рівняння (9) з вказаними параметрами, і відповідні експериментальні дані (адаптовані з роботи [7] і нормалізовані до 1) для 4U РНК та її низькоплавкої похідної lm-4U РНК, дослідженої в роботі [7] методом швидкої релаксаційної візуалізації

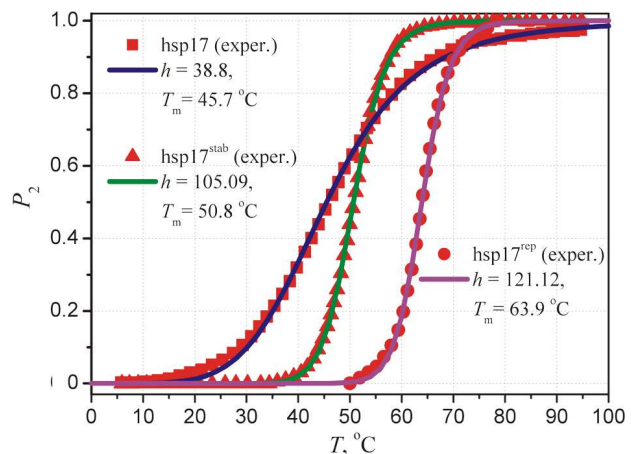


Рис. 3. Температурні залежності (суцільні криві) загальних розподілів ймовірностей для розгорнутих структур пар основ, розраховані відповідно до рівняння (9) з вказаними параметрами, та відповідні експериментальні дані (адаптовані з роботи [19] і нормалізовані до 1) для hsp17 РНК та її двох стабілізованих мутантів hsp17<sup>rep</sup> РНК і hsp17<sup>stab</sup> РНК, досліджених у роботі [19] методом спектроскопії кругового дихроїзму (КД)

На рис. 3 показано криві індукованого температурою розгортання, зареєстровані за допомогою спектроскопії кругового дихроїзму (КД) для hsp17 РНК, а також її двох стабілізованих РНК мутантів hsp17<sup>rep</sup> та hsp17<sup>stab</sup>. Відповідні модельні па-

параметри рівняння Eq. (9) вказані на рисунку. Подібно до рис. 2, рис. 3 також добре описує відповідний набір даних КД-спектроскопії за допомогою рівняння Eq. (9) з урахуванням відповідних параметрів моделі. Таким чином, порівняно висока якість апроксимації, продемонстрована на обох рис. 2 і 3, може бути прямим доказом правильності й корисності отриманої в розділі 2 термодинамічної моделі.

## 5. Обговорення та висновки

У розділі 2 була розглянута проблема адекватного опису термодинамічних властивостей надчутливих до температури процесів, що спостерігаються в окремих молекулах бактеріальної РНК. Для її спрощення ми обмежуємося лише двома основними конфігураціями РНК: складеною та розгорнутою, які спонтанно переходять одна в одну згідно зі схемою (1), як показано на рис. 1. У цій моделі з двома станами визначення термодинамічної ймовірності розгорнутого стану в загальній формі (3) для керованих ентропією процесів, зводить цей вираз до гіперболічного основного рівняння (9), яке виявляє степеневу залежність від абсолютної температури з нецілим показником степені. Хоча це рівняння нагадує класичне рівняння Хілла, якщо його спекулятивно розглядати стосовно температури за Цельсієм, а не об'ємної концентрації ліганду, воно в принципі не може бути рівнянням такого типу в жодному розумінні. Основна некоректність цього рівняння полягає у вільному тлумаченні показника степені температури як параметра кооперативності в "рівнянні Хілла", яке фактично постулювалося *ad hoc* [11]. Навпаки, у послідовно виведеному вище рівнянні (9) відповідний показник степені температури визначається точно як привведена молярна надлишкова теплоємність за постійного тиску, виміряна в одиницях газової сталі. Отже, у строгому розумінні, рівняння (9) слід називати рівнянням температурної чутливості для ентропійно керованих процесів у біологічних макромолекулах зі ступенем чутливості (показником степені температури), пропорційним молекулярній теплоємності.

Порівняння рівняння (9) з експериментальними даними наведено в розділі 4 на рис. 2 та 3. Можна бачити, що нормалізовані до одиниці криві для температурної залежності ймовірності розгор-

нутого стану в різних РНК можна добре описати рівнянням (9) з двома оціненими параметрами моделі, а саме температурою плавлення  $T_m$  і показником степені  $h$ . Перший параметр легко розраховується як температура, за якої складений і розгорнутий стани функціональної конформаційної одиниці в структурних елементах РНК, схематично зображених на рис. 1, однаково заселені. Іншим параметром, що характеризує температурну чутливість цієї одиниці, є її привведена молярна надлишкова теплоємність  $\Delta C_p = Rh$ . Останню, однак, дуже важко визначити у випадку багатоатомної молекули навіть у газовій фазі (див., наприклад, роботу [20]). Оцінені значення для цих параметрів наведено в табл. 1. Варто зазначити, що перший параметр не потребує пояснення, тоді як другий є критичним для рівняння, що використовується при моделюванні даних. Таким чином, порівняння постульованого *ad hoc* "рівняння Хілла" з експериментальними даними дає діапазон варіації  $h = 10,6\text{--}18,6$  [11], тоді як термодинамічно узгоджене рівняння (9) надає ті самі дані зі значно збільшеним інтервалом  $h = 38,80\text{--}121,12$  (див. розділ 4, рис. 2 і 3). Оскільки кореляційні процеси, скажімо, від сорока до ста двадцяти одночасних кооперативних переходів лігандів, здаються майже неможливими, уникнення концепції кооперативності при інтерпретації надчутливих до температури властивостей РНК можна вважати очевидним. Натомість концепцію виникнення надлишкової теплоємності у функціональних конформаційних одиницях РНК слід розглядати як таку, що відіграє ключову роль при поясненні змінної надчутливості до температури в різних РНК. У цьому контексті може виявитися, що показник степені температури в рівнянні (9) збігається зі ступенем температури, який, у свою чергу, прямо пропорційний надлишковій теплоємності функціональної конформаційної одиниці.

Інший аспект РНК-калориметрії пов'язаний із поширеним припущенням, що зміни теплоємності під час згортання/розгортання РНК є досить малими. Наприклад, майже постійне значення теплоємності  $\Delta C_p \approx 100$  Дж/(моль К) спостерігається у випадку кооперативної асоціації/дисоціації дуплексу ДНК незалежно від його складу для комплексарних нуклеотидів [6]. Водночас це значення, характерне для малої одиниці РНК, виявляється значно нижчим, ніж те, що спостерігається для гі-

дрофобної гідратації неполярних функціональних одиниць і поліатомних йонних структур, значення теплоємності яких зазвичай набагато більші й коливаються у межах сотень Дж/(моль · К) (див., наприклад, роботи [21–23]). Саме такий розширений інтервал між можливими значеннями теплоємності  $\Delta C_p = (323-1007)$  Дж/(моль · К) є характерним для експериментів з різними типами РНК (див. рис. 2 та 3, і табл. 1).

Загалом, точне визначення  $\Delta C_p$  для багатоатомних молекул у полярних розчинах неможливе, оскільки це вимагає точного визначення врахування в значенні  $\Delta C_p$  внесків від різних додаткових компонентів руху в межах функціональної конформаційної одиниці (наприклад, згинальних або обертальних компонентів). Тому проблема безпосереднього розрахунку теплоємності для різних РНК залишається досі нерозв'язаною. Отже, актуальною є спроба контролювати значення теплоємності за допомогою непрямих методів, представлених вище в розділах 2–4 і табл. 1. Проте, у нещодавній статті [24] було зазначено, що довші алкільні ланцюги корелюють зі збільшеною теплоємністю йонних рідин. За аналогією з цим спостереженням, можна висунути гіпотезу про молекули РНК з довгими вільними полінуклеотидними ланцюгами в розгорнутій конфігурації, як такі, що мають більшу надлишкову теплоємність порівняно з молекулами РНК з коротшими полінуклеотидними ланцюгами. На жаль, ця гіпотеза, хоча й правдоподібна, але ще не перевірена, і не може бути підтверджена жодним із сучасних методів.

Також, в рамках мікроскопічного підходу, проблема надчутливих до температури переходів між двома виродженими станами була розглянута в розділі 3. Ми виявили, що, використовуючи модифіковану модель Апелъблата для розгортання макромолекул у водному розчині за кімнатної температури, форма кінцевого рівняння для ймовірності розгорнутого стану точно збігається – або прямо (12), або навпаки (13) – з формою рівняння температурної чутливості (9) для ентропійно керованих переходів у біологічних макромолекулах, виведеного у розділі 2. Єдина відмінність полягає в нечіткій інтерпретації показника степеня температури й температури плавлення в рівняннях (12) та (13) порівняно з рівнянням (9), де ця інтерпретація є фізично простою. Крім того, багатоатомні молекули, такі як РНК, зазвичай мають

додаткові ступені свободи, що відповідають різним обертанням навколо осі ланцюга та його згинанням. Це вимагає точного рівномірного розподілу теплової енергії між різними мікроскопічними поступальними, обертальними й коливальними ступенями свободи, характерними для функціональних конформаційних станів, а також врахування мікроскопічних вигинів на перший погляд нерухомих конформаційних ланцюгів. Очевидно, що ці проблеми неможливо вирішити традиційними підходами. Однак, обидва рівняння (9) та (12) можуть слугувати формою головного рівняння температурної чутливості для керованих ентропією процесів у різних біологічних макромолекулах.

На завершення відзначимо, що явище температурної надчутливості, яке спостерігається в деяких біологічних макромолекулах, наприклад, РНК-термометрах [7, 11], можна розуміти як керований ентропією процес, що супроводжує розгортання цих макромолекул з температурою через збільшення їхньої теплоємності внаслідок збільшення кількості ступенів свободи. Це пояснює зростання їхнього виродження в розгорнутій конфігурації.

*Автори висловлюють вдячність професору Е.Г. Петрову за корисні обговорення та пропозиції. Ця робота була частково підтримана НАН України (проект 0126U001252) і Фондом Саймонса (США).*

1. S. Chowdhury, C. Ragaz, E. Kreufer, F. Narberhaus. Temperature-controlled structural alterations of an RNA thermometer. *J. Biol. Chem.* **278**, 47915 (2003).
2. P. Noll, C. Treinen, S. Müller, L. Lilge, R. Hausmann, M. Henkel. Exploiting RNA thermometer-driven molecular bioprocess control as a concept for heterologous rhamnolipid production. *Sci. Rep.* **11**, 14802 (2021).
3. G. Mahendran, O.T. Jayasinghe, D. Thavakumaran, G.M. Arachchilage, G.N. Silva. Key players in regulatory RNA realm of bacteria. *Biochem. and Biophys. Rep.* **30**, 101276 (2022).
4. M. Leonarski, M. Jasiński, J. Trylska. Thermodynamics of the fourU RNA thermal switch derived from molecular dynamics simulations and spectroscopic techniques. *Biochimie.* **156**, 2 (2019).
5. K.K. Gola, A. Patel, S. Sen. Tradeoffs in the design of RNA thermometers. *Phys. Biol.* **21**, 044001 (2024).
6. P. Vaiteikunas, C. Crane-Pobinson, P.L. Privalov. The energetic basis of the DNA double helix: A combined calorimetric approach. *Nucleic Acids Res.* **43**, 8577 (2015).

7. D. Wagner, J. Rinnenthal, F. Narberhaus, H. Schwalbe. Mechanistic insights into temperature-dependent regulation of the simple cyanobacterial hsp17 RNA thermometer at base-pair resolution. *Nucleic Acids Res.* **43**, 5572 (2015).
8. C.A. Angel. Liquid fragility and the glass transition in water and aqueous solutions. *Chem. Rev.* **102**, 2627 (2002).
9. P. Shah, M.A. Gilchrist. Is thermosensing property of RNA thermometers unique? *PLoS ONE* **5**, e11308 (2010).
10. A. Cooper. Thermodynamic analysis of biomolecular interactions. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**, 557 (1999).
11. J. Rinnenthal, B. Klinkert, F. Narberhaus, H. Schwalbe. Direct observation of the temperature-induced melting process of the Salmonella fourU RNA thermometer at base-pair resolution. *Nucleic Acids Res.* **38**, 3834 (2010).
12. B.B. Karki, R.M. Wentzcovitch. High-pressure lattice dynamics and thermoelasticity of MgO. *Phys. Rev. B* **61**, 8793 (2000).
13. T. Song, Q. Ma, J.H. Tian, X.B. Liu, Y.H. Ouyang, C.L. Zhang, W.F. Su. Debye temperature, thermal expansion, and heat capacity of TcC up to 100 GPa. *Materials Res. Bull.* **61**, 58 (2015).
14. M.V. Volkenstein. *Entropy and information*. (Birkhauser Verlag AG, 2009).
15. R. Fernandez-Prini. Le Châtelier's principle and the prediction of the effect of temperature on solubilities. *J. Chem. Educ.* **59**, 550 (1982).
16. R.L. Kroes, D. Reiss. Properties of TGS aqueous solution for crystal growth. *J. Crystal Growth* **69**, 414 (1984).
17. A. Manson, J. Sefcik, L. Lue. Temperature dependence of solubility predicted from thermodynamic data measured at a single temperature: Application to  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$ -glycine. *Cryst. Growth Des.* **22**, 1691 (2022).
18. A. Apelblat, E. Manzurola. Solubilities of o-acetylsalicylic, 4-aminosalicylic, 3,5-dinitrosalicylic, and p-toluic acid, and magnesium-aspartate in water from  $T = (278 \text{ to } 348) \text{ K}$ . *J. Chem. Thermodyn.* **31**, 85 (1999).
19. M. Gao, D. Gnutt, A. Orban, B. Appel, F. Righetti, R. Winter, F. Narberhaus, S. Muller, S. Ebbinghaus. RNA hairpin folding in the crowded cell. *Angew. Chem.* **55**, 3224 (2016).
20. F. Paillusson. Gibbs' paradox according to Gibbs and slightly beyond. *Molecular Phys.* **116**, 3196 (2018).
21. A.A. Minakov, C. Schick. Ultrafast thermal processing and nanocalorimetry at heating and cooling rates up to 1 MK/s. *Rev. Sci. Instr.* **78**, 073902 (2007).
22. L.E. Ficke, H. Rodríguez, J.F. Brennecke. Heat capacities and excess enthalpies of 1-ethyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids and water. *J. Chem. Eng. Data* **53**, 2112 (2008).
23. M. Królikowska, K. Padaszyński, T. Hofman, J. Antonowicz. Heat capacities and excess enthalpies of the (N-hexylsquinolinium thiocyanate ionic liquid + water) binary systems. *J. Chem. Thermodynamics* **55**, 144 (2012).
24. A. Esmaelli, H. Hekmatmehr, M. Moheisen, S. Atashrouz, A. Abedi, A. Mohaddespour. Heat capacity of ionic liquids: Toward interpretable chemical structure-based machine learning approaches. *J. Chem. Inf. Model.* **65**, 4010 (2025).

Одержано 01.07.25.

Переклад на українську мову О. Войтенка

*V.I. Teslenko, O.L. Kapitanchuk*

PROVIDING EXTRA-SENSITIVE  
TO TEMPERATURE TRANSITIONS IN BIOLOGICAL  
MACROMOLECULES IN THE CONTEXT  
OF ENTROPY-DRIVEN UNFOLDING PROCESSES

The two-configuration approximation based on the thermodynamic approach to describing conformational transitions in physiologically significant biological macromolecules, e.g. some specific RNA molecules known as RNA-thermometers, is used to derive the consistent equation for determining the thermodynamic probability of the entropy-driven unfolded process which is extra-sensitive to ambient temperature. We show that with the given accuracy of the involved parameters this equation coincides with the equation obtained using the microscopic approach. We then compare the derived equation with experimental data and finally discuss and conclude the results obtained.

*Keywords:* temperature sensitivity, entropy-driven processes, biological macromolecules.