

ORSAY

Numéro d'ordre : 7313

**Université Paris-Sud
UFR Scientifique d'Orsay**

Thèse présentée pour obtenir
Le grade de docteur en science
de l'Université Paris XI Orsay
par

Markus Müller

Repliement d'hétéropolymères

Soutenue le 30 septembre 2003 devant la commission d'examen composée de

M. SILVIO	FRANZ	Rapporteur
M. THOMAS	GAREL	Rapporteur
M. HENDRIK-JAN	HILHORST	
M. MARC	MÉZARD	Directeur de thèse
M. ANDREA	MONTANARI	

Remerciements

Avant tout, je remercie ma mère pour son soutien constant durant toute ma thèse, ainsi que mon père pour l'intérêt qu'il a manifesté pour mon sujet d'études, et les quelques discussions très inspirantes que nous avons échangées. Mes remerciements cordiaux vont également à la famille Jungen qui m'a accueilli si chaleureusement au début de mon séjour à Paris, ainsi que lors des semaines les plus intensives de la rédaction de ma thèse.

Je suis très reconnaissant envers mon directeur de thèse, Marc Mézard, pour tout ce qu'il m'a appris, pour son encouragement continu et la bonne atmosphère de travail qu'il a contribué à faire régner au sein du laboratoire. Je remercie également Andrea Montanari qui m'a appris beaucoup de choses en physique et avec qui j'ai collaboré avec un réel plaisir. Un grand merci également à tous mes amis qui m'ont aidé à relire et corriger le manuscrit avec soin, tout en faisant des remarques critiques sur le contenu : Simon Bovet, Meng Chen, Lucie Gandon, Christine Jungen, Mathias Jungen, Florent Krzakała, Hubert Krivine, Olivier Martin, Judith Miné, Antoine Praz, Thomas Risler et Olivier Rivoire.

Je remercie enfin mes deux rapporteurs, Silvio Franz et Thomas Garel, pour leur travail qu'ils devaient effectuer en très peu de temps. J'ai particulièrement apprécié les nombreuses discussions approfondies que j'ai échangées avec Thomas Garel, et le grand intérêt dont il a fait preuve pour mon travail.

Markus Müller
À Paris, le 9 septembre 2003

Table des matières

Remerciements	iii
Table des matières	v
1 Introduction	1
1.1 Homopolymères	1
1.2 Hétéropolymères	2
1.3 Les biopolymères	5
1.4 Le repliement de protéines	6
1.4.1 Structure et interactions	6
1.4.2 Historique du problème du repliement des protéines	8
1.5 L'ARN : une biomolécule particulière	11
1.5.1 La structure hiérarchique de l'ARN	12
1.5.2 Le repliement d'ARN	16
1.5.3 Protéines versus ARN	18
1.6 Hétéropolymères comme matériaux	19
1.7 Plan de la thèse	20
1.8 Articles	20
2 Statique et phase vitreuse de l'ARN	21
2.1 Approche de physique statistique au problème des hétéropolymères	21
2.2 L'ARN décrit au niveau de sa structure secondaire	23
2.2.1 La structure en arbre de l'ARN	23
2.2.2 Les algorithmes de prédiction de la structure secondaire	26
2.2.3 Un modèle homogène pour l'ARN	29
2.2.4 L'auto-évitement, la dénaturation et la contrainte des pseudonœuds	33
2.2.5 Un modèle de matrices pour l'ARN	38
2.3 Les effets de la séquence dans l'ARN : existence d'une phase vitreuse ?	40
2.3.1 Les propriétés de séquences d'ARN naturel	40
2.3.2 Le repliement de l'ARN dans les expériences	41

2.3.3	La phase vitreuse de l'ARN	43
2.3.4	Singularités de l'énergie libre	53
2.3.5	Le rayon de gyration dans l'ARN vitreux	57
2.4	Conclusion	62
	Nature of the glassy phase in RNA secondary structure	65
	Statistical physics of RNA folding	75
3	ARN soumis à une force extérieure	95
3.1	Les expériences de micromanipulation	95
3.1.1	Les techniques expérimentales et leurs limites	95
3.1.2	Expériences avec l'ADN et l'ARN	97
3.2	Le cas homogène	100
3.2.1	Homopolymères soumis à une force	100
3.2.2	ARN homogène	100
3.2.3	La force critique et les deux phases : globulaire et allongée	102
3.2.4	La force critique en fonction de la température	104
3.2.5	Le critère de Harris : marginalité du désordre	108
3.3	Séquences avec désordre	109
3.3.1	Hétéropolymères soumis à une force	109
3.3.2	Les courbes forces-élongation pour ARN désordonné : considérations générales	110
3.3.3	Analyse numérique du dépliement sous l'action d'une force	111
3.3.4	Discussion	115
	RNA secondary structure under tension	119
4	Hétéropolymères	133
4.1	Modèles d'hétéropolymères	134
4.2	Différentes approches des hétéropolymères	136
4.2.1	Le REM : un modèle simple avec une transition de gel	136
4.2.2	Le REM et les hétéropolymères : un argument simple et ses défauts	137
4.2.3	Les théories du champ moyen et la technique des répliques	139
4.2.4	Corrélations	145
4.2.5	Au-delà du REM : d'autres approches aux hétéropolymères	148
4.3	Une nouvelle approche locale : la méthode de cavité	150
4.3.1	Motivation	150
4.3.2	L'approximation de Bethe et la méthode de cavité	151
4.3.3	Homopolymères : formalisme et diagramme de phase	153
4.3.4	Hétéropolymères	161
4.3.5	Le régime vitreux	165

4.3.6	Application aux copolymères	171
4.3.7	Un jeu de paramètres d'ordre locaux pour la transition vitreuse . .	179
4.4	Discussion et perspectives	182
4.4.1	Avantages de la méthode de cavité	182
4.4.2	Applications aux biopolymères	182
	The phase diagram of random heteropolymers	187
5	Conclusion générale	193
	Bibliographie	197
	Résumé	215

Chapitre 1

Introduction

Depuis les travaux de Flory [Flo53] dans les années 1950, la physique des polymères s'est établie comme une discipline classique de la physique statistique. Le sujet suscite l'intérêt des biologistes moléculaires tout autant que celui des chimistes. D'un point de vue biologique, la vie cellulaire - dans sa quasi-totalité - est contrôlée par des biopolymères, en particulier l'ADN, l'ARN et les protéines. La compréhension de la reproduction et de la régulation de la vie est donc directement liée à celle de la structure et de la fonction de ces macromolécules. De même, dans la vie quotidienne, les matières plastiques polymériques telles le polyéthylène, le caoutchouc ou le polystyrène sont omniprésentes et ont acquis une importance technologique majeure. Les propriétés élastiques et rhéologiques de ces matériaux sont très particulières, et leur compréhension constitue un défi pour la physique statistique. Enfin, la physique des polymères s'avère également utile à des domaines de la matière condensée plus standard, comme les réseaux de vortex dans les supraconducteurs à haute température : la dynamique d'un ensemble de lignes de flux a beaucoup en commun avec celle d'un gel de polymères, et les questions qui se posent dans les deux domaines sont souvent étroitement liées.

1.1 Homopolymères

Un polymère est une séquence linéaire de constituants élémentaires, les monomères, qui sont connectés par des liaisons covalentes. Si tous les monomères sont identiques, on parle d'*homopolymère*. La physique de telles chaînes homogènes est déjà très riche [Flo53, BP66, dG79, DE88, GARKC94]. Dans l'approximation la plus simple, on peut considérer un homopolymère comme une marche aléatoire auto-évitante, ce qui prend en compte le volume exclu des monomères. L'effet de l'auto-évitement est d'accroître le volume de la molécule par rapport à une chaîne idéale sans interactions qui serait décrite par une marche aléatoire brownienne. Un des problèmes classiques du domaine est le calcul de la loi d'échelle qui décrit le rayon de gyration en fonction de la longueur de la

chaîne, et en particulier l'exposant critique associé. La réponse exacte n'est connue qu'à deux dimensions grâce à la théorie conforme.

Si les monomères s'attirent mutuellement, ou si la qualité du solvant est mauvaise (ce qui revient à une attraction effective entre monomères), le polymère se compacte dans un état globulaire à une certaine température critique, connue comme le point Θ . L'effondrement de la phase dense est empêchée par la répulsion des monomères à courte portée. Le mécanisme et les caractéristiques de cette transition, appelée pelote-globule (*coil-globule* en anglais), ont beaucoup été étudiés [BP66, LGK78, GK92], car initialement, on pensait que cette transition était directement reliée au repliement des protéines.

Quand on passe à des systèmes à plusieurs polymères (gels polymériques), la situation devient plus compliquée. Les différentes molécules s'enchevêtrent et forment un réseau avec une topologie non-triviale. Le mouvement des chaînes est alors fortement restreint et ne procède plus que sous forme de "reptation" [dG79, DE88]. En conséquence, les propriétés élastiques et plastiques de tels gels ont les caractéristiques typiques d'un système vitreux hors équilibre. En particulier, elles dépendent du temps pendant lequel un forçage extérieur (un cisaillement, par exemple) a été appliqué.

Remarquons à cet endroit que toute la complexité de la physique des homopolymères provient du fait que les monomères forment une chaîne, ce qui induit des corrélations à longue portée entre leurs positions.

1.2 Hétéropolymères

Il s'est rapidement avéré que la description de biopolymères par des modèles homogènes était trop simplifiée. Après tout, l'information sur la spécificité d'une protéine doit être contenue dans la séquence d'acides aminés, et le repliement, c'est-à-dire sa structure ainsi que sa fonction biologique, devrait en dépendre de façon décisive. L'hétérogénéité des monomères est également un élément essentiel pour une classe de polymères technologiquement importants. Ces observations imposent donc l'étude d'*hétéropolymères* composés de monomères de nature variable. Un des principaux défis dans le domaine est de comprendre la dépendance de leurs propriétés physiques en fonction de la composition de la séquence de monomères.

La diversité des monomères se manifeste dans leurs interactions mutuelles dont quelques-unes sont plus favorables (attractives) que d'autres. Un exemple simple est donné par un polyampholyte, un polymère dont les monomères portent des charges différentes. Tandis que les conformations denses d'un homopolymère sont toutes dégénérées¹, les énergies des différentes conformations d'un hétéropolymère dépendent des paires de

¹Nous négligeons ici les interactions à la surface dont l'effet est en premier lieu de favoriser les conformations globulaires.

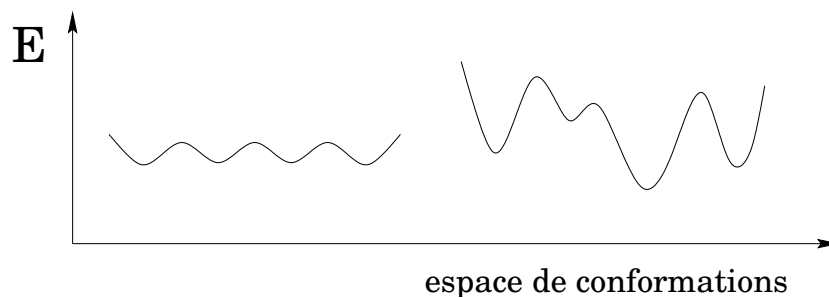


FIG. 1.1 – Représentation schématique du paysage d'énergie pour un homopolymère (à gauche) et un hétéropolymère (à droite) : dans un homopolymère les minima d'énergie sont dégénérés et correspondent aux conformations compactes. Pour passer d'une conformation à l'autre, il faut réarranger la chaîne et rompre quelques contacts. Ceci donne lieu à des petites barrières énergétiques entre les vallées. Le paysage d'énergie d'un hétéropolymère est beaucoup plus rugueux, et les énergies des conformations denses sont en général très variables : les énergies des minima locaux varient typiquement en $N^{1/2}$ avec la taille N du polymère.

monomères voisins et sont corrélées avec la structure du repliement en question. Le paysage d'énergie prend alors une structure rugueuse comme nous l'illustrons schématiquement dans la figure 1.1. Des vallées de profondeur variables sont à identifier avec des repliements compacts favorables. Elles sont séparées par des barrières associées aux réarrangements structurels qui passent par des repliements défavorables.

A basse température, le polymère essaie de minimiser son énergie en se repliant de telle façon que le plus grand nombre de monomères ait des interactions favorables avec ses plus proches voisins. Mais, en général, une conformation qui optimise simultanément l'environnement local de chaque monomère n'existe pas : le système est *frustré* [BY86] à cause de l'incompatibilité entre la contrainte géométrique induite par la chaîne polymérique et une distribution spatiale des monomères qui évite les interactions défavorables entre voisins. Ceci est illustré par la figure 1.2 : imaginons un petit électrolyte de huit monomères chargés dont nous voulons étudier la phase compacte (comme à l'intérieur d'une protéine globulaire, par exemple). Pour optimiser la densité et donc le nombre de contacts, nous mettons les monomères sur les sommets d'un cube $2 \times 2 \times 2$. Il n'y a que trois conformations inéquivalentes sur le cube, et on voit très vite que pour la séquence de charges $+ - - + - + + -$ considérée dans la figure il n'est pas possible d'imposer la compacité maximale en même temps que la satisfaction de toutes les interactions électrostatiques entre voisins.

Dans les conformations de basse énergie, il y a typiquement des régions où la plupart des interactions sont satisfaites, mais qui coexistent inévitablement avec d'autres régions

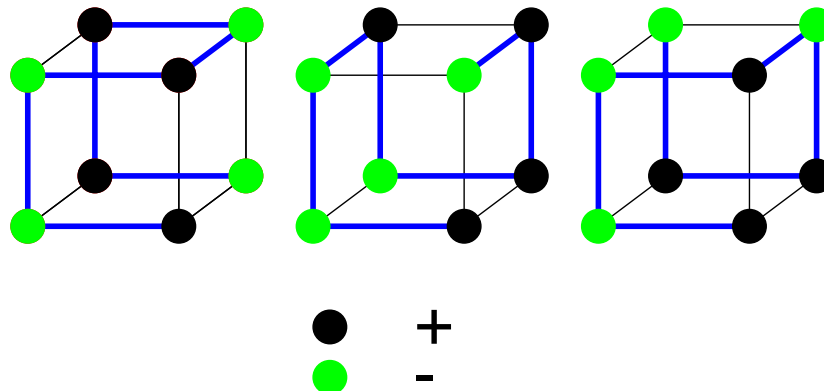


FIG. 1.2 – Illustration de la frustration pour un 8-mère. Les différentes conformations compactes possibles sur un cube contiennent toutes quelques interactions défavorables ou “non-satisfaites”, c’est-à-dire des paires de voisins avec le même signe de charge.

plus ou moins frustrées. Ceci met aussi en avant que l’état d’énergie minimale n’a pas du tout une structure évidente ou ordonnée. En général, il est difficile de le déterminer à partir de la séquence. Ce problème se pose également pour le polymère lui-même en quelque sens : en l’absence de corrélations particulières dans la séquence, le paysage d’énergie contient beaucoup de vallées et minima locaux dans lesquels le polymère reste figé à basse température jusqu’à ce qu’une fluctuation thermique lui permette de sauter la barrière énergétique vers un autre repliement favorable. Cela induit une dynamique lente, et en général, le polymère met beaucoup de temps pour trouver le minimum global du paysage d’énergie.

Cette phénoménologie constitue une différence essentielle entre homopolymères et hétéropolymères, surtout à basse température. En dessous de la transition pelote-globule un homopolymère est dans une phase globulaire, mais liquide, qui est très peu sensible aux changements de température parce que toutes les conformations denses sont essentiellement équivalentes en énergie. Un hétéropolymère, par contre, gèle dans des conformations de basse énergie et exhibe un comportement vitreux avec une dynamique activée. Remarquons cependant que des effets vitreux sont également présents dans les homopolymères, et surtout dans les gels. L’enchevêtrement de la chaîne peut en effet mener à un arrêt cinétique où la configuration est pratiquement bloquée du fait des contraintes géométriques [RMV01]. Par contre, le mécanisme à l’origine du caractère vitreux des hétéropolymères est de nature thermodynamique et lié au paysage d’énergie.

Ce genre de phénomènes vitreux n’est pas spécifique aux hétéropolymères mais commun à toutes sortes de systèmes désordonnés, parmi lesquels la classe la plus étudiée est probablement celle des verres de spins [MPV87]. Ces derniers consistent en un grand ensemble de spins qui interagissent mutuellement avec des couplages aléatoires. Cela in-

duit une frustration et un comportement vitreux dont l'origine est similaire à celle dans les hétéropolymères. L'étude des verres de spins a été poussée bien plus loin que celle des hétéropolymères où la contrainte de la chaîne rend les calculs beaucoup plus difficiles. Les résultats et concepts des verres de spins ont donc souvent servi de source d'inspiration pour les polymères [Wol91]. Par contre, du point de vue expérimental, les verres de spins ne sont pas si facilement accessibles, et les possibilités de contrôler et de varier les paramètres de couplages sont très restreintes. La situation est tout à fait opposée dans le cas des polymères. Les techniques de polymérisation sont très développées, non seulement pour des polymères d'intérêt industriel mais aussi pour les biopolymères d'acides aminés ou d'acides nucléiques : on sait fabriquer des polymères de composition déterminée ou ayant des propriétés statistiques bien définies. Enfin, ces possibilités de vérifier les prédictions théoriques rend les hétéropolymères très attrayants parmi les systèmes désordonnés.

1.3 Les biopolymères

Depuis une trentaine d'années, un effort considérable est consacré au repliement des protéines, et de nombreux modèles et scénarios simplifiés ont été proposés pour expliquer le comportement particulier de ces biopolymères, voir par exemple [Cre92, BOSW95, DBY⁺95, OLSW97, PGT00, MS01] pour des revues récentes. Néanmoins, beaucoup de questions restent ouvertes. Dans la section suivante, nous en esquisserons les plus importantes pour notre perspective générale sur les hétéropolymères.

Du point de vue expérimental, on a longtemps été restreint à des techniques classiques comme la spectroscopie, la calorimétrie, la résonance magnétique nucléaire et la cristallographie qui permettent presque exclusivement d'obtenir des informations, pourtant très précises parfois, sur l'état replié d'une protéine. Le reste du paysage d'énergie, en particulier la structure de conformations intermédiaires, et la cinétique du repliement ne pouvaient guère être éclaircies par ces méthodes.

Depuis les années 1990, les nouvelles techniques de micromanipulation de biomolécules uniques [BMW00, SDC⁺03] ont ouvert la perspective d'étudier de manière systématique certains aspects du processus de repliement et du paysage d'énergie de biopolymères comme l'ARN [LOS⁺01, ODL⁺03], l'ADN double brin [SFB92, SCB96, ERBH97] ou simple brin [DMZ⁺02] et les protéines [RGO⁺97, KSGB97, TTSS97]. Ces expériences utilisent la pointe d'un microscope à force atomique [DPW⁺95], des pinces optiques et magnétiques [SAB⁺96] ou des micro-aiguilles [KY88] pour appliquer une force de quelques piconewtons à l'extrémité d'une molécule unique dont l'autre bout est fixé. En mesurant l'élongation de la molécule en fonction de la force on obtient des informations sur les états partiellement dépliés ainsi que sur les énergies associées à la formation et la rupture de ces nouvelles structures. Nous discuterons ces techniques plus en détail dans

le chapitre 3.

Ces nouvelles possibilités expérimentales constituent une motivation importante pour ce travail. En particulier, le chapitre 3 est consacré à la question de savoir quelles propriétés de la séquence et du paysage d'énergie d'un hétéropolymère peuvent être observées en tirant sur la molécule.

1.4 Le repliement de protéines

1.4.1 Structure et interactions

Les protéines sont des polymères composés d'environ 100-500 acides aminés qui constituent les monomères de ces macromolécules. Dans la nature, il y a 20 types différents d'acides aminés qui ont tous en commun un atome de carbone asymétrique (C_α) auquel sont attachés un atome d'hydrogène, un groupe amine (NH_2) et un groupe carboxyle ($COOH$), mais ils diffèrent par leur chaîne latérale (ou résidu, R).

Du point de vue de leurs interactions avec l'eau, près de la moitié des acides aminés est hydrophobe et l'autre moitié est hydrophile. En solution aqueuse, les constituants hydrophobes ont tendance à se grouper ensemble pour écranter l'eau, ce qui revient à une attraction effective. Quelques acides aminés (environ 20%) portent des charges partielles qui donnent lieu à des interactions coulombiennes écrantées. En outre, les monomères s'attirent par interactions de type van der Waals ou en établissant des liaisons hydrogène.

Dans le repliement d'une protéine, on peut distinguer différents niveaux de structure :

- La structure *primaire* est la séquence linéaire d'acides aminés, le squelette de la protéine, qui se forme par polycondensation (au niveau des groupes fonctionnels : $COOH + NH_2 \rightarrow CONH + H_2O$). Elle peut être considérée comme fixée car la chaîne principale est formée de liaisons covalentes très stables.
- La structure *secondaire* comprend les repliements locaux du squelette tels que les hélices α et les feuillets β . Ces conformations profitent de plusieurs liaisons hydrogène, voir figures 1.3 et 1.4, et se forment assez indépendamment de la nature des acides aminés qu'elles contiennent.
- La structure *tertiaire* est l'arrangement spatial des éléments de structure secondaire dans le repliement global de la protéine. Elle est stabilisée par les différentes interactions mentionnées plus haut.
- Pour les grandes protéines on définit la structure *quaternaire* comme la disposition de grands domaines qui se replient de façon plus ou moins indépendante.

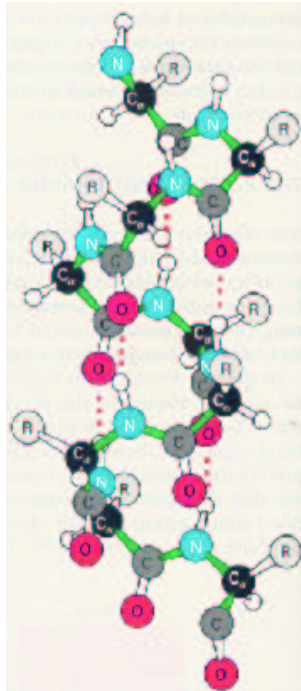


FIG. 1.3 – Schéma d'une hélice α . Les atomes noirs sont les carbones asymétriques. Dans la chaîne principale, ils alternent avec des groupes $CONH$. Les chaînes latérales sont indiquées par R , et les lignes en pointillé symbolisent les liaisons hydrogène. Une hélice α contient environ 3.6 acides aminés par tour.

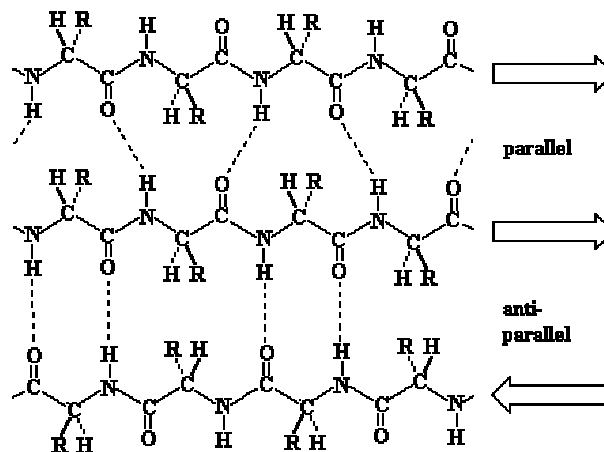


FIG. 1.4 – Schéma de feuillets β , parallèle et anti-parallèle. Les liaisons hydrogène sont indiquées en pointillé.

1.4.2 Historique du problème du repliement des protéines

L'état natif

Comme l'avaient déjà remarqué Pauling et Mirsky [MP36], une protéine, pour être fonctionnelle, doit se replier dans une structure bien spécifique que l'on appelle son *état natif*. Les expériences d'Anfinsen [AH62, Anf73] ont démontré qu'après une dénatura-tion (suite à un changement du pH de la solution ou induite mécaniquement), des petites protéines retrouvent spontanément leur structure native, c'est-à-dire sans assistance de catalyseurs. En solution diluée, la renaturation se passe en quelques secondes seulement. Ceci implique que l'information sur la structure native doit être codée dans la séquence. Le problème classique du repliement des protéines consiste justement en la prédiction de l'état natif à partir de la structure primaire, ce qui constitue un problème dur d'optimi-sation. À présent, les méthodes qui ont le plus de succès se fondent sur des algorithmes heuristiques [Fin97]. Évidemment, le progrès dans ce domaine est étroitement lié à la compréhension du mécanisme qui permet aux protéines de trouver leur état natif de ma-nière si efficace, même dans un environnement aussi encombré que le cytoplasme.

Les énigmes du repliement des protéines

Au début des années 1960, on pensait que la transition pelote-globule capturait l'es-sentiel du repliement des protéines et que l'état dense devait être identifié avec l'état na-tif [PE65]. Cependant, cette transition n'est pas très sensible à la nature de la séquence. Il faut donc supposer qu'*a priori* l'état globulaire n'a aucune structure bien définie. De plus, les résultats expérimentaux [Pri79] démontrent que les transitions de dénatura-tion ou de repliement dans l'état natif sont du premier ordre, accompagnées d'une chaleur latente considérable, tandis que la transition pelote-globule est du second ordre².

L'espace de conformations d'une protéine croît exponentiellement avec la longueur de la séquence, même si on se restreint aux conformations denses. Évidemment, la pro-téine ne peut pas explorer tout cet espace pour trouver son état natif (et c'est ce même problème qui est à la base des difficultés à prédire le repliement). Il est donc surprenant que les protéines se replient si vite, une observation connue comme le paradoxe de Le-vinthal [Lev68]. Cependant, ce raisonnement néglige le facteur de Boltzmann. En effet, à basse température la protéine est restreinte à un relativement petit nombre de configu-rations de basse énergie. Ce qui est plus étonnant, c'est que les protéines trouvent leur

²Comme les protéines sont des systèmes mésoscopiques, la notion de transition de phase n'est pas vraiment bien définie. Néanmoins, on observe que la dénatura-tion de protéines globulaires est une transition très nette ("coopérative") correspondant à un changement drastique entre l'état natif et un état dénaturé. La chaleur latente associée est de l'ordre de 0.5 – 1 kcal/mole de résidus. La théorie de Shakhnovich et Finkelstein [SF89] propose que cette transition est liée à la rupture globale de l'arrangement optimale des chaînes latérales dans l'état natif accompagnée par une expansion de la molécule.

repliement natif relativement vite parmi ces états de basse énergie tandis qu'*a priori* on s'attendrait à ce que le paysage d'énergie soit vitreux et la dynamique très lente. La question se pose de savoir si les séquences de protéines réelles ont des propriétés très particulières ou si des séquences d'acides aminés aléatoires se comporteraient de façon similaire. Jusqu'au début des années 1990, on croyait que c'était plutôt le second cas qui était réalisé. Car si le repliement rapide était particulier à des séquences très spécifiques, il serait difficile d'expliquer comment l'évolution a pu les trouver, étant donné que l'espace des séquences possibles est exponentiellement large. De plus, jusqu'à récemment, les analyses de séquences de protéines ne montraient pratiquement pas de corrélations [Pti95] ce qui suggérait que les séquences étaient presque aléatoires. Ceci motivait l'approche de physique statistique modélisant les protéines par des hétéropolymères aléatoires.

Modèles et concepts

Les travaux de Obukhov [Obu86], Garel et Orland [GO88b, GO88a] et de Shakhnovich et Gutin [SG89b, SG89c] étaient, à ma connaissance, les premières théories microscopiques sur les hétéropolymères aléatoires. En utilisant des techniques de répliques, elles corroboraient une conjecture de Bryngelson et Wolynes [BW87] selon laquelle les conformations de basse énergie constituaient essentiellement un modèle à énergies aléatoires (REM) [Der81]. Ce modèle simple exhibe une transition de gel à température finie, où à suffisamment basse température, l'état thermodynamiquement dominant est la vallée la plus basse de la figure 1.1. Comme ce scénario offre une explication physique du repliement dans une conformation unique - l'état natif - il est devenu très populaire³. Cependant, ce modèle a des limites parce qu'il est fondé sur un raisonnement à l'équilibre thermodynamique tandis qu'au niveau *cinétique* le problème de trouver l'état natif dans un temps relativement court persiste. Dans la dernière décennie, il est devenu clair que les propriétés particulières des protéines ne s'expliquent pas dans le cadre du REM, et que le paysage d'énergie de ces biomolécules n'est pas en accord avec l'hypothèse sur l'indépendance des états de basse énergie. Les corrélations entre différentes conformations et leurs influence sur la topologie du paysage d'énergie sont aujourd'hui considérées comme l'une des principales clés de la compréhension des protéines. De plus, de récentes analyses de séquences de protéines ont fini par révéler des corrélations entre monomères et mettent en évidence qu'au niveau de la structure primaire les protéines ne sont cependant pas aléatoires. Ceci est également corroboré par les résultats expérimentaux montrant que des séquences aléatoires d'acides aminés se replient mal et ne possèdent pas les propriétés typiques des protéines. Nous reviendrons à ces aspects plus en détail dans le chapitre 4.

³Le REM ne prédit la dominance d'un *seul* état qu'à des températures suffisamment en dessous de la transition de gel. Proche de la transition, il y a un nombre fini d'états de basse énergie qui contribuent à la thermodynamique. En approchant la transition ce nombre diverge en $(T_{\text{gel}} - T)^{-1}$.

Pour aller au-delà de l'image du REM, plusieurs idées ont été proposées qui, pour la plupart, sont toujours l'objet de vifs débats dans la communauté scientifique. Un mécanisme qu'on croit être crucial pour la première phase du repliement est l'effet hydrophobe [Di190] : les monomères hydrophobes forment un noyau dense au centre de la protéine pour écranter l'eau tandis que les parties hydrophiles de la séquence essaient d'optimiser leur contact avec l'eau en s'exposant à la surface du globule. L'existence du noyau hydrophobe est relativement bien confirmé expérimentalement. En revanche, la surface n'est pas entièrement hydrophile mais contient toujours approximativement 35% de monomères hydrophobes ce qui est inévitable à cause de la contrainte de la chaîne. Ces observations ont donné lieu au modèle HP [Di185] où tous les acides aminés sont classés comme hydrophobes (H) ou hydrophiles (polaires, P). On considère alors un simple modèle à deux types de monomères qui ont des interactions de paires où deux monomères H s'attirent et les autres interactions sont négligeables.

Tandis que le modèle HP est capable de décrire une première structuration de la protéine, il ne contient pas suffisamment de détails pour déterminer l'état natif. En effet, l'état fondamental d'une séquence HP a toute chance d'être très dégénéré. De plus, dans un tel modèle la transition de repliement est beaucoup moins nette (ou *coopérative* dans le langage des biochimistes) que dans les protéines réelles [Cha00, KC00].

Pour expliquer le repliement rapide à l'état natif, le "principe de frustration minimale" a été proposé. Il suppose que la frustration dans le repliement natif d'une protéine naturelle est très petite et que le repliement est guidé par minimisation successive de la frustration locale [Go83, BW87]. En développant cette idée plus loin, le concept d'un paysage d'énergie en forme d'un grand entonnoir formé par la vallée de l'état natif et son bassin d'attraction a été avancée [LMO92]. On suppose que cette vallée domine le paysage d'énergie, et que le repliement procède essentiellement par une descente en énergie sans qu'un chemin de repliement bien spécifique doive être suivi [CD97]. Cette image a été rendue plus quantitative par des approches phénoménologiques qui essaient d'améliorer l'approximation du REM en tenant compte des corrélations entre les conformations de basse énergie et en admettant des fluctuations de densité dans le globule [PWW96, PWW97, PGT00].

L'image d'un paysage en entonnoir a été critiquée comme étant trop simple car elle néglige le fait que la dynamique de repliement reste activée jusqu'à ce qu'un grand recouvrement avec la structure native soit atteint [SSK94]. Ce n'est qu'à partir d'un tel "état de transition" [Sha97] que le repliement s'achève très rapidement. D'après la théorie de la nucléation [AGS94, MS01] le repliement rapide est initié une fois que dans la phase compacte un noyau critique s'est formé. On s'imagine celui-là comme un petit sous-ensemble de contacts natifs qui fait partie de la plupart des états de transition. Les analyses de différentes mutations de séquences suggèrent que ce noyau dépend beaucoup

plus du repliement final que des interactions entre les monomères respectifs du noyau. Une séquence qui se replie bien est avant tout décrite par un très grand ensemble d'états de transition.

Jusqu'à présent aucune des approches théoriques ne peut donner des critères directs qui permettraient de déterminer si une séquence se replie bien ou non. Par contre, il y a au moins deux critères semi-quantitatifs qui semblent être relativement robustes : une séquence se replie d'autant plus vite que la température de repliement T_F (sous laquelle l'état natif domine la thermodynamique) est proche du point Θ où la molécule se compacte. Approximativement, la relation

$$\log \tau_F \sim \frac{T_\Theta - T_F}{T_\Theta} \quad (1.1)$$

entre le temps de repliement τ_F et les deux températures critiques a été établie [KT96]. Un autre critère important concerne la fiabilité du repliement, c'est-à-dire la probabilité que l'état natif soit atteint lors de la transition de gel. En étudiant des séquences "dessinées" avec un état natif bien distingué, on a trouvé que le paramètre décisif est le gap entre la température de repliement T_F et la température de gel T_{freeze} . Celle-ci correspondrait à la transition de gel dans un paysage d'énergie sans la vallée dominante de l'état fondamental [PGT00]. Plus grand est le gap par rapport à T_{freeze} , plus fiable est le repliement. Autrement dit, dans une "bonne" protéine la vallée native est bien plus profonde que le reste du paysage d'énergie. La façon dont l'évolution a sélectionné des séquences satisfaisant de telles critères, ainsi que la mesure dans laquelle ces critères se reflètent dans la structure primaire des protéines sont encore des problèmes non-résolus.

Nous avons seulement donné une petite revue des principales idées dans le domaine. Mais il est tout de même clair que malgré beaucoup d'efforts il y a toujours peu de résultats sûrs sur le repliement des protéines. Les concepts théoriques sont très difficiles à confirmer ou infirmer expérimentalement, et les simulations par ordinateur sont souvent limitées à des chaînes de taille modeste ou à des modèles sur réseau dont les résultats doivent être interprétés avec prudence.

Il serait donc souhaitable de trouver un système proche des protéines, mais plus simple, où les concepts décrits plus haut puissent être testés. Il se trouve que l'ARN est un candidat idéal pour cela, comme nous en discuterons dans la section suivante. En même temps, nous trouverons que l'ARN est un système de physique statistique très intéressant en lui-même.

1.5 L'ARN : une biomolécule particulière

L'ARN, ou acide ribonucléique, est probablement le biopolymère qui prend le plus de fonctions différentes : porteur d'information, enzyme et outil moléculaire. Une hypothèse

assez populaire en biologie de l'évolution suppose même qu'il a existé une première phase de la vie reproductive fondée uniquement sur l'ARN qui s'auto-régularisait [GCA99]. Cette vue devient de plus en plus vraisemblable depuis que les biologistes moléculaires ont découvert une multitude de fonctions enzymatiques et régulatrices de petits ARN [Sto02, Cou02].

Les principaux types et fonctions de l'ARN sont :

- ARN messenger (ARNm) : transcrits de l'ADN portant le code génétique en triplets pour les protéines. Ils ont une longueur typique de 500-3000 monomères.
- ARN de transfert (ARNt) : les petits ARN en feuille de trèfle, composés d'une centaine de monomères. Ils reconnaissent le code en triplets de l'ARN messenger et transportent un type d'acide aminé spécifique.
- ARN ribosomal (ARNr) : un type d'ARN qui prend des fonctions enzymatiques en assistant les ribosomes lors de la transcription de l'ADN dans un ARN messenger. Un ARNr contient entre 100 et 500 monomères.
- ARN nucléaire hétérogène (ARNhn, chez les eucaryotes seulement) : ARN synthétisé dans le nucléoplasme comme grande molécule précurseur de l'ARNm (5000 - 50000 nucléotides) qui contient des parties codantes (exons) et non-codantes (introns). Les introns sont éliminés du transcrit primaire par un mécanisme appelé épissage.
- petit ARN nucléaire (ARNsn) : ARN d'une vingtaine de nucléotides. Ils n'ont été découverts que récemment et possèdent une grande variété de fonctions régulatrices.

1.5.1 La structure hiérarchique de l'ARN

La structure de l'ARN ressemble beaucoup à celle d'un simple brin d'ADN : sa structure *primaire* est une séquence linéaire de nucléotides le long d'un squelette de phosphates. Les nucléotides sont composés d'un sucre (ribose) et d'un des quatre types de bases : deux purines, l'adénine (A) et la guanine (G), et deux pyrimidines, la cytosine (C) et l'uracile (U) (l'équivalent de la thymine (T) dans l'ADN), voir les figures 1.5 et 1.6. Le squelette porte une orientation : les liaisons phosphodiester relient le phosphate à deux carbones inéquivalents, C_3 et C_5 , des riboses voisines, voir figure 1.7. Comme l'énergie typique de ces liaisons covalentes est de 60 kcal/mole $\approx 100 kT$ ($1 kT \approx 0.6$ kcal/mole à $T = 300$ K), la structure primaire d'un ARN n'est pas sensible aux fluctuations thermiques et peut être considérée comme fixée.

Les phosphates portent une charge négative. En présence d'ions positifs dans la solution (Na^+ ou Mg^{2+}), leurs interactions électrostatiques sont écrantées, et l'ARN a tendance à se replier sur lui-même [TB99]. La formation de paires de bases de type Watson-Crick [WC53] entre les bases complémentaires A et U ou G et C est particulièrement fa-

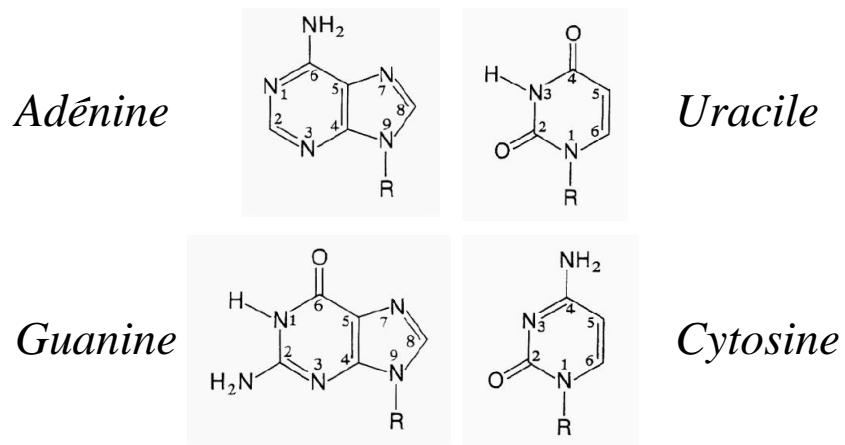


FIG. 1.5 – Les quatre bases *A*, *U*, *G* et *C* de l'ARN. Dans les nucléotides, elles sont attachées à un sucre (ribose) indiqué par *R*.

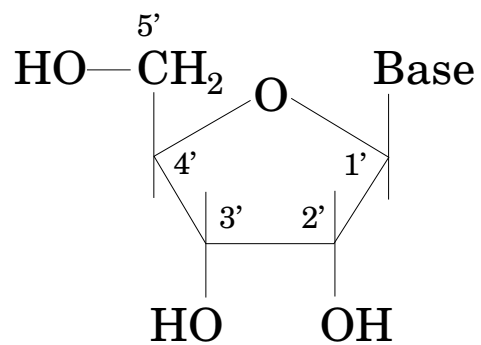


FIG. 1.6 – La ribose : le sucre dans les nucléotides constituant l'ARN.

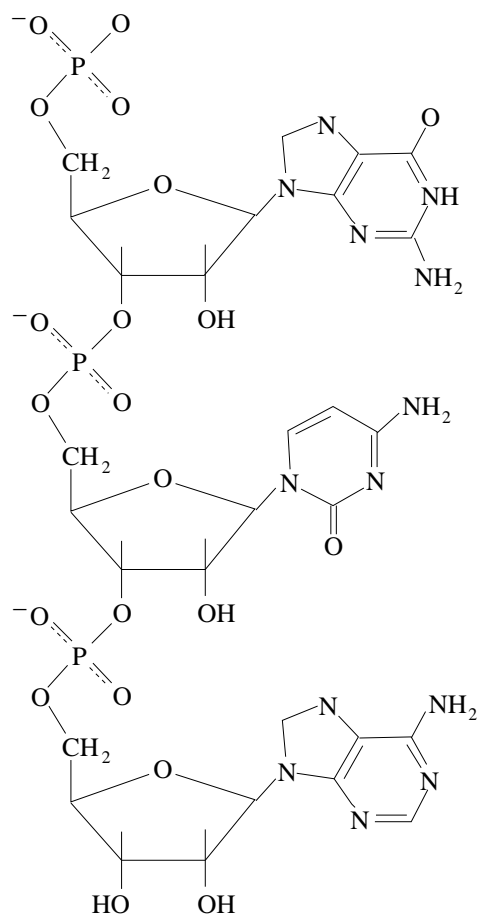


FIG. 1.7 – Structure du squelette d'un simple brin d'ARN : les nucléotides (ribose + base) sont reliés par des phosphates portant une charge négative. La séquence montrée est notée ${}_{5'}GCA_{3'}$. L'index 5 indique que la chaîne termine par un phosphate attaché au carbone C_5 de la ribose tandis que l'index 3 se réfère au hydroxyle libre attaché au carbone C_3 à l'autre bout du squelette.

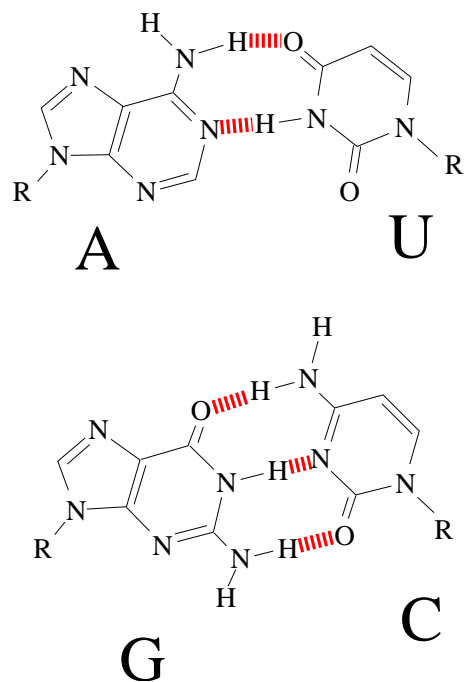


FIG. 1.8 – Les appariements de bases de type Watson-Crick. Les riboses sont indiquées par *R*.

avorable, voir figure 1.8 : plusieurs liaisons hydrogène s'établissent dans ces appariements (deux dans la paire AU et trois dans GC). De plus, ces deux conformations sont presque isostériques et s'empilent facilement. D'une part, cela rapproche les deux plans des paires de bases jusqu'à un rayon de van der Waals typique, ce qui maximise l'attraction entre charges partielles. D'autre part, l'empilement expulse l'eau de la partie hydrophobe des bases. Dans la conformation énergétiquement la plus favorable, les deux paires ne sont pas parfaitement parallèles mais forment un angle d'environ 33° . Une séquence de tels empilements donne lieu à une hélice de deux simples brins complémentaires avec 11 paires de bases par tour. Cette hélice, dite de forme A, ressemble à la structure de l'ADN double brin (forme B), mais elle tourne dans l'autre sens et a un sillon étroit plus profond parce que les paires de bases sont inclinées par rapport à l'axe de l'hélice, voir figure 1.9. Il se trouve que l'hélice ne peut se former que si les deux simples brins complémentaires ont une orientation anti-parallèle.

L'ensemble des hélices dans le repliement d'un ARN est appelé sa *structure secondaire*. On la représente souvent en projetant le repliement de la chaîne dans le plan comme illustré dans la figure 1.10 pour un ARN enzymatique de *Bacillus subtilis*. En plus des hélices, les éléments structurels comprennent des renflements (des interruptions unilatérales d'une hélice, *bulges* en anglais), des boucles intérieures et multiples (avec plus de deux tiges attachées), ainsi que des boucles en épingle à cheveux (*hairpin loops*) qui terminent



FIG. 1.9 – La double-hélice (forme A) de l'ARN. L'orientation des deux brins est anti-parallèle (3 – 5 et 5 – 3 respectivement).

les hélices à l'extrémité de la structure. L'échelle d'énergie associée à un empilement de paires de bases ou à la formation d'une petite boucle en épingle à cheveux est de $3 - 4 \text{ kcal/mole} \approx 5 - 7 kT$.

L'arrangement des hélices dans l'espace tridimensionnel constitue la *structure tertiaire*. Elle est déterminée essentiellement par des interactions électrostatiques entre des ions positifs, surtout Mg^{2+} , et les groupes de phosphate du squelette. Les énergies typiques des interactions tertiaires sont nettement plus basses (de l'ordre de $1 - 3 kT$) que celles associées aux paires de bases Watson-Crick et leur empilement [BTJ99]. Cela se voit par exemple dans les expériences de fusion où la structure tertiaire se dissout autour de 30°C - 40°C tandis que les hélices sont stables jusqu'à 60°C - 80°C . Cette hiérarchie entre structure secondaire et structure tertiaire existe non seulement au niveau de la thermodynamique, mais semble également déterminer la cinétique du repliement [TB99] : partant d'un état dénaturé, les hélices se forment d'abord et optimisent l'énergie libre de la structure secondaire. Les hélices locales (appariements entre simples brins proches dans la séquence) se forment typiquement au bout de $10 - 100 \mu\text{s}$ tandis que la formation des hélices à plus grande échelle prend plus de temps. Finalement, l'emplacement dans l'espace, c'est-à-dire la structure tertiaire, s'établit. Pendant cette dernière étape la structure secondaire déjà formée n'est que peu modifiée.

1.5.2 Le repliement d'ARN

La séparation des échelles d'énergies dans l'ARN suggère un algorithme de prédiction de structure [Hig00] : dans un premier temps, on détermine la structure secondaire

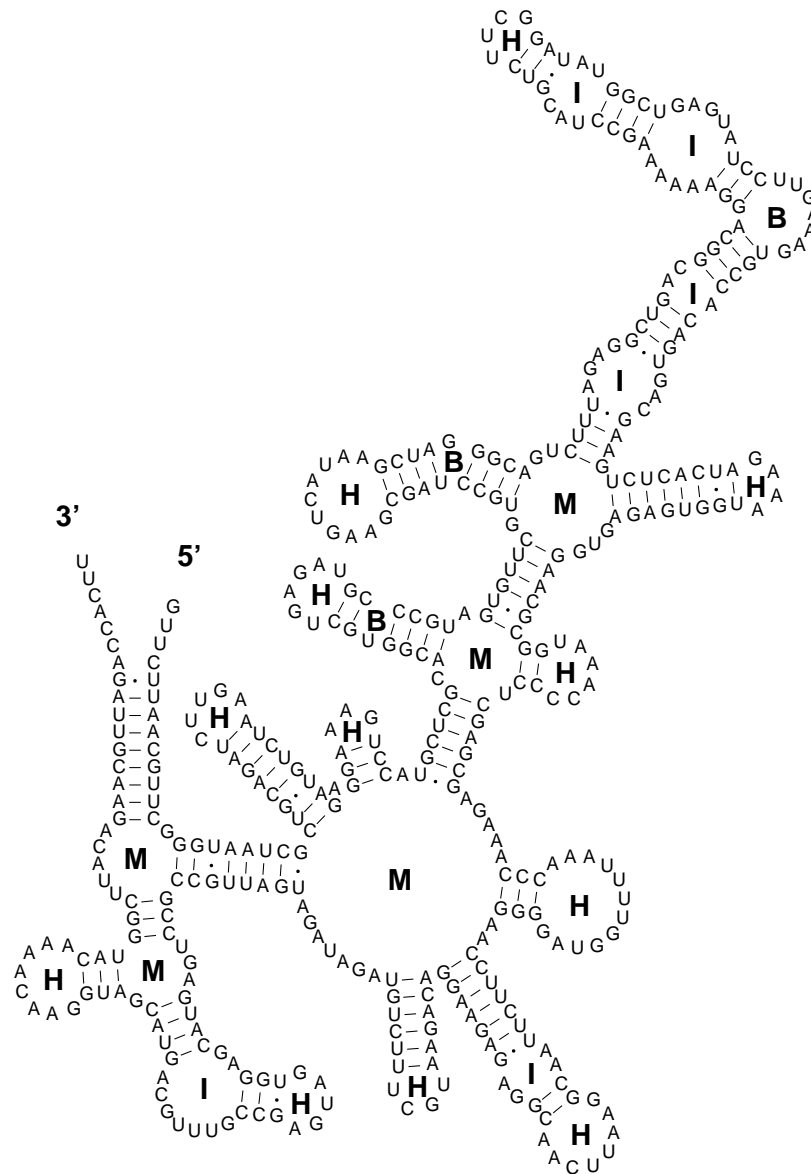
Bacillus subtilis RNase P RNA

FIG. 1.10 – Représentation standard de la structure secondaire de la RNase P, un ARN enzymatique, de *Bacillus subtilis*. Les hélices contiennent des paires de base Watson-Crick ($A - U$ et $G - C$) ainsi que des *wobble pairs* $G \cdot U$. Elles sont séparées par des boucles intérieures (I) et multiples (M) ou interrompues par des renflements (B). Les hélices à l'extrémité de la structure se terminent par une boucle en épingle à cheveux (H).

à partir de la séquence de bases en cherchant l'ensemble d'hélices qui minimise l'énergie libre. Dans un deuxième temps les interactions tertiaires sont ajoutées en perturbation. La première partie du problème est essentiellement résolue. Les paramètres thermodynamiques associés aux éléments de la structure secondaire ont été mesurée expérimentalement avec grande précision [FKJ⁺86], et les algorithmes de prédiction de repliement [MSZT99, HFS⁺94] qui se basent là-dessus reproduisent la plus grande partie des structures secondaires connues de divers ARNs de transfert et ribosomiaux. Cependant, la prédiction de la structure tertiaire est beaucoup moins développée, entre autres en raison du fait que peu de paramètres thermodynamiques sont connus. On espère que les expériences de molécules uniques fourniront plus d'informations du moins sur certains motifs récurrents de la structure tertiaire [TB99].

1.5.3 Protéines versus ARN

La hiérarchie distincte entre structure secondaire et tertiaire constitue une différence essentielle entre l'ARN et les protéines où les éléments de la structure secondaire ne sont stables que dans un contexte spécifique de structure tertiaire. De plus, les hélices Watson-Crick sont des éléments de structure qui ne se forment qu'entre simples brins complémentaires, tandis que les hélices α et les feuillets β sont beaucoup moins sélectifs par rapport aux acides aminés qu'ils contiennent. Cela, ainsi que le fait que l'ARN ne contient que quatre types de monomères (tandis que ce sont vingt dans le cas des protéines), rend le problème de repliement de l'ARN beaucoup moins difficile.

La structure hiérarchique de l'ARN permet non seulement de trouver l'état natif avec une grande fiabilité, mais donne aussi accès à la thermodynamique de la molécule - au moins au niveau de sa structure secondaire. Ceci permet d'étudier les propriétés du paysage d'énergie et différents aspects de la cinétique de repliement de façon quantitative.

Nous relevons encore une particularité de l'ARN par rapport aux protéines : une fois engagé dans un appariement Watson-Crick, un nucléotide est quasiment saturé dans le sens où les interactions supplémentaires avec d'autres monomères sont presque négligeables. En revanche, les acides aminés ne sont pas sujets à une telle restriction, mais interagissent avec tous les leurs voisins de façon comparable.

Bien que la physique des protéines et de l'ARN ne soient pas exactement les mêmes, il semble raisonnable de supposer que les caractéristiques du processus de repliement soient similaires. Dans l'exemple de l'ARN il est alors possible de tester les idées et concepts parmi lesquels ceux mentionnés jusqu'ici.

1.6 Hétéropolymères comme matériaux

En plus des biopolymères, il existe une grande classe de matériaux plastiques beaucoup étudiés, appelés *copolymères*. Le plus souvent ils sont composés de deux ou trois types de monomères. Les matériaux possédant le plus d'applications techniques sont les copolymères à blocs (*block copolymers* en anglais) qui présentent une structure périodique de blocs [BF90, Lei80]. Ils sont fabriqués par polymérisation anionique, une technique qui permet de bien contrôler la taille des blocs et le degré de polymérisation. Ces polymères ont reçu beaucoup d'intérêt du fait qu'ils subissent une *séparation en microphases* accompagnée d'un changement abrupt des propriétés mécaniques : à basse température, les deux espèces s'agrègent localement, et un état partiellement ordonné s'établit. Cependant, une ségrégation globale est empêchée puisque les blocs sont connectés par la chaîne.

S'il n'est pas nécessaire de contrôler la composition microscopique de la séquence la fabrication d'hétéropolymères est plus facile. On peut, par exemple, se servir de la polymérisation radicalaire qui résulte en hétéropolymères à séquences aléatoires dont les propriétés statistiques dépendront du processus utilisé. Des exemples typiques sont les copolyuréthanes [RBM92], les polysiloxane-imides [SMBS92], HIPS (*high impact polystyrene*), ABS (acrylonitrile-styrène-butadiène) ou la gomme SBR (styrène-butadiène). Ce genre d'hétéropolymères sera considéré dans le chapitre 4.

1.7 Plan de la thèse

Dans cette thèse, j'aborde différentes questions relatives au repliement d'hétéropolymères. Le travail se divise en deux parties. La première partie couvre divers aspects de l'ARN, soit en absence de contrainte extérieure (chapitre 2), soit soumis à une force extérieure (chapitre 3). Dans un premier temps, je discuterai la thermodynamique d'un modèle homogène d'ARN au niveau de sa structure secondaire. Non seulement ce système est intéressant en lui-même, mais cette analyse permettra également de mieux comprendre les propriétés particulières de l'ARN réel dominé par l'hétérogénéité de la séquence. Je m'intéresserai en particulier à l'existence et à la caractérisation de la phase vitreuse, ainsi qu'à la façon dont elle se manifeste lors d'expériences de molécules uniques.

La deuxième partie est consacrée aux hétéropolymères en général. Après une discussion approfondie des techniques utilisées jusqu'à présent, j'introduis une nouvelle méthode qui se concentre sur l'analyse locale de la frustration. Cette approche me permet de trouver le diagramme de phase d'hétéropolymères et de discuter le rôle de corrélations au sein de la séquence. Pour un certain type de corrélations qui semble notamment être présent dans les protéines les résultats prédisent un nouveau type de transition vers une phase vitreuse molle qui précède la transition de gel "classique".

1.8 Articles

Voici les articles écrits dans le cadre de cette thèse :

1. **Nature of the glassy phase of RNA secondary structure.**
Europhys. Lett., **57** : 752–758, 2002
avec F. Krzakała et M. Mézard
2. **Pulling on disordered RNA-polymers.**
Eur. Phys. J. E **9** : 67–77, 2002
avec F. Krzakała et M. Mézard
3. **Statistical physics of RNA folding.**
Phys. Rev. E **67** : 021914, 2003
4. **The phase diagram of random heteropolymers.**
Soumis à Phys. Rev. Lett.
avec A. Montanari et M. Mézard
5. **Towards a realistic mean field theory of heteropolymers : Sequence correlations and freezing scenarios.**
preprint
avec A. Montanari et M. Mézard

Chapitre 2

Statique et phase vitreuse de l'ARN

2.1 Approche de physique statistique au problème des hétéropolymères

Comme nous avons vu dans l'introduction, l'hétérogénéité est cruciale pour le repliement et les propriétés physiques des hétéropolymères. Pour le physicien statisticien, la séquence de monomères constitue un désordre *gelé* qui ne change pas au cours du temps. Au lieu de décrire chaque séquence séparément, on adopte l'approche *statistique* qui permet d'étudier les propriétés typiques d'un tel système caractérisé par la statistique du désordre.

Dans le cas d'un hétéropolymère de N monomères, $i = 1 \dots N$, le désordre est donné par les énergies d'interactions, e_{ij} , pour toutes les paires de monomères (i, j) possibles. L'énergie libre (ainsi que d'autres observables) sera une fonctionnelle des couplages, $F \equiv F(\{e_{ij}\})$. Pour décrire les propriétés typiques du système, on moyenne sur la statistique du désordre,

$$\bar{F} = \int \prod_{i,j} P(e_{ij}) de_{ij} F(\{e_{ij}\}). \quad (2.1)$$

Une fois que \bar{F} est connu, les moyennes par rapport au désordre des observables à une particule peuvent être obtenues en calculant les dérivées partielles de \bar{F} . Une justification plus importante pour étudier la moyenne de l'énergie libre est donnée par l'observation suivante : si un système désordonné est grand, $N \gg 1$, et si les interactions sont de courte portée, on peut démontrer que l'énergie libre est automoyennante [Bro59] : asymptotiquement, la densité d'énergie libre F/N converge vers la moyenne \bar{F}/N , et la dispersion due au désordre tend vers zéro. Cela peut se comprendre en partageant le système en beaucoup de petits sous-systèmes, mais toujours assez grands pour que les effets de leur surface soient négligeables par rapport au volume. L'énergie libre du système est alors approximativement donnée par la somme des énergies libres des sous-systèmes, dont chacun

représente une réalisation indépendante du désordre, d'où l'automoyennage de l'énergie libre s'ensuit.

Il n'est pas évident que cet argument s'applique aux polymères, même dans la limite thermodynamique, puisque la chaîne polymérique induit des corrélations à longue portée. Néanmoins, l'automoyennage a été démontrée pour certains modèles d'hétéropolymères [OTW00]. Étant donné que le passage à la limite de grands systèmes est une étape essentielle dans les démonstrations, il n'est cependant pas clair si les protéines - des systèmes mésoscopiques de $N \sim 100 - 500$ monomères - peuvent être considérées comme automoyennantes. Les énumérations exactes de toutes les conformations de chaînes de taille 18, 27 et 36 sur réseau [CGK01] suggèrent qu'au moins l'énergie libre est automoyennante¹. En revanche, les propriétés structurelles, par exemple les corrélations entre monomères et la structure de l'espace de phase seront certainement plus sensibles à la moyenne sur le désordre.

Dans la plupart des systèmes désordonnés, des calculs analytiques ne sont possibles qu'après avoir pris la moyenne sur le désordre. Une astuce très récurrente, connue comme *replica trick*, se sert de la fonction de partition Z^n d'un système de n de répliques (copies du système avec le même désordre gelé) pour en extraire la moyenne de l'énergie libre en utilisant l'identité

$$-\frac{\overline{F}}{T} = \overline{\log Z} = \lim_{n \rightarrow 0} \frac{\overline{Z^n} - 1}{n}. \quad (2.2)$$

Ceci nécessite de définir un prolongement analytique de la moyenne de la fonction de partition $\overline{Z^n}$ pour le nombre de répliques n qui tend vers zéro, $n \rightarrow 0$. Pour les hétéropolymères, la méthode des répliques a été introduite par Obukhov [Obu86]. Elle est à la base des théories classiques [GO88b, SG89b] que nous discuterons dans le chapitre 4.

La méthode des répliques ne s'applique pas facilement à l'ARN. Cependant, ce problème a une structure particulière qui le rend plus simple que d'autres systèmes désordonnés. La fonction de partition peut être calculée à l'aide d'un algorithme polynômial dans le nombre N de monomères tandis que le problème équivalent - pour un verre de spins par exemple - est un problème NP-dur dont la complexité croît exponentiellement avec la taille du système. Étant donné que la thermodynamique est si facilement accessible pour un échantillon aléatoire donné, nous allons souvent calculer les observables pour tout un ensemble de séquences. En faisant la statistique sur l'ensemble, on pourra simultanément vérifier que les quantités en question soient automoyennantes.

Dans la suite, nous nous intéresserons en particulier aux propriétés physiques de longues molécules, comme l'ARN messager ou même l'ARN nucléaire hétérogène. Comme leur fonction primaire est de porter le code génétique, on peut s'attendre à ce que

¹Les auteurs utilisent le critère simple que les fluctuations de l'énergie libre soient beaucoup plus petites que la valeur moyenne, $\delta F \ll \overline{F}$. C'est cet aspect de l'automoyennage qui est exploité dans le *design* de séquences.

leur repliement ne soit pas d'importance primordiale pour leur fonction et que, par conséquent, leurs séquences soient relativement aléatoires du point de vue du repliement. En particulier, la fréquence de paires de sous-séquences complémentaires ne se distinguera pas de celle d'une séquence aléatoire. Nous reviendrons à ce point dans la section 2.3 quand nous étudierons les propriétés vitreuses de l'ARN.

2.2 L'ARN décrit au niveau de sa structure secondaire

Pour l'ARN de transfert et l'ARN ribosomal, la structure est essentielle pour la fonction. En comparant les ARNs homologues de différents organismes, on trouve qu'une grande partie de leur structure secondaire est conservée même si les organismes ont une grande distance phylogénétique. On en déduit que la position des appariements Watson-Crick dans la séquence est très importante pour la structure finale, et que la formation de la structure secondaire représente un premier pas décisif dans le repliement vers une molécule fonctionnelle.

Les interactions tertiaires déterminent le repliement final qui est essentiel pour la fonctionnalité des ARNs de transfert et des ARNs ribosomiaux. Elles stabilisent la position respective des hélices et des boucles dans l'espace. En premier lieu, elles dépendent de la présence de Mg^{2+} qui, entre autres, facilite l'approche de deux bouts de squelettes négativement chargés.

Puisque, dans nos approches théoriques, nous nous concentrerons presque exclusivement sur la structure secondaire, il est intéressant de savoir qu'en réduisant la concentration de Mg^{2+} , il est possible d'éliminer quasiment tous les effets d'interactions tertiaires, ce qui permet d'étudier l'ARN au niveau de sa structure secondaire et de vérifier les prédictions théoriques.

2.2.1 La structure en arbre de l'ARN

Souvent, la structure secondaire d'un ARN est représentée en projetant le squelette dans le plan, tout en gardant les hélices intactes, voir figure 1.10. Une représentation alternative est le diagramme en "arc-en-ciel" où la séquence linéaire est étalée et les appariements de bases sont indiqués par des arcs, voir figure 2.1 Les repliements d'ARN qui ont été déterminés expérimentalement, par cristallographie notamment, montrent une propriété remarquable de la structure secondaire : elle est presque parfaitement *planaire* [SKMC83]². Dans la représentation standard, cela implique que le repliement possède une structure en arbre, sans appariements entre les différentes branches ou sous-structures. Les exceptions à cette règle sont assez rares. Dans les ARNs dont on connaît

²On appelle un appariement planaire si, dans la représentation en arc-en-ciel, les arcs ne se croisent pas.

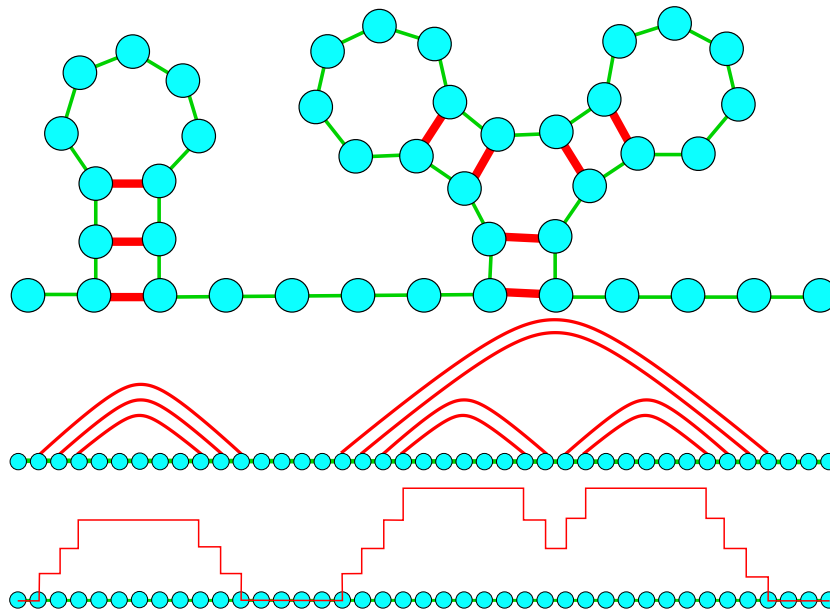


FIG. 2.1 – Les différentes représentations pour la même structure secondaire : “standard”, “arc-en-ciel” et “relief de montagne”.

le repliement, elles ne constituent pas plus que 10% de tous les appariements. La raison pour cela est d'origine topologique, ce qui se comprend le plus facilement dans l'exemple de deux boucles en épingle à cheveux, voir figure 2.2. Une longue hélice formée par les simples brins des deux boucles est topologiquement impossible. Elle requièrerait un nœud dans le repliement, ce qui est cinétiquement inaccessible : une fois que l'épingle à cheveux s'est formée³ ceci nécessiterait que toute une partie de la séquence passe par la boucle. Mais même de courtes hélices sont supprimées parce qu'elles sont sujettes à un couple de torsion qui les rend énergétiquement défavorables. Pour des raisons évidentes, on appelle les appariements qui violent la planarité *pseudonœuds*. Il est conventionnel de les attribuer à la structure tertiaire, ce qui est justifié par l'observation que ces structures fondent à des températures bien inférieures que les hélices de la structure secondaire⁴.

La représentation en relief de montagne

En absence de pseudonœuds, la structure secondaire peut être représentée d'une troisième façon qui nous sera souvent utile, voir figure 2.1 : au diagramme en arc-en-ciel nous associons un “relief de montagne” comme suit : une base dont le partenaire Watson-Crick

³Rappelons que les hélices en épingle à cheveux se replient le plus vite.

⁴Entre autres, ceci est relié au fait que les appariements de bases dans les pseudonœuds ne sont souvent pas des appariements Watson-Crick mais d'un type exotique (“Hoogsteen” ou “*sugar side*”). Ceux-ci profitent également de plusieurs liaisons hydrogène mais ne s'empilent pas aussi bien que les paires de bases Watson-Crick.

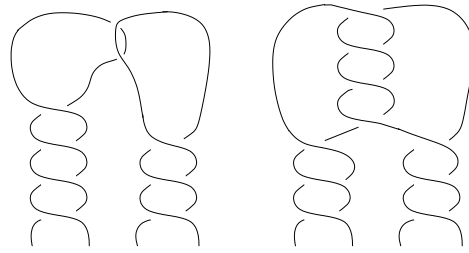


FIG. 2.2 – à gauche : pseudonœud de type “*kissing hairpins*”. À droite : structure avec un vrai nœud qui est cinétiquement inaccessible.

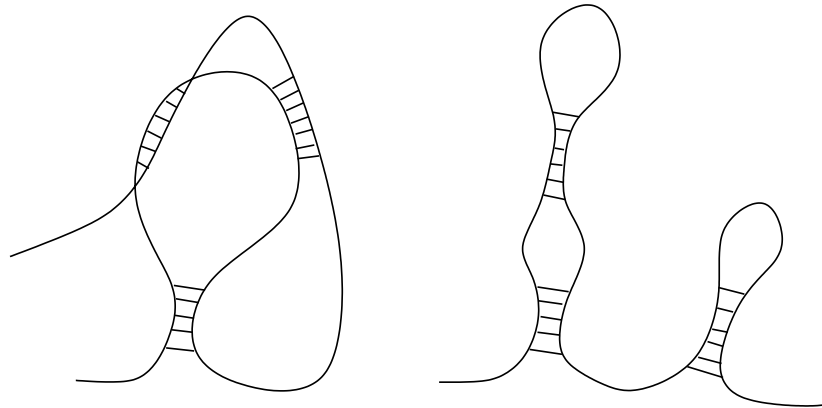


FIG. 2.3 – Appariements avec trois hélices sans contraintes topologiques (à gauche) et en l’absence de pseudonœuds (à droite). L’encombrement spatial d’un appariement sans contraintes est typiquement bien plus grand que celui d’une structure planaire.

se trouve plus à droite donne lieu à un pas en haut, tandis qu’une base appariée vers la gauche diminue la hauteur d’un pas. Une base non appariée la laisse invariante. Il est facile de vérifier qu’il y a une correspondance biunivoque entre diagrammes en arc-en-ciel et reliefs de montagne dont les deux bouts sont fixés à hauteur zéro.

L’auto-évitement et la contrainte des pseudonœuds

Dans la suite, nous négligerons donc les pseudonœuds en nous restreignant à des appariements planaires. Cette contrainte empêche les sous-parties de différentes branches de la structure secondaire d’interagir en formant des hélices. En comparant les structures secondaires planaires avec les structures secondaires sans contraintes topologiques (contenant des pseudonœuds), nous nous apercevons que les dernières structures seront très denses et encombrées une fois qu’elles sont réalisées dans l’espace réel. Cette tendance est beaucoup plus petite quand l’absence de pseudonœuds est imposée, comme nous illustrons dans la figure 2.3. Dans la mesure où cette contrainte topologique interdit les interactions

attractives entre les branches, elle implémente une sorte d'auto-évitement effectif. Nous reviendrons à cet aspect plus en détail dans la section 2.2.4.

2.2.2 Les algorithmes de prédiction de la structure secondaire

Les paramètres thermodynamiques de la structure secondaire

Pour prédire le repliement natif à partir d'une séquence de nucléotides donnée, il faut savoir calculer l'énergie libre d'une structure secondaire. De nombreuses expériences calorimétriques avec des petits bouts d'ARN [FKJ⁺86, LT97] ont démontré qu'en très bonne approximation l'énergie libre se compose de termes locaux qui sont associés aux éléments de la structure secondaire, les hélices et les boucles en premier lieu. L'énergie libre d'une hélice s'obtient comme une somme de contributions indépendantes de chaque empilement de paires de bases, plus un terme des bouts qui dépend des bases voisines à l'hélice⁵. Dans une première approximation, les énergies libres d'empilement peuvent être exprimées comme la somme des énergies d'appariement des deux paires de bases.

En plus de ces contributions plutôt enthalpiques, on a également mesuré les paramètres thermodynamiques associés aux boucles intérieures et aux boucles en épingle à cheveux dont la nature est presque purement entropique : le nombre de configurations d'une boucle de longueur ℓ croît comme μ^ℓ / ℓ^ν [dG79], où μ est la constante de connectivité. Le préfacteur $\ell^{-\nu}$ décrit la pénalité associée à la formation d'une boucle qui réduit le volume de l'espace de phase accessible. Dans le cas d'une chaîne idéale effectuant une marche aléatoire, l'exposant c vaut $3/2$ ⁶. Un modèle plus réaliste doit au moins prendre en compte l'auto-évitement de la boucle par rapport à elle-même⁷, ce qui donne lieu à $c = 3\nu_{\text{SAW}}$, où $\nu_{\text{SAW}} \approx 0.588$ est l'exposant du rayon de gyration d'une marche auto-évitante en $3d$. Dans la section 2.2.4 nous allons discuter des modèles plus sophistiqués tenant compte de l'environnement local de la boucle.

Les algorithmes de prédiction pour la structure secondaire⁸ utilisent ce jeu de para-

⁵Ces bases sont appelées "*dangling ends*" en anglais.

⁶Le préfacteur $\ell^{-3/2}$ est connu comme le facteur de Stockmayer et Jacobson.

⁷Les paramètres pour les boucles ont été mesurés expérimentalement jusqu'à des longueurs $\ell \approx 30$. Pour ℓ plus grand, les algorithmes de prédiction extrapolent la loi de la marche auto-évitante. Pour une approche directe au problème des boucles, voir les références [CD98, CD00] qui traitent le repliement de l'ARN sur un réseau en prenant en compte l'auto-évitement au niveau local. Leurs résultats reproduisent bien les pénalités mesurées pour les petites boucles.

⁸Ici, nous nous concentrons sur les algorithmes déterministes qui prédisent le repliement à partir d'une seule séquence. Dans la section 2.3.5 nous discuterons un type d'algorithme plus heuristique pour trouver les motifs les plus fréquents dans la structure secondaire d'un ARN donné. Dans le cas où les ARNs homologues de plusieurs organismes sont connus des algorithmes d'alignement de séquences peuvent souvent fournir plus de détails, y compris certains contacts tertiaires. Une bonne revue de différents types d'algorithmes est donnée dans [Hig00].

mètres dont les valeurs varient en fonction de la température, de la salinité et du pH. Le logiciel *mfold* de Zuker [MSZT99] détermine la structure secondaire qui minimise l'énergie libre, tandis que le *Vienna package* de Schuster et al. [HFS⁺94] calcule la fonction de partition de la molécule.

Calcul récursif de la fonction de partition.

Ces algorithmes exploitent l'absence de pseudonœuds, ce qui permet de calculer l'énergie libre ou la fonction de partition de manière récursive par programmation dynamique. Nous expliquerons ici le principe pour le cas de la fonction de partition. Le repliement le plus favorable s'obtient de la même façon, en remplaçant les sommes par des minimas.

Nous considérons un modèle très simplifié qui ne prend en compte que la contribution des hélices que nous écrivons comme somme sur les énergies d'appariements de paires de bases. En principe, il faudrait imposer une contrainte sur la longueur minimale des hélices (typiquement 3 paires de bases) et des boucles en épingle à cheveux (au moins quatre bases). Pour l'instant, nous négligeons ces contraintes ainsi que les pénalités associées aux boucles. Ces détails peuvent être ajoutés en modifiant la récursion que nous décrivons ci-dessous. Pour l'ARN homogène, nous étudierons un tel modèle dans la section 2.2.4.

Nous considérons chaque structure secondaire qui respecte la condition de planarité comme une configuration \mathcal{S} de l'ensemble canonique. La fonction de partition est alors la somme des poids de Boltzmann de toutes les structures secondaires permises,

$$Z(\beta) = \sum_{\mathcal{S}} e^{-\beta e(\mathcal{S})}, \quad (2.3)$$

où $e(\mathcal{S})$ est l'énergie (libre) associée à la structure secondaire \mathcal{S} . Pour obtenir une récursion, nous considérons la sous-séquence contiguë entre les bases i et j ($j > i$), et définissons la fonction de partition restreinte $Z_{i,j}$ comme la somme sur tous les appariements planaires confinés à l'intervalle $[i, j]$. En distinguant les cas selon l'appariement de la base j nous trouvons les possibilités suivantes (voir figure 2.4) : (i) la base j n'est pas appariée, (ii) la base s'apparie avec la base $m \in [i, j - 1]$.

Dans le premier cas, la fonction de partition se réduit à celle sur la sous-séquence, tandis que dans le deuxième cas, l'arc entre les bases m et j divise le système en deux parties plus petites. Celles-ci sont indépendantes, puisque les arcs-en-ciel ne se croisent pas. Ainsi, nous obtenons une récursion par rapport à la taille de la sous-séquence considérée⁹,

$$Z_{i,j} = \delta_{ij} + \Theta(j - i) \left(Z_{i,j-1} + \sum_{m=i}^{j-1} Z_{i,m-1} e^{-\beta e_{mj}} Z_{m+1,j-1} \right), \quad (2.4)$$

⁹Remarquons que la contrainte sur la longueur des boucles en épingle à cheveux pourrait facilement être prise en compte en restreignant la somme à $m < j - 4$.

$$\begin{array}{c} \boxed{} \\ i \qquad j \end{array} = \begin{array}{c} \boxed{} \\ i \qquad j-1 \end{array} \begin{array}{c} | \\ j \end{array} + \sum_m \left(\begin{array}{c} \boxed{} \quad \boxed{} \\ i \qquad m-1 \quad m \quad m+1 \quad j-1 \quad j \end{array} \right)$$

FIG. 2.4 – Récursion dans la représentation en arc-en-ciel. Les boîtes indiquent les fonctions de partition partielles $Z_{i,j}$.

où e_{mj} est l'énergie libre d'appariement entre les bases m et j , et $\Theta(x) = 1$ pour $x > 0$ et 0 sinon. Les conditions initiales sont $Z_{i,i} = 1$, et nous définissons $Z_{i,i-1} \equiv 1$.

La complexité en mémoire de cet algorithme récursif est donnée par le nombre des fonctions de partitions restreintes qui est d'ordre $O(N^2)$. Puisque le calcul de chacune d'entre elles nécessite un nombre $O(N)$ d'opérations, la complexité en temps de l'algorithme croît en¹⁰ $O(N^3)$.

La fonction de partition donne accès à toute la thermodynamique du système. En particulier, nous pouvons déterminer la matrice de contacts, ou autrement dit, la probabilité p_{ij} que les bases i et j soient appariées. Il est facile de vérifier qu'elle est donnée par

$$p_{ij} = \frac{Z_{j+1,i-1} e^{-\beta e_{ij}} Z_{i+1,j-1}}{Z_{1,N}}, \quad (2.5)$$

où la fonction de partition restreinte $Z_{j+1,i-1}$ est la somme sur toutes les structures secondaires qui sont confinées aux bases dans les deux intervalles $[1, i-1]$ et $[j+1, N]$. Elle s'obtient également de façon récursive comme les $Z_{i,j}$ plus haut¹¹.

La matrice de contacts nous indique les liens forts, $p_{ij} \approx 1$, c'est-à-dire les liens qui sont présents dans presque toutes les structures secondaires thermodynamiquement dominantes. De plus, elle est utile pour engendrer des structures secondaires selon le poids de Boltzmann : dans l'esprit de la récursion (2.4), une base j est tirée au hasard. Ensuite, un partenaire d'appariement m lui est associé avec probabilité p_{mj} ou elle est laissée non appariée avec probabilité $1 - \sum_{m \neq j} p_{mj}$. Ce procédé est répété récursivement avec les sous-séquences¹² $[m+1, j-1]$ et $[j+1, m-1]$, en utilisant des p_{ij} selon (2.5) adapté à la sous-séquence en question.

¹⁰Nous soulignons que ce comportement polynômial de la complexité est très rare dans les systèmes désordonnés, où la complexité augmente typiquement en $O(\exp(N))$.

¹¹Cela se voit le plus facilement quand on forme une chaîne circulaire en rejoignant les bases 1 et N et en identifiant les monomères a et $a+N$. $Z_{j+1,i-1}$ est donc équivalent à $Z_{j+1,N+i-1}$ pour laquelle on peut utiliser directement la récursion (2.4).

¹²De nouveau, ceci se réfère à une chaîne circulaire.

2.2.3 Un modèle homogène pour l'ARN

Avant d'étudier les effets induits par l'hétérogénéité des bases dans l'ARN, nous voulons mieux comprendre la physique statistique de la structure secondaire d'une molécule homogène où tous les paramètres d'interactions e_{ij} sont identiques. Expérimentalement, cette situation est réalisée dans des ARNs périodiques de type $AUAUAU\dots$ ou $GCGCGC\dots$, où toutes les sous-séquences sont mutuellement complémentaires. Pour de telles molécules, l'espace de structures secondaires favorables est très large.

D'un autre point de vue, nous pouvons considérer un tel modèle homogène comme une description de l'ARN à plus grande échelle, où les effets du désordre se moyennent. Les monomères dans cette description correspondraient alors à de petites sous-séquences de quelques nucléotides, et l'énergie d'appariement décrit l'affinité moyenne entre les simples brins. Nous verrons plus tard que cette approche n'est valable qu'à suffisamment haute température où le désordre n'est pas pertinent.

De Gennes [dG68] a étudié la physique statistique de telles molécules essentiellement décrites par deux paramètres, l'attraction moyenne e entre bases et une pénalité σ associée à l'initiation des hélices. D'une part cette pénalité est d'origine entropique : il faut fermer une boucle et rejoindre les deux simples brins de sorte qu'ils forment un premier appariement Watson-Crick. D'autre part elle tient compte du fait que l'énergie libre des hélices est primordialement due aux empilements. Ainsi la terminaison d'une hélice coûte l'énergie d'un empilement. On a donc $\sigma \propto \exp(-\beta \Delta f_{\text{empile}})^{13}$.

Les paramètres $s = \exp(-\beta e)$ et σ ont été introduits par Zimm et Bragg [ZB59] lors des premiers modèles unidimensionnels de dénaturation de l'ADN double brin. La pénalité σ rend la formation des hélices coopérative : les paires de bases ne se forment pas une par une, mais s'assemblent dans les hélices d'une longueur typique qui croît en σ^{-1} . Pour l'ADN double brin et pour l'ARN homogène, les valeurs typiques sont $\sigma \approx 10^{-4} - 10^{-3}$, dépendant des conditions de pH et de la salinité. Cependant, pour la description d'un ARN à plus grande échelle, cette pénalité sera naturellement moins importante, comme les hélices à ce niveau de description ne correspondent pas aux hélices contiguës de paires de bases, mais contiennent des renflements et des appariements non Watson-Crick, qui réduisent la coopérativité. Ces défauts des hélices sont pris en compte par une valeur renormalisée de s .

De Gennes [dG68] a étudié la physique statistique de molécules homogènes en utilisant une méthode de propagateurs dans l'espace réel qui est fondée sur la même idée que la récursion (2.4). En traitant les hélices comme bâtons rigides et les boucles comme chaînes gaussiennes idéales, le rayon de gyration d'une grande molécule peut être quantitativement prédit en fonction de la température, au moins dans le régime $s \approx 1$ où les boucles sont grandes. Ici, nous nous contentons de décrire le système purement au niveau

¹³Nous suivons ici la notation de [dG68]. Dans l'article [Mül03], la notation $\eta \equiv \sigma$ a été utilisée.

de la structure secondaire. Dans un deuxième temps, nous pouvons en extraire la dépendance du rayon de gyration du paramètre de coopérativité σ et de la taille N du système.

Solution du modèle homogène sans coopérativité

Pour commencer, nous négligeons la coopérativité en posant $\sigma = 1$. Le système homogène est alors décrit par la récursion (2.4), où toutes les interactions sont égales, $e^{-\beta e_{ij}} = e^{-\beta e} \equiv s$. Les fonctions de partitions partielles $Z_{i,j}$ ne dépendent donc que du nombre de bases $j - i + 1$ dans la sous-séquence. En définissant $Z_L \equiv Z_{i,i+L-1}$, nous obtenons la récursion

$$Z_L = Z_{L-1} + s \sum_{m=0}^{L-2} Z_m Z_{L-2-m}. \quad (2.6)$$

En introduisant la fonction génératrice

$$\Xi(\zeta) = \sum_{L=0}^{\infty} Z_L \zeta^L, \quad (2.7)$$

et en passant à la transformée de Laplace de (2.6), nous trouvons

$$\Xi(\zeta) = 1 + \zeta \Xi(\zeta) + s \zeta^2 \Xi(\zeta)^2, \quad (2.8)$$

ou

$$\Xi(\zeta) = \frac{(1 - \zeta) - \sqrt{(\zeta - 1)^2 - 4s\zeta^2}}{2s\zeta^2}. \quad (2.9)$$

Nous en obtenons la fonction de partition Z_N soit en calculant explicitement $\partial^N \Xi / \partial \zeta^N |_{\zeta=0} / N!$, soit par transformée inverse de Laplace. Le premier calcul n'est faisable que dans des cas simples, par exemple dans la limite $s \rightarrow \infty$ où toutes les bases sont appariées. En développant la racine dans (2.9) nous trouvons le résultat exact¹⁴

$$Z_{2L} = \frac{(2L)!}{L!(L+1)!} s^L \approx \frac{(4s)^L}{\pi^{1/2} L^{3/2}} \left(1 + O\left(\frac{1}{L}\right) \right). \quad (2.10)$$

Dans le cas général, l'asymptotique de la transformée inverse de Laplace peut être déterminée à partir de la plus petite singularité $\zeta_c(s)$ de $\Xi(\zeta)$. Dans le cas présent, nous trouvons

$$Z_L \approx A \frac{[\zeta_c(s)]^{-L}}{L^{3/2}}, \quad (2.11)$$

où $\zeta_c(s) = (1 + 2s^{1/2})^{-1}$ est le zéro de la discriminante de (2.9). L'exposant 3/2 du préfacteur polynômial est lié à la singularité en racine dans (2.9). A est une constante sans importance. Il est facile de vérifier que l'asymptotique pour $s \rightarrow \infty$ est bien la même que dans (2.10).

¹⁴Le préfacteur de s^L est connu comme nombre de Casteleyn C_L . Il compte le nombre de différents diagrammes en arc-en-ciels maximale-ment denses sur une séquence de $2L$ bases.

La forme asymptotique (2.11) suffit pour calculer la matrice de contacts p_{ij} de bases à longue distance. L'homogénéité du problème nous permet d'écrire $p_{ij} \equiv p_\ell$ avec $\ell \equiv j - i - 1$. Les équations (2.5) et (2.11) impliquent

$$p_\ell = s \frac{Z_\ell Z_{L-2-\ell}}{Z_L} \approx s \zeta_c^2 A \frac{\ell^{-3/2} (L-2-\ell)^{-3/2}}{L^{-3/2}} \sim \frac{1}{\ell^{3/2}}, \quad (2.12)$$

où les approximations sont justifiées pour $1 \ll \ell \ll L$. L'interprétation est simple : la probabilité qu'une base donnée soit appariée à distance ℓ décroît en loi de puissance¹⁵. En particulier, le fait que l'exposant $3/2$ est plus grand que 1 implique que la plupart des appariements d'une structure secondaire typique sont locaux. Nous trouverons plus tard que la présence de désordre dans la séquence diminue la valeur de cet exposant, en donnant plus de poids aux liens plus longs.

Le rayon de gyration

À partir de la distribution des longueurs de liens, nous pouvons déduire des informations qualitatives du repliement dans l'espace réel. Nous nous intéresserons en particulier au rayon de gyration qui est une observable expérimentalement bien accessible. Ici, nous voulons seulement déterminer son comportement d'échelle en fonction de la taille N de la molécule. Pour cela il suffit de déterminer la distance typique entre deux bases quelconques dans le repliement, comme elle aura le même comportement d'échelle que le rayon de gyration.

L'ARN avec toutes les hélices de la structure secondaire peut être considéré, à plus grande échelle, comme un polymère ramifié dont les bâtons sont des hélices. Les boucles intérieures jouent le rôle de joints. Si nous négligeons l'auto-évitement entre les branches et traitons le polymère ramifié comme idéal, le chemin qui relie deux bases le long du squelette ramifié est une marche aléatoire, et la distance entre les deux bases dans l'espace est proportionnelle à la racine de la longueur de ce chemin. Nous illustrons la notion du chemin le long du squelette dans la figure 2.5. Sa longueur est approximativement proportionnelle au nombre de paires de bases croisées, une quantité qui peut être calculée à partir de la probabilité p_ℓ de trouver des liens de longueur ℓ : les liens qui sont croisés par le chemin entre les bases a et b ($a < b$) sont ceux qui relient une base à l'extérieur de l'intervalle $[a, b]$ à une base à l'intérieur. Pour le nombre de liens croisés, n_{ab} , nous obtenons donc

$$n_{ab} = \int_0^a dx \int_x^{b-a+x} d\ell p_\ell + \int_0^{N-b} dx \int_x^{b-a+x} d\ell p_\ell. \quad (2.13)$$

¹⁵L'exposant $3/2$ est universel dans le sens où il ne dépend pas des détails du modèle (les contraintes sur les longueurs des hélices et des boucles par exemple).

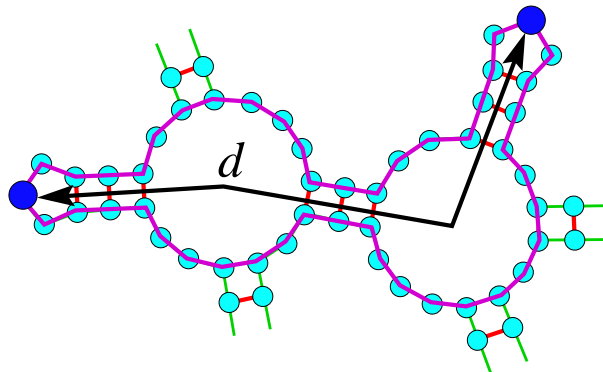


FIG. 2.5 – Chemin le long du squelette de la structure secondaire. La longueur d du chemin est approximativement proportionnelle au nombre de paires de bases qu'il croise. Si le squelette est considéré comme idéal, le chemin effectue une marche aléatoire dans l'espace.

Pour une paire de bases typique, a, b et $b - a$ sont de l'ordre $O(N)$. Dans ce cas, nous pouvons échanger l'ordre des intégrales pour obtenir approximativement

$$n_{ab} \approx 2 \int_0^{O(N)} dl \ell p_\ell \sim N^{1/2}. \quad (2.14)$$

On peut obtenir le même résultat en remarquant que la longueur d'un chemin typique entre deux bases se comporte de la même façon que la hauteur du relief de montagne associé à la structure secondaire. En effet, la hauteur au-dessus de la base i correspond justement au nombre de liens qui sont croisés quand la dernière base N est rejointe à la base i . Comme les reliefs de montagne sont des marches aléatoires unidimensionnelles, contraintes à ne pas dépasser le niveau $h = 0$, leur hauteur se comporte comme la déviation de l'origine d'une marche aléatoire à N pas, $n_{ab}^{\text{typ}} \sim h^{\text{typ}} \sim N^{1/2}$.

En supposant que le chemin le long du squelette puisse être considéré comme marche aléatoire, nous trouvons que le rayon de gyration croît en

$$R_g \sim n_{ab}^{1/2} \sim N^{1/4}, \quad (2.15)$$

un résultat qui a déjà été établi pour les polymères ramifiés par Zimm et Stockmayer en 1949 ([ZS49])¹⁶ et a été redérivé dans le contexte présent par de Gennes [dG68].

¹⁶Le comportement en $R_g \sim N^{1/4}$ pour les polymères ramifiés est un résultat de champ moyen, qui n'est correct qu'au dessus de dimension $d \geq 8$ [LI78]. En revanche, le résultat exact en $3d$ est $R_g \sim N^{1/2}$ [PS81]. Celui-ci prend en compte le fait que les branchements ne sont pas aléatoires : une structure ramifiée dont l'entropie associée à l'arrangement dans l'espace est plus grande sera favorisée. Dans l'ARN de tels effets ne sont pas considérés tant que la structure tertiaire n'est pas prise en compte. La prédiction $R_g \sim N^{1/4}$ n'est donc correcte que pour N pas trop grand.

2.2.4 L'auto-évitement, la dénaturation et la contrainte des pseudo-nœuds

Il est évident que le résultat (2.15) ne peut pas être correct pour les grandes molécules car la densité de monomères dans l'espace croît en $N/R_g^3 \sim N^{1/4}$. Ceci reflète le fait que nous avons négligé tout effet d'auto-évitement. Malgré la contrainte topologique sur l'absence des pseudonœuds qui a l'effet d'une faible répulsion effective entre les branches, les structures secondaires les plus favorables sont trop denses une fois que le repliement est réalisé dans l'espace tridimensionnel.

Dans ce qui suit nous développons le modèle simple étudié plus haut. Dans un premier temps nous incluons l'effet de la coopérativité pour la formation des hélices, ce qui nous permettra de discuter plus quantitativement la limite des tailles pour lesquelles l'auto-évitement peut être négligé. Dans un deuxième temps nous allons introduire des termes entropiques pour les boucles qui prennent en compte une partie des effets de l'auto-évitement.

L'effet de la coopérativité

Dans la suite nous distinguons deux régimes de température suivant la valeur du paramètre s qui décrit l'affinité de l'appariement : le régime de haute température est celui proche de la dénaturation $s - 1 \ll 1$, où une grande partie des bases n'est pas appariée. Le régime de basse température, décrit par $s - 1 = O(1)$, est dominé par les hélices tandis que les boucles sont typiquement très petites.

Le principal effet d'une pénalité σ pour les bouts d'une hélice est de renormaliser les longueurs effectives dans le problème. En général, il est facile de montrer que le nombre d'hélices dans la structure secondaire est proportionnel à $n_h = \sigma \partial(\log Z_N) / \partial \sigma \sim \sigma N$, ce qui implique que la longueur typique d'une hélice est proportionnelle à σ^{-1} . À haute température, un argument similaire est valable pour la longueur des simples brins séparant deux bouts d'hélices. Suivant la température, l'une ou l'autre longueur est dominante. À haute température, on peut montrer [dG68] que le nombre de branchements d'une boucle intérieure augmente en σ^{-1} avec la coopérativité, tandis qu'il est essentiellement indépendant de σ à basse température.

Revenons maintenant à l'image du polymère ramifié pour l'ensemble des hélices et des boucles : à basse température, la structure se compose essentiellement de $\tilde{N} \sim N\sigma$ bâtons de longueur $\tilde{l} \sim \sigma^{-1}$, qui sont joints par de petites boucles dont l'effet est négligeable. Nous nous attendons donc à un rayon de gyration donné par

$$R_g \sim \tilde{N}^{1/4} \tilde{l} \sim \frac{N^{1/4}}{\sigma^{3/4}}. \quad (2.16)$$

À haute température, ce sont les boucles qui dominent, leur longueur typique étant de

l'ordre de $\tilde{l} \sim \sigma^{-2}$. Dans ce cas, le polymère ramifié consiste en un réseau composé d'environ $\tilde{N} \sim N\sigma^2$ grandes boucles. Le nombre de boucles entre deux extrémités de ce réseau croît en $\tilde{N}^{1/2}$. Comme les boucles effectuent des marches aléatoires leur diamètre est proportionnel à $\tilde{l}^{1/2}$. Le rayon de gyration peut alors être estimé comme¹⁷

$$R_g \sim \tilde{N}^{1/4} \tilde{l}^{1/2} \sim \frac{N^{1/4}}{\sigma^{1/2}}. \quad (2.17)$$

Pour déterminer jusqu'à quelle taille N les effets de l'auto-évitement peuvent être négligés, nous estimons le nombre de contacts entre monomères comme $N\rho \approx N^2/R_g^3$, où ρ est la densité de monomères. Les effets tertiaires seront certainement négligeables si ce nombre est très petit. À basse température où les appariements sont favorisés et les hélices dominent la structure, ceci nous donne le critère

$$N \ll \sigma^{9/5} \quad (\text{basse température, } s - 1 = O(1)). \quad (2.18)$$

À haute température, nous obtenons une condition plus sévère,

$$N \ll \sigma^{6/5} \quad (\text{haute température, } s - 1 \ll 1). \quad (2.19)$$

Pour les molécules homogènes, σ est de l'ordre de $10^{-4} - 10^{-3}$ de sorte que l'auto-évitement soit négligeable jusqu'à des tailles $N \approx 10^4 - 10^5$ et même plus loin à basse température où les longues hélices rigides ont tendance à gonfler le polymère ramifié.

Ceci n'est plus le cas dans l'ARN désordonné où la coopérativité est relativement modeste. En répétant le raisonnement avec une longueur typique de $\tilde{l} \approx 6 - 10$ bases pour les hélices d'un ARN naturel, nous trouvons un critère $N \ll \tilde{l}^{9/5}$. Même en tenant compte du fait que nous avons négligé tous les préfacteurs, cette estimation suggère qu'au moins à partir d'une longueur de quelques centaines de nucléotides, les structures secondaires auront inévitablement des contacts tertiaires quand elles sont réalisées dans l'espace. Une théorie complète du repliement d'ARN devrait donc les inclure au moins de manière perturbative. En effet, on sait que le nombre de pseudonœuds et d'autres contacts tertiaires augmente avec la taille des ARNs tandis que la qualité de la prédiction de structures secondaires diminue. Néanmoins, les résultats des prédictions pour des molécules de taille $N \sim 500 - 1000$ sont toujours d'une qualité assez étonnante. Une raison pour cela est le fait que les effets d'auto-évitement sont moins importants que nous avons estimé plus haut, car la présence du désordre modifie les propriétés structurales de l'ARN, comme nous le verrons dans la section 2.3. En particulier, nous trouverons que le rayon de gyration augmente considérablement en présence de désordre, ce qui renvoie les problèmes de volume exclu à des tailles plus grandes.

¹⁷Cette estimation s'ensuit de manière plus rigoureuse des calculs quantitatifs dans l'article [dG68].

L'entropie des boucles

Comme nous avons déjà expliqué plus haut, la fermeture de boucles est associée à une réduction de l'espace de conformations pour le simple brin. Si, en outre, nous tenons compte de la présence des branches qui sont attachées à la boucle, nous nous attendons à ce que leur évitement mutuel donne lieu à une réduction supplémentaire d'entropie pour la boucle. L'inclusion d'un tel terme effectif pour les boucles permettrait donc de traiter l'auto-évitement, en partie au moins, à un niveau local.

De telles pénalités entropiques ont été considérées dans l'analyse de la dénaturation d'un double brin homogène d'ADN (composé uniquement de paires A-T ou G-C) [KMP00, KMP02]. Les auteurs mettent en avant que l'ordre de la transition de dénaturation dépend du comportement asymptotique de la réduction en entropie associée à une boucle dénaturée : la transition est continue si les pénalités sont suffisamment faibles, mais elle est de premier ordre si les grandes boucles sont fortement supprimées¹⁸. Cependant, il n'est pas clair dans quelle mesure ce résultat est toujours pertinent en présence du désordre (A-T et G-C dans la séquence). La formation d'une boucle dépendra autant du contenu local en G et C que des effets d'entropie. Néanmoins, l'inclusion de l'entropie des boucles semble être décisive quand il s'agit de prédire la position de gènes dans un long double brin d'ADN en identifiant les régions qui fondent en dernier [Yer00]. Ces observations suggèrent que l'auto-évitement pourrait également avoir une influence sur la dénaturation de l'ARN¹⁹.

Nous obtenons une simple estimation de la réduction d'entropie en considérant la boucle comme une marche auto-évitante, contrainte à retourner à l'origine. Comme nous avons discuté plus haut, ceci donne lieu à une pénalité proportionnelle à $\ell^{-3\nu_{\text{SAW}}}$, où ℓ est la longueur de la boucle. Pour aller plus loin, il faut estimer la réduction supplémentaire d'entropie due aux branches attachées à la boucle. Nous utilisons les résultats d'une analyse de groupe de renormalisation pour l'espace de configurations d'un réseau polymérique avec une topologie fixe [Dup86, SvFLD92]. Dans la limite où la longueur de la boucle est petite devant celles des branches, il se trouve que la pénalité de la boucle est toujours donnée par une loi de puissance. En revanche, l'exposant dépend du nombre m des branches attachées²⁰, $\ell^{-\nu(m)}$.

¹⁸Voir également [GMO01] pour une discussion des effets de l'auto-évitement sur la dénaturation de l'ADN double brin.

¹⁹Nous nous attendons à ce que dans le cas de l'ARN les effets du désordre de la séquence soient moins importants que pour la dénaturation de l'ADN. Nous verrons plus loin que la "dénaturation" de l'ARN n'est pas associée à la rupture d'une grande fraction d'appariements, mais bien plutôt à un changement subtil au niveau de l'organisation globale de la structure secondaire. La composition locale de la séquence joue un rôle secondaire pour cette transition.

²⁰L'exposant $\nu(m)$ n'est connu que pour petit m par un développement en $\epsilon = 4 - d$ [Dup86, SvFLD92]. Ces résultats impliquent $\nu(2) = \nu(3) \approx \nu(4) \approx 2.11$, [KMP02, Mül03]. Ceci semble suggérer un exposant

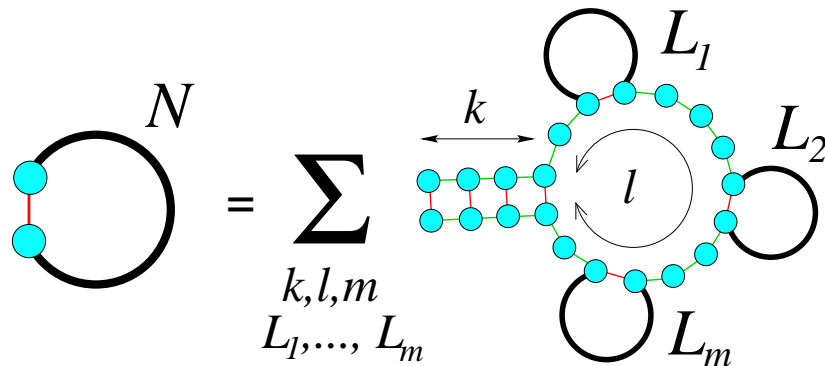


FIG. 2.6 – Récursion avec pénalité de boucles.

ARN homogène avec pénalité de boucles : la transition pelote-globule

Pour calculer la fonction de partition d'ARN homogène en incluant des pénalités de boucles, nous utilisons une récursion quelque peu différente de celle que nous avons considérée dans la section 2.2.2. Dans la figure 2.6 nous illustrons comment obtenir une récursion pour la fonction de partition Z_c d'un ARN dont les deux bouts sont appariés : la première hélice est suivie d'une boucle à laquelle sont attachées m branches ($m \geq 0$). Les branches sont de nouveau des structures aux bouts appariés, et nous trouvons la récursion

$$Z_N^c = \sigma \sum_k s^k \sum_{\{l,m\}} \sum_{L_1} \cdots \sum_{L_m} \delta(2k + l + \sum_{i=1}^m L_i - N) \times \binom{m+l}{m} \frac{a(m+1)}{(l+m+1)^{\nu(m+1)}} \prod_{i=1}^m Z_{L_i}^c. \quad (2.20)$$

où nous avons explicitement inclus la pénalité $a(m)/\ell^{\nu(m)}$ pour une boucle de longueur ℓ avec m branches. Le facteur σ est la pénalité associée au bouts d'une hélice²¹. En passant à la transformée de Laplace, $\Xi_c(\zeta)$, et en analysant ses singularités, nous obtenons le comportement asymptotique de la fonction de partition (voir l'article [Mül03] pour plus de détails).

A basse température, nous retrouvons une singularité en racine, similaire à (2.9), qui mène à une fonction de partition $Z_N \sim \zeta_c^{-N}/N^{3/2}$ comme dans le modèle simple. En particulier, la distance d entre bases le long du squelette de la structure secondaire est toujours proportionnelle à $N^{1/2}$. Le problème que la densité de monomères croît avec la taille de la molécule persiste donc : l'inclusion partielle des effets de volume exclu par

$\nu(m)$ presque constant en fonction de m . Il est raisonnable de supposer que la valeur de l'exposant augmente légèrement avec m .

²¹Remarquons que la contrainte sur la longueur minimale des hélices peut être prise en compte en restreignant la première somme à $k \geq 3$

des termes locaux pour les boucles n'est apparemment pas suffisante pour décrire l'auto-évitement global de la chaîne. À la limite thermodynamique, cette phase dense n'est pas correctement décrite par la restriction à la structure secondaire.

À plus haute température, une transition de phase a lieu si, pour un nombre m de branches suffisamment grand, l'exposant $\nu(m)$ devient plus grand que 2 (ce qui est en effet satisfait dès qu'il y a des structures latérales attachées à la boucle, i.e. $m \geq 2$, comme l'indiquent les résultats du développement en ϵ (voir note 20 au bas de page 36)). L'origine de cette condition est très simple. Imaginons un simple brin de longueur ℓ : le nombre de possibilités d'apparier deux bases du simple brin pour former une boucle plus petite est de l'ordre de $O(\ell^2)$, mais chacune est réduite d'un facteur de l'ordre de $\ell^{-\nu}$. À haute température, la formation de grandes boucles est défavorable si $\nu > 2$, parce que le gain enthalpique des appariements ne suffit pas pour compenser la perte en entropie²².

Un calcul montre que dans la phase à haute température, la distance typique entre bases d est proportionnelle à N . Ceci est dû au fait que la structure en arbre disparaît à grande échelle : il ne reste que des structures locales de taille finie qui s'enchaînent comme dans un collier de perles. Au-delà de l'échelle de ces structures, la chaîne ressemble à une marche auto-évitante.

Cette transition de phase décrit une sorte de transition pelote-globule pour l'ARN. En dessous de la température d'effondrement (ou de dénaturation²³) T_d , la molécule est dans une phase dense, globulaire. Au-dessus de T_d , le repliement contient toujours un nombre considérable de structures secondaires, mais puisque le squelette ressemble plutôt à une structure en collier qu'en arbre, les interactions tertiaires sont négligeables.

Simulations numériques

La transition pelote-globule et les effets d'auto-évitement ont été étudiés par la simulation Monte Carlo d'un simple modèle d'ARN homogène sur un réseau fcc [BOS03]. Pour évaluer l'effet de la contrainte sur les pseudonœuds, les auteurs ont fait des simulations, une fois en imposant l'absence de pseudonœuds et une fois en admettant tous les appariements. Ils constatent que dans la phase dense à basse température, les pseudonœuds sont assez fréquents s'ils ne sont pas supprimés artificiellement, en accord avec les résultats de

²²À basse température, cet argument ne tient pas parce qu'il sera toujours favorable d'apparier presque toutes les bases du simple brin en formant plusieurs petites boucles.

²³Remarquons cependant que dans notre modèle il n'y a pas de transition thermodynamique qui correspondrait à la dénaturation complète d'ARN (c'est-à-dire à la rupture de tous les appariements). Il y a seulement un crossover vers une phase où de moins en moins de bases sont appariées. Ceci pourrait être un défaut (en commun avec le modèle de Zimm et Bragg [ZB59, BP66]) qui provient de l'énumération de toutes les structures secondaires. Cela donne un poids trop grand aux structures appariées sans en même temps prendre correctement en compte le volume exclu pour les configurations non appariées. On retrouve ici, sous une nouvelle forme, le vieux problème de faire le développement du viriel correctement.

la section précédente.

Dans le modèle sans contrainte topologique, une transition pelote-globule du second ordre peut être identifiée très nettement. En revanche, en l'absence des pseudonœuds, les effets de taille finie sont beaucoup plus forts et les données de [BOS03] ne permettent pas de juger sur l'existence d'une transition thermodynamique et de sa nature.

2.2.5 Un modèle de matrices pour l'ARN

Il est évident qu'à basse température, un certain nombre de contacts tertiaires est inévitable dans les grands ARNs. Il serait donc intéressant d'avoir un moyen de les inclure dans le formalisme. Nous résumons ici une approche intéressante à ce problème qui permet en principe un traitement systématique des pseudonœuds [OZ02, OPZ02].

Les arcs-en-ciel comme diagrammes de Feynman

Le diagramme en arc-en-ciel ressemble beaucoup à un diagramme de Feynman où le squelette étiré correspond à un fermion qui interagit avec des gluons, indiqués par les arcs. T'Hooft a observé que dans la limite où le nombre de gluons M tend vers infini, les diagrammes planaires sont dominants, tout autre diagramme étant supprimé au moins par un facteur de M^{-2} .

Ceci suggère d'écrire la fonction de partition de l'ARN sous la forme

$$Z_{1,N} = \frac{1}{A(N)} \int \prod_{k=1}^N d\phi_k e^{-\frac{M}{2} \sum_{ij} (V^{-1})_{ij} \text{tr}(\phi_i \phi_j)} \frac{1}{M} \text{tr}[(1 + \phi_1) \cdots (1 + \phi_N)], \quad (2.21)$$

où les ϕ_k 's sont des matrices $M \times M$ hermitiennes, et $A(N)$ est le facteur de normalisation. La matrice V^{-1} est l'inverse de la matrice des poids de Boltzmann $V_{ij} = \exp(-\beta e_{ij})$. En développant le produit des matrices et en calculant la moyenne sur la mesure gaussienne, nous retrouvons la somme sur tous les diagrammes planaires dans la limite $M \rightarrow \infty$ ²⁴.

Les pseudonœuds peuvent être pris en compte en calculant systématiquement les corrections en puissances de M^{-2} . À l'ordre M^{-2} , on obtient tous les diagrammes à un pseudonœud²⁵.

Les résultats de la théorie de champ de [OPZ02] peuvent être condensés dans l'algorithme suivant (voir figure 2.7) : en plus des fonctions de partitions restreintes Z_{ij} , nous calculons récursivement pour tout quadruplet $i < l < m < j$ les fonctions de partition restreintes $Z_{ij}^{(lm)}$, où les bases dans l'intervalle $[l, m]$ restent non appariées tandis que les bases i et j sont contraintes à former une paire de bases. Ensuite, nous construisons les

²⁴ $M = 1$ correspond au cas sans aucune contrainte topologique. À température $T = 0$, ceci revient au problème combinatoire du "matching" qui consiste à trouver le meilleur appariement complet en paires.

²⁵Ce sont les diagrammes qui contiennent une seule hélice qui ne respecte pas la contrainte de planarité. Cette hélice peut contenir des renflements et des boucles intérieures.

$$\begin{aligned}
 & \begin{array}{c} \text{Diagram with semi-circle over } i \dots j \text{ and smaller semi-circle below } l \dots m \\ Z_{ij}^{(lm)} \end{array} = \begin{array}{c} \text{Diagram with dashed semi-circle over } i \dots j \\ + \sum_{xy} \text{Diagram with semi-circle over } i \dots j \text{ and box } x \dots y \end{array} \\
 & \begin{array}{c} \text{Thick green line from } i \text{ to } j \\ Z_{ij}^{PI} \end{array} = \sum_{\substack{l_1, m_1, j_1 \\ i_2, l_2, m_2}} \begin{array}{c} \text{Diagram with two semi-circles and thick green arc} \end{array} \\
 & \begin{array}{c} \text{Thick black line from } i \text{ to } j \\ Z_{ij} \end{array} = \sum_{l, m} \begin{array}{c} \text{Diagram with thick black line } i \dots l, \text{ thick green line } l \dots m, \text{ thin black line } m \dots j \end{array}
 \end{aligned}$$

FIG. 2.7 – Représentation graphique des récursions pour inclure la classe de diagrammes avec des pseudonœuds simples. Voir le texte pour la description des trois étapes.

parties irréductibles à une particule des diagrammes de Feynman, Z_{ij}^{PI} , qui contiennent exactement un pseudonœud. Finalement, nous resomons ces diagrammes pour obtenir la fonction de partition Z_{ij} qui inclut tous les pseudonœuds séparables.

Discussion

Même si, en principe, nous arrivons à resommer toute une série de diagrammes avec des pseudonœuds, un certain nombre de problèmes persistent :

- Ce traitement tient compte des pseudonœuds dans l'espace abstrait des diagrammes en arc-en-ciel. Tandis qu'il y aura en effet des contacts tertiaires *quelque part*, nous ne savons pas où ils se trouveront. Or, un diagramme qui contient des pseudonœuds aléatoires est en général plus encombré dans l'espace réel qu'un diagramme planaire. Il serait donc associé avec une pénalité stérique dont nous ne saurions prendre compte.
- Mises à part quelques exceptions, on ne sait pas quelles énergies il faut associer aux pseudonœuds.
- L'algorithme décrit schématiquement dans la figure 2.7 a une complexité en $O(N^6)$ [OPZ02], ce qui est quasiment prohibitif pour les ARNs de taille moyenne ($N \sim 500 - 1000$). Pourtant, c'est à ces tailles-là que les interactions tertiaires deviennent de plus en plus fréquentes.
- La resommation ne traite qu'une certaine classe de pseudonœuds²⁶.

²⁶Les diagrammes irréductibles à plusieurs pseudonœuds ne sont pas pris en compte.

- Pour les petites tailles, une méthode directe énumérant toutes les hélices possibles et optimisant le problème de l'appariement (suppléé éventuellement par des calculs d'entropie pour le réseau polymérique qui en résulte [IS00b]) est plus simple et plus fiable.

Toutes ces considérations montrent que la resommation de (presque) tous les pseudo-nœuds n'améliore pas forcément la qualité d'un algorithme de prédiction. L'inclusion de pseudonœuds ne sera vraiment fructueux que si le repliement dans l'espace est pris en compte en même temps.

2.3 Les effets de la séquence dans l'ARN : existence d'une phase vitreuse ?

2.3.1 Les propriétés de séquences d'ARN naturel

Jusqu'à présent, nous n'avons pas tenu compte de l'hétérogénéité de la séquence des bases de l'ARN. Cependant, il est clair que la séquence joue un rôle important, surtout pour les ARNs de transfert et les ARNs ribosomiaux dont le repliement dans la conformation native est crucial pour leur fonctionnalité. Il est raisonnable de s'attendre à ce que les séquences de ce type d'ARN ne soient pas tout à fait aléatoires, mais qu'elles aient été optimisées durant l'évolution.

Pour trouver dans quelle mesure une telle optimisation a eu lieu et en quoi elle consiste, Higgs [Hig93] a comparé les propriétés de séquences d'ARN de transfert naturel avec des séquences aléatoires de la même longueur (environ 80 monomères). En utilisant les algorithmes de prédiction de structures décrits dans la section 2.2.2, il a montré que dans les séquences naturelles, l'état fondamental (l'état de plus basse énergie libre) est un minimum beaucoup plus profond que dans les séquences aléatoires. Ceci se manifeste de manière quantitative dans les structures secondaires alternatives ayant un poids de Boltzmann non-négligeable : dans les ARNs de transfert naturels, ces structures ne diffèrent du repliement natif que dans la rupture d'une ou deux paires de bases, tandis que dans les séquences aléatoires des hélices entières peuvent s'ouvrir sous fluctuations thermiques. En outre, les séquences naturelles semblent être optimisées dans le sens où la mutation aléatoire d'une base augmente presque toujours l'énergie de l'état fondamental. Ces tendances se voient très clairement déjà au niveau de la structure secondaire, mais il faut supposer que le degré d'optimisation des ARNs de transfert se montrerait encore plus clairement si l'on savait inclure les interactions tertiaires. Ces dernières sont particulièrement importantes pour la stabilisation de la structure en feuille de trèfle des ARNs de transfert.

Pour l'ARN messager, il est beaucoup moins évident de savoir en quoi une séquence

optimale consisterait. Mis à part quelques repliements au bouts des ARNs messenger qui ont une fonction régulatrice lors de la traduction du code génétique, et certaines boucles en épingles à cheveux qui guident le processus de l'épissage, la structure secondaire ne semble pas avoir de fonction directe dans ces grandes molécules. Cependant, une autre question très intéressante liée à la représentation du code génétique se pose pour les ARNs messagers. Les parties codantes de l'ARNm, les exons, portent un code en triplets dont chacun est associé à un acide aminé spécifique. Pour la plupart des acides aminés, il y a plusieurs triplets qui leur sont associés de sorte que le nombre de séquences d'ARN qui codent pour la même protéine croisse exponentiellement avec la taille de la protéine. Les ARNs messenger naturels représentent un petit sous-ensemble de tous les codes possibles, et la question naturelle se pose de savoir si elles ont des propriétés spécifiques pour lesquelles elles ont été choisies au cours de l'évolution. Les auteurs de [CS02] étudient plusieurs protéines et comparent l'énergie libre de l'état natif de l'ARN naturel à celle d'un petit nombre de séquences alternatives qu'ils tirent au hasard dans l'ensemble des codes possibles. Les ARNs naturels montrent peu de différence par rapport aux séquences aléatoires, mis à part un faible biais de trouver l'ARN naturel soit parmi les séquences les plus stables, soit parmi les séquences les moins stables. En outre, les résultats démontrent très clairement que, contrairement aux ARNs de transfert, les ARNs messagers n'optimisent point l'énergie libre de leur état fondamental : celle-ci est typiquement trois fois plus petite (en valeur absolue) que celle de la séquence la plus stable codant pour la même protéine²⁷.

Ces résultats suggèrent que, du point de vue du repliement de la structure secondaire, les séquences des ARNs messagers peuvent être considérées comme essentiellement aléatoires²⁸.

2.3.2 Le repliement de l'ARN dans les expériences

Méthodes expérimentales

Expérimentalement, il n'est pas facile d'observer le repliement d'un ARN et de caractériser la structure secondaire. Pourvu que l'ARN replié puisse être cristallisé, la résonance magnétique nucléaire (RMN) peut fournir des informations sur l'état natif. Mais

²⁷Il est évident qu'un état fondamental très stable n'est pas favorable à la traduction de l'ARNm au cours de laquelle il doit être déplié.

²⁸Il y a un autre aspect par rapport auquel l'ARN messenger pourrait être optimisé et qui serait intéressant à étudier : vu que l'ARN messenger est le transcrit direct de l'ADN, sa séquence est identique à celle de l'un des deux simples brins de l'ADN (mis à part le remplacement de U par T). Il est tout à fait plausible que le code en triplets optimise plutôt les propriétés structurales de l'ADN que de l'ARNm. En effet, les analyses des corrélations dans les séquences de l'ADN mettent en évidence plusieurs longueurs caractéristiques reliées à l'organisation de l'ADN dans la chromatine (en premier lieu l'enroulement sur les histones) [ATV⁺01].

les états partiellement dépliés ou mal repliés doivent être étudiés par d'autres moyens. Une des méthodes les plus souvent utilisées se base sur l'épissage chimique [RSS⁺00] : on ajoute à la solution des radicaux d'hydroxyle qui rompent les simples brins exposés à la surface de l'ARN. Ensuite, l'ARN est dénaturé et la longueur des fragments obtenus est déterminée par électrophorèse ou chromatographie²⁹. Ceci permet souvent de reconstruire les parties non-appariées des molécules même dans des états intermédiaires de repliement. Des informations similaires sont obtenues en ajoutant des simples brins complémentaires à des sous-séquences de l'ARN considéré, et en vérifiant si un appariement se fait³⁰ [WM94]. Des informations supplémentaires sont fournies par la diffusion de rayons X à petit angle (*small angle X-ray scattering*, "SAXS") permettant de suivre la distribution de densité de la molécule et donc le compactage du repliement en temps réel [RMDH00].

La cinétique du repliement

Les observations expérimentales [RMDH00, Woo00] suggèrent que le repliement des ARNs se passe en plusieurs étapes, caractérisées par des échelles de temps très différentes. Les éléments locaux de structure secondaire se forment typiquement dans 10 – 100 μ s, ce qui se compare au temps de repliement de petites protéines globulaires. En fait, ce temps est nécessaire pour former une boucle en épingle à cheveux et pour appairer les premières 2-3 paires de bases, tandis que le "zipping" d'une hélice a lieu sur une échelle de temps de 0.1 – 1 μ s. Dans l'ARN de transfert la structure tertiaire s'établit typiquement au bout de 10 – 100 ms. En revanche, de plus grandes molécules, comme l'ARN ribosomal, mettent déjà de l'ordre de 10 – 1000 ms pour une première compactification dans un état dense³¹. Dans ces grandes molécules, des états intermédiaires ou mal repliés sont assez fréquents. La transition directe et rapide d'un état dénaturé à l'état fondamental n'est pas impossible, mais de moins en moins probable pour les grandes molécules [BWRW00, TW96]. Le repliement dans l'état natif se passe typiquement sur l'échelle d'une minute, tandis que l'état biologiquement actif n'est souvent atteint qu'au bout d'une dizaine de minutes.

Les études de divers ARNs enzymatiques d'environ 500 bases suggèrent que le repliement procède en gros de la manière suivante : la molécule avec double-hélices locales préformées se compacte dans un état dense sous l'effet médiateur d'ions positifs, en premier lieu Mg²⁺. Le réarrangement d'éléments de structure secondaire non-natives et d'hélices mal placées dans la structure tertiaire a l'air d'être un processus activé qui est considérablement plus lent que son équivalent dans les protéines.

Il se trouve que les états intermédiaires des ARNs enzymatiques contiennent déjà une

²⁹Cette technique est connue comme *hydroxyl radical footprinting*.

³⁰On peut utiliser des marqueurs fluorescents, par exemple.

³¹Cet état compact peut être comparé au globule fondu dans les protéines [BWRW00, RMDH00].

grande partie de la structure secondaire native, ce qui indique que la formation de la structure secondaire est probablement guidée par des propriétés spécifiques de la séquence : on imagine un repliement séquentiel qui procède graduellement de la formation d'hélices locales à des structures aux échelles de plus en plus grandes. Ce point de vue est supporté par une très jolie expérience de Heilman-Miller et Woodson [HMW03] : en joignant les deux bouts d'un ARN et en découpant la molécule à un autre endroit, une séquence linéaire est obtenue dont la structure repliée la plus favorable est toujours la même. Cependant, la cinétique du repliement peut être très différente, parce que les distances entre doubles brins complémentaires dans la chaîne ont changé. En effet, la durée du repliement pour des ARNs d'environ 200 bases varient considérablement en fonction de l'endroit de la coupure. Il est aussi intéressant de noter que la molécule cyclique se replie très mal par rapport à la molécule linéaire naturelle.

2.3.3 La phase vitreuse de l'ARN

Les expériences avec de grandes molécules ainsi que les simulations Monte Carlo sur la dynamique au niveau des hélices d'ARNs de taille moyenne [IS00b] montrent que les temps typiques de repliement sont de l'ordre de quelques minutes. Ce processus est énormément lent comparé à l'échelle de temps microscopique qui est de l'ordre de microsecondes. Clairement, de telles molécules se trouvent dans une sorte de phase vitreuse : le paysage d'énergie contient une multitude d'états métastables mal repliés. Souvent, des réarrangements collectifs sont nécessaires pour arriver à l'état natif, ce qui indique la présence de barrières considérables entre les minima locaux.

La phase vitreuse : structure secondaire versus structure tertiaire

La phase vitreuse peut se manifester à deux niveaux différents du repliement. Déjà au niveau de la structure secondaire le système est frustré, parce que les contraintes stériques (prises en compte en partie par l'absence des pseudonœuds) ne permettent pas d'apparier toutes les sous-séquences complémentaires simultanément. Nous montrerons plus loin que le paysage d'énergie correspondant est en effet rugueux.

Mais même si nous considérons la structure secondaire comme fixe³², les interactions tertiaires peuvent toujours donner lieu à des frustrations topologiques et un comportement vitreux. Dans les expériences avec des ARNs de taille intermédiaire, ce sont surtout des effets au niveau de la structure tertiaire³³ qui ont été observés. Les réarrangements de la structure secondaire sont plus difficiles à voir, parce qu'ils sont forcément accompagnés

³²Ceci peut être le cas, par exemple, parce que la séquence est dessinée pour se replier facilement dans l'état fondamental.

³³Cependant, une expérience récente met en évidence que les réarrangements de la structure tertiaire nécessitent également des modifications au niveau de la structure secondaire [WJ98, Thi98].

par des changements de la structure tertiaire. De plus, les ARNs qui ont été étudiés expérimentalement sont pour la plupart des molécules dont la structure est très importante. Il faut donc s'attendre à ce que leurs séquences aient été sélectionnées par l'évolution de façon à biaiser le repliement vers un état natif très stable³⁴. De telles séquences ne présentent pas un comportement aussi vitreux que des séquences aléatoires. Cependant, puisque les ARNs messagers ne sont pas optimisés par rapport à leur état fondamental, les effets du désordre au niveau de la structure secondaire sont très importants pour ces molécules.

Comme la formation de la structure secondaire est bien comprise et facilement accessible numériquement, la plupart des approches théoriques à la phase vitreuse de l'ARN se sont restreintes à la représentation abstraite du repliement au niveau de la structure secondaire, en négligeant les questions de l'arrangement dans l'espace. Une exception est le travail [GGS93] qui se base sur les techniques de répliques pour les hétéropolymères que nous discuterons dans le chapitre 4. Les auteurs supposent que la structure secondaire est fixée par sa grande stabilité de sorte qu'elle puisse être considérée comme un hétéropolymère ramifié dont le repliement ne dépend que des interactions tertiaires. Il y a deux sources de désordre gelé dans ce problème : la structure (aléatoire) des branchements et les interactions tertiaires. À cause de cette double complication, les calculs se heurtent à des difficultés techniques encore plus grandes que celles rencontrées dans le cas des hétéropolymères linéaires. En analysant qualitativement l'Hamiltonien dans l'espace des répliques³⁵, les auteurs proposent que même à haute température, une structure non-triviale et vitreuse de l'espace de phase (une brisure de la symétrie des répliques) existe. Ceci contraste avec les hétéropolymères linéaires (les protéines, par exemple) où une telle phase n'est prédite qu'à suffisamment basse température. Jusqu'à présent cette prédiction n'a pas été vérifiée par d'autres approches. Cependant, il est bien possible qu'un traitement avec la méthode de cavité (voir la section 4.4.2) pourrait éclaircir ce problème.

Modèles simplifiés

Pour étudier les propriétés de la structure secondaire, on pourrait, en principe, se servir du logiciel "*Vienna package*" qui tient compte de tous les paramètres thermodynamiques connus pour calculer les fonction de partition partielles d'une séquence d'ARN donnée. On s'attend cependant à ce que les caractéristiques du paysage d'énergie ne dépendent pas de façon distincte de tous les détails des interactions. Pour cette raison, et pour faciliter les calculs, on se ramène très souvent à des modèles simplifiés qui ne retiennent que les éléments qui sont considérés comme essentiels pour les phénomènes physiques étudiés. En premier lieu, ce sont la contrainte polymérique, l'hétérogénéité de la séquence et le fait

³⁴Il est plausible qu'ils obéissent au "principe de frustration minimale" [BW87].

³⁵Voir la section 4.2.3, en particulier la page 143.

qu'une base ne peut s'engager que dans un seul appariement Watson-Crick. La contrainte polymérique est prise en compte (en partie au moins) en imposant l'absence de pseudonœuds. Pour simplifier au maximum le traitement des appariements, nous associons une énergie à chaque paire de bases plutôt qu'aux empilements, négligeant également la contrainte sur la longueur minimale des hélices. De plus, du point de vue de la compétition entre différentes hélices, les pénalités de boucles jouent un rôle mineur et ne sont souvent pas prises en compte³⁶. Ces simplifications sont même très naturelles une fois que l'ARN est décrit non pas à l'échelle des bases, mais à au niveau de petites sous-séquences de nucléotides qui ont une affinité de s'apparier avec des sous-séquences complémentaires. Les contraintes topologiques sont invariantes par rapport à ce changement d'échelle, mais les contraintes associées à la longueur de boucles et d'hélices et les règles détaillées pour les appariements perdent leur signification.

En ce qui concerne les interactions entre bases, on considère de préférence des modèles de *lettres*, inspirés du vrai ARN qui se compose des quatre bases A,C,G et U. Les lettres sont tirées d'un petit alphabet et une énergie d'appariement est associée à chaque paire de lettres. À plus grande échelle, il est naturel d'associer des *variables aléatoires et indépendantes* aux affinités entre les différentes paires de petites sous-séquences. Leur distribution est souvent choisie comme une gaussienne centrée sur une valeur négative avec un écart-type plus petit.

Le recouvrement entre deux structures secondaires

Les propriétés vitreuses de l'ARN au niveau de la structure secondaire ont souvent été étudiées en exploitant les analogies avec les verres de spins. Un concept directement adopté de ces derniers est le *recouvrement* $q_{\alpha\beta}$ entre deux configurations α et β du même système. Pour les verres de spins de type Ising où les spins σ_i ne prennent que deux valeurs $\sigma_i = \pm 1$, il est défini comme

$$q_{\alpha\beta} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sigma_i^{(\alpha)} \sigma_i^{(\beta)}, \quad (2.22)$$

où N est le nombre de spins dans le système. À une constante près, le recouvrement correspond à la fraction de spins qui pointent dans la même direction et mesure donc le degré de similarité des deux configurations. Pour l'ARN, nous définissons de manière analogue un recouvrement entre structures secondaires comme

$$q_{\alpha\beta} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_{p_i^{(\alpha)} p_i^{(\beta)}}, \quad (2.23)$$

³⁶De plus, un traitement complet des boucles serait très lourd. En pratique, une longueur maximale est spécifiée pour les boucles, par exemple dans le logiciel *mfold*.

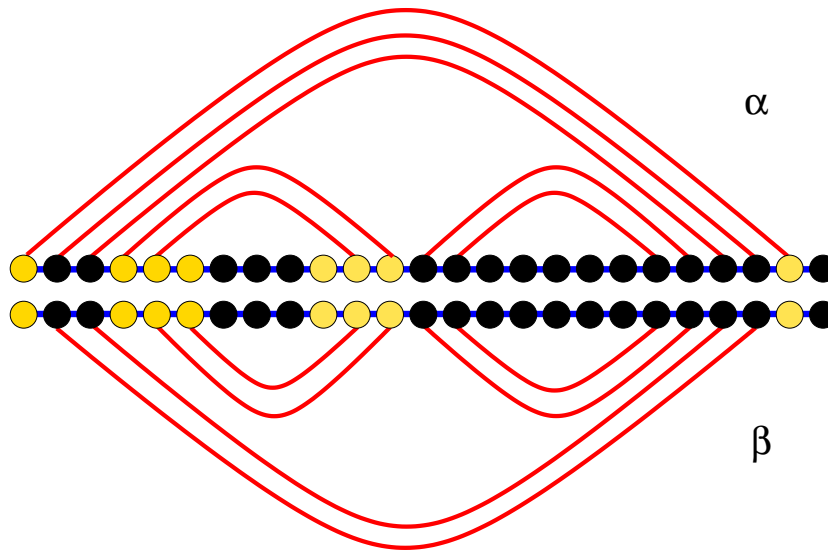


FIG. 2.8 – Illustration du recouvrement de deux structures secondaires α et β . Les bases foncées s'apparient de la même façon.

où la somme est sur les N bases de la séquence. Nous avons introduit les paramètres p_i décrivant la structure secondaire : si la base i est non-appariée, nous mettons $p_i = -1$, sinon p_i indique la base à laquelle elle est appariée. Le recouvrement (2.23) donne donc la fraction de bases qui s'apparient de la même façon, voir figure 2.8. Nous introduisons également la *distance* $d = (1 - q)N$ entre deux structures qui est le nombre de bases qui s'apparient de manière différente.

Malgré la similarité de la définition des recouvrements pour les verres de spins et l'ARN, il y a une différence importante. Dans les verres de spins, *a priori*, l'alignement parallèle ou anti-parallèle des spins $\sigma_i^{(\alpha)}$ et $\sigma_i^{(\beta)}$ n'impose aucune contrainte sur l'alignement d'autres spins. Ceci n'est pas vrai dans le cas de l'ARN où l'absence de pseudo-nœuds induit des corrélations dans l'appariement des bases. Considérons un lien dans la structure α qui est absent dans la structure β . Sa présence empêche automatiquement un recouvrement positif pour tous les liens de la structure β qui le croisent. Par conséquent, les bases appartenant à un lien long ont beaucoup plus d'influence sur le recouvrement que celles qui s'apparient à des bases voisines. Cette observation suggère qu'il faut être prudent lorsqu'il s'agit d'interpréter le recouvrement (2.23) comme mesure de similarité de deux repliements.

Pour quantifier la similarité entre configurations typiques du système, il est naturel de considérer la distribution de probabilité $P(q)$ de trouver un recouvrement q entre deux structures tirées au hasard selon leur poids de Boltzmann. L'expérience avec les verres de spins montre que cette fonction peut révéler un nombre de caractéristiques vitreuses du système. Dans le modèle SK, par exemple, on trouve que même à la limite thermodyna-

mique $N \rightarrow \infty$, $P(q)$ a une largeur finie (à température finie), ce qui implique l'existence de configurations qui contribuent significativement à la thermodynamique³⁷, mais différent en un nombre extensif de spins - une propriété très particulière du paysage d'énergie. De plus, la fonction $P(q)$ dépend de l'échantillon et n'est pas automoyennante, ce qui souligne l'importance de la réalisation du désordre pour le paysage d'énergie. Comme une telle dépendance nécessite des corrélations à longue portée, elle est d'habitude interprétée comme indication pour une phase vitreuse [MNZ⁺98].

Les auteurs de [Hig96, PPRT00, Har01, PPRT01] ont étudié la distribution de recouvrements pour des longues séquences d'ARN en échantillonnant l'espace des structures secondaires. À haute température, la fonction $P(q)$ est centrée autour de petits recouvrements, dont la largeur décroît avec la taille N des molécules en $N^{-1/2}$. C'est bien ce à quoi il faut s'attendre dans une phase "liquide", où un grand nombre de configurations indépendantes sont accessibles³⁸.

À basse température, les recouvrements typiques deviennent plus grands tandis que la largeur de leur distribution décroît plus lentement avec la taille, $\langle q^2 \rangle_c \equiv \langle q^2 \rangle - \langle q \rangle^2 \sim N^{-0.5}$. À la limite thermodynamique, les auteurs conjecturent $P(q) \rightarrow \delta(q - 1)$, ce qui impliquerait que les structures secondaires de l'état fondamental et des états excités de basse énergie coïncident à l'échelle globale de la molécule (contraire au modèle SK et à d'autres modèles de verres de spin typiques). Cependant, un tel comportement n'est pas inhabituel dans les systèmes désordonnés et n'exclut point l'existence d'une phase vitreuse. Une situation semblable se trouve, par exemple, dans le problème d'accrochage d'interfaces et pour le polymère dirigé. Dans ces systèmes, les états macroscopiquement différents de l'état fondamental ont une énergie d'excitation qui augmente typiquement en L^θ avec la taille linéaire L du système. Ils ne contribuent donc pas à la thermodynamique dans la limite $L \rightarrow \infty$. Néanmoins ces systèmes sont vitreux, ce qui se voit par exemple dans une réponse non-linéaire à une force extérieure (voir le chapitre suivant, en particulier la section 3.3.4).

Barrières cinétiques

L'une des caractéristiques les plus marquées du paysage d'énergie vitreux de l'ARN est l'existence d'importantes barrières énergétiques qui séparent les états métastables. Dans un modèle simplifié, Morgan et Higgs [MH96, MH98] étudient la distribution des

³⁷Dans le modèle SK les énergies d'excitation les plus basses sont typiquement de l'ordre $O(1)$.

³⁸Remarquons cependant que le maximum de $P(q)$ tendra vers une valeur finie, comme dans un modèle homogène où

$$q_{\text{hom}} = p_0^2 + \sum_{\ell} p_{\ell}^2.$$

Les $p_{\ell} \sim \ell^{-3/2}$ sont les probabilités qu'une base soit appariée à distance ℓ alors que p_0 est la probabilité de rester libre.

barrières entre différents états fondamentaux où les mouvements élémentaires admettent l'ouverture ou refermeture d'une paire de bases à la fois. À l'aide d'un algorithme heuristique, ils déterminent les barrières les plus petites entre les membres d'un sous-ensemble d'états fondamentaux de séquences aléatoires. Cette analyse montre que les barrières typiques ainsi que la barrière maximale augmentent avec la longueur de la séquence N en $N^{1/2}$. Ceci contraste avec des simulations numériques sur le repliement d'ARN aléatoire dont la séquence croît en fonction du temps³⁹ [Fer90, FS90]. Dans ces simulations, la fréquence de réarrangements de la structure secondaire décroît en fonction du temps en $\exp(-[N(t)]^{1/4})$, où $N(t)$ est la longueur de l'ARN à temps t . Ce résultat suggère que les barrières franchies durant la polymérisation sont typiquement de l'ordre de $N^{1/4}$. Cela n'est pas en contradiction avec les résultats de Higgs et Morgan : l'ARN croissant se trouve presque constamment dans un état excité qui peut relaxer relativement facilement vers un repliement plus favorable, tandis qu'une configuration dans un minimum local a besoin d'une grande activation pour passer à un autre minimum. La différence du comportement d'échelle est très intéressante car elle montre la dominance des réarrangements à petite échelle durant le repliement.

Concernant la hauteur des barrières, Higgs [Hig96] a fait une autre observation intéressante : la matrice des barrières cinétiques entre états est - par sa définition- *ultramétrique* : soient α, β et γ trois états fondamentaux et $E_{\alpha\beta}, E_{\beta\gamma}$ et $E_{\alpha\gamma}$ les barrières associées. Les deux barrières les plus grandes sont forcément égales⁴⁰. Les barrières $E_{\alpha\beta}$ permettent alors de regrouper l'ensemble des états fondamentaux de manière hiérarchique où deux structures sont d'autant plus proches que la barrière entre elles est petite.

Il se trouve que la distance $d_{\alpha\beta} = N(1 - q_{\alpha\beta})$ entre états est fortement corrélée avec la barrière $E_{\alpha\beta}$ [MH98]. Ceci suggère d'utiliser le recouvrement $q_{\alpha\beta}$ - une quantité beaucoup plus facile à calculer - pour définir une structure presque ultramétrique entre structures secondaires⁴¹ [Hig96].

Caractérisation thermodynamique du paysage d'énergie

Résumons brièvement les informations sur le paysage d'énergie d'ARN que l'on obtient à partir des travaux que nous venons de discuter : l'analyse de $P(q)$ montre que l'ensemble des états thermodynamiquement dominants n'est pas dispersé dans tout l'espace de configurations. Dans les grandes molécules, il y a une grande fraction de structures secondaires qui est commune à tous les états de basse énergie. Les barrières cinétiques entre états de basse température croissent en $N^{1/2}$ avec la taille de la molécule, et leur

³⁹Ceci simule le processus de la polymérisation.

⁴⁰C'est une conséquence immédiate de l'inégalité $E_{\alpha\beta} \leq \max(E_{\alpha\gamma}, E_{\gamma\beta})$ qui exprime le fait trivial que la barrière minimale entre α et β ne peut pas dépasser celle du chemin particulier passant par γ .

⁴¹Dans le modèle SK, un tel regroupement selon le recouvrement définit une hiérarchie *exactement* ultramétrique [MPS⁺84]).

hauteur est corrélée avec la distance d entre les repliements.

Pour comprendre la thermodynamique et l'état d'équilibre de l'ARN, il est important de caractériser non seulement la hauteur des barrières mais également la structure des états métastables et leur distribution dans l'espace de phase. En particulier, nous nous intéresserons à la différence typique entre les énergies d'états métastables, y compris l'état fondamental. Par analogie avec d'autres systèmes désordonnés mentionnés plus haut, nous nous attendons à ce que cette échelle d'énergie soit corrélée avec la distance d entre les états considérés. Autrement dit, nous supposerons que les excitations qui diffèrent d'un état de référence⁴² en un réarrangement de d bases soient typiquement associées à un changement d'énergie de l'ordre de $E(d)$.

Bundschuh et Hwa [BH02a, BH02b] ont proposé d'imposer l'appariement de deux bases à une distance $\ell = d$ dans le squelette ("pinçage") et de caractériser $E(d)$ comme la pénalité en énergie libre associée. À haute température, la pénalité vaut $3/2 kT \log(d)$ comme le prédit un modèle homogène⁴³. À basse température, la pénalité augmente significativement, indiquant la présence de liens forts. Néanmoins, le comportement d'échelle de cette quantité semble rester logarithmique, $E(d) \sim \log(d)$, bien qu'une loi de puissance $E(d) \sim d^\theta$ avec un petit exposant $\theta \approx 0.1 - 0.2$ soit également compatible avec les données. Nous reviendrons encore plusieurs fois à ces termes logarithmiques associés à la présence de longs liens dans la structure secondaire.

Couplage de deux répliques

La perturbation induite par la présence forcée d'un long lien est assez particulière. Elle ressemble un peu au changement de conditions au bord dans un système de spins, mais son effet est plus superficiel dans le sens où le nombre de bases qui changent leur appariement n'est pas proportionnel à ℓ . Dans ce sens, le pinçage est aussi similaire à l'effet d'une force extérieure comme nous verrons dans le chapitre suivant.

Dans l'article [KMM02], nous proposons une approche différente qui est inspirée par une méthode analogue utilisée pour les verres de spins [CPPS90, BDB00, PY00] ou pour le polymère dirigé [Méz90]. L'idée consiste à explorer la rugosité de l'espace de phase, surtout de sa partie de basse énergie, en considérant deux répliques de la même séquence qui sont couplées par rapport à leur recouvrement mutuel, voir figure 2.9. Plus précisément, nous considérons le système des deux répliques (1) et (2) avec l'Hamiltonien

$$H_{\text{tot}}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2; \epsilon) = H(\mathcal{S}_1) + H(\mathcal{S}_2) + \epsilon q_{12}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2), \quad (2.24)$$

où \mathcal{S}_a indique la structure secondaire de la réplique a et $H(\mathcal{S})$ est l'énergie associée à la structure secondaire⁴⁴. Le terme ϵq_{12} induit une répulsion entre les structures secondaires

⁴²À $T = 0$ nous choisissons l'état fondamental comme état de référence.

⁴³Ceci s'ensuit de (2.12).

⁴⁴De nouveau, ce sera la somme des énergies d'appariements dans un modèle simplifié.

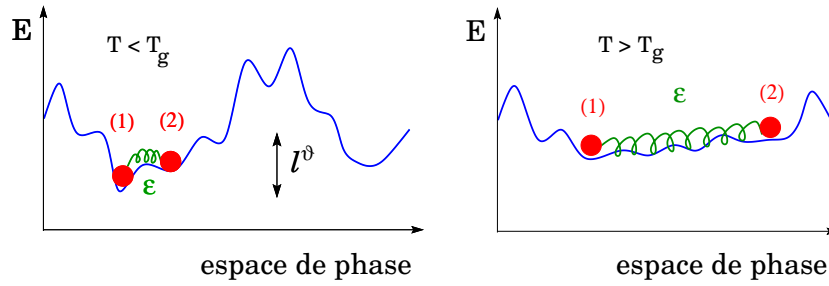


FIG. 2.9 – La rugosité de l'espace de phase est sondée par une paire de répliques couplées avec une répulsion par rapport à leur recouvrement. À basse température le paysage d'énergie est caractérisé par une échelle d'énergie qui croît avec la distance entre repliements en ℓ^θ . Cependant, l'échelle des barrières croît plus vite (en $N^{1/2}$). À haute température, le paysage d'énergie est presque plat, et la méthode donne un résultat trivial, comme dans un liquide.

pour $\epsilon > 0$. Nous verrons ci-dessous que l'intensité ϵ de l'interaction doit être adaptée à la taille N du système pour obtenir un résultat non-trivial.

Considérons d'abord le système à basse température où les deux répliques se mettent de préférence dans l'état fondamental. À petite répulsion ϵ , elles restent proches de l'état fondamental et gardent un grand recouvrement. Quand ϵ devient suffisamment grand, elles se séparent à grande échelle, et occupent de préférence des états métastables qui sont éloignés. L'échelle ϵ où ce changement qualitatif a lieu croît typiquement avec la taille N comme la différence d'énergie entre deux états métastables différant d'un nombre extensif d'appariements. Cette différence est justement l'échelle d'énergie $E(d = O(N))$ à laquelle nous nous intéressons.

Pour déterminer $E(d)$ plus quantitativement, nous calculons la valeur moyenne de q en fonction de la taille N et de la répulsion ϵ ,

$$\langle q_{12} \rangle(\epsilon; N) = \frac{\sum_{\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2} q_{12}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2) \exp(-\beta H_{\text{tot}}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2; \epsilon))}{\sum_{\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2} \exp(-\beta H_{\text{tot}}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2; \epsilon))}. \quad (2.25)$$

La discussion précédente suggère que le recouvrement satisfait à une loi d'échelle de type

$$\overline{\frac{d}{N}} = \overline{1 - q_{12}} = g(N) \Phi \left(\frac{\epsilon}{E(N)} \right), \quad (2.26)$$

où la barre indique la moyenne sur l'ensemble des séquences. Pour tenir compte des effets de taille finie, nous avons inclus un facteur $g(N)$. Les données numériques sont affichées dans la figure 2.10 pour un modèle à deux lettres A, B avec⁴⁵ $e_{AA} = e_{BB} = -1$ et $e_{AB} = -2$.

⁴⁵Nous avons ajouté une perturbation aléatoire η_{ij} à l'énergie de chaque lien (ij) pour lever la dégénérescence de l'état fondamental.

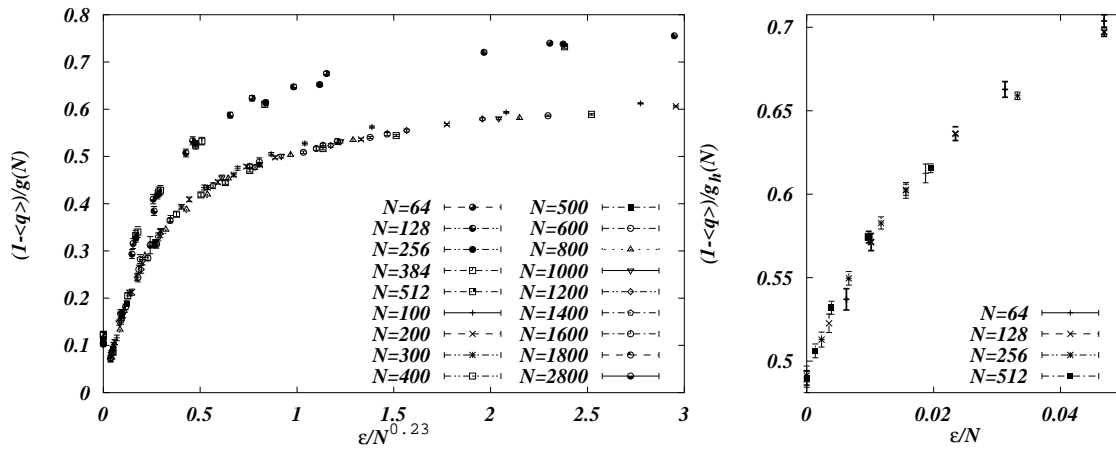


FIG. 2.10 – À gauche : distance $\langle 1 - q \rangle$ entre structures secondaires en fonction du couplage réduit ϵ/N^θ à basse température, $T = 0$ et $T = 0.05$ (le dernier est translaté par 0.1). L'exposant optimal est $\theta = 0.23 \pm 0.05$. À droite : couplage à haute température, $T = 0.25$. L'exposant $\theta = 1$ correspond au comportement d'un liquide.

Dans la partie gauche de la figure 2.10, nous avons optimisé le fit selon l'ansatz (2.26) avec une échelle d'énergie qui croît en loi de puissance, $E(N) = N^\theta$, avec un petit exposant $\theta = 0.23 \pm 0.05$ ⁴⁶. Dans la même figure, à droite, nous affichons des données à haute température qui suivent une loi⁴⁷ $\overline{\langle q_{12} \rangle} = g_h(N) \Phi_h(\epsilon/N)$. Ceci est justement la forme que nous obtenons analytiquement pour un modèle homogène [KMM02]. Il est cependant clair qu'à haute température, l'interprétation de $\theta = 1$ comme exposant d'énergie n'a pas de sens. En effet, ce comportement est typique pour un "liquide" où l'hétérogénéité des énergies n'est pas pertinente et des corrélations à longue portée sont absentes. Pour expliquer la signification de $\theta = 1$, nous nous référons à la figure 2.9. Le paysage d'énergie est relativement plat parce que les hélices sont peu sensibles à la complémentarité exacte des simples brins : elles peuvent donc "glisser" comme dans un homopolymère. Par conséquent le nombre de conformations qui contribuent à la thermodynamique est grand, et la distribution des recouvrements $P(q_{12})$ est large même sans répulsion. Pour augmenter encore plus la distance moyenne entre les états, le terme ϵq doit correspondre à une perturbation extensive, $\epsilon \sim N$, de sorte qu'une force finie soit exercée sur chaque base individuelle.

⁴⁶Une étude similaire à la nôtre à $T = 0$, a suggéré $\theta \approx 0.33$ [MPRT02]. Elle diffère de notre approche dans la mesure où elle se restreint quasiment à l'ensemble des états fondamentaux et aux excitations de très basse énergie en gardant la répulsion ϵ petite.

⁴⁷Évidemment, les fonctions Φ_h et g_h sont différentes de celles à basse température.

Un paramètre d'ordre pour la transition vitreuse

Bien que nous ayons parlé de la phase vitreuse de l'ARN comme si son existence était assurée, la présence d'une transition de phase thermodynamique n'a pas été prouvée jusqu'à présent. La seule indication analytique pour une transition vitreuse a été obtenue dans le cas particulier d'énergies e_{ij} indépendantes, gaussiennes, où il est possible de calculer le comportement asymptotique du deuxième moment de la fonction de partition $\overline{Z_N^2}$ [BH02b]. Le calcul est exactement analogue au calcul pour deux répliques homogènes couplées [KMM02] sauf que dans ce cas le couplage est attractif⁴⁸. Il se trouve que ce système couplé subit une transition de phase : à basse température les deux répliques sont fortement couplées, tandis qu'à haute température elles sont presque indépendantes⁴⁹. Cependant, la relation précise entre ce système recuit à deux répliques couplées et le système trempé reste quelque peu obscure.

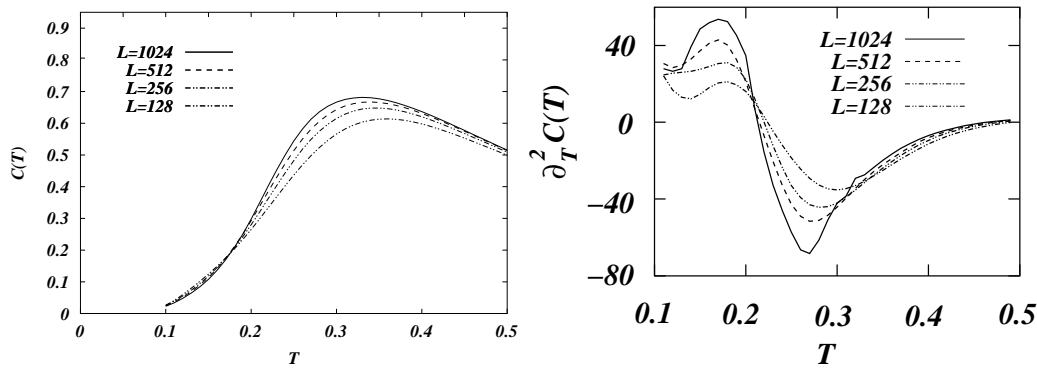
D'autres indications pour une phase vitreuse, bien que numériques, sont plus nettes [BH02b]. Comme nous l'avons déjà mentionné, le coût d'un "pinçage" augmente drastiquement à basse température ce qui indique la présence de relativement fortes préférences d'appariements⁵⁰. La pertinence du désordre se manifeste probablement le plus clairement dans les propriétés structurelles de l'ARN, en particulier dans le rayon de gyration dont le comportement à basse température est nettement différent de celui d'un liquide. Nous discuterons cet effet en détail dans la section 2.3.5.

Les résultats de la section précédente offrent une alternative pour repérer la transition vitreuse. Le changement de la susceptibilité de deux répliques par rapport à une répulsion mutuelle nous permet d'introduire un paramètre d'ordre qui devrait identifier la transition de manière non-ambiguë, si elle existe. Considérons deux répliques avec un couplage *extensif*, c'est-à-dire un terme ϵq avec $\epsilon = \delta N$ (où δ est indépendant de N). Dans la phase vitreuse d'un grand ARN, une petite répulsion δ suffira pour séparer les deux répliques à l'échelle macroscopique, $q(\delta > 0) \rightarrow q_{\min} = 0$, tandis qu'une attraction extensive les force de rester dans le même état, $q(\delta < 0) \rightarrow q_{\max} = 1$. Cependant, dans la phase liquide, la réponse du système est une fonction continue de δ , comme dans un modèle homogène.

⁴⁸Une récursion pour $\overline{Z_N^2}$ s'obtient en sommant sur les liens communs aux deux répliques. Ces liens divisent les deux chaînes en sous-séquences indépendantes dont la fonction de partition est donnée par un carré $\overline{Z_{N'}^2}$, car les liens dans les deux répliques sont tous différents.

⁴⁹Puisque le recouvrement entre structures secondaires aléatoires reste fini à la limite thermodynamique (voir note 38 au bas de la page 47) le couplage donne toujours lieu à une contribution extensive. En particulier, on trouve $\lim_{N \rightarrow \infty} (\overline{Z_N^2} / \overline{Z_N}^2)^{1/N} > 1$, ce qui implique que la moyenne recuite n'est jamais exacte (à la limite thermodynamique). Il n'est donc pas possible de prouver l'existence d'une transition vitreuse en montrant que l'entropie de la moyenne recuite, $s = d(T \log \overline{Z_N} / N) / dT$, devient négative à basse température.

⁵⁰Cette observation peut être rendue plus quantitative en montrant qu'une énergie libre avec des corrections de taille finie sous la forme $f_N = N f_0(T) - 3/2 kT \log N + O(1)$ comme dans le modèle homogène n'est pas cohérente à basse température [BH02b].

FIG. 2.11 – Capacité calorifique $C(T)$ et sa dérivée seconde (de [PPRT00]).

La quantité

$$\phi = \lim_{\delta \rightarrow 0} \left\{ \lim_{N \rightarrow \infty} [\bar{q}(\epsilon = -\delta N; N) - \bar{q}(\epsilon = \delta N; N)] \right\}. \quad (2.27)$$

peut donc servir de paramètre d'ordre pour la transition vitreuse : elle vaut 0 dans la phase liquide et exhibe un saut discontinu vers $\phi = 1$ à la transition vitreuse.

2.3.4 Singularités de l'énergie libre

Résultats numériques

La façon la plus directe de repérer une transition de phase consiste à chercher des singularités dans l'énergie libre à la limite thermodynamique. D'habitude, l'ordre d'une transition vitreuse dans le sens d'Ehrenfest est assez élevé comparé à celui des transitions homogènes⁵¹. Par conséquent, les approches numériques pour détecter une transition vitreuse sont très sensibles aux effets de taille finie.

Une telle analyse a été faite [PPRT00] pour un modèle d'ARN aléatoire à deux lettres qui est très proche de celui que nous avons étudié par couplage de répliques. Dans la figure 2.11 nous reproduisons leurs résultats pour la capacité calorifique et sa deuxième dérivée.

Pour les deux quantités, les courbes pour différentes tailles se croisent à une température autour de $T \approx 0.2$, ce qui a été interprété comme signature d'une singularité dans le potentiel thermodynamique. On peut conjecturer que la croissance des pics de $\partial^2 C(T)/\partial T^2$ en fonction de la taille indique une faible divergence à la limite thermodynamique qui localiserait la transition vitreuse T_g quelque part dans l'intervalle

⁵¹Dans le chapitre 4, nous verrons que le polymère sur réseau subit une transition du troisième ordre. La transition du modèle SK est même du cinquième ordre [Par80]. Il n'est pas exclu que dans le cas présent, la transition soit même d'ordre infini, comme le suggère la similarité entre le problème de l'ARN et la transition de localisation d'une chaîne hydrophile-hydrophobe au voisinage de l'interface entre deux liquides, voir la note 58 au bas de page 58.

$0.15 < T_g < 0.25$. Ceci est cohérent avec les observations de la section précédente qui suggèrent $T_g < 0.25$. Cependant, ces résultats ne sont pas très nets. Il serait donc souhaitable de les suppléer par une approche différente.

ARN périodique

Le problème de l'ARN désordonné peut être étudié d'un point de vue complémentaire comme la limite des séquences périodiques, où la longueur de la période aléatoire tend vers l'infini. Une telle approche est intéressante, car l'énergie libre d'une chaîne périodique peut être obtenue exactement⁵² et permet de mieux comprendre les effets de la séquence et l'origine du comportement qui se voit dans les simulations numériques que nous venons de discuter.

Considérons alors une séquence de lettres σ_i avec une période de longueur L (i.e., $\sigma_i = \sigma_{i+L}$). De nouveau, nous nous restreignons à un modèle simplifié qui est entièrement décrit par les interactions de paires $e_{ij} \equiv \tilde{e}_{\sigma_i, \sigma_j}$.

Pour obtenir l'énergie libre, nous procédons comme dans le cas d'une chaîne homogène, voir section 2.2.2. Le point de départ est de nouveau la récursion (2.4) pour les fonctions de partition $Z_{i,j}$,

$$Z_{i,j} = \delta_{ij} + \Theta(j-i) \left(Z_{i,j-1} + \sum_{m=i}^{j-1} Z_{i,m-1} P_{mj}(\beta) Z_{m+1,j-1} \right), \quad (2.28)$$

où nous avons introduit $P_{mj}(\beta) = \exp[-\beta \tilde{e}_{\sigma_m, \sigma_j}]$. Nous définissons les L^2 fonctions génératrices

$$\Xi_{a,b}(\zeta) = \sum_{n=0}^{\infty} \Theta(b+nL-a-1) Z_{a,b+nL} \zeta^{b+nL-a}, \quad a, b = 0, \dots, L-1, \quad (2.29)$$

et après une transformation de Laplace de (2.28), nous obtenons⁵³

$$\Xi_{a,b}(\zeta) = \delta_{ab} + \zeta \Xi_{a,b-1} + \zeta^2 \sum_{m=1}^L \Xi_{a,m-1}(\zeta) P_{mb}(\beta) \Xi_{m+1,b-1}(\zeta) \equiv \Psi_{a,b}(\{\Xi\}; \zeta). \quad (2.30)$$

Ces équations déterminent les $\Xi_{a,b}$ en fonction de la température $T = \beta^{-1}$ et de ζ . Comme dans le cas d'une séquence homogène ($L = 1$), la limite thermodynamique de l'énergie libre par base est donnée par

$$f = -\beta^{-1} \log[\zeta_c(\beta)], \quad (2.31)$$

où $\zeta_c(\beta)$ est la plus petite valeur de ζ pour laquelle les fonctions génératrices $\Xi_{a,b}$ exhibent une singularité.

⁵²À la limite thermodynamique.

⁵³Tous les indices sont à lire modulo L .

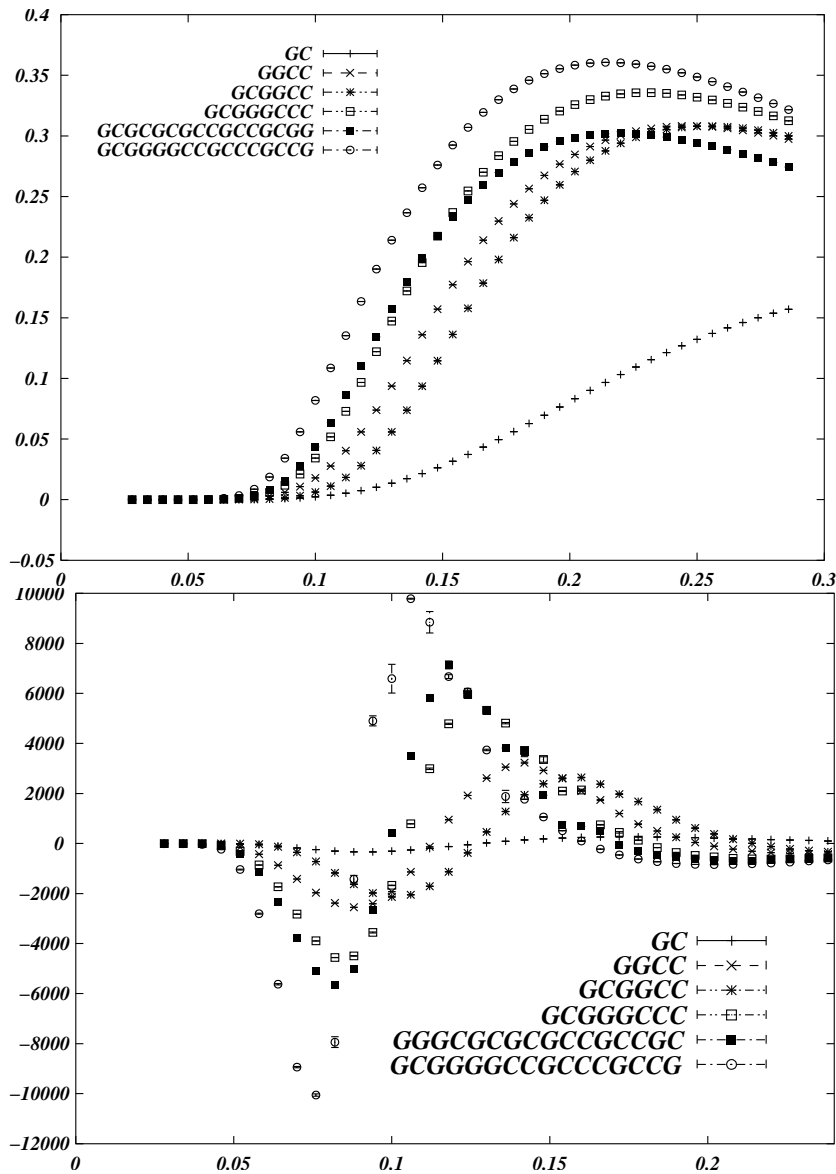


FIG. 2.12 – La capacité calorifique $C(T)$ et la quatrième dérivée de l'énergie libre $f^{(IV)}(T)$. La légende indique la composition des séquences périodiques. Les séquences ont été choisies de sorte à contenir le même nombre de G's que de C's, ce qui assure que leurs états fondamentaux ont tous l'énergie minimale $e_0 = -1/2$ par base. Il y a une très nette corrélation entre la hauteur des deux pics dans $f^{(IV)}(T)$ et la longueur de la plus grande sous-séquence contiguë de mêmes lettres.

En développant les équations (2.30) autour de ζ_c ,

$$0 = \Xi_{ab}(\zeta) - \Psi_{a,b}(\{\Xi\}; \zeta) \quad (2.32)$$

$$\begin{aligned} &= (\zeta_c - \zeta) \frac{\partial \Psi_{ab}}{\partial \zeta}(\{\Xi(\zeta_c)\}; \zeta_c) + \sum_{c,d=0}^L \mathcal{M}_{ab,cd} (\Xi_{cd}(\zeta) - \Xi_{cd}(\zeta_c)) \\ &\quad + O(|\Xi(\zeta) - \Xi(\zeta_c)|^2), \end{aligned} \quad (2.33)$$

nous nous apercevons, qu'en général, une singularité du type

$$\Xi_{ab}(\zeta) = \Xi_{ab}(\zeta_c) - c_{ab} \sqrt{\zeta_c - \zeta} \quad (2.34)$$

apparaît, quand la matrice de taille $L^2 \times L^2$,

$$\mathcal{M}_{ab,cd} = \delta_{ab,cd} - \frac{\partial \Psi_{a,b}}{\partial \Xi_{cd}}(\{\Xi\}; \zeta), \quad (2.35)$$

est dégénérée, c'est-à-dire

$$\det \mathcal{M}_{ab,cd} = 0. \quad (2.36)$$

Cette condition en conjonction avec (2.30) fixe de manière implicite la valeur critique $\zeta_c(\beta)$, et donc l'énergie libre (2.31).

Remarquons que cette méthode permet d'étudier l'énergie libre *exactement* à la limite thermodynamique ce qui constitue un grand avantage par rapport aux simulations numériques pour les ARNs de taille finie.

Nous avons étudié ce modèle pour plusieurs séquences de deux bases G et C . Inspirés de l'ARN réel, nous n'avons admis que des appariements entre G et C , où la matrice d'interactions de paires est donnée par $\tilde{e}_{GC} = \tilde{e}_{CG} = -1$ et $\tilde{e}_{CC} = \tilde{e}_{GG} = \infty$. Dans la figure 2.12, nous affichons la capacité calorifique et la quatrième dérivée de l'énergie libre pour quelques séquences représentatives⁵⁴.

De nouveau, la capacité calorifique n'exhibe pas de caractéristiques particulières. En revanche, la quatrième dérivée de l'énergie libre (qui est reliée à la dérivée seconde de $C(T)$) montre une dépendance intéressante de la séquence. La hauteur des deux pics augmente avec la longueur de la plus grande sous-séquence de mêmes lettres dans la chaîne. La raison pour cela est assez intuitive : il n'y a que peu de sous-séquences complémentaires avec lesquelles on peut appairer toutes les bases d'une sous-séquence de mêmes lettres. À basse température où la tendance d'appairer toutes les bases est la force dominante, le système subit une réduction d'entropie qui est d'autant plus drastique que ces sous-séquences uniformes sont longues.

⁵⁴Puisque le modèle n'est pas exactement le même que celui étudié dans [PPRT00], les échelles d'énergie ainsi que la forme des courbes ne sont pas directement comparables à celle de la figure 2.11.

Cette observation offre une interprétation pour la croissance du pic de la dérivée seconde de $C(T)$: en général, les séquences aléatoires de plus grande taille contiennent de plus longues sous-séquences de mêmes lettres, ou autrement dit, les “pièges d'entropie” sont plus profonds dans ces séquences. Ceux-ci se manifestent quand l'énergie des appariements domine les effets d'entropie.

Dans la section suivante nous revenons à l'idée de la compétition entre l'optimisation de l'énergie d'appariement et la perte en entropie associée. En particulier, nous allons voir qu'elle est responsable du changement de la structure géométrique des molécules.

2.3.5 Le rayon de gyration dans l'ARN vitreux

Énergie versus entropie et la hauteur de montagne

Le modèle homogène correspond au cas extrême où les énergies d'appariement n'ont pas d'effet particulier sur la structure, outre qu'elles imposent un grand nombre d'appariements en général. Dans ce cas, les structures secondaires dominantes sont déterminées par la maximisation de l'entropie⁵⁵.

Dans une séquence hétérogène, tous les appariements ne sont pas équivalents. L'énergie gagnée par la formation d'une longue hélice stable peut compenser la perte en entropie qu'impose sa présence. En fait, dans cette compétition, énergie et entropie se contrebalancent de manière assez subtile. La longueur ℓ de l'hélice maximale dans une sous-séquence de longueur L croît en $\ell \sim \log(L)/\log(2)$ ⁵⁶. L'énergie associée sera de l'ordre de

$$E_L \approx \bar{\epsilon} \frac{\log(L)}{\log(2)}, \quad (2.37)$$

où $\bar{\epsilon} \approx (e_{AU} + e_{GC})/2$ est une énergie d'appariement moyenne. En comparant ce terme enthalpique à la pénalité entropique⁵⁷ à l'échelle L

$$TS_L \approx \frac{3}{2} kT \log(L), \quad (2.38)$$

nous trouvons que les effets du désordre deviennent importants en dessous d'une échelle de température T_c

$$kT \lesssim \frac{2}{3} \frac{\bar{\epsilon}}{\log(2)} \equiv kT_c. \quad (2.39)$$

⁵⁵Comme nous avons déjà vu plus haut, la réduction d'entropie $3/2 kT \log(\ell) + \text{const.}$ due à la présence d'un lien de longueur ℓ se reflète directement dans la probabilité $p_\ell \sim \ell^{-3/2}$.

⁵⁶Il y a environ $L^2/2$ possibilités d'apparier deux bouts de simples brins de longueur ℓ . La probabilité qu'ils soient complémentaires décroît en $4^{-\ell}$ pour un modèle réaliste d'ARN composé de quatre lettres. La longueur typique s'ensuit de l'estimation $4^{-\ell} L^2/2 \sim 1$ comme $\ell \approx \log(L)/\log(2)$.

⁵⁷Nous utilisons, de manière heuristique, l'expression à haute température. Les résultats de [BH02b] suggèrent qu'autour de la transition vitreuse le préfacteur $3/2$ augmente sans que la loi logarithmique soit modifiée. Qualitativement, notre argument est donc correct.

En injectant la valeur $\bar{\epsilon} \approx 2$ kcal/mole, nous inférons que pour l'ARN à température ambiante ($kT \approx 0.6$ kcal/mole) la condition (2.39) est justement satisfaite. Les hétérogénéités de la séquence sont donc suffisamment fortes pour changer les propriétés structurales du repliement, en particulier la fréquence de longs liens, par rapport à une molécule homogène⁵⁸.

Propriétés structurales de l'ARN désordonné

En effet, dans les états fondamentaux d'ARN avec désordre, le nombre d'appariements de longueur ℓ décroît plus lentement que dans le modèle homogène. La distribution de liens est décrite par la loi de probabilité

$$p_\ell \sim \ell^{-\alpha}, \quad (2.40)$$

avec un exposant $\alpha \approx 1.34$ [BH02b, MKM02].

Cette loi se reflète également dans le rayon de gyration. Comme nous avons expliqué dans la section 2.2.3, la distance d entre bases le long du squelette ramifié de la structure secondaire est reliée à la hauteur dans la représentation en relief de montagne, croissant avec la taille en

$$h \sim n_{ab} \approx 2 \int_0^{O(N)} dl \ell p_\ell \sim N^{2-\alpha} \approx N^{0.66}, \quad (2.41)$$

voir (2.14). En supposant que le chemin le long du squelette est une marche auto-évitante, le rayon de gyration s'ensuit comme $R_g \sim n_{ab}^{\nu_{\text{SAW}}} \sim N^{(2-\alpha)\nu_{\text{SAW}}} \approx N^{0.39}$.

L'hétérogénéité de la séquence a un effet remarquable : les structures secondaires typiques sont plus allongées (moins globulaires) que celles dans une molécule homogène. En particulier, nous trouvons que la densité de monomères dans l'espace, $\rho \sim N/R_g^3 \sim N^{-0.17}$ décroît en fonction de la taille. Ceci résout le problème d'incohérence que nous avons rencontré dans le modèle homogène où la densité de monomères augmente avec la taille, rendant le traitement du repliement purement au niveau de la structure secondaire incohérent pour des grandes molécules. La présence de désordre réduit la densité de la

⁵⁸En étudiant la localisation d'un copolymère aléatoire à l'interface entre deux solvants, Garel et al. [GHLO89] ont trouvé une compétition très similaire entre termes logarithmiques pour l'énergie et l'entropie. Monthus [Mon00] a étudié la transition de localisation plus en détails en définissant une thermodynamique effective à plus grande échelle, renormalisant les paramètres du problème original. Ses résultats suggèrent une transition d'ordre infini avec une singularité de l'énergie libre en $\exp[-C/(1-T/T_c)]$. Pour le problème presque équivalent de l'accrochage d'un hétéropolymère à une surface, Tang et Chaté [TC01] utilisent une technique de renormalisation dans l'espace réel pour établir une singularité essentielle de la forme $\exp[-C/|1-T/T_c|^{1/2}]$. En vue de la similarité entre ces systèmes-ci et le problème de la structure secondaire de l'ARN, on peut conjecturer que la transition vitreuse dans l'ARN exhibe également une singularité essentielle. En particulier, il serait intéressant d'adapter l'idée d'une thermodynamique effective à l'ARN, par exemple en développant l'approche des algorithmes cinétiques, que nous discuterons plus loin (voir la page 59).

structure secondaire et donc la fréquence de contacts tertiaires. La contribution de ces derniers à l'énergie libre sera de l'ordre de $\rho N \sim N^{0.83}$ et donc faiblement sous-extensive, ce qui justifie *a posteriori* l'approche au niveau de la structure secondaire, au moins en ce qui concerne les caractéristiques générales du repliement. Toutefois, il est évident que la détermination de l'état natif et de l'ordre parmi les structures de basse énergie dépendent de manière cruciale de ces termes supplémentaires, surtout pour les grandes molécules.

Le rayon de gyration dans un modèle exactement soluble

La déviation de la loi (2.41) par rapport au modèle homogène provient du fait que dans un ARN désordonné les longs liens sont favorisés. Pour mieux comprendre cet effet, nous considérons une sorte d'algorithme "glouton" qui essaie de trouver un état de basse énergie en construisant itérativement une structure secondaire de la manière suivante : à chaque pas de l'itération l'algorithme ajoute à la structure secondaire un appariement qui soit d'une part compatible avec la structure déjà présente et d'autre part particulièrement favorable selon des critères encore à définir.

Selon le critère le plus simple l'on choisirait à chaque instant la paire de bases avec l'énergie d'interaction la plus favorable. Les *algorithmes cinétiques de repliement* [AvdBvBP90, LW98] représentent des versions plus sophistiquées de la même idée de base : au lieu de considérer l'ajout d'une paire de bases à la fois, ces algorithmes ajoutent des hélices entières. Ceci est plus naturel et mène à des structures secondaires plus compactes. Ce procédé est censé simuler la vraie cinétique de repliement de l'ARN : on suppose que les hélices qui se forment au fur et à mesure au cours du repliement sont en général très stables et ne s'ouvrent plus jusqu'à la fin. La question reste de savoir selon quel critère il faut choisir les hélices. À chaque étape du processus, les algorithmes cinétiques associent un poids à toutes les hélices compatibles avec la structure présente. Ce poids tient non seulement compte de l'énergie d'appariement que l'hélice contribue, mais aussi du fait qu'un appariement entre sous-séquences à longue distance dans la séquences est plus difficile à initier. Les hélices sont alors tirées au hasard selon ces poids, ce qui crée successivement une structure secondaire.

Pour obtenir une prédiction du repliement natif à partir de ce procédé heuristique, la simulation de la cinétique de repliement est répétée un grand nombre de fois. On suppose alors que les hélices qui sont présentes dans la plupart des structures secondaires ainsi créées appartiennent à la structure secondaire native.

Dans la suite, nous supposons que les algorithmes cinétiques créent des structures secondaires relativement typiques du point de vue de la distribution des longueurs de liens, et donc, du rayon de gyration. L'algorithme est relativement facile à analyser grâce à sa structure récursive, voir figure 2.13 : la première hélice partage la chaîne en trois sous-séquences B_1 , M et B_2 . En raison de la contrainte de planarité, l'algorithme procédera de

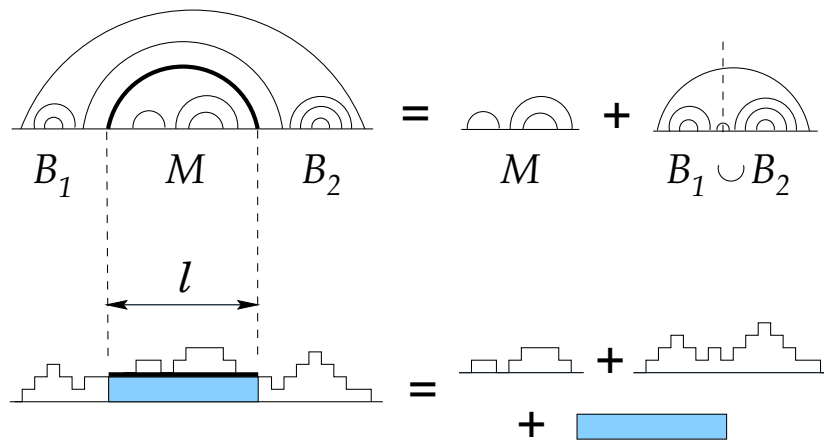


FIG. 2.13 – Récursion pour la hauteur du relief de montagne. Le relief complet est décomposé par le lien de longueur ℓ en deux reliefs superposés : un relief sur la partie M du milieu et un autre sur l'union des deux bouts B_1 et B_2 . Le rectangle de longueur ℓ correspond au troisième terme dans (2.42). Sa hauteur correspond à la hauteur du relief sur $B_1 \cup B_2$ à l'endroit où B_1 et B_2 se joignent.

manière indépendante sur la partie du milieu M et sur la nouvelle sous-séquence effective $B_1 \cup B_2$ formée des deux bouts.

Nous pouvons exploiter cette propriété pour en déduire une relation entre les hauteurs de reliefs de montagne sur la séquence entière et les deux parties M et $B_1 \cup B_2$. Plus précisément, la figure 2.13 suggère la récursion suivante pour l'aire moyenne $A(L) \equiv L\bar{h}(L)$ couverte par le relief de montagne,

$$L\bar{h}(L) \approx \int_1^L d\ell P(\ell) (\ell\bar{h}(\ell) + (L - \ell)\bar{h}(L - \ell) + \ell\bar{h}(L - \ell)) , \quad (2.42)$$

où nous avons supposé que la distance ℓ entre les deux simples brins constituant l'hélice soit distribuée selon une loi de probabilité $P(\ell; L)$ qui dépend du critère de choix des hélices utilisé par l'algorithme. Elle sera spécifiée plus loin. Les premiers deux termes dans (2.42) sont dûs aux reliefs associés aux structures secondaires qui sont créées indépendamment sur M et $B_1 \cup B_2$. Le dernier terme tient compte des liens qui passent au dessus de M : leur nombre typique correspond justement à la hauteur moyenne $\bar{h}(L - \ell)$ du relief sur $B_1 \cup B_2$. Ces liens donnent donc lieu à une contribution supplémentaire $\ell\bar{h}(L - \ell)$ à l'aire moyenne, comme symbolisé par le rectangle dans la figure 2.13.

Pour la hauteur moyenne, nous nous attendons à une loi d'échelle

$$\bar{h}(L) \approx h_0 L^\beta \quad (2.43)$$

en fonction de la longueur L de la chaîne. En injectant cette forme dans (2.42) et en passant à la variable $x = \ell/L$ dans l'intégrale nous obtenons une équation d'auto-cohérence pour

l'exposant β ,

$$1 = \int_0^1 dx p(x) (x^{\beta+1} + (1-x)^\beta), \quad (2.44)$$

où $p(x) = LP(Lx)^{59}$.

Nous devons encore spécifier la forme de $P(L)$. Considérons d'abord l'algorithme "glouton" simple qui choisit à chaque instant l'appariement le plus favorable compatible avec les liens déjà présents. Dans le cas où les énergies d'appariement sont des variables aléatoires et indépendantes, la probabilité qu'un lien particulier soit choisi par l'algorithme est uniforme. Prenant en compte qu'il y a $L - \ell$ liens possibles de longueurs ℓ , nous trouvons $P(\ell) = 2(L - \ell)/(L(L - 1))$, ou en changeant la variable, $p(x) = 2(1 - x)$. En utilisant cette forme dans (2.44), nous obtenons

$$1 = 2 \left(\frac{1}{(\beta + 2)(\beta + 3)} + \frac{1}{\beta + 2} \right), \quad (2.45)$$

d'où $\beta = (\sqrt{17} - 3)/2 \approx 0.5616$. Cet exposant est très précisément retrouvé par des simulations numériques de cet algorithme "glouton".

Évidemment, cet algorithme est trop simple, parce que d'une part il se base sur les énergies d'appariement d'une seule paire au lieu de considérer les hélices, d'autre part, il néglige la perte en entropie associée à un long lien.

Pour tenir compte de ces deux effets, nous remarquons d'abord que le poids de Boltzmann associé à l'énergie d'une des hélices les plus longues à l'échelle L croît en loi de puissance, voir (2.37),

$$\exp(-E_L/T) \approx \exp(\bar{\epsilon} \log(L)/[T \log(2)]) = L^{\bar{\epsilon}/[T \log(2)]}. \quad (2.46)$$

Nous devons également tenir compte d'une pénalité entropique associée à la formation d'une hélice à distance L ,

$$\exp(S_L) \sim \frac{1}{L^\nu}. \quad (2.47)$$

Dans l'esprit d'un algorithme cinétique, l'exposant ν serait associé à la fermeture d'une boucle auto-évitante, $\nu \approx 3\nu_{\text{SAW}}^{60}$. On peut également raisonner de la manière suivante : la présence de cette hélice empêchera d'autres hélices de se former, ce qui suggérerait un exposant $\nu = 3/2$ comme expliqué plus haut⁶¹. D'après ces observations, il est naturel de supposer que l'algorithme récursif favorise des hélices à longue distance L avec un poids qui croît en loi de puissance L^ζ . Les estimations (2.46) et (2.47) suggèrent une valeur de l'ordre de $\zeta \approx \bar{\epsilon}/[T \log(2)] - \nu \approx 3$ à température ambiante.

⁵⁹Nous supposons que la distribution $P(\ell)$ ne soit pas de courte portée, mais dominée par $\ell = O(L)$.

⁶⁰Nous négligeons ici les corrections dues aux branches attachées.

⁶¹Remarquons que l'exposant associé à la partie enthalpique, (2.46), est plus grand que celui associé à l'entropie, (2.47). Cela reflète le fait que la condition (2.39) concernant la pertinence du désordre est satisfaite.

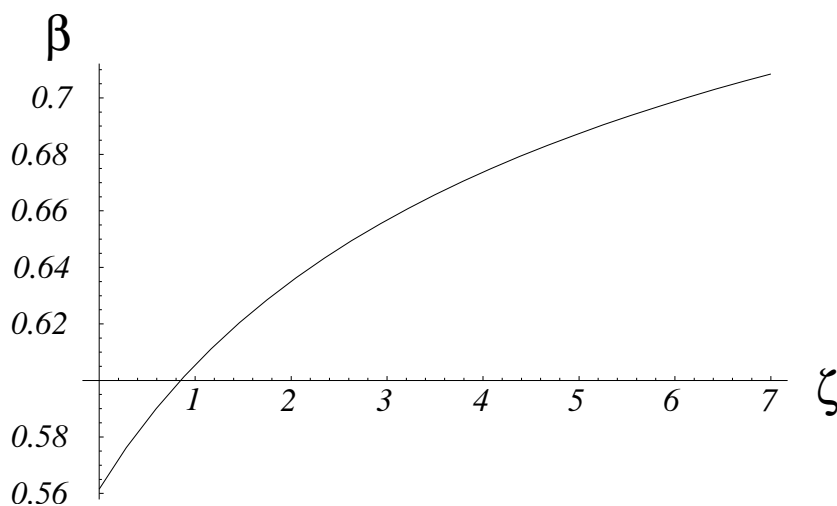


FIG. 2.14 – Exposant β décrivant le comportement d'échelle de la hauteur moyenne $\bar{h}(L) \sim h_0 L^\beta$ en fonction de l'exposant empirique $\zeta \approx \bar{\epsilon}/[T \log(2)] - \nu$.

Finalement, en tenant compte du fait qu'il y a $L - \ell$ liens possibles de longueur ℓ , nous trouvons une forme plus réaliste pour la distribution de la première hélice

$$p(x) = (\zeta + 1)(\zeta + 2)x^\zeta(1 - x). \quad (2.48)$$

La condition d'auto-cohérence (2.44) devient alors

$$1 = (\zeta + 1)(\zeta + 2) \left(\frac{1}{(3 + \beta + \zeta)(2 + \beta + \alpha)} + \frac{\Gamma(1 + \zeta)\Gamma(2 + \beta)}{\Gamma(3 + \zeta + \beta)} \right), \quad (2.49)$$

ce qui définit l'exposant β en fonction de ζ . Nous affichons la fonction $\beta(\zeta)$ dans la figure 2.14.

Pour $\zeta = 0$, nous retrouvons bien le résultat (2.45) qui sous-estime l'effet des hélices. Cependant, en utilisant la valeur $\zeta \approx 3$ proposée pour un modèle réaliste de l'ARN à température ambiante, nous trouvons un exposant $\beta(\zeta = 3) \approx 0.657$. Cette valeur est très proche de celle trouvée dans les vrais états fondamentaux de séquences désordonnées (voir l'équation (2.41), ainsi que la discussion dans la section 3.3.3).

Notre simple raisonnement sur la compétition entre l'énergie et l'entropie d'hélices permet donc d'exprimer quantitativement le fait remarquable que le rayon de gyration dans le régime vitreux (dominé par les effets du désordre) est bien plus grand que dans la phase liquide !

2.4 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons étudié la physique statistique de l'ARN et en particulier les effets de l'inhomogénéité de la séquence sur les propriétés à basse température.

Pour des températures suffisamment élevées (mais toujours en dessous de la température de fusion, $T_m \approx 60 - 80^\circ\text{C}$, où les appariements Watson-Crick deviennent instables) le désordre n'est pas pertinent et ne fait que renormaliser les paramètres d'un modèle homogène. Dans ce régime, une multitude de structures repliées contribuent à la thermodynamique. La séparation des échelles d'énergie associées à la structure secondaire et tertiaire suggère une hiérarchie dans le repliement de l'ARN qui nous permet, dans un premier temps, de nous restreindre purement à la structure secondaire. En incluant des pénalités effectives pour la formation de boucles multi-branchées, nous avons démontré l'existence d'une transition du type "pelote-globule" pour l'ARN (toujours dans le régime de haute température). Au-dessus de la température de transition, la formation de grandes boucles est défavorable, et l'ARN prend une configuration en "collier de perles", formée de nombreux petits globules qui se succèdent. Lorsque l'on abaisse la température, cette structure s'effondre et forme un globule dense. En effet, l'approche au niveau de la structure secondaire prédit un rayon de gyration qui ne croît qu'en $N^{1/4}$ avec la taille de la molécule pourvu que la description par un modèle homogène soit toujours valable. Ce fait pose un problème d'auto-cohérence pour les grandes molécules dans ce régime du "globule fondu" où les contacts tertiaires sont très nombreux, nécessitant une approche qui les inclue dès le début. La taille limite jusqu'à laquelle la description au niveau de la structure secondaire reste auto-cohérente dépend cruciallement de la coopérativité de la formation de paires de bases : pour un ARN homogène avec une séquence périodique auto-complémentaire, la formation de longues hélices est très favorable, ce qui rend les structures secondaires localement moins denses que dans un ARN désordonné, renormalisé à plus grande échelle, où il n'y a presque plus d'effets de coopérativité. Pour ces dernières molécules il faut s'attendre à observer un nombre considérable de contacts tertiaires, et ce même dans le cas de tailles relativement modestes ($N \sim 500 - 1000$).

Le problème d'une trop grande densité de la structure secondaire ne se pose plus dans la même mesure à plus basse température, où le désordre se manifeste de manière plus distincte en augmentant le rayon de gyration de la molécule repliée. En effet, le gain en énergie dû à la formation d'une longue hélice entre deux simples brins éloignés dans la séquence peut dominer la perte en entropie associée. Ceci favorise la formation de liens à longue distance et donc des structures secondaires plus allongées. Le changement des propriétés géométriques de l'ARN replié constitue l'une des indications les plus claires en faveur de l'existence d'une phase vitreuse, tout probablement déjà présente à température ambiante. La compétition subtile entre énergie et entropie semble également être responsable de la faible non-analyticité observée dans le comportement de l'énergie libre moyenne de séquences aléatoires d'ARN, comme le suggère notre analyse de séquences périodiques.

Le paysage d'énergie dans la phase vitreuse possède une structure très riche et assez

compliquée. Contrairement à un certain nombre de systèmes désordonnés, pour lesquels les différences d'énergies entre états métastables et les barrières les séparant croissent de la même manière avec la taille du système⁶², le paysage d'énergie de l'ARN est caractérisé par plusieurs échelles d'énergie : les travaux de Morgan et Higgs indiquent que les barrières entre différents états fondamentaux croissent comme $N^{1/2}$ avec la taille du système, tandis que l'analyse de la structure des états métastables de basse énergie par couplage répulsif de deux répliques suggère une échelle d'énergie entre les états qui n'augmente que relativement faiblement avec la taille du système (loi de puissance en N^θ avec $\theta \approx 0.23$). Ce dernier résultat montre en particulier que la probabilité d'existence de structures très différentes de l'état natif mais néanmoins thermodynamiquement importantes est relativement élevée.

Comme les états métastables sont séparés par des barrières d'énergie libre considérables, la dynamique du repliement au niveau de la structure secondaire sera très lente. Cependant, les simulations numériques concernant le repliement de l'ARN au cours de sa polymérisation suggèrent que les barrières typiquement franchies durant cette *première étape* de repliement sont plus petites, les réarrangements associés étant généralement locaux. Les barrières "globales" n'entrent en jeu qu'une fois que la molécule est entièrement polymérisée. Dans une *deuxième étape* du repliement, l'ARN doit trouver son état natif au niveau de la structure secondaire, et - plus ou moins simultanément - optimiser sa structure tertiaire. Bien que l'échelle d'énergie associée à la structure secondaire soit en principe plus importante que celle des interactions tertiaires, ces deux processus sont couplés. La dynamique lente et le comportement vitreux qui en résultent ne sont pas encore bien compris et constituent à l'heure actuelle un domaine actif de recherche expérimentale et théorique. Néanmoins, nos résultats concernant le paysage d'énergie vitreux au niveau de la structure secondaire représentent un élément important dans l'étude de ce problème.

Ces résultats ne constituent toutefois pas une étude achevée. La prise en compte des interactions tertiaires est en effet cruciale pour progresser dans la compréhension du repliement des ARNs. Un pas intéressant dans cette direction pourrait être l'adaptation de la méthode de cavité à l'ARN, ce que nous développerons dans le chapitre 4.

⁶²C'est notamment le cas pour le polymère dirigé ainsi que pour les interfaces dirigées, accrochées par des défauts locaux.

Nature of the glassy phase of RNA secondary structure

F. Krzakała, M. Mézard and M. Müller
Eur. Phys. J. E **9**, 67–77, 2002

Nature of the glassy phase of RNA secondary structure

F. KRZAKALA, M. MÉZARD and M. MÜLLER

*Laboratoire de Physique Théorique et Modèles Statistiques
Université Paris-Sud - Bâtiment 100, F-91405 Orsay, France*

(received 29 August 2001; accepted in final form 6 December 2001)

PACS. 87.14.Gg – DNA, RNA.

PACS. 87.15.-v – Biomolecules: structure and physical properties.

PACS. 64.60.-i – General studies of phase transitions.

Abstract. – We characterize the low-temperature phase of a simple model for RNA secondary structures by determining the typical energy scale $E(l)$ of excitations involving l bases. At low enough temperatures, including $T = 0$, we find a scaling law $E(l) \sim l^\theta$ with a small exponent θ . Above a critical temperature, there is a different phase characterized by a relatively flat free-energy landscape resembling that of a homopolymer with a scaling exponent $\theta = 1$. These results strengthen the evidence in favour of the existence of a glass phase at low temperatures.

Introduction. – The folding of RNA or single stranded DNA as described by its secondary structure is both a relevant problem in molecular biology and a challenging task for the statistical mechanics of disordered systems. Several authors [1–6] have recently addressed the topic and put forward some evidence for the existence of a glassy phase at low temperatures. Numerical studies of the specific heat demonstrate the existence of a higher-order phase transition [2]. The nature and properties of the low-temperature phase are less clear because of large finite-size corrections. While the overlap distribution is certainly broad for systems of up to 1000 bases [1, 2], indicating a kind of glassy phase, its asymptotic behaviour for long sequences cannot be deduced reliably from the present simulations [1–4]. Bundschuh and Hwa [5, 6] have recently argued in favour of the existence of a glass phase. They showed analytically that in the disordered case the asymptotic pre-exponential scaling of the partition function cannot be the same as for homogeneous RNA at low temperatures. They also showed that the system of two attractively coupled replicas of the same disordered sequence exhibits a phase transition from a strongly coupled low-temperature phase to a phase at high temperatures where the replicas are essentially independent. Both results favour the existence of a glass transition at finite temperature, but a rigorous proof is still missing. Numerically, the same authors characterize the RNA conformation via the free-energy cost of an imposed pairing (pinching) of two bases. Concentrating on the largest possible pinching excitations in the ground state of a given RNA sequence, they argue in favour of an excitation energy scale that grows logarithmically with the number N of bases in the sequence, a weak power law not being ruled out. However, it is not clear in what sense the excitations created by a single pinch are typical.

In this paper, we propose a different numerical method to study the scale dependence of excitations as was originally introduced in the context of spin glass models [7–9]. The aim is to determine the typical free-energy scale $E(l)$ of excitations involving the bonds of l bases. Rather than changing boundary conditions via pinching, we introduce a perturbation in the bulk which allows for a better control of the actual size of excitations.

We find that the low-temperature regime is governed by excitations which scale as $E(l) \sim l^\theta$, where $\theta \approx 0.23$ while the high-temperature phase behaves like a homopolymer with scaling exponent $\theta = 1$. The change of θ indicates a phase transition between a liquid-like high-temperature phase and a strongly correlated glass-like phase at low temperature. In the former, excitations consist of independent rearrangements of individual bases, and the paired pieces of the polymer can slide along each other, while in the latter the system is locked in a favourable secondary structure, and low-lying excitations involve correlated rearrangements of bonds. Note that our description is restricted to the thermodynamic and static properties of RNA. In particular, within our approach we cannot deal with the dynamics of RNA which is expected to be very slow in the low-temperature phase [10].

The model. – The RNA strand is characterized by its (quenched) base sequence, real RNA being composed of the four constituents A, C, G and U. The single-stranded polymer will fold back onto itself to form local double helices of stacked base pairs as found in double-stranded DNA. The pattern of base pairings is known as the secondary structure of RNA. The Watson-Crick base pairs A-U and C-G have the strongest tendency to bind, and in a first approximation one can neglect other pairings. In this paper we concentrate on the secondary structure without taking into account the three-dimensional tertiary structure of the polymer whose typical energy scale is significantly lower than that of the base pairing [6, 11].

The glass phase which we will describe exists at the level of the secondary structure. One might imagine another glass phase appearing at the level of the tertiary structure, in the form of the possible existence of many metastable spatial arrangements of the molecule, while the secondary structure would be unique. We do not address this question here.

Only two restrictions from the spatial structure are retained: The rigidity of the polymer chain is taken into account by requiring a minimal distance $|j - i| \geq s$ between two bases forming a bond to avoid very small loops of the linking strand. Furthermore, pairings of bases $\{i, j\}$ and $\{k, l\}$ with $i < k < j < l$ are known to be very rare in real RNA for topological reasons. We exclude such pseudoknots altogether in this paper as they can be regarded as a small perturbation. They could in principle be taken into account systematically, using the approach of [12].

To simplify the problem even further we consider a variant of the model defined in [2] with sequences $(b_i)_{i=1, \dots, N}$ of only two different species, $b_i = A$ or B , with bond energies $e(A, A) = e(B, B) = -1$ and $e(A, B) = e(B, A) = -2$, which is expected to capture the essential physics of RNA. To avoid an artifact of the two-letter model for $s = 1$ (see [6]), we choose $s = 2$ as in earlier work [2]. A natural interpretation of this model is that A and B correspond to small subsequences of a real RNA strand and the energies describe their effective pairing affinities. To mimic the fluctuations of the latter we add a noise to all bond energies, $e_{i,j} \rightarrow e_{i,j} + \eta_{i,j}$, where $e_{i,j} = e(b_i, b_j)$ and $\eta_{i,j}$ is a uniformly distributed variable in $[-1/2, 1/2]$. This lifts the exact degeneracy and ensures that the ground state is unique, which is certainly true in real RNA (or when using more realistic rules for secondary-structures energies), and is also useful technically. In parallel, we studied models with different base pairing energies, and with couplings $e_{i,j}$ that are independently drawn from a given continuous distribution without reference to a base sequence. The results were qualitatively the same in all models.

Taking the energy of a secondary structure \mathcal{S} to be the sum of pairing energies, $H(\mathcal{S}) = \sum_{\{i,j\} \in \mathcal{S}} e_{i,j}$, the partition function of an RNA strand with N bases is given by

$$Z_N = \sum_{\mathcal{S}_N} \exp[-\beta H(\mathcal{S}_N)], \quad (1)$$

where the sum extends over all permissible secondary structures \mathcal{S}_N . Let us represent a secondary structure \mathcal{S} by the set of numbers $\{p_i\}$ ascribing to each base i the base $p_i = j$ which it is paired to, or $p_i = -1$ if it is unpaired. We can then define an overlap between two secondary structures \mathcal{S}_α and \mathcal{S}_β (for the same base sequence) as

$$q^{\alpha\beta} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_{p_i^\alpha p_i^\beta}, \quad (2)$$

which is normalized to $q^{\alpha\alpha} = 1$.

Earlier investigations [1,2] on very similar models concentrated on the probability distribution of the overlap, $P(q)$, which was found to exhibit non-self-averageness, *i.e.*, $P(q)$ depends on the realization of the sequence disorder. Such properties are interpreted as signatures [13] of a glass phase since they require correlations over large parts of the system, implying a divergent correlation length in the low-temperature phase.

However, from the numerical data it was not clear whether or not in the thermodynamic limit $P(q)$ tends to a single delta peak, $\delta(1-q)$, or to a nontrivial function as in mean-field spin glasses. The latter would imply the existence of arbitrarily large excitations of energy $O(1)$ and thus a free-energy exponent $\theta = 0$. For positive θ , however, the ground state dominates at sufficiently low temperature and the overlap is peaked at $q = 1$ in the thermodynamic limit. The system can nevertheless possess a glass phase where favourable free-energy valleys are separated by high barriers, but differ in free energies by terms of order N^θ . This is what happens, for instance, in the case of a directed polymer in random media (DPRM) [14], where $\theta = 1/3$ in $1+1$ dimensions, and we shall show below that the situation is similar in our RNA model at low temperatures. (Let us notice that, in the case of special sequences made up of A and G in the first half of the sequence and C and U in the second half, the RNA model can be mapped onto the DPRM [15].) In such a case, the ϵ -coupling method described below is a choice method to detect the glass phase and to compute θ .

ϵ -coupling at $T = 0$. - Our approach allows a rather direct analysis of the low-lying energy landscape. The basic idea is to introduce a small perturbation in the bulk which repels the system from its ground state \mathcal{S}_0 [9,16]. More precisely, one considers the new Hamiltonian

$$H'(\mathcal{S}; \epsilon) = H(\mathcal{S}) + \epsilon q(\mathcal{S}, \mathcal{S}_0), \quad (3)$$

where the repulsive coupling $\epsilon > 0$ will be tuned appropriately with system size. The energy of the original ground state is increased by ϵ whereas every other state is shifted by a smaller amount. The ground state \mathcal{S}_ϵ of $H'(\mathcal{S}; \epsilon)$ is a low-lying excitation of the original system and has the largest distance $1 - q(\mathcal{S}_\epsilon, \mathcal{S}_0)$ from the ground state at the given excitation energy.

Let us suppose that the typical energy scale of excitations involving the change of the pairing of l bases is $E(l) \sim l^\theta$, or more precisely, that the disorder-averaged probability distribution of energies obeys a scaling law $P[E(l)] = \frac{1}{l^\theta} f\left[\frac{E(l)}{l^\theta}\right]$. Under the assumption that $f(0)$ is finite and $\theta < 1$, one expects the average fraction of bases involved in an excitation to scale as

$$\overline{1 - q(\mathcal{S}_\epsilon, \mathcal{S}_0)} \sim \int_0^{\epsilon/N^\theta} f(E) dE, \quad (4)$$

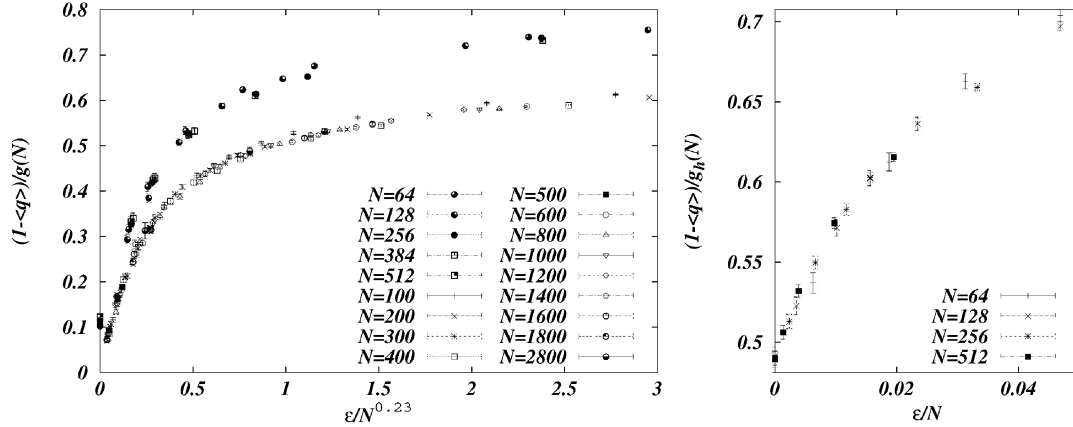


Fig. 1 – Left: scaling plot for ϵ -coupling at $T = 0$ and $T = 0.05$ (shifted vertically by 0.3) with $\theta = 0.23$, giving the distance between the coupled secondary structures *vs.* the strength of the repulsion in reduced units. Right: scaling plot at $T = 0.25$ with $\theta = 1$.

since large-scale excitations of the order of the system size N dominate the disorder average (indicated by the overbar). Note that $\theta < 1$ implies that, for fixed l , excitations composed of several independent “elementary” excitations are usually higher in energy so that the contribution of “elementary” excitations dominates. As we shall see, the data fits well to the more general dependence

$$\overline{1 - q(\mathcal{S}_\epsilon, \mathcal{S}_0)} = g(N) \Phi \left(\frac{\epsilon}{N^\theta} \right), \quad (5)$$

where $g(N)$ has been introduced to account for finite-size effects and is subject to two boundary conditions: For $\epsilon \gg N^\theta \gg 1$, \overline{q} vanishes, and thus $g(N \rightarrow \infty) = 1/\Phi(\infty) \equiv 1$. On the other hand, for $\epsilon \ll N^\theta$ and small N one has to recover a behaviour linear in ϵ/N^θ which implies that $g(N \rightarrow 0) \rightarrow \text{const}$ and Φ behaves linearly.

The algorithmic implementation of ϵ -coupling is rather straightforward. The ground state of a particular realization of $e_{i,j}$ can be found recursively in $O(N^3)$ time [1, 11]. The new Hamiltonian (3) is equivalent, up to an irrelevant constant, to a change of the bond energies and the new ground state can be found in the same way as before. We have used 100 to 1000 samples for sizes ranging from 100 to 2800 and with ϵ ranging from 0.2 to 10.0. In fig. 1 we have recast our data into a scaling plot using the trial function $g(N) = 1 + c/(1 + N/N^*)$ for the finite-size effects. We found an optimal value $\theta = 0.23 \pm 0.05$ for the energy exponent, while typical values for the parameters of $g(N)$ are $c \approx 0.6$ and $N^* \approx 300$ –1000. We also tried to collapse the curves with scaling variables $\epsilon/\phi(N)$, where $\phi(N) = \log(N/N^*)$ as suggested in [6], or $\phi(N) = 1 - N^*/N + c(N^*/N)^2$. Both possibilities could not be ruled out completely with the present data; however, the power law leads to better values of χ^2 . When the range of $\overline{1 - q}$ is restricted to small values (< 0.4), the finite-size corrections $g_h(N)$ can be neglected, and the fit yields values of $\theta \approx 0.35$ as in ref. [17].

A better understanding of the finite-size corrections would thus be needed in order to determine the precise value of the θ exponent. At the present stage, taking into account the uncertainty about systematic errors related to the choice of fitting schemes, our data favour a value of θ in the range 0.15–0.40, but we cannot rule out a scenario with $\theta = 0$. For models with different pairing energies we obtained similar results, favouring a power law for the scaling of excitation energies, with exponents in the above-mentioned range of uncertainty.

ϵ -coupling at finite temperature. – Coupling two copies of the system can also be used in its original form at finite temperature [7, 8]. We consider two RNA strands with the same random sequence coupled by the Hamiltonian

$$H_{\text{tot}}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2; \epsilon) = H(\mathcal{S}_1) + H(\mathcal{S}_2) + \epsilon q(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2). \quad (6)$$

The thermal average of the overlap as a function of ϵ is given by

$$\langle q \rangle(\epsilon) = \frac{\sum_{\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2} q(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2) \exp[-\beta H_{\text{tot}}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2; \epsilon)]}{\sum_{\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2} \exp[-\beta H_{\text{tot}}(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2; \epsilon)]} = \frac{\langle q(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2) \exp[-\beta \epsilon q(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2)] \rangle_{1,2}}{\langle \exp[-\beta \epsilon q(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2)] \rangle_{1,2}}. \quad (7)$$

Here, $\langle \rangle$ denotes the average over the Gibbsian ensemble of the coupled-two-replica system while $\langle \rangle_{1,2}$ denotes the average with independent Boltzmann weights for the two replicas. Note that the partition function corresponding to the coupled Hamiltonian (6) is simply related to the Laplace transform of $P(q)$ with respect to $\beta\epsilon$. We can rewrite eq. (7) as

$$\langle q \rangle(\epsilon) = -\frac{1}{\beta} \frac{\partial}{\partial \epsilon} \ln \left\{ \left\langle \sum_{\mathcal{S}_2} \exp[-\beta H(\mathcal{S}_2) - \beta \epsilon q(\mathcal{S}_1, \mathcal{S}_2)] \right\rangle_1 \right\} \equiv -\frac{1}{\beta} \frac{\partial}{\partial \epsilon} \ln [\langle Z_2(\epsilon; \mathcal{S}_1) \rangle_1], \quad (8)$$

where the average $\langle \rangle_1$ extends only over the first replica. The averages over the secondary structure of a single RNA strand are calculated by sampling the Gibbs ensemble as in [1]: The partition functions $Z_{i,j}$ corresponding to connected substrands $\{i, j\}$ are calculated recursively and can then be used to generate secondary structures with their corresponding Boltzmann weight. Since the coupling is not expected to alter the single sequence statistics significantly, we approximated the right-hand side of eq. (8) by calculating an average over 20 randomly sampled structures \mathcal{S}_1 for each of which $Z_2(\epsilon; \mathcal{S}_1)$ is calculated exactly. We verified that the results of more extensive samplings lie within the error bars of the disorder average.

In fig. 1 we plot the data obtained for $T = 0.05$ and $T = 0.25$. The data collapse works best with a free-energy exponent $\theta = 0.2-0.3$ at $T = 0.05$ which coincides with the zero-temperature exponent. For $T = 0.25$ we have to choose $\theta = 1$ to superpose all the curves. This is the same exponent that one finds in the case of homogeneous RNA, as is shown in the next section. $\theta = 1$ can no longer be interpreted as a free-energy exponent at high temperatures. It can be understood in terms of a flat free-energy landscape and uncorrelated behaviour of individual bases. A study of the homogeneous case is instructive in this respect.

ϵ -coupling in the homogeneous case. – Let us consider the problem of RNA with homogeneous base pairing energy $e_{i,j} \equiv e$. In this case, it is possible to calculate analytically the asymptotic ($N \rightarrow \infty$) limit of the partition function of two coupled replicas with Hamiltonian (6) in close analogy to [6]: For each configuration of the two replicas we determine the common bonds and the bases which are unpaired in both sequences. The contribution of these common elements is split into a connected part that vanishes for $\epsilon = 0$, and a disconnected part corresponding to uncoupled strands. Thus, the contribution of a configuration with n common elements (bonds or unpaired bases) is split into a sum of 2^n terms. In each such term we determine the m (connected) common bonds and the f common unpaired bases which are not embraced by a connected common bond. Summing over all possibilities to arrange those $m + f$ connected common elements on the RNA strand we arrive at a recursion relation for the total partition function which reads

$$Z_{\text{tot}}(N) = \sum_{f \geq 0} \sum_{m \geq 0} \sum_{l_1 \dots l_m \geq 2} \binom{m + N - \sum l_i}{m, f} Z_1^2 \left(N - \sum_{i=1}^m l_i - f \right) g_u^f \prod_{i=1}^m [g_d Z_{\text{tot}}(l_i - 2)], \quad (9)$$

where $g_u = e^{-\beta\epsilon/N} - 1$ and $g_d = e^{-2\beta\epsilon}(e^{-2\beta\epsilon/N} - 1)$ are the connected couplings. The interior of each connected common bond of length l_i is treated as a two-replica system with N replaced by $l_i - 2$. Note that here we use $s = 1$ for the smallest permissible loop. $Z_1(N)$ is the partition function of one replica with N bases. The factor $Z_1^2(N - \sum l_i - f)$ arises from all bonds that can be distributed on the remaining free part of the strands outside the m connected common bonds, excluding the f connected unpaired bases. The combinatorial factor counts the possibilities to align m connected common bonds, f unpaired common bases and $N - \sum l_i - f$ free bases. Of course, we have to require $\sum l_i + f \leq N$.

Let us fix the values of g_u and g_d for a moment and introduce the generating function of Z_{tot} for which we can derive a recursion relation using (9),

$$\Xi(\zeta) = \sum_{N=0}^{\infty} Z_{\text{tot}}(N)\zeta^N = \frac{1}{1 - g_d\zeta^2\Xi(\zeta) - g_u\zeta}\Xi_2\left(\frac{\zeta}{1 - g_d\zeta^2\Xi(\zeta) - g_u\zeta}\right). \quad (10)$$

Here, $\Xi_2(\zeta) = \sum_{N=0}^{\infty} Z_1^2(N)\zeta^N$ denotes the generating function of $Z_1^2(N)$. $Z_1(N)$ satisfies the recursion relation,

$$Z_1(N) = Z_1(N-1) + \sum_{k=0}^{N-2} g_0 Z_1(k)Z_1(N-k-2), \quad (11)$$

with $g_0 = e^{-\beta\epsilon}$, and the corresponding generating function $\Xi_1(\zeta)$ can be obtained explicitly,

$$\Xi_1(\zeta) = \frac{1 - \zeta - \sqrt{(1 - \zeta)^2 - 4g_0\zeta^2}}{2\zeta^2g_0}. \quad (12)$$

The behaviour of $Z_1(N)$ for large N can be derived from this expression by inverse Laplace transform, see [6, 18, 19]. Asymptotically, one finds $Z_1(N) = c\zeta_1^{-N}/N^{3/2}$, where $\zeta_1 = (1 + 2\sqrt{g_0})^{-1}$ is the smallest singularity of $\Xi_1(\zeta)$. Similarly, the smallest singularity ζ_* of $\Xi(\zeta)$ determines the leading behaviour of Z_{tot} . One can check that, since g_d is negative, ζ_* is always determined by the singularity of Ξ_2 on the RHS of eq. (10), *i.e.*, $\zeta_*/[1 - g_d\zeta_*^2\Xi(\zeta_*) - g_u\zeta_*] = \zeta_1$, or, explicitly,

$$\zeta_* = \zeta_1/[1 + g_d\zeta_1^2\Xi(\zeta_1) + g_u\zeta_1]. \quad (13)$$

Asymptotically, the two-replica partition function behaves as $Z_{\text{tot}}(N) = \tilde{c}\frac{\zeta_*^{-N}}{N^{3/2}}$. We can now calculate $\langle q \rangle(\epsilon)$ by taking the logarithmic derivative of $Z_{\text{tot}}(N)$ recalling the dependence of g_u and g_d on ϵ/N ,

$$\langle q \rangle(\epsilon, N) = -\frac{\partial \ln Z_{\text{tot}}(N)}{\beta \partial \epsilon} \approx \frac{N}{\beta} \frac{\partial \ln \zeta_*}{\partial \epsilon} = \frac{2g_0^2\zeta_1^2\Xi_2(\zeta_1)e^{-2\beta\epsilon/N} + \zeta_1e^{-\beta\epsilon/N}}{1 + g_d\zeta_1^2\Xi_2(\zeta_1) + g_u\zeta_1}. \quad (14)$$

From eq. (14) it is clear that $\langle q \rangle = q(\epsilon/N)$ and thus $\theta = 1$ in the homopolymer. We can understand this scaling behaviour as a lack of long-range correlations in the system. (A simple example of such a behaviour is the case of N uncoupled Ising spins in a random field under ϵ -coupling.) In order to affect the overlap significantly, one has to introduce an extensive perturbation which corresponds to a finite force acting on each base and typically leads to a large number of independent local rearrangements.

Phase transition. – We will now use the scaling exponent θ to define an order parameter for the presumed phase transition in the disordered system. Consider the effect of a small extensive coupling between two replicas, *i.e.*, $\epsilon = \delta N$. In a phase with $\theta < 1$ where typical

excitation energies are subextensive ($o(N)$), the coupling always dominates in the thermodynamic limit. The replicas will have no overlap ($q = 0$) for a repulsive coupling $\delta > 0$, while they are locked together ($q = 1$) when the coupling is attractive ($\delta < 0$). However, if $\theta = 1$ an extensive coupling is a marginal perturbation. In the homogeneous case we can directly check from eq. (14) that small perturbations have a negligible effect, and $\langle q \rangle$ is continuous as $\delta \rightarrow 0\pm$. From the numerical data in fig. 1 we see that the same is true in the high-temperature phase of disordered sequences which leads us to define the order parameter

$$\phi = \lim_{\delta \rightarrow 0} \left\{ \lim_{N \rightarrow \infty} [\bar{q}(\epsilon = -\delta N; N) - \bar{q}(\epsilon = \delta N; N)] \right\}. \quad (15)$$

For a homopolymer $\phi \equiv 0$ at all temperatures. For disordered sequences ϕ jumps discontinuously at the critical temperature from 0 in the high-temperature phase to $q_{\max} - q_{\min} = 1$ in the glassy phase. This provides a precise mathematical definition of the transition temperature.

Conclusion. – We have studied a simple model for the folding of RNA, taking as a probe the susceptibility to the introduction of a repulsion between two identical clones of the system. Our method clearly distinguishes a low-temperature glassy regime, identical to the zero-temperature case, where the excitation energies scale with a power law of the length, with a small scaling exponent. On the contrary, the high-temperature liquid-like phase is found to behave similarly to a homopolymer, both having a relatively flat free-energy landscape and no long-range correlations in the base-pairing pattern. The result for the exponent θ gives way to the definition of an order parameter which jumps discontinuously at the critical temperature.

* * *

It is a pleasure to thank R. BUNDSCHUH, T. HWA, M. LÄSSIG, E. MARINARI, O. C. MARTIN, G. PARISI, L. PELITI and F. ZULIANI for helpful discussions. FK and MM acknowledge a fellowship from the MRT. The LPTMS is an Unité de Recherche de l'Université Paris XI associée au CNRS.

REFERENCES

- [1] HIGGS P. G., *Phys. Rev. Lett.*, **76** (1996) 704.
- [2] PAGNANI A., PARISI G. and RICCI-TERSENGHI F., *Phys. Rev. Lett.*, **84** (2000) 2026.
- [3] HARTMANN A., *Phys. Rev. Lett.*, **86** (2001) 1382.
- [4] PAGNANI A., PARISI G. and RICCI-TERSENGHI F., *Phys. Rev. Lett.*, **86** (2001) 1383.
- [5] BUNDSCHUH R. and HWA T., cond-mat/0106029 (2001).
- [6] BUNDSCHUH R. and HWA T., cond-mat/0107210 (2001).
- [7] CARACCILO S., PARISI G., PATERNALLO S. and SOURLAS N., *Europhys. Lett.*, **11** (1990) 783.
- [8] M. MÉZARD, *J. Phys. (Paris)*, **51** (1990) 1831.
- [9] PALASSINI M. and YOUNG A. P., *Phys. Rev. Lett.*, **85** (2000) 3017.
- [10] ISAMBERT E. S. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97** (2000) 6515.
- [11] ZUKER M. and SANKOFF D., *Bull. Math. Biol.*, **46** (1984) 591.
- [12] ORLAND H. and ZEE A., cond-mat/0106359 (2001), to be published in *Nucl. Phys. B*.
- [13] MARINARI E. *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **81** (1998) 1698.
- [14] HALPIN-HEALY T. and ZHANG Y.-C., *Phys. Rep.*, **254** (1995) 215.
- [15] HWA T. and M. LÄSSIG, *Phys. Rev. Lett.*, **76** (1996) 2591.
- [16] BARBARA DROSSEL M. M., HEMANT BOKIL and BRAY A., *Eur. Phys. J. B*, **13** (2000) 369.
- [17] MARINARI E., PAGNANI A. and RICCI-TERSENGHI F., cond-mat/0111172 (2001).
- [18] DE GENNES P.-G., *Biopolymers*, **6** (1968) 715.
- [19] WATERMAN M., *Adv. Math. Suppl. Studies*, **1** (1978) 167.

Statistical physics of RNA folding

M. Müller

Phys. Rev. E **67** : 021914, 2003

Statistical physics of RNA folding

M. Müller

Laboratoire de Physique Théorique et Modèles Statistiques, Université Paris–Sud, Bâtiment 100, F-91405 Orsay, France

(Received 14 June 2002; revised manuscript received 12 December 2002; published 27 February 2003)

We discuss the physics of RNA as described by its secondary structure. We examine the static properties of a homogeneous RNA model that includes pairing and base stacking energies as well as entropic costs for internal loops. For large enough loop costs the model exhibits a thermal denaturation transition which we analyze in terms of the radius of gyration. We point out an inconsistency in the standard approach to RNA secondary structure prediction for large molecules. Under an external force a second-order phase transition between a globular and an extended phase takes place. A Harris-type criterion shows that sequence disorder does not affect the correlation length exponent while the other critical exponents are modified in the glass phase. However, at high temperatures, on a coarse-grained level, disordered RNA is well described by a homogeneous model. The characteristics of force-extension curves are discussed as a function of the energy parameters. We show that the force transition is always second order. A reentrance phenomenon relevant for real disordered RNA is predicted.

DOI: 10.1103/PhysRevE.67.021914

PACS number(s): 87.14.Gg, 87.15.-v, 64.60.-i

I. INTRODUCTION

In this paper we discuss the equilibrium statistical mechanics of RNA or single-stranded DNA as described by their secondary structure (base pairing pattern). We mainly concentrate on homogeneous polymers with uniform interactions between monomers which will be shown to capture well the physics of random disordered sequences at sufficiently high temperatures on a coarse-grained level.

We generalize the results of de Gennes' pioneering paper [1] on (homogeneous) periodic dAT polymers (sequences ATAT . . .) by including entropic penalties for internal loops in order to account, to some extent, for self-avoidance effects. In the case where the latter are large, we predict a thermal denaturation transition that manifests itself in the scaling behavior of the radius of gyration. The scaling found in the low-temperature phase is smaller than $N^{1/3}$, where N is the number of monomers of the polymer. This signals an inconsistency for large N , since the monomer density in three-dimensional space becomes increasingly large with N . Excluded volume effects can, therefore, not be neglected in the secondary structure prediction of large molecules.

Recently diverse micromanipulation techniques have been developed that allow to monitor the response of single biomolecules, RNA or ssDNA, in particular [2–4], to an external force. These experiments have raised considerable interest in the theoretical study of force-extension characteristics of biomolecules. Within our model, force-extension curves can easily be obtained upon coupling an external force to the extremities of the polymer. The molecule undergoes a thermodynamic phase transition of second order that separates the globular collapsed state from an extensive phase containing a large number of small globules [5]. We characterize the associated critical behavior and study in how far it is modified by the introduction of sequence randomness. Using a Harris-type criterion we argue that the correlation length remains unaffected by the disorder irrespective of temperature while other critical exponents maybe modified. Numerical results indicate that at higher temperatures disordered models belong to the same universality class as the homogeneous

model, while at low temperatures the collapsed phase becomes glassy and the critical behavior changes.

In a recent article [6] the authors claim that the introduction of base stacking energies instead of base pairing energies may change the order of the force-induced phase transition. However, they were misled by the appearance of a sharp first-order-like crossover that occurs at a higher force than the continuous phase transition described above. While the latter is almost entirely of entropic nature, reflecting the large space of energetically equivalent secondary structures, the crossover is governed by the competition between the pairing energy and the energy gained from opening and stretching it. The sharpness of the crossover results from the cooperativity due to the base stacking energy that favors long helices of stacked pairs.

The secondary structure of RNA

RNA is a linear polymer made up of four types of nucleotides, A, C, G and U. In single-stranded DNA, U is replaced by T. In solution with a sufficiently high ionic concentration to screen the charge of the phosphate backbone, the single RNA strand has a tendency to fold back onto itself to form local double helices of Watson-Crick base pairs (A-U and G-C) between complementary substrands of the base sequence. The entropy loss due to a bound helix is compensated for by the pairing energy due to the 2 (in A-U) or 3 (in C-G) hydrogen bonds of the base pairs and, more importantly, the stacking energy which is gained by the expulsion of water molecules between the hydrophobic parts of neighboring stacked base pairs.

The set of all base pairings in the RNA molecule determines its secondary structure. The typical scale of pairing and stacking energies is considerably larger than the energy scale associated with the tertiary structure, i.e., the spatial arrangement of the RNA molecule (see Ref. [7], and references therein). This separation of energy scales is at the basis of the usual paradigm to split the RNA-folding problem into the analysis of the base pairing pattern and a subsequent determination of the tertiary structure. The set of all pairing

patterns considered as secondary structures is further restricted by discarding all pairings between different loops, so-called pseudoknots. Such structures lead to knotted configurations if the helices between the loops are sufficiently long to intertwine. While knots are prevented in nature by the linear transcription process from DNA to RNA, short helices between loops can occur, in principle, but they are found to constitute only a minor fraction of all base pairings. They are thus considered as elements of the tertiary interactions that can be neglected when determining the secondary structure. If we number the bases in the sequence as $i = 1, \dots, N$ according to their position in the strand, the above constraint can be formalized by forbidding the coexistence of two (ordered) base pairs (i_1, j_1) , (i_2, j_2) in the secondary structure with either $i_1 < i_2 < j_1 < j_2$ or $i_2 < i_1 < j_2 < j_1$.

As we mentioned above, the separation of energy scales breaks down for large molecules, and the folding problem is complicated by the highly nonlocal condition that the secondary structure must have a realization in 3D. However, for intermediate degrees of polymerization N the classical approach is expected to work well as is witnessed by the success of secondary structure prediction tools [8,9] that are based on the above assumptions.

In the following we will start from the usual paradigm and concentrate on the secondary structures excluding pseudoknots and other tertiary interactions. In Sec. II we discuss the statistical properties of homogeneous RNA working directly in the abstract phase space of secondary structures. This allows us to take into account systematically some excluded volume effects that reduce significantly the available configuration space of interior loops, and to gain some insight into the thermal denaturation of RNA. The second part of the paper is devoted to the response of RNA to an external force. In Sec. III the critical behavior at the force-induced opening transition is characterized and the effect of sequence disorder on the phase transition is discussed. Section IV deals with force-extension curves in the thermodynamic limit and its properties as a function of the energy parameters and temperature. We show that the phase transition is always of second order, but can be masked by a subsequent first-order-like crossover when the cooperativity of the pairing behavior due to the stacking energy is high.

II. FOLDING OF HOMOGENEOUS RNA

In this section we neglect all effects due to sequence specificity. Instead we consider an RNA model where any two bases can form a bond, their pairing affinity being independent of the bases. This exactly solvable model describes the physics of “homogeneous” RNA/ssDNA strands GCGCGC... or ATATAT... [1], renormalized on the level of dimers. We will provide some evidence that random base sequences are also well described by a homogeneous model, at least at sufficiently high temperatures, if one switches to a more coarse-grained description where the monomers of the model correspond to short subunits of the single strands rather than to real bases.

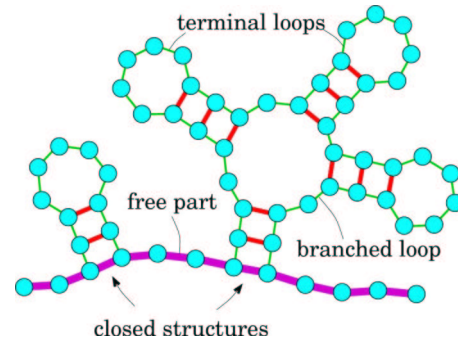


FIG. 1. Elements of the secondary structure. The unpaired bases between the two closed structures constitute the free part (thick line) of the chain. The structure on the right contains a branched loop with $l=3$ unpaired bases and $m'=m+1=4$ outgoing stems. The contour length L of the loop is taken to be the number of backbone elements in the loop, i.e., $L=l+m'$. Complementary substrands that directly fold back onto themselves form hairpins which end in terminal loops containing at least t bases.

A. The model

Following the empiric rules established by Tinoco's group [10,11] we consider three different terms in the free energy of a given secondary structure (cf. Fig. 1 for illustration of the notions): Each base pair contributes the pairing free energy f_{pair} that we normalize with respect to the completely denatured chain where all bases are unpaired. This takes into account the mean pairing free energy (bond enthalpy and entropy cost for localization) as well as the stacking energy with the neighboring pair. In this way we count an excess stacking energy at one end of the helices which we have to compensate for by a free energy cost $-f_{\text{stack}}$.

In the following these free energies will appear in the form of the temperature dependent parameters

$$\eta = \exp(\beta f_{\text{stack}}) \quad (1)$$

and

$$s = \exp(-\beta f_{\text{pair}}), \quad (2)$$

where β is the inverse of the temperature T . Under biological conditions (ionic strength and pH as in a living cell) $\eta \ll 1$, reflecting the importance of the stacking energy as compared to the binding energy of the hydrogen bonds. As we will see later, this is responsible for the high degree of cooperativity in the denaturation transition.

The last contribution is an entropic cost for each closed internal loop which accounts for the reduced phase space available to the loop with respect to an unconstrained string containing the same number of bases. We assume this part of the cost function to depend only on the length L of the loop and the number m' of stems connected to it. The reduction of phase space gives rise to a free energy contribution of the form $\beta^{-1} \ln[\phi(L; m')]$. Specific expressions for ϕ will be discussed later.

When describing homogeneous RNA, we should add two further constraints on the secondary structures to be considered: First, terminal loops (the loops at the end of a hairpin)

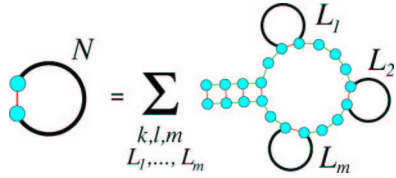


FIG. 2. Schematic representation of the recursion relation for the partition function Z_N^c of closed structures used to obtain Eq. (3). The sum on the rhs is over the length k of the terminal helix, the number of unpaired bases l in the first loop and the number m and sizes L_i ($i = 1, \dots, m$) of closed structures attached to the loop. The shown configuration corresponds to $k=4$, $l=7$, $m=3$. The loop contributes an entropic cost $\phi(L; m')$, where $m' = m + 1$ is the number of outgoing stems and L is the contour length of the loop, $L = l + m'$.

have to contain a minimal number t of unpaired bases ($t = 3$ from experiments), since the bending rigidity of single-stranded RNA is finite and the typical distance of a hydrogen bond l_b is about 3–4 times larger than the base distance l in the backbone. Secondly, stacks of less than three base pairs are unstable, and we thus require a helix to have a minimal length of $n = 3$ bases.

These two conditions do not make sense for the description of real disordered base sequences on a coarse-grained level. The natural values to be taken in this case are $t = 0$ and $n = 1$.

B. The partition function

We denote by Z_N^c the partition function of a *closed* RNA molecule with N bases whose ends are required to form a helix. We can easily obtain a recursion relation for Z_N^c (cf. Fig. 2): The closed secondary structure terminates in a helix containing $k \geq n$ base pairs. It is followed by a first loop which contains $l \geq 0$ unpaired bases and $m \geq 0$ closed substructures, containing $L_i \geq 2n + t$ bases, respectively. The arrangement of the free bases and substructures within the loop underlies no constraints and gives rise to a combinatoric factor. The loop contributes an entropic cost $\phi(L; m' = m + 1)$, where we take the length L to be given by the number of backbone elements it contains, i.e., $L = l + m + 1$. Finally, the sum over all configurations can be decomposed as

$$Z_N^c = \eta \sum_{k \geq n} s^k \sum_{\{l, m\}} \sum_{L_1 \geq 2n+t} \cdots \sum_{L_m \geq 2n+t} \times \delta \left(2k + l + \sum_{i=1}^m L_i - N \right) \times \binom{m+l}{m} \frac{1}{\phi(l+m+1; m+1)} \prod_{i=1}^m Z_{L_i}^c. \quad (3)$$

In the sum over l (number of unpaired bases) and m (number of outgoing stems) the following pairs have to be excluded: ($m=0, l < t$) to prevent terminal loops smaller than t , and ($m=1, l=0$) to avoid double counting of structures.

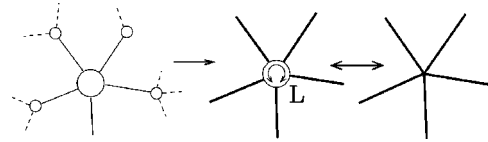


FIG. 3. The effective entropy cost for internal loops of length L can be obtained by idealizing the environment of the loop as m outgoing rods (here $m=5$) and comparing the scaling expression for its configurational entropy with that of a starlike polymer with m rays.

The structure of Eq. (3) suggests to study the generating function $\Xi_c(\zeta) \equiv \sum_{N=2n+t}^{\infty} Z_N^c \zeta^N$ of the partition function. Taking the discrete Laplace transform we obtain

$$\Xi_c(\zeta) = \eta \frac{(s\zeta^2)^n}{1-s\zeta^2} \sum_{\{m, l\}} \frac{\Xi_c(\zeta)^m \zeta^l}{\phi(l+m+1; m+1)} \binom{m+l}{m}. \quad (4)$$

To proceed we have to make an assumption about the loop cost function $\phi(L; m)$. Neglecting loop costs altogether corresponds to putting $\phi(L; m) = 1$, which yields

$$\Xi_c(\zeta) = \eta \frac{(s\zeta^2)^n}{1-s\zeta^2} \left(\frac{1}{1-\Xi_c(\zeta)-\zeta} - \Xi_c(\zeta) - \frac{1-\zeta^t}{1-\zeta} \right). \quad (5)$$

We will use this simple model in Sec. IV to discuss the general shape of the force-extension characteristics. We expect it to describe well the low-temperature regime where large internal loops are negligible. In order to describe denaturation we should, however, use a more realistic loop cost function.

C. Denaturation

If RNA were an ideal chain without self-interaction, the entropic cost of a closed loop would just derive from the probability of a three-dimensional random walk to return to the origin, and thus $\phi(L; m) \propto L^{3/2}$ for large values of L . This corresponds to the case discussed in Refs. [1,5] where the authors start from real space recursion relations treating the single strands as ideal chains. If one considers the loops as self-avoiding walks, forgetting about the stems that are connected to them, one is lead to use $\phi(L; m) \propto L^{3\nu_{\text{SAW}}}$, with the wandering exponent $\nu_{\text{SAW}} = 0.588$ (in 3D) characteristic of a self-avoiding walk. (This is the form used for large interior loops in the Zuker algorithm [12].) Clearly, this is too simple since the branches attached to the loop have a non-negligible effect on the conformational degrees of freedom of the loop and one should consider a more sophisticated form of the loop cost.

A generalization of these entropy cost functions can be obtained from the results of Duplantier and co-workers [13,14] for the configurational entropy of a network with given topology. In order to find the scaling of the effective entropy cost of an internal loop as a function of its size we consider the secondary structure as a treelike network of helices, linked by internal loops. Let us single out one internal loop with m branches that we idealize as outgoing rods (see

Fig. 3). In the limit of loop sizes much smaller than the extension of the rods the scaling of the entropy cost for the internal loop follows from comparison of the expressions for the configurational entropy of a starlike network with m rays $\Gamma_{\text{star}}(m)$ with that of a small loop with m attached branches $\Gamma_{\text{loop}}(L;m)$. The latter scale as $\Gamma_{\text{star}}(m) \sim N^{\gamma_{\text{star}}(m)-1}$ and $\Gamma_{\text{loop}}(L;m) \sim N^{\gamma_{\text{loop}}(m)-1} g(L/N)$, where N is the typical length scale of the attached rods (the remainder of the network), L is the length of the loop, and $g(x)$ is a scaling function. In the limit $L/N \rightarrow 0$ the scaling of two expressions should coincide which requires $g(x) \sim x^{\gamma_{\text{loop}}(m) - \gamma_{\text{star}}(m)}$. The effective loop cost function then follows as $\phi(L;m) \sim \Gamma_{\text{loop}}(L;m)/\Gamma_{\text{star}}(m) \sim a(m)(L)^{\nu(m)}$, where $\nu(m) = \gamma_{\text{star}}(m) - \gamma_{\text{loop}}(m)$. The renormalization group results from Refs. [13,14] yield $\nu(m) = 3\nu_{\text{SAW}} - m\sigma_3 + \sigma_m$, where σ_k is the exponent related to the renormalization of a vertex with k legs. (See also Refs. [15–17] for a completely analogous reasoning in the closely related problems of DNA denaturation and studies of “slip-linked” polymers.) While good estimates are available via ϵ expansion for small values of m [13,14] the thermodynamics of denaturation is essentially determined by the behavior of the cost for loops with many attached stems, i.e., by $\nu(m)$ for large m , about which very little is known. We can proceed, however, without knowing an exact expression for $\nu(m)$. Instead we will illustrate the general condition (8) below with a discussion of the *ad hoc* forms $\phi(L;m) = a(m)(L)^{\nu(m)}$ with $\nu(m) = \nu^* = \text{const}$, and $\nu(m) = \nu_0 + m\nu_1$, the first one being a reasonable approximation for the case that $\nu(m)$ saturates at ν^* for large values of ν , the second one assuming that each branch contributes a further entropic constraint on the loop conformations, as suggested by the term $m\sigma_3$ above. The prefactor $a(m)$ is assumed to be a moderate function of m that does not grow exponentially.

The asymptotic behavior of the partition function Z_N^c can be derived from the generating function $\Xi_c(\zeta)$ without performing the full inverse Laplace transform. It is given by $Z_N^c \sim \zeta_*^{-N}/N^\alpha$, where ζ_* is the smallest value of ζ at which $\Xi_c(\zeta)$ becomes nonanalytic. The leading finite size corrections in the form of the preexponential factor $1/N^\alpha$ are determined by the nature of that nonanalyticity.

There are only two possible singularities for $\Xi_c(\zeta)$: Taking successive derivatives of Eq. (4) one can check that all derivatives $d^k \Xi_c(\zeta)/d\zeta^k$ exist, unless the partial derivatives of both sides of Eq. (4) with respect to Ξ_c are equal, i.e.,

$$1 = \eta \frac{(s\zeta_*^2)^n}{1 - s\zeta_*^2} \sum_{m,l} \frac{m \Xi_c(\zeta_*)^{(m-1)} \zeta_*^l}{\phi(l+m+1; m+1)} \binom{m+l}{m}. \quad (6)$$

In turn this condition is sufficient to ensure a nonanalyticity of $\Xi_c(\zeta)$. Writing $\Xi_c(\zeta) = \Xi_c(\zeta_*) - \delta$ and expanding Eq. (4) for small $(\zeta_* - \zeta)$ one finds $\delta^2 \sim (\zeta_* - \zeta)$. Hence the singularity of $\Xi_c(\zeta)$ is approached as

$$\Xi_c(\zeta) = \Xi_c(\zeta_*) - \text{const}(\zeta_* - \zeta)^{1/2} + O(\zeta_* - \zeta), \quad (7)$$

which leads to finite size corrections of the form $Z_N^c \sim \zeta_*^{-N}/N^{3/2}$. This result is central to the discussion of the

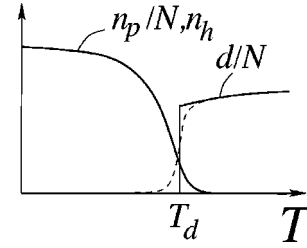


FIG. 4. The denaturation transition is best described by the typical distance d between bases within the secondary structure whose scaling changes from $N^{1/2}$ in the globular state at low temperatures to N in the necklacelike state above T_d . (The dashed curve indicates d/N for a molecule with finite N . The transition becomes sharp only in the thermodynamic limit.) In contrast, the fraction of paired bases n_p or the relative number of helices n_h/N only exhibit a crossover at the denaturation temperature, but never drop to zero.

critical behavior at the force-induced denaturation transition. Note that the preexponential factor is essentially independent of the specific choice of the model, in particular, it does not depend on the shape of the loop cost function ϕ .

The second possible singularity corresponds to the double sum on the right-hand side of Eq. (4) being evaluated at its radius of convergence. To analyze this situation in more detail we suppose that the loop penalty assumes the form $\phi(L;m) = a(m)L^{\nu(m)}$. According to Hadamard’s formula, the radius of convergence is determined by

$$\overline{\lim}_{L \rightarrow \infty} \left[\zeta_*^L \sum_{m=0}^L \frac{(\Xi_c(\zeta_*)/\zeta_*)^m}{a(m+1)(L+1)^{\nu(m+1)}} \binom{L}{m} \right]^{1/L} = 1. \quad (8)$$

In the case where $\nu(m)$ grows at most sublinearly in m , i.e., $\nu(m)/m \rightarrow 0$, as $m \rightarrow 0$, the sum can be estimated by its saddle point, and one finds the condition $\Xi_c(\zeta_*) + \zeta_* = 1$. In the same way, $\nu(m) = \nu_0 + \nu_1 m$ (with $\nu_1 \leq 1$) leads to the condition $\zeta_* = 1$, but, since the sum diverges when $\zeta_* \rightarrow 1$, the singularity is ruled out in this case.

The singularity given by Eq. (6) is always the smallest one at low temperatures. The system undergoes a thermodynamic phase transition when the singularity determined by Eq. (8) crosses the first one as a function of temperature. This can only occur if the first derivative with respect to Ξ_c of the double sum in Eq. (4) stays finite on approaching the radius of convergence from below, that is, for $\Xi_c(\zeta_*) + \zeta_* \rightarrow 1$. This requires $\lim_{m \rightarrow \infty} \nu(m) \geq 2$. As we will show below the corresponding phase transition is associated to thermal denaturation. In all other cases our model does not exhibit a phase transition but only a crossover whose sharpness depends both on the loop cost function and the stacking as described by the parameter η .

D. Radius of gyration

Let us now characterize the thermodynamic properties of RNA. Most observables can be obtained as appropriate derivatives of the free energy per base which is simply related to ζ_* via $f = \beta^{-1} \ln(\zeta_*)$. For example, the fraction of paired bases is given by $n_p = \partial \ln(\zeta_*)/\partial \ln(s)$ and the average num-

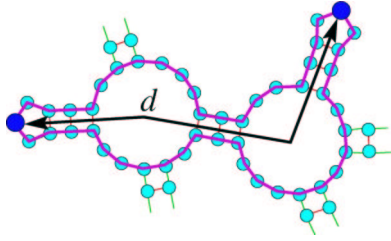


FIG. 5. Definition of the distance d between bases in terminal loops: The unique shortest path through helices and loops from one terminal loop to another allows us to define d as the sum of the lengths of the helices and half of the contour lengths of the encountered loops, including the two terminal loops. For the bases in the figure one has $d=3/2+3+15/2+3+15/2+3+3/2$.

ber of helices is $n_h = N \partial \ln(\zeta_*) / \partial \ln(\eta)$. Evaluating these derivatives in the two possible phases one finds that n_p and n_h/N are both finite at all temperatures and thus do not provide a good order parameter for the phase transition (see Fig. 4). The (small) extensive number of pairings even in the high-temperature phase is due to accidental pairings of bases that are close to each other within the linear RNA strand. This result is independent of the details of the model such as the minimal number of bases in a hairpin loop, entropy costs, and energy parameters.

A better choice of observable is the average distance between two bases that belong to two different terminal loops of the secondary structure. This quantity is a measure for the diameter of the molecule and distinguishes the compact globular phase from the denatured loose phase. We define the distance between two bases as the length of the shortest path linking them through the secondary structure, see Fig. 5. This path is a succession of loops and helices, its length being given as the sum of the lengths of the helices and half the contour lengths of the loops.

Alternatively, we can consider again closed secondary structures constrained to terminate in a helix. It is easy to see that the same structural information as encoded by the distance between terminal bases is captured by the average distance of terminal bases from the closing base pair $(1, N)$. The latter quantity is more convenient to compute, however.

Let us denote by $n(d; \mathcal{S})$ the number of bases in terminal loops at distance d from the pair $(1, N)$. We define the Boltzmann weighted sum over secondary structures on a closed strand with N bases

$$C_N(d) = \sum_{\mathcal{S}} Z_N^c(\mathcal{S}) n(d; \mathcal{S}), \quad (9)$$

for which we can write down a recursion relation in the same spirit as in Eq. (3): The sum over all secondary structures can be decomposed into a sum over the length $k \geq n$ of the terminal helix starting at $(1, N)$, and the first loop. The latter can either be a terminal loop containing $N-2k$ unpaired bases, or there can be further closed structures connected to it. In the second case, we single out the closed structure X whose terminal loops we want to consider, and denote by m_1, l_1 and m_2, l_2 the number of closed structures and un-

paired bases to either side of X in the loop. The $m_1 + m_2$ closed structures just contribute the product of their partition functions, together with appropriate combinatorial factors for their arrangement within the loop, whereas the structure X contributes the Boltzmann sum $C_{L_X}(d')$ for a distance d' that is reduced with respect to d by the length k of the terminal helix and half of the loop contour $m_1 + l_1 + m_2 + l_2 + 2$. This results in the recursion

$$C_N(d) = \sum_{k \geq n} \eta s^k \left[\frac{(N-2k) \delta(d-N/2-1/2)}{\phi(N-2k+1)} + \sum_{m_1, l_1 \geq 0} \sum_{m_2, l_2 \geq 0} \sum_{L_X \geq 2n+t} \sum_{\substack{L_i \geq 2n+t; \\ i=1, \dots, m_1+m_2}} \binom{m_1+l_1}{m_1} \times \binom{m_2+l_2}{m_2} \delta\left(2k+l_1+l_2 + \sum_{i=1}^{m_1+m_2} L_i + L_X - N\right) \times \frac{C_{L_X}[d-k-(m_1+l_1+m_2+l_2+2)/2]^{m_1+m_2}}{\phi(l_1+m_1+l_2+m_2+2)} \prod_{i=1}^{m_1+m_2} Z_{L_i}^c \right]. \quad (10)$$

Here we used the form $\phi(L; m) \equiv \phi(L)$ for simplicity. Passing to the Laplace transform with respect to both variables N and d ,

$$C(\zeta, p) = \sum_{N \geq 2n+t} \sum_{d \geq n+t/2} C_N(d) \zeta^N e^{-pd}, \quad (11)$$

the equation is easily solved,

$$C(\zeta, p) = \frac{\eta (s \zeta^2 e^{-p})^n e^{-p/2} g_\phi^{(t)}(\zeta e^{-p/2})}{1 - s \zeta^2 e^{-p} - \eta (s \zeta^2 e^{-p})^n g'_\phi([\zeta + \Xi_c(\zeta)] e^{-p/2})}. \quad (12)$$

We have introduced the functions $g_\phi^{(j)}(x) = \sum_{N \geq j} N x^N / \phi(N+1)$ and $g_\phi(x) = \sum_{N \geq 1} x^N / \phi(N+1)$.

Note that $C(\zeta, p=0)$ has two possible singularities, the vanishing of the denominator and the singularity in g'_ϕ that occurs when $\zeta + \Xi_c(\zeta) = 1$. The first singularity is associated with the globular phase, the vanishing of the denominator being equivalent to condition (6) in the case $\phi(L; m) = \phi(L)$. The singularity related to $g'_\phi(x \rightarrow 1)$ governs the denatured phase. The denaturation transition occurs when the two singularities cross which can only happen if $g'_\phi(1)$ is finite.

Let us now calculate the mean distance from bases in terminal loops to the free part. This is given by the logarithmic derivative of $C_N(p)$ with respect to p ,

$$\langle d \rangle = \partial_p C_N(p) \big|_{p=0} / C_N(p=0), \quad (13)$$

which can be evaluated by inverse Laplace transform of $\partial_p C(\zeta, p) \big|_{p=0}$ and $C(\zeta, p=0)$ with respect to ζ . Note that $\partial_p C_N(p) \big|_{p=0}$ and $C_N(p=0)$ have the same leading expo-

nential asymptotics since their smallest singularities are the same, but their finite size corrections ζ_*^{-N}/N^α differ and will determine the scaling of $\langle d \rangle$ as a function of N .

Let us now analyze the case of a loop cost function with asymptotics $\phi(L) \propto L^\nu$ and $\nu > 2$ which implies a phase transition. In the low-temperature phase, the denominator in Eq. (12) vanishes like $(\zeta_* - \zeta)^{1/2}$ as ζ approaches ζ_* from below [cf. Eq. (7)] which gives rise to $\alpha = 1/2$ for the back transform of $C(\zeta, p=0)$. On the other hand, the derivative $\partial C(\zeta, p)/\partial p|_{p=0}$ diverges like $(\zeta_* - \zeta)^{-1}$ which yields $\alpha = 0$, whence $\langle d \rangle \sim N^{1/2}$.

The situation changes in the high-temperature phase where the denominator remains finite, but the generating function develops a (leading) singular part $C_{\text{sing}}(\zeta, p=0) \sim (\zeta_* - \zeta)^{\nu-2}$ giving rise to $\alpha = \nu - 1$. Correspondingly, the singular part of the derivative behaves as $(\zeta_* - \zeta)^{\nu-3}$, which implies $\alpha = \nu - 2$, and therefore $\langle d \rangle \sim N$. The high-temperature phase is characterized by typical distances of order N from terminal bases down to the free part. This is what one expects for an essentially free, noncollapsed chain [but constrained to be paired at the ends (1, N)]. The secondary structure is rather trivial in this case, consisting essentially of one big loop with small structures attached to it. The low-temperature scaling $\langle d \rangle \sim N^{1/2}$, however, indicates the collapse to a globular state with a rich branched secondary structure.

We mention that the latter scaling can easily be derived in the absence of loop costs from the “mountain height” representation of secondary structures [18] where the distance of terminal bases to the free part scales like the height of the mountain representation. This in turn is the typical excursion of a random walk of N steps in one dimension h , constrained by $h > 0$ and $h(1) = h(N) = 0$ which is known to scale as $N^{1/2}$. There is, however, no simple equivalent of the above phase transition in the mountain height or random walk picture, since the loop cost translates into an awkward nonlocal energy term.

The distance d is a structural property of the treelike skeleton of the secondary structure. In order to relate it to the real diameter of the molecule we assume that the helices and parts of internal loops connecting a terminal loop to the free part essentially realize a (constrained) random walk in space. If we assumed the random walk to be ideal, the radius of gyration of RNA molecules would follow from the above findings as $R_g \sim d^{\nu_{\text{RW}}} \sim N^{1/4}$ with the wandering exponent for ideal random walks $\nu_{\text{RW}} = 1/2$. This has already been obtained in Ref. [1]. However, the random walks should at least be considered as self-avoiding, having a larger wandering exponent ν_{SAW} , and correspondingly $R_g \sim N^{\nu_{\text{SAW}}/2}$. In addition, there are also constraints from the presence of the remainder of the molecule which have the tendency to increase the value of the wandering exponent. This effect is difficult to estimate, but we may obtain some idea about its importance by considering the two-dimensional case: The wandering exponent for self-avoiding walks is known exactly as $\nu_{\text{SAW}} = 3/4$ [19]. On the other hand, we need to know how the Euclidean distance d_{eu} between two points on a branched polymer (a coarse grained version of the secondary structure) scales with the length of the shortest path between

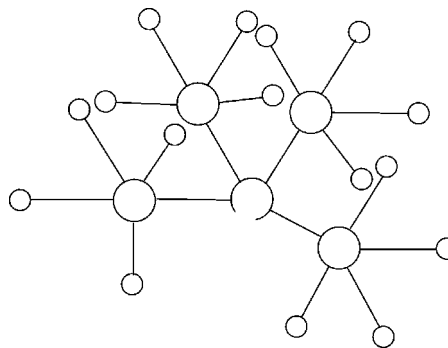


FIG. 6. Schematic “fractal” secondary structure. The large circles represent internal loops, the rods symbolize helices and the small circles hairpin loops. By choosing various complementary G-C sequences on the helices and A’s in the terminal loops, e.g., it is easy to design sequences that the structure prediction algorithms predict to fold as depicted. The resulting structure is extremely dense in real space and must be discarded as an admissible folding.

them, the so-called chemical distance d_{ch} . The exponent ν_{ch} defined by $d_{\text{eu}} \sim d_{\text{ch}}^{\nu_{\text{ch}}}$ is exactly known for the special case of a space-filling branched polymer, where it takes the value $\nu_{\text{ch}} = 4/5$ [20]. It is to be expected that the exponent is slightly smaller in the case of a branched polymer of arbitrary density and thus almost equals ν_{SAW} . This suggests that the wandering behavior is only weakly affected by the presence of branches connected to a self-avoiding walk, and the approximation of ν_{ch} by ν_{SAW} is quite good.

E. Discussion

If we assume that also in the three-dimensional case the presence of side branches does not increase substantially the wandering exponent from its value for the self-avoiding walk and suppose $R_g \sim N^{\nu_{\text{SAW}}/2}$ we encounter a consistency problem in the thermodynamic limit: the monomer density in space diverges as $N/R_g^3 \sim N^{1-3\nu_{\text{SAW}}/2}$ in the collapsed phase. This problem is common to all models considered above, irrespective of the existence of a denaturation transition. (It does not occur if the side branches have a much stronger effect than in two dimensions and increase the wandering exponent beyond 2/3.) It reflects the fact that (local) entropy cost functions for interior loops are not sufficient to take into account global spatial constraints. The model customarily used in RNA prediction will thus be inconsistent for sufficiently large molecules in that it neglects excluded volume effects, deferring them to the subsequent analysis of the tertiary structure. This separation is, however, only justified as long as typically obtained secondary structures can easily be accommodated in space.

In order to demonstrate that the standard RNA structure predicting programs (Zuker’s mfold [12], Vienna package [9]) are indeed limited by their neglect of excluded volume effects, we have used them to determine the folding of RNA sequences that were deliberately designed to form fractal secondary structures (see Fig. 6). These were constructed starting from a short terminal helix that ends in a loop with two closed structures attached to it. Each of them again starts

with a short helix that ends in a branched loop with two outgoing stems, and so fourth in a self-similar way. The density of such treelike or starlike structures grows exponentially with their radius. Even with a modest number of bases, one can design sequences for which the structure prediction indeed yields the desired pairing pattern that can hardly be accommodated in space, and should therefore be ruled out.

While this is not a problem for small RNA molecules such as transfer RNA or ribosomal RNA, the natural sizes of messenger RNA are on the order of several thousand bases which is likely in the regime where excluded volume effects play an important role for the folding, and the usual structure prediction algorithms based solely on the base pairing pattern will likely fail. The inclusion of an effective loop costs to take into account the reduced available phase space might help to take into account those effects to some extent, but as we have seen they fail to cure the problem completely in the low-temperature phase.

At this point, it is worth mentioning that although neither loop costs nor the topological condition on the absence of pseudoknots are able to avoid (too) dense secondary structures, the situation would be much worse if no topological constraints were introduced in the model at all, that is, if all base pairings were allowed, irrespective of the resulting entanglement of the structure. It is rather obvious that a generic base pairing pattern obtained in such a model could not be accommodated in space: Let us consider a base pair and the two strands to which it belongs. If there is no constraint on the pairing behavior of the nearby bases within these strands, they can be paired to completely different parts of the chain which are then all forced into the same spatial region. The topological constraint forbidding pseudoknots weakens this tendency, since the substrand embraced by the given base pair is only allowed to interact with itself, which reduces largely the possibilities of spatial entanglement.

The above observations lead to the conclusion that typical structures for large molecules are determined by a competition between favorable base pairings and the requirement that the resulting secondary structure can be accommodated in space. This will result in rather densely packed and entangled spatial arrangements of RNA that we expect to exhibit very slow dynamics and glassiness due to the inevitable spatial hindrance to pass from one favorable folded state to another. This is indeed observed in folding experiments on large ribozymes, where several misfolded states compete with the correctly folded native state [21,22]. Thirumalai and Woodson [23] propose a “kinetic partitioning mechanism” to describe this type of slow dynamics, according to which a fraction of all molecules fold directly to the ground state, while the remaining molecules remain in metastable misfolded state until they find a pathway via the transition state ensemble to the native state. Glassiness may also arise purely on the level of secondary structure [18,24–29], where topological constraints (in the form of backbone connectivity or constraints on pseudoknots) introduce a weak frustration in the system and establish a multiplicity of metastable valleys in phase space. For small molecules this has been shown to lead to slow dynamics [30]. In large molecules the jamming of the spatial arrangement of energetically favorable second-

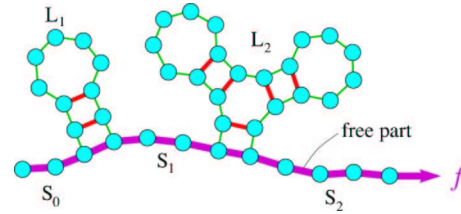


FIG. 7. RNA under an external force. The force pulls on the free part of the chain that can be subdivided into single-stranded portions containing S_i unpaired bases ($i=0, \dots, m$). Those are separated by closed structures, containing L_i bases ($i=1, \dots, m$). The free length derives from the terminating bonds of the closed structures [contributing $\zeta_b^{-1}(f)$ to the partition function] and the backbone elements in the single-stranded parts [contributing $\zeta_{ss}^{-1}(f)$ in the approximation of uncorrelated monomers].

ary structures probably plays an equally important role. It will be a major challenge to understand the interplay of secondary and tertiary structure and its relation with the closely related problem of protein folding.

III. RESPONSE OF RNA TO AN EXTERNAL FORCE

A. The partition function with force

In this section we will extend our formalism to treat problems with an external force. In experiments, the RNA molecule is usually fixed on one end, while the other end is manipulated by optical tweezers, magnetic beads in an inhomogeneous field, or the cantilever of an atomic force microscope. The extension of the molecule is monitored as a function of the applied force, or the position is imposed and the average force needed to maintain the position is measured. Here we will concentrate on the situation where the force is fixed while the extension is subject to thermal fluctuations.

To include the effect of an external force we have to add the term $-\vec{F} \cdot (\vec{r}_N - \vec{r}_1)$ to the energy of the system, where \vec{r}_i denotes the spatial position of the i th base. The force only acts on the free part of the chain, see Fig. 7 and we can rewrite the additional term as

$$-\vec{F} \cdot (\vec{r}_N - \vec{r}_1) = - \sum_{i=1}^{l_b-1} \vec{F} \cdot (\vec{r}_{b(i+1)} - \vec{r}_{b(i)}), \quad (14)$$

where $\{b(i)\}$ is the ordered list of all bases in the free part, and $b(l_b) = N$. There are two types of contributions to the sum: Terms with $b(i+1) = b(i) + 1$ correspond to successive bases in the backbone of the RNA, while terms with $b(i+1) > b(i) + 1$ correspond to the paired bases terminating the closed structure between bases $b(i)$ and $b(i+1)$. For simplicity we consider both the distance l of bases within the backbone and the distance l_b of covalently bonded bases as fixed. We treat the terminating hydrogen bonds of closed structures as free joints that are inserted between single strands of unpaired bases. They contribute a factor of $1/\zeta_b(f) = \sinh(\beta f l_b) / (\beta f l_b)$ to the partition function. For the single strands in between we will restrict ourselves to the simple model of a freely jointed chain. If one wants to fit to experimental data [5], one should, however, consider a more

realistic description involving correlations of the monomers on the scale of the persistence length ($l_p \approx 3l$). At high forces, bond elasticities should also be included. Both modifications can straightforwardly be taken into account in the formalism below.

The partition function $Z_N^f(f)$ including the external force can easily be obtained once the partition function $Z_N^c(f)$ of closed structures is known. We may decompose the sum over all structures into a sum over the number m and sizes L_i ($i = 1, \dots, m$) of closed structures in the free part, and the lengths S_i ($i = 0, \dots, m$) of the single-stranded segments linking them:

$$\begin{aligned} Z_N^f(f) &= \sum_{m \geq 0} \sum_{S_0, \dots, S_m \geq 0} \sum_{L_1, \dots, L_m \geq 0} \\ &\times \delta \left(S_0 + \sum_{i=1}^m (L_i + S_i) - N \right) Z_{S_0}^{\text{ss}} \\ &\times \prod_{i=1}^{m-1} \left[\frac{Z_{L_i}^c Z_{S_{i+1}}^{\text{ss}}(f)}{\zeta_b(f)} \right] \frac{Z_{L_m}^c Z_{S_m}^{\text{ss}}(f)}{\zeta_b(f)}. \end{aligned} \quad (15)$$

Here we have introduced the partition function $Z_N^{\text{ss}}(f)$ of a single-stranded segment with N backbone elements under the force f . The corresponding generating function follows from a discrete Laplace transform as

$$\begin{aligned} \Xi_f(\zeta; f) &\equiv \sum_N Z_N^f(f) \zeta^N \\ &= \frac{\Xi_{\text{ss}}^2(\zeta; f) \zeta}{(\Xi_{\text{ss}}(\zeta; f) - 1) \left(1 - \frac{\Xi_c(\zeta)}{\zeta_b(f)} \frac{\Xi_{\text{ss}}(\zeta; f) - 1}{\zeta} \right)}. \end{aligned}$$

The partition function is again found by inverting the Laplace transform, in particular, the free energy derives from the logarithm of the smallest singularity of $\Xi_f(\zeta; f)$. Apart from the singularities of $\Xi_c(\zeta)$ that we discussed in Sec. II C, Ξ_f also has a pole singularity $\zeta(f)$ when the denominator in Eq. (16) vanishes,

$$1 = \frac{\Xi_c(\zeta(f))}{\zeta_b(f)} \frac{\Xi_{\text{ss}}(\zeta(f); f) - 1}{\zeta(f)}. \quad (16)$$

Let us now fix the temperature. The singularity deriving from Ξ_c then takes the force-independent value $\zeta_* = \zeta_*(T)$. A phase transition occurs at the critical force $f_c(T)$, where $\zeta(f)$ crosses $\zeta_*(T)$. For larger forces, the force-extension characteristics follow from $\langle L(f)/N \rangle = -\beta^{-1} \partial \ln[\zeta(f)] / \partial f$ in the thermodynamic limit. Here, $L(f)$ denotes the projection of the end to end distance of the molecule onto the direction of the force.

In the following we are interested in two aspects of the force-extension curve. First, we will examine in detail the critical behavior around f_c . Later, we address the temperature dependence of $f_c(T)$ and an associated reentrance phenomenon slightly below denaturation. Finally, in Sec. IV we

will discuss in detail the dependence of the force-extension characteristics on the parameters s and η .

B. The critical behavior around f_c

In the following we treat the single-stranded parts as freely jointed chains, whose generating function is given by

$$\Xi_{\text{ss}}(\zeta; f) = 1 / [1 - \zeta / \zeta_{\text{ss}}(f)], \quad (17)$$

where $\zeta_{\text{ss}}(f) = \sinh(\beta fl) / (\beta fl)$. Furthermore, we only consider temperatures below denaturation.

In the vicinity of the (finite) critical force we may restrict ourselves to the relevant singularity structure of $\Xi(\zeta; f)$ and expand the denominator in Eq. (16) to lowest nontrivial order around f_c and ζ_* . Using Eq. (7) we find

$$\Xi_f(\zeta; f) \approx \frac{B}{(1 - \zeta / \zeta_*)^{1/2} - A(f - f_c)}, \quad (18)$$

or, on substituting $\zeta \equiv e^{-s}$ and $\zeta_* \equiv e^{-s_*}$,

$$\Xi_f(s; f) \approx \frac{B}{(s - s_*)^{1/2} - A(f - f_c)}. \quad (19)$$

A and B are slowly varying functions of f and ζ that we replace by their values at the critical point, $A \equiv A(f_c, \zeta_*)$ and $B \equiv B(f_c, \zeta_*)$. The (continuous) inverse Laplace transform of Eq. (19) is explicitly known, and we obtain the partition function in the transition region as

$$Z_N^f(f) = \frac{B e^{s_* N}}{\sqrt{\pi N}} \psi(A(f - f_c) N^{1/2}), \quad (20)$$

where $\psi(x) = 1 + \sqrt{\pi} x \exp(x^2) \text{erfc}(-x)$. The force-extension characteristics follow immediately as $\beta L(f) = AN^{1/2} (\ln \psi)' [A(f - f_c) N^{1/2}]$. In the asymptotic regimes of the scaling variable $x = A(f - f_c) N^{1/2}$ one obtains the expansions

$$\beta L(f) \approx \begin{cases} 2A^2(f - f_c)N \left[1 + \frac{1}{2x^2} + O\left(\frac{e^{-x^2}}{x^3}\right) \right], & x \gg 1 \\ AN^{1/2} \sqrt{\pi} \left[1 + \frac{4 - \pi}{\sqrt{\pi}} x + O(x^2) \right], & |x| \ll 1 \\ \frac{2}{f_c - f} \left[1 - \frac{3}{2x^2} + O\left(\frac{1}{x^4}\right) \right], & x \ll -1. \end{cases} \quad (21)$$

Sufficiently above the critical force ($x \gg 1$), the extension grows linearly with $f - f_c$ and scales as the system size. The chain organizes in the kind of necklace: the number of closed structures in the free chain is proportional to N , their average size being finite. In the low force regime ($x \ll 1$) the chain is collapsed, but its extension diverges as $1/(f_c - f)$ upon approaching the critical point.

There are two critical exponents characterizing this phase transition: At the critical force ($x \ll 1$) the extension obeys a

power law $L \sim N^\delta$ with $\delta = 1/2$. The second exponent is related to the characteristic length scale in the problem, $N_c \propto (f - f_c)^{-\nu}$, where $\nu = 2$, as one can read off from the form of the scaling variable. Below we will see that N_c can be understood as a correlation length.

C. Correlations and length scales at $f \geq f_c$

Slightly above the critical force, the typical number of bases in a closed structure is given by $l_{\text{typ}} = N/n_{\text{cs}}(f)$, where $n_{\text{cs}}(f)$ is the number of closed structures in the free part. It has the same critical behavior as the extension, i.e., $n_{\text{cs}}(f \geq f_c) \propto N(f - f_c)$, and thus, $l_{\text{typ}} \propto 1/(f - f_c)$. This is surprising since the characteristic length scale $N_c \propto (f - f_c)^{-2}$ diverges much faster.

To understand the meaning of N_c let us introduce the indicator function η_i which equals 1 if base i belongs to the free part, and 0 otherwise. The correlation function $\langle \eta_i \eta_j \rangle$ is simply obtained as the ratio between the partition function with bases i and j constrained to be free, and the total partition function,

$$\langle \eta_i \eta_j \rangle = \frac{Z_{i-1}^f Z_{j-1-(i+1)}^f Z_{N-(j+1)}^f}{Z_N^f}. \quad (22)$$

Using Eq. (20) we obtain the connected correlation function as

$$\begin{aligned} \frac{\langle \eta_i \eta_j \rangle - \langle \eta_i \rangle \langle \eta_j \rangle}{\langle \eta_i \rangle \langle \eta_j \rangle} &= \frac{Z_{j-i-2}^f Z_N^f}{Z_{N-(i+1)}^f Z_{j-1}^f} - 1 \\ &\approx \frac{e^{-(j-i-2)[A(f-f_c)]^2}}{4\sqrt{\pi}(j-i-2)^{3/2}[A(f-f_c)]^3}, \end{aligned} \quad (23)$$

where the last approximation is valid in the scaling regime above the critical force for $i, N-j, N \gg (j-i) \gg [A(f-f_c)]^{-2}$. The quantity $N_c = [A(f-f_c)]^{-2}$ clearly appears as the correlation length beyond which the pairing behavior becomes essentially independent. To see why the correlation length is much larger than typical closed structures, let us look at the probability distribution of the sizes of the latter.

Suppose that a closed structure starts at base i . The probability that it is paired to the base $j = i + l + 1$ is given by

$$P(l) = \frac{Z_{i-1}^f Z_l^c Z_{N-(i+l+2)}^f}{\sum_{l' > 0} Z_{i-1}^f Z_{l'}^c Z_{N-(i+l'+2)}^f} \propto \frac{\exp[-lA^2(f-f_c)^2]}{l^{3/2}}, \quad (24)$$

from which we recover the expectation value for the structure size $l_{\text{typ}} = \langle l \rangle = \sum_l l P(l) \propto 1/(f - f_c)$. On the other hand, we can calculate the fraction $\chi(l_*)$ of bases that belong to closed structures of size at least l_* ,

$$\begin{aligned} \frac{\sum_{l=l_*}^{\infty} l P(l)}{\sum_{l=1}^{\infty} l P(l)} &\approx \frac{\int_{l_*[A(f-f_c)]^2}^{\infty} x^{-1/2} \exp(-x) dx}{\int_0^{\infty} x^{-1/2} \exp(-x) dx} \\ &= \text{erfc}[A(f-f_c)l_*^{1/2}]. \end{aligned} \quad (25)$$

A finite fraction of all bases thus belong to structures of size $O((f-f_c)^{-2})$ which sets the scale of the correlation length N_c . The vast majority of closed structures is much smaller, however.

D. The critical behavior with sequence disorder

After having understood the critical behavior in the homogeneous case, it is natural to ask whether disorder in the form of sequence inhomogeneities and varying pairing affinities between the bases is a relevant perturbation for the force-induced phase transition. In Refs. [31,32] the authors studied the force-induced unzipping of DNA and found the presence of disorder to significantly alter the critical behavior with respect to that of a homogeneous double strand. In RNA, the disorder effects are less pronounced, since the two opening transitions are not really of the same nature. In DNA, essentially all base pairs are broken up at the transition and the double strand becomes denatured. The force always acts only on the single base pair closing the yet unzipped double helix. In RNA, however, the transition occurs at a point where the entropy of large secondary structures and the free energy gain from the extension of the chain compete in a quite subtle manner, the base-pairing energies playing a less important role at the critical force. Furthermore, already in the critical region the force acts in parallel on a large number of globular structures aligned along the free part of the chain, which averages out the effect of disorder to some extent [33,34].

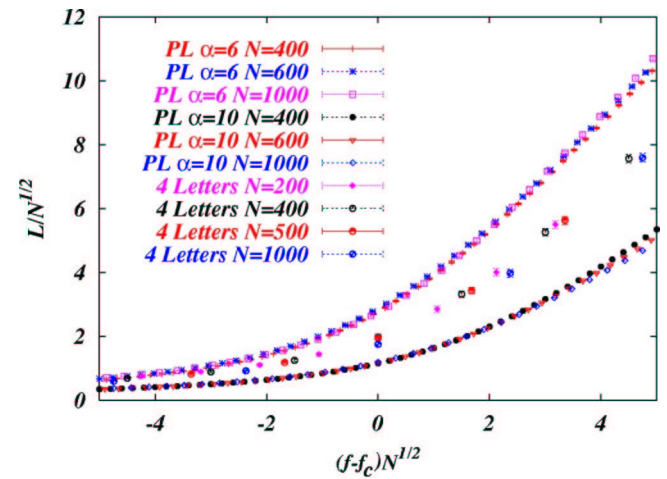


FIG. 8. Scaling plot of force-extension curves for disordered models (power law distributions with $\alpha = 6$ and $\alpha = 10$, and the four letters model) at high temperature ($T = 0.6$). For better visibility, the extension of the four letters model has been multiplied by 1.5.

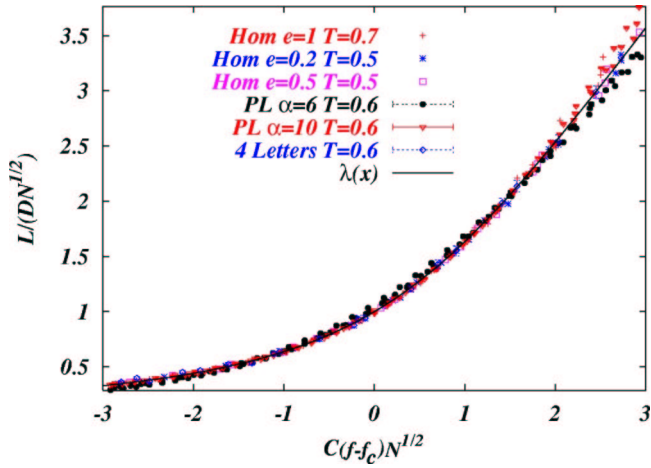


FIG. 9. Force-extension curves from Fig. 8 and for homogeneous models at different temperatures T and pairing energies e . All curves superpose with the analytical prediction (21) $L(f) = DN^{1/2}\lambda[C(f-f_c)N^{1/2}]$ upon rescaling with model-dependent factors C, D . The error bars are smaller than the symbol sizes.

In the case of RNA will be interested in the low-temperature regime where we can simplify the model by neglecting the loop cost function, i.e., putting $\phi \equiv 1$. Furthermore, we replace the pairing and stacking free energies by simple (temperature-independent) pairing energies e_{ij} between the bases i and j . This does not change the critical behavior at the force transition in the homogeneous case ($e_{ij} \equiv e$), and we checked numerically that a disordered model with pure stacking energies leads qualitatively to the same results as the pairing model.

As in earlier work [18,29,35], we consider different types of disordered models. The most natural one starts from RNA made of the four base species $b_i \in \{A, C, G, U\}$. The pairing energies will then depend on the sequence via $e_{ij} = E(b_i, b_j)$, where E is a symmetric 4×4 matrix. We used the simple matrix $E(C, G) = E(G, C) = -3$, $E(A, U) = E(U, A) = -2$ (Watson-Crick pairs) and $E(G, U) = E(U, G) = -1$ (wobble pairs), and $E = +\infty$ for all other pairs. Alternatively we considered more abstract random coupling models, where the e_{ij} are independent variables taken from a distribution $P(e)$. In the following we focus onto the two cases where $P(e)$ is Gaussian or has power law tails decaying like $|e|^{-\alpha}$, respectively, both being centered on a negative value.

The numerical evaluation of force-extension characteristics for these types of models is straightforward using the $O(N^3)$ recursion relation as introduced in Refs. [36,37] to compute the partition function Z_N^f exactly for a given realization of the disorder (see Refs. [33], for a related investigation, and [34] for a more thorough discussion of the effects of disorder and the low temperature behavior). In Fig. 8 we show scaling plots of the disorder-averaged force-extension characteristics for several disordered models at temperatures well above the glass transition temperature [18,29]. The data collapse in the critical regime was obtained optimizing the critical force in the scaling ansatz $L(f) = N^{1/2}\lambda[(f-f_c)N^{1/2}]$ supposing that the critical exponents are the same

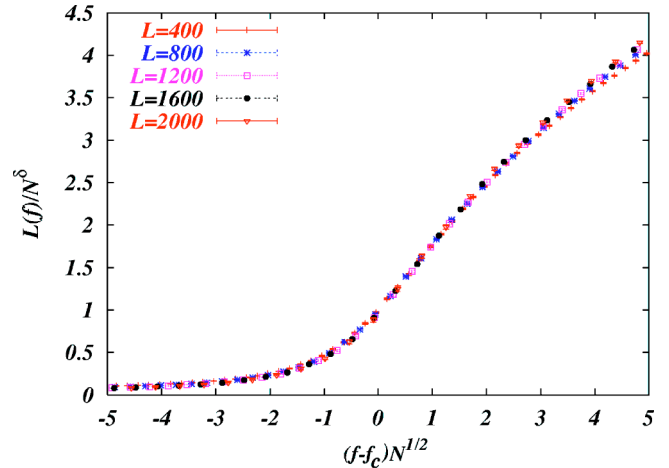


FIG. 10. Scaling plot of force-extension curves for the Gaussian model at $T=0$. The critical exponent is modified by the disorder to $\delta \approx 0.7$.

as in the homogeneous case ($\delta = 1/\nu = 1/2$). The scaling works well for the model with four letters and for the random coupling models with a Gaussian probability distribution, or with $P(e) \sim e^{-\alpha}$ and $\alpha > 4$. However, the data obtained for distributions $P(e) \sim e^{-\alpha}$ with $\alpha \leq 4$ (not shown) cannot be collapsed satisfactorily even when allowing for different critical exponents. This is due to the dominance of some rare but very strong couplings as will be explained in the following subsection.

By rescaling the axes of the plots with model-dependent metric factors C and D , $L(f) = DN^{1/2}\lambda[C(f-f_c)N^{1/2}]$, one can perfectly superpose the scaling functions for the different models with that of the homogeneous model, as shown in Fig. 9. This indicates that, above the glass transition temperature, disorder is irrelevant for the force-induced phase transition in the sense that all sufficiently short-ranged disordered models fall into the same universality class as homogeneous RNA. The latter suggests that the behavior of disordered RNA at high temperatures is well captured by a coarse-grained homogeneous description with renormalized parameters. The effect of disorder is washed out by thermal fluctuations which allow for a large number of secondary structures to be explored, so that the large entropy of secondary structures (with approximately the same number of bonds) dominates the physics.

The situation is different at low temperatures where the molecule is restricted to a small number of favorable foldings. The disorder-averaged force-extension curves at zero temperature are shown in Fig. 10 where the data collapse has been achieved with the general ansatz $L(f) = N^\delta\lambda[(f-f_c)N^{1/\nu}]$, optimizing for f_c , δ , and ν . As we will discuss in the next paragraph, the correlation length exponent $\nu = 2$ stays unchanged with respect to the homogeneous case. However, the exponent δ is modified ($\delta = 0.7$) [34].

E. Harris-type criterion for the relevance of disorder

The relevance of disorder for a phase transition can often be judged by applying Harris' criterion according to which

disorder is relevant if the specific heat exponent $\alpha = d\nu - 2$ is positive. Plugging in $d=1$, since the sequence of bases is one dimensional, and using the correlation length exponent $\nu = 2$, we are led to conclude that disorder is marginal for the force transition.

In order to derive this result, we start from the homogeneous model where the pairing behavior is correlated up to the scale $\xi \sim |f - f_c|^{-2}$. The introduction of disorder will locally modify the value of the critical force, $f_c \rightarrow f_c + \Delta f_c$ whereby this only makes sense as long as one considers sub-structures that are large compared to the bare correlation length. To estimate the typical fluctuations $\Delta f_c(\xi)$ for regions of size ξ we observe that the opening transition is mainly of entropic nature (see Sec. IV) and results from the competition between the gain in stretching energy and the decrease of the number of possible secondary structures when the chain changes from a globular state to a necklace with a larger number of closed substructures.

The effect of the pairing energies comes only as a perturbation. It is thus reasonable to expect that $\Delta f_c(\xi)$ scales like the fluctuations of the average binding energy per base for secondary structures that are restricted to a substrand of length ξ . This implies $\Delta f_c(\xi) \sim \xi^{-1/2}$.

Locally, the correlation length is modified according to

$$\xi \sim |f - f_c - \Delta f_c(\xi)|^{-2}. \quad (26)$$

The scaling $\Delta f_c(\xi) \sim \xi^{-1/2} \sim (f - f_c)$ corresponds just to the limiting case, for which the critical force is still uniquely defined and the exponent $\nu=2$ remains unchanged. This reflects the marginality as predicted by the vanishing of $d\nu - 2$.

The above considerations are wrong if the disorder distribution has large tails in which case very large though rare couplings may dominate the secondary structure pattern. For the random coupling model with power law tails $P(e) \sim |e|^{-\alpha}$ we can easily find a lower bound on α below which disorder will significantly alter the behavior of the model, rendering it even non-self-averaging. The energy fluctuations will scale like the energy of rare favorable secondary structures. We may estimate the latter by considering a ‘‘greedy’’ algorithm that constructs a secondary structure by choosing iteratively the base pair with the most negative energy available while respecting the topological constraints imposed by the pairs already chosen. There are $N(N-1)/2$ pairing energies available for the first step, and the best among them will scale as $N^{2/\alpha}$. There will be of the order of $\ln(N)$ further choices that lead to comparable energies, while in later stages the pairing energies will be significantly smaller. We thus expect the disorder induced energy (fluctuations) to scale at least as $\Delta E(N) \sim N^{2/\alpha} \ln(N)$, or $\Delta f_c(N) \sim N^{2/\alpha - 1} \ln(N)$. Thus, the fluctuations dominate for $\alpha \leq 4$. Indeed, we did not succeed in collapsing the numerical data for $\alpha = 3, 4$.

F. Why is the force induced transition of the second order?

It is rather unusual to find a continuous phase transition in force-extension experiments. The closely related globule-coil

transition in polymers is of the first order which is a consequence of the large finite size corrections to the free energy of the globular phase of a chain with N elements, $F_{\text{gl}}(N) = f_{\text{gl}}N + aN^{2/3}$. The term $aN^{2/3}$ takes into account solvent effects at the surface. Such corrections are essentially absent in the (extensive) random coil phase, since all monomers are more or less in a similar environment; but the free energy depends on the external force f since the structure is extensible, $F_{\text{coil}}(N) = Nf_{\text{coil}}(f)$. At the force where the extensive parts of the free energy become equal, $f_{\text{gl}} = f_{\text{coil}}(f)$, a discontinuous transition from the globular to the random coil phase takes place [38,39]. Mathematically, the first-order nature of the force transition is reflected by an essential rather than algebraic singularity in the Laplace transform of the partition function in the globular phase.

In our model for RNA a surface term in the globular phase is absent since solvation energies and surface effects are part of the tertiary interactions that are far less important than the base pairing (at least for small and intermediate sizes). The finite size corrections of the free energy in the globular phase are only of order $\ln(N)$. Thus, a subdivision of the chain into a necklace of globules is less costly than in the presence of surface effects. At the critical force, this leads to a continuous crossover from a single large globule to a necklace containing an extensive number of smaller globules which takes place over a force window decreasing as $N^{-1/2}$. In a two-dimensional homogeneous model of the globule-coil transition [40], the authors found the force transition to be continuous, too, which can be traced back to the absence of surface energies that grow polynomially with the system size.

It is worth mentioning that the thermodynamic phase transition would be absent in our model if the secondary structures were not allowed to contain multibranching loops, but were limited to single hairpins (with possible alignment gaps). Instead, there would only be an opening crossover. Although the continuous phase transition is an otherwise robust feature of all models irrespective of the details of the pairing and stacking rules, it critically depends on the topological constraints.

IV. DISCUSSION OF FORCE-EXTENSION CURVES IN THE THERMODYNAMIC LIMIT

In a recent paper [6] the authors claim that the inclusion of large stacking energies in the model renders the force transition first order in contrast to the second-order transition found in a model with only pairing energies. This has resulted from an erroneous analysis of a system of equations for generating functions that are real space analogs of our Eqs. (16) and (4). The authors were misled by a sharp force-induced denaturation crossover that masks the true thermodynamic transition at a smaller force where the extension begins to grow only very slowly as a function of force.

Before we discuss the general properties of force-extension curves, let us recall the parameters entering the model: Helices are required to contain at least n base pairs, and terminal loops closing a hairpin consist of at least t unpaired bases. The distance between monomers in the back-

bone is denoted by l , while l_b is the average distance between covalently bound bases. If we describe homogeneous RNA, we should use the empirically determined values $l_b \approx 4l$, $n=3$ for the minimal helix length and $t=3$ for the minimal hairpin loop. However, if the model is used to describe disordered RNA on a coarse-grained level, natural values are $l_b \ll l$, $n=1$, and $t=0$.

The base pair interactions are described by two parameters, $s(T)$ and $\eta(T)$, accounting for the pairing and stacking energy per base pair, and the cost for the initiation of a helix, respectively. As mentioned earlier, under physiological salt conditions the cooperativity parameter $\eta(T)$ is very small and thus favors the formation of long helices. The parameter $s(T) = \exp(-\beta f_{\text{pair}})$ is large at sufficiently low temperatures, but approaches $s \approx 1$ in the denaturation regime. In the following discussion we will consider $\eta(T)$ to be small throughout and $s(T)$ to be large at low temperatures, while approaching 1 around the denaturation temperature T_d . We distinguish the three temperature regimes, dropping the explicit temperature dependence of s and η : $s \gg 1$, $1 \gg s - 1 \gg \eta^{1/3}$, and $0 < s - 1 \ll \eta^{1/3}$. The case $s < 1$ corresponds to denatured RNA which is not of interest for force-extension studies.

For analytical simplicity we use the model without loop cost function, $\phi \equiv 1$, see Eq. (5). This is expected to be justified in the low-temperature regime $s \gg 1$, as well as at high forces, while the results for $s \approx 1$ at low force have to be taken with some care.

For the details of the calculations the reader should refer to the Appendix.

A. Critical force and reentrance

In order to discuss the thermodynamic limit of force-extension curves, we need the free energy per base $\phi(f)$ as a function of the force. It follows via $\zeta(f) \equiv \exp[-\beta\phi(f)]$ from Eq. (16) that we rewrite as

$$\zeta_{\text{ss}}(f) = \zeta(f) + \frac{\Xi_c(\zeta(f))}{\zeta_b(f)}. \quad (27)$$

Here we treat the single strands linking the closed structures as freely jointed chains, whose free energy per base is related to $\zeta_{\text{ss}}(f)$ via $\zeta_{\text{ss}}(f) \equiv \exp[-\beta\phi_{\text{ss}}(f)]$. The free energy per base in the globular phase ϕ_* is determined from the singularity $\zeta_* = \exp(-\beta\phi_*)$ of Ξ_c .

The chain begins to open when both free energies are equal, i.e., when $\phi_* = \phi(f)$, and the critical force is determined by the equation $\zeta_* = \zeta(f_c)$.

In the low-temperature regime ($s \gg 1$), the critical force depends on the parameter t for the minimal length of terminal loops. For $t \geq 1$ we find

$$f_c(T) \approx \frac{t}{4(l_b + l)} |f_{\text{pair}}(T)|. \quad (28)$$

The dependence on t is due to the fact that each hairpin terminates in a loop with at least t unpaired bases. The corresponding loss in energy is very important at low tempera-

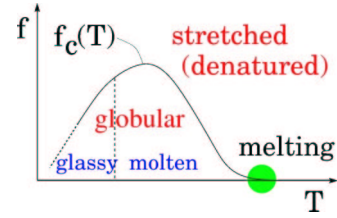


FIG. 11. Phase diagram of disordered RNA as a function of temperature and the force. The molecule undergoes a continuous opening transition at a critical force $f_c(T)$ that we predict to be nonmonotonic as a function of temperature. This gives rise to a reentrance phenomenon at fixed forces in a certain interval. At low temperature the system is in a glassy phase characterized by a small number of low-lying metastable states. At higher temperatures, RNA is in a molten state, that behaves in essentially the same way as a homopolymer. There is a thermal denaturation transition if the entropic penalties for loops are sufficiently large. Otherwise there is simply a crossover, and $f_c(T)$ never really vanishes.

tures and limits the thermally accessible phase space to rather elongated hairpinned structures with few branchings. This manifests itself in the critical force being proportional to the pairing free energy, almost as in the unzipping of DNA.

For $t=0$ the situation is different, since there is no energy cost associated to a hairpin, and therefore the available phase space of secondary structures is still large, even at low temperatures. The phase transition is governed by the competition between the force, trying to increase the number of closed structures in the free part, and the entropy that favors one big closed structure. The equation for the critical force reduces to

$$2\zeta_{\text{ss}}(f_c)\zeta_b(f_c) \approx 1, \quad (29)$$

and thus $f_c(T) \propto T/l$, almost independently of s . This reflects the purely entropic origin of the critical force sufficiently below denaturation.

Clearly, $t=0$ corresponds to an unphysical situation if the monomers in our model are interpreted as nucleotides. However, if we regard the homogeneous model as a coarse-grained description of a disordered base sequence, the monomers in the model stand for short substrands with an average affinity to pair with other substrands. The frustration in the secondary structure of disordered RNA necessarily leads to gaps in the base pairing that are usually larger than the minimal length of terminal loops. It is therefore unnecessary to impose a constraint on the terminal loops, i.e., we may safely put $t=0$ in this case. At the same time, the minimal length n of helices and the length parameters l and l_b have to be renormalized appropriately, as we indicated earlier.

In the denaturation regime, $s \approx 1$, the critical force becomes small. Independently of t , it decreases as

$$f_c(T) = \begin{cases} O((s-1)^{1/2}), & 1 \gg s - 1 \gg \eta^{1/3} \\ O(\eta^{1/6}), & s - 1 \ll \eta \end{cases} \quad (30)$$

on approaching denaturation.

For $t=0$ an interesting reentrance phenomenon occurs: We have seen that in this case $f_c(T)$ is an increasing function

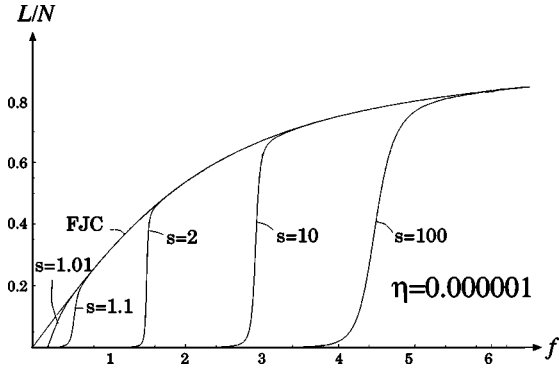


FIG. 12. At large cooperativity, the slope of the f - l curves at the transition is proportional to η . The phase transition is masked by the subsequent crossover whose steepness scales as $\eta^{-1/2}$, independently of s .

of temperature at sufficiently low temperatures, which is due to the entropic nature of the critical point. The large value of the binding parameter s merely forces the dominant secondary structure to have all bases paired, but does not influence the critical behavior otherwise. This picture does, however, not apply near denaturation where the base pairs are only loosely bound. Rather, Eq. (30) shows that f_c decreases essentially to zero in the denaturation regime. This is a consequence of the vanishing of the pair binding free energy ($\propto s-1$) which competes with the free energy gained from stretching. The latter grows as f^2 at low forces, and thus, the phase transition takes place on a force scale of the order of $(s-1)^{1/2}$ which vanishes at the denaturation transition.

The different behavior at low and high temperatures implies that the critical force reaches a maximum somewhere below the denaturation temperature which gives rise to the following reentrance phenomenon (see Fig. 11): If one fixes the external force at a value smaller than the maximum of $f_c(T)$ and then decreases the temperature, starting in the denatured regime, the molecule will collapse into the globular state when it crosses the critical line for the first time. However, it will reenter the stretched phase again at lower temperature when the second crossing occurs. Since the transitions are of second order this behavior would be seen as a (continuous) breathing of the molecule upon changing the

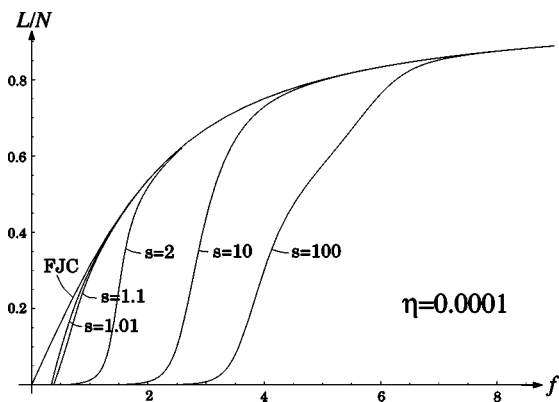


FIG. 13. At intermediate cooperativity the critical point and the crossover merge for sufficiently small values of s .

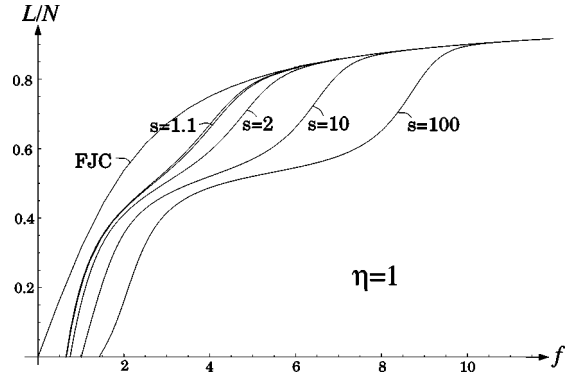


FIG. 14. In the absence of cooperativity, the large closed structures first open up to form smaller units. The plateau corresponds to necklaces of hairpins of the smallest possible size. Those structures are disrupted only at a higher force. This behavior is an artifact of very strong pairing energies.

temperature. We expect this effect to be relevant for disordered RNA sequences, where $t=0$ applies as we argued above. Such a behavior has been seen in numerical simulations of protein unfolding [41]. A similar effect was also predicted in the form of cold denaturation in DNA unzipping [42,43].

B. The opening crossover above f_c

In the following, we discuss several features of the force-extension curves in the thermodynamic limit, in particular, we will derive how the linear slope above the critical point and the characteristics of the subsequent crossover depend on the energy parameters of the model. The results are illustrated in Figs. 12, 13, and 14 where we plot force-extension curves for various pairs of s and η . The structural parameters are those appropriate for homogeneous RNA ($n=3$, $t=3$, and $l_b=4l$).

As we discussed in Sec. III, the extension $L(f)$ of the molecule slightly above the critical force grows like $N(f-f_c)$. The prefactor and the range of validity of the linear regime can be calculated from an expansion of Eq. (27) around the critical point. In the different temperature regimes, we find

$$L(f)/N(f-f_c) \sim \begin{cases} O(\eta s^{-t/4}), & s \gg 1 \\ O(\eta/(s-1)^4), & 1 \gg s-1 \gg \eta^{1/3} \\ O(\eta^{-1/3}), & s-1 \leq \eta^{1/3} \end{cases} \quad (31)$$

valid within a force window

$$f-f_c = \begin{cases} O(1), & s \gg 1 \\ O(s-1), & 1 \gg s-1 \gg \eta^{1/3} \\ O(\eta^{1/3}), & s-1 \leq \eta^{1/3}. \end{cases} \quad (32)$$

Note that at low temperatures ($s \gg 1$), the extension is suppressed by a factor of η (see Fig. 12). This is a consequence of the cooperativity in the system, i.e., the tendency to form long helices and large structures. Their size increases typically as η^{-1} , so that necklaces composed of such struc-

tures are very short. The effect is even enhanced for $t > 0$ where it is favorable to form longer helices in order to reduce the energy loss in terminal loops. The extension grows linearly with the force over a range of order $O(1)$, which is comparable to the critical force itself. This is in contrast to the case near denaturation where the extent of the linear regime is much smaller than f_c and the coefficient of the linear term can be appreciably large.

At higher forces the force-extension characteristics becomes nonlinear, and finally, the majority of base pairings opens up in a sharp crossover. This happens at a force f_* where the free energy of bases in the free part of the chain equals half of the base pairing free energy, $\zeta_{ss}(f_*) \approx s^{-1/2}$. Note that this is the analog of the critical force in DNA unzipping which is of a different nature than f_c . Beyond f_* , the molecule behaves essentially as a freely jointed chain.

The crossover is most interesting at low temperatures, $s \gg 1$. In the Appendix it is shown to take place within a force window determined by $\rho(f) \equiv [\eta s^{-(1+t)/2} / \zeta_b(f)]^{1/2} / |\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2}| = O(1)$. Its width scales like

$$\Delta f \sim (\eta s^{1+(l_b/l-t-1)/2})^{1/2} \approx (\eta s)^{1/2}, \quad (33)$$

where we assumed $l_b/l \approx t+1$ for homogeneous RNA. This expresses the fact that the smallest possible hairpin loop [with length $l(t+1)$] will almost be a direct, stretched bridge between the bases of the adjacent pair (at distance l_b). The crossover is very sharp if the cooperativity, as measured by η^{-1} , is high.

Below the crossover [$\rho(f) \ll 1$] we find the extension to be small as compared to that of a freely jointed chain subject to the same force,

$$\frac{L(f)}{N} \approx \frac{L_{\text{FJC}}(f)}{N} \rho(f). \quad (34)$$

Above the crossover [$\rho(f) \gg 1$], the role played by closed structures is negligible, and the force-extension curve approaches that of a freely jointed chain,

$$\frac{L(f)}{N} \approx \frac{L_{\text{FJC}}(f)}{N} \left[1 + O\left(\frac{1}{\rho(f)}\right) \right]. \quad (35)$$

Near denaturation ($s \approx 1$), the situation is less interesting since both the phase transition and the final opening of the secondary structures take place at very small forces. Still, there is a discernible crossover in the case $s-1 \gg \eta^{1/3}$ that occurs at a force $f_* \approx f_c + O(s-1)$ while its width scales like $\Delta f \sim [\eta/(s-1)]^{1/2}$. In the limit $s-1 \ll \eta^{1/3}$, however, no crossover can be seen since all characteristic force scales behave as $\eta^{1/3}$.

V. CONCLUSION

We have studied several aspects of RNA folding on the level of the secondary structure. We concentrated on a homogeneous model that we expect to describe random sequences on a coarse-grained level as well, provided that the parameters are appropriately renormalized. This point of view is strongly supported by the finding that, at sufficiently

high temperatures, disorder is an irrelevant perturbation for the force-induced opening transition in the sense that scaling functions for disordered sequences superpose perfectly with the analytical curve calculated in the homogeneous case.

Our model takes into account base pairing and stacking energies, as well as entropic costs for loops. The latter have been shown to give rise to a thermodynamic denaturation transition if they are sufficiently strong. However, even when loop penalties are included, the dominant secondary structures in the collapsed phase of large molecules are too dense to be accommodated in three-dimensional space. Even at moderate, biologically relevant sizes, it is questionable whether the usual neglect of excluded volume (and other tertiary) interactions in the prediction of secondary structure is justified.

The force-induced unfolding has been studied in detail. We have characterized the second-order phase transition separating a globular from a necklacelike extensive phase. A correlation length diverging like $(f-f_c)^{-2}$ has been identified as the typical size of the largest closed structures that appear in the necklace above f_c . The critical scaling of the correlation length remains (marginally) unchanged upon introduction of disorder, as follows from a Harris-type criterion. However, in the low temperature glassy phase the other critical exponents are modified, in contrast to the high-temperature phase which belongs to the same universality class as a homogeneous polymer. This difference of the temperature regimes manifests itself as well in the force-extension characteristics. In the present paper, we have restricted ourselves to the discussion of the homogeneous or high-temperature case. The jumplike force-extension curves in the glassy regime are discussed in Ref. [34].

The second-order phase transition in force-induced unfolding has been shown to be a very robust feature of the model. In particular, it is independent of the specific pairing and stacking energies and further structural parameters. It occurs at a critical force that we predict to be a nonmonotonic function of temperature in the case of disordered sequences. This gives rise to a reentrance phenomenon when the temperature is varied at constant force.

When the stacking energy is large, the pairing behavior is highly cooperative. This can render the second-order phase transition almost invisible, since the extension grows very slowly as a function of $f-f_c$. On the other hand, a very sharp first-order-like crossover occurs at the (higher) force where essentially all base pairs are disrupted.

ACKNOWLEDGMENTS

It is a pleasure to thank Florent Krzakala, Marc Mézard, and Andrea Montanari for many helpful discussions. I am indebted to Marc Mézard for carefully reading the manuscript. The LPTMS is a Unité de Recherche de l'Université Paris XI associée au CNRS.

APPENDIX

In this appendix we outline in more detail how to obtain the characteristics of the force-extension curves of Sec. IV.

1. The singularities of the partition function

Let us start from Eq. (27),

$$\zeta_{ss}(f) = \zeta(f) + \frac{\Xi_c(\zeta(f))}{\zeta_b(f)}, \quad (\text{A1})$$

$$\Xi_c(\zeta) = \frac{1}{2} \left(1 - \zeta - \frac{\eta(s\zeta^2)^n(1-\zeta^t)/(1-\zeta)}{1-s\zeta^2 + \eta(s\zeta^2)^n} \right) - \sqrt{\frac{1}{4} \left(1 - \zeta - \frac{\eta(s\zeta^2)^n(1-\zeta^t)/(1-\zeta)}{1-s\zeta^2 + \eta(s\zeta^2)^n} \right)^2 - \frac{\eta(s\zeta^2)^n \zeta^t}{1-s\zeta^2 + \eta(s\zeta^2)^n}}. \quad (\text{A2})$$

The free energy per base of the globular phase is related to the singularity ζ_* of Ξ_c via $\zeta_* = \exp[-\beta\phi_c]$. ζ_* is given by the vanishing of the square root in Eq. (A2). In the low-temperature regime, $s \gg 1$, we find

$$\zeta_* \approx \begin{cases} s^{-1/2} \left(1 - \frac{3\eta}{2} \right), & t=0 \\ s^{-1/2} \left(1 - \frac{\eta}{s^{1/4}} \right), & t=1 \\ s^{-1/2} \left(1 - \frac{2\eta}{s^{1/2}} \right), & t=2 \\ s^{-1/2} \left(1 - \frac{\eta}{s^{1/2}} \right), & t \geq 3, \end{cases} \quad (\text{A3})$$

while near the denaturation, $s-1 \ll 1$, we obtain

$$\zeta_* \approx \begin{cases} s^{-1/2} \left(1 - \frac{8\eta}{(s-1)^2} \right), & 1 \gg s-1 \gg \eta^{1/3} \\ 1 - (2\eta)^{1/3}, & s-1 \ll \eta^{1/3}. \end{cases} \quad (\text{A4})$$

We recall that we assume $\eta \ll 1$ throughout.

2. The critical force

The critical force f_c has to be determined from the crossing of the two singularities, $\zeta(f_c) = \zeta_*$, or more explicitly,

$$\zeta_{ss}(f_c) = \zeta_* + \Xi_c(\zeta_*)/\zeta_b(f_c), \quad (\text{A5})$$

where we can use the fact that the square root in Eq. (A2) vanishes at ζ_* ,

$$\Xi_c(\zeta_*) = \sqrt{\frac{\eta(s\zeta_*^2)^n \zeta_*^t}{1-s\zeta_*^2 + \eta(s\zeta_*^2)^n}}. \quad (\text{A6})$$

In the low-temperature regime, $s \gg 1$, we have to distinguish different values of t . In the case $t \geq 1$ we find approximately

$$\zeta_{ss}(f_c(T)) \approx \zeta_* + \frac{\zeta_*^{t/2}}{\zeta_b(f_c(T))}. \quad (\text{A7})$$

which determines the pole singularity $\zeta(f)$ as a function of the force for $f > f_c$. The functional form of the generating function $\Xi_c(\zeta)$ for closed structures can be obtained from Eq. (5) as

We can neglect the first term on the right-hand side for $t < 2(l_b/l+1)$ which is always satisfied for homogeneous RNA, where we have $t \approx l_b/l-1$.

Recalling the definition $s = \exp(\beta|f_{\text{pair}}(T)|)$ and approximating $\zeta_{ss}(f) \equiv \beta l f / \sinh(\beta l f) \approx \exp(-\beta l f)$ and $\zeta_b(f) \equiv \beta l_b f / \sinh(\beta l_b f) \approx \exp(-\beta l_b f)$ at low temperatures, we find

$$f_c(T) \approx \frac{t}{4(l_b+l)} |f_{\text{pair}}(T)|. \quad (\text{A8})$$

The behavior for $t=0$ is different since all bases can be paired, even those at the end of a hairpin. In that case, Eq. (A5) reduces to

$$2\zeta_{ss}(f_c)\zeta_b(f_c) \approx 1, \quad (\text{A9})$$

implying $f_c(T) \propto T/l$, almost independently of s . This underlines the purely entropic origin of the critical force sufficiently below denaturation.

In the regime $s \approx 1$ the critical force is small, decreasing as

$$f_c(T) = \begin{cases} O((s-1)^{1/2}), & 1 \gg s-1 \gg \eta^{1/3} \\ O(\eta^{1/6}), & s-1 \ll \eta \end{cases} \quad (\text{A10})$$

on approaching the denaturation. This follows simply from an expansion of Eq. (A5) at low forces.

3. The linear regime above f_c

In the thermodynamic limit, the force-extension curve starts off linearly from zero extension at f_c . To obtain the slope of the curve, we expand Eq. (A1) around the critical point. In particular, we have to expand the square root in Eq. (A2) at ζ_* ,

$$\Xi_c(\zeta) \approx \frac{1}{2} \left(1 - \zeta - \frac{\eta(s\zeta^2)^n}{1-s\zeta^2 + \eta(s\zeta^2)^n(1-\zeta^t)/(1-\zeta)} \right) - \sqrt{A(\zeta_* - \zeta) + B(\zeta_* - \zeta)^2}. \quad (\text{A11})$$

As long as we can neglect $B(\zeta_* - \zeta)^2$ with respect to $A(\zeta_* - \zeta)$, i.e., for $\zeta_* - \zeta(f) \ll A/B$, we may obtain $\zeta(f)$ approximately from [see Eq. (A1)]

$$\begin{aligned} \zeta_{ss}(f)\zeta_b(f)|_{f_c}^f &\approx (f-f_c)[\zeta_{ss}\zeta_b]'(f_c) \\ &\stackrel{!}{\approx} \Xi_c(\zeta)|_{\zeta_*}^{\zeta(f)} \approx -[A(\zeta_* - \zeta(f))]^{1/2}, \end{aligned} \quad (\text{A12})$$

and thus,

$$\zeta(f) \approx \zeta_* - \frac{(f-f_c)^2}{A} [\zeta_{ss}\zeta_b]''(f_c). \quad (\text{A13})$$

The extension in the linear scaling regime above f_c then follows via $L(f) = -N\beta^{-1} \partial \ln[\zeta(f)]/\partial f \sim N(f-f_c)$. In the different temperature regimes, the coefficient of $N(f-f_c)$ scales like

$$L(f)/(N(f-f_c)) \sim \begin{cases} O(\eta s^{-t/4}), & s \gg 1 \\ O(\eta/(s-1)^4), & 1 \gg s-1 \gg \eta^{1/3} \\ O(\eta^{-1/3}), & s-1 \ll \eta^{1/3}. \end{cases} \quad (\text{A14})$$

The linear regime extends up to forces determined by $\zeta_* - \zeta(f) \approx A/B$, from which we obtain the force windows

$$f-f_c = \begin{cases} O(1), & s \gg 1 \\ O(s-1), & 1 \gg s-1 \gg \eta^{1/3} \\ O(\eta^{1/3}), & s-1 \ll \eta^{1/3}. \end{cases} \quad (\text{A15})$$

4. The nonlinear regime and the crossover

At higher forces the force-extension curve becomes nonlinear, but the typical size of closed structures is still large, so that the second term on the right-hand side of Eq. (A1) cannot be neglected. Only in a later stage the base pairs open up completely, and the molecule becomes a freely jointed chain.

In the further discussion of the characteristics of the force-extension curve we will restrict ourselves to (real) homogeneous RNA with $1 < t \approx l_b/l - 1$. We will only treat the case $s \gg 1$ in some detail, the case $s \approx 1$ can be treated analogously.

Beyond the linear regime, we can solve for $\zeta(f)$ using the following approximation: The generating function for closed structures can be simplified by expanding the square root in Eq. (A2) with respect to the second term

$$\Xi_c(\zeta(f)) \approx \frac{\eta(s\zeta^2)^n \zeta^t}{(1-\zeta)[1-s\zeta^2 + \eta(s\zeta^2)^n] - \eta(s\zeta^2)^n \frac{1-\zeta^t}{1-\zeta}}. \quad (\text{A16})$$

Equation (27) for $\zeta(f)$ then reduces to a quadratic equation up to terms of the order of $\sqrt{\eta}$, except in a narrow region around the force f_* where the opening crossover takes places. The crossover force f_* is approximately determined by $\zeta_{ss}(f_*) = s^{-1/2}$.

Before proceeding let us estimate the width of the crossover. Considering the right-hand side of Eq. (A1), we note

that the closed structures are important as long as the variation of $\Xi_c(\zeta(f))/\zeta_b(f)$ with force dominates that of $\zeta(f)$. The crossover to the freely jointed chain regime occurs when both variations become comparable. Let us therefore write $\zeta(f) = s^{-1/2}(1 - \epsilon(f))$ and determine the value ϵ_X at which the correction $s^{-1/2}\epsilon_X$ begins to dominate the term $\Xi_c(\zeta(f))/\zeta_b(f)$. Using Eq. (A16) and the fact that η/ϵ_X will be small, we find $\Xi_c \approx s^{-t/2}\eta/\epsilon_X$. Equating this to $s^{-1/2}\epsilon_X\zeta_b(f)$, we find

$$s^{-1/2}\epsilon_X \equiv s^{-1/2} - \zeta(f) \sim [\eta s^{-(1+t)/2}/\zeta_b(f)]^{1/2}. \quad (\text{A17})$$

More quantitatively, one finds that for forces such that $\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2} \gg [\eta s^{-(1+t)/2}/\zeta_b(f)]^{1/2}$, $\zeta(f)$ is given by

$$\zeta(f) \approx s^{-1/2} \left(1 - \frac{\eta s^{-t/2}}{2\zeta_b(f)[\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2}]} \right). \quad (\text{A18})$$

The extension follows from a logarithmic derivative,

$$\frac{L(f)}{N} \approx \frac{L_{\text{FJC}}}{N} \frac{\eta s^{-t/2} \zeta_{ss}(f)}{\zeta_b(f)[\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2}]^2}, \quad (\text{A19})$$

which is small as compared to that of a freely jointed chain at the same force.

For forces such that $\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2} \ll -[\eta s^{-(1+t)/2}/\zeta_b(f)]^{1/2}$ closed structures play a negligible role. To the same degree of approximation as before one finds

$$\zeta(f) \approx \zeta_{ss}(f) \left[1 + O\left(\frac{\eta s^{-(1+t)/2}}{\zeta_b(f)[\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2}]} \right) \right], \quad (\text{A20})$$

and the force-extension curve joins that of a freely jointed chain

$$\frac{L(f)}{N} \approx \frac{L_{\text{FJC}}(f)}{N} \left[1 + O\left(\frac{\eta s^{-(1+t)/2}}{\zeta_b(f)[\zeta_{ss}(f) - s^{-1/2}]} \right) \right]. \quad (\text{A21})$$

The force window over which the crossover takes place derives from Eq. (A17) and scales like

$$\Delta f \sim (\eta s^{1+(l_b/l-t)/2})^{1/2}. \quad (\text{A22})$$

For the case near denaturation, $s \approx 1$ the calculations are analogous and yield a crossover around $f_* \approx f_c + O(s-1)$ with a width scaling like $\Delta f \sim [\eta/(s-1)]^{1/2}$ for $s-1 \gg \eta^{1/3}$. In the limit $s-1 \ll \eta^{1/3}$, however, all characteristic force scales behave as $\eta^{1/3}$, and a separation into different regimes does not make sense.

- [1] P.-G. de Gennes, *Biopolymers* **6**, 715 (1968).
- [2] S.B. Smith, Y. Cui, and C. Bustamante, *Science* **271**, 795 (1996).
- [3] B. Maier, D. Bensimon, and V. Croquette, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97**, 12002 (2000).
- [4] U. Bockelmann *et al.*, *Biophys. J.* **82**, 1537 (2002).
- [5] A. Montanari and M. Mézard, *Phys. Rev. Lett.* **86**, 2178 (2001).
- [6] H. Zhou and Y. Zhang, *J. Chem. Phys.* **114**, 8694 (2001).
- [7] I. Tinoco and C. Bustamante, *J. Mol. Biol.* **293**, 271 (1999).
- [8] M. Zuker and D. Sankoff, *Bull. Math. Biol.* **46**, 591 (1984).
- [9] I.L. Hofacker *et al.*, *Monatsch. Chem.* **125**, 167 (1994).
- [10] I. Tinoco, O.C. Uhlenbeck, and M.D. Levine, *Nature (London)* **230**, 362 (1971).
- [11] I. Tinoco *et al.*, *Nature New Biology* **246**, 40 (1973).
- [12] D.H. Mathews, J. Sabina, M. Zuker, and D.H. Turner, *J. Mol. Biol.* **288**, 911 (1999).
- [13] B. Duplantier, *Phys. Rev. Lett.* **57**, 941 (1986).
- [14] L. Schäfer, C. von Ferber, U. Lehr, and B. Duplantier, *Nucl. Phys. B* **374**, 473 (1992).
- [15] Y. Kafri, D. Mukamel, and L. Peliti, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 4988 (2000).
- [16] Y. Kafri, D. Mukamel, and L. Peliti, *Eur. Phys. J. B* **27**, 135 (2002).
- [17] R. Metzler *et al.*, *Phys. Rev. E* **65**, 061103 (2002).
- [18] R. Bundschuh and T. Hwa, *Phys. Rev. E* **65**, 031903 (2002).
- [19] B. Nienhuis, *Phys. Rev. Lett.* **49**, 1062 (1982).
- [20] A. Coniglio, *Phys. Rev. Lett.* **62**, 3054 (1989).
- [21] S.A. Woodson, *Nat. Struct. Biol.* **7**, 349 (2000).
- [22] R. Russell, I.S. Millett, S. Doniach, and D. Herschlag, *Nat. Struct. Biol.* **7**, 367 (2000).
- [23] D. Thirumalai and S.A. Woodson, *Acc. Chem. Res.* **29**, 433 (1996).
- [24] P.G. Higgs, *Phys. Rev. Lett.* **76**, 704 (1996).
- [25] R. Bundschuh and T. Hwa, *Europhys. Lett.* **59**, 903 (2002).
- [26] A. Pagnani, G. Parisi, and F. Ricci-Tersenghi, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 2026 (2000).
- [27] A. Pagnani, G. Parisi, and F. Ricci-Tersenghi, *Phys. Rev. Lett.* **86**, 1383 (2001).
- [28] A. Hartmann, *Phys. Rev. Lett.* **86**, 1382 (2001).
- [29] F. Krzakala, M. Mézard, and M. Müller, *Europhys. Lett.* **57**, 752 (2002).
- [30] H. Isambert and E.D. Siggia, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97**, 6515 (2000).
- [31] D.K. Lubensky and D.R. Nelson, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 1572 (2000).
- [32] D.K. Lubensky and D.R. Nelson, *Phys. Rev. E* **65**, 031917 (2002).
- [33] U. Gerland, R. Bundschuh, and T. Hwa, *Biophys. J.* **81**, 1324 (2001).
- [34] M. Müller, F. Krzakala, and M. Mézard, *Eur. Phys. J. E* **9**, 67 (2002).
- [35] E. Marinari, A. Pagnani, and F. Ricci-Tersenghi, *Phys. Rev. E* **65**, 041919 (2002).
- [36] M. Waterman, *Adv. Math. Suppl. Studies* **1**, 167 (1978).
- [37] J.S. McCaskill, *Biopolymers* **29**, 1105 (1990).
- [38] P.L. Geissler and E.I. Shakhnovich, *Phys. Rev. E* **65**, 056110 (2002).
- [39] P.L. Geissler and E.I. Shakhnovich, *Macromolecules* **35**, 4429 (2002).
- [40] F.S.D. Marenduzzo and A. Maritan, *J. Phys. A* **35**, L233 (2002).
- [41] D.K. Klimov and D. Thirumalai, *J. Phys. Chem. B* **105**, 6648 (2001).
- [42] E. Orlandini *et al.*, *J. Phys. A* **34**, L751 (2001).
- [43] D. Marenduzzo *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 028102 (2002).

Chapitre 3

ARN soumis à une force extérieure

3.1 Les expériences de micromanipulation

Depuis une dizaine d'années, plusieurs groupes de biophysique expérimentale ont développé des techniques de micromanipulation de molécules uniques. En particulier, le dépliement et repliement d'une molécule par une force exercée sur ses extrémités peuvent être étudiés avec une grande résolution. Ces expériences permettent d'obtenir de nouvelles informations sur les mécanismes à la base des réactions biomoléculaires et vont donc aider à élucider les caractéristiques du chemin de repliement : l'existence et structure d'états intermédiaires, leurs énergies libres et les barrières d'activation à franchir pour passer d'un état replié à l'autre. En outre, il est intéressant *per se* d'étudier comment des biomolécules comme la titine (la protéine dans les fibres de muscles) [TTSS97, RGO⁺97], l'ADN double brin [SFB92, SCB96, SAB⁺96, MBC00, ERBH97] ou l'ARN [LOS⁺01] se comportent sous l'action d'une force extérieure vu qu'un grand nombre de processus cellulaires (contraction de muscles, ouverture d'ADN pour la réplication, transcription et traduction de gènes) sont réglés par des enzymes qui exercent des forces de quelques piconewtons sur ces molécules.

3.1.1 Les techniques expérimentales et leurs limites

Les techniques de transmission de force

Plusieurs techniques de manipulation de biomolécules uniques ont été développées [BMW00, SDC⁺03], voir figure 3.1. L'une des extrémités de la molécule est toujours greffée sur une surface tandis qu'une force est appliquée à l'autre extrémité, ce qui peut être réalisé de plusieurs façons : en tirant directement sur l'extrémité avec le levier d'un microscope à force atomique [FMG94] ou avec une microfibre [CLH⁺96], en exposant toute la molécule à un flot qui crée une force hydrodynamique [SFB92], ou en attachant l'extrémité à une petite bille d'un micron de diamètre que l'on manipule avec des pinces

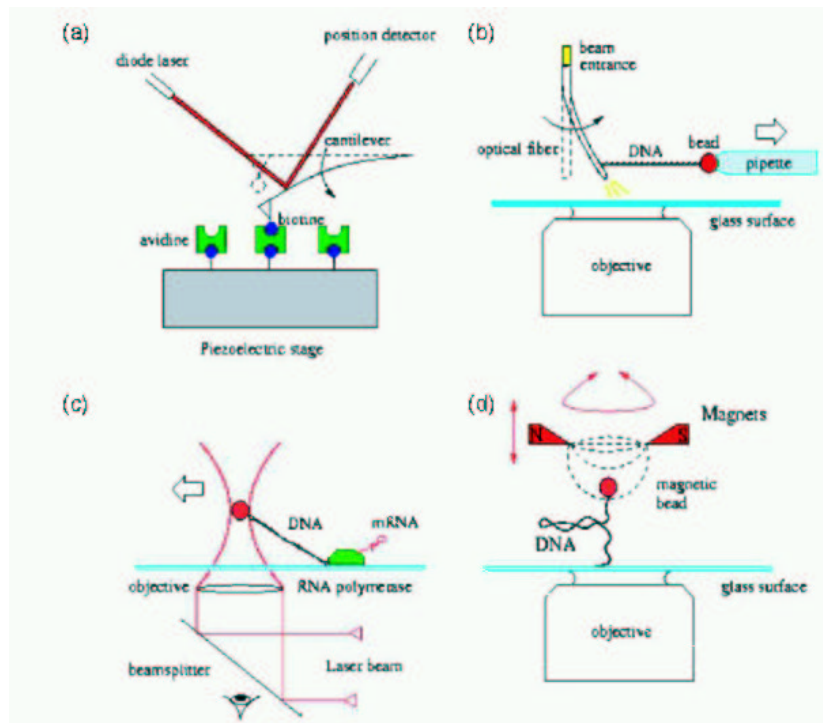


FIG. 3.1 – Différentes techniques pour transmettre une force à une molécule unique, cf. [SDC⁺03]. Les techniques utilisant le levier d'un microscope à force atomique (a) ou une fibre optique (b) mesurent la déformation élastique (et donc la force) à l'aide d'un laser, tandis que dans les pinces optiques (c) et magnétiques (d) la force est déduite des fluctuations browniennes de la bille.

optiques [RFCA96] ou magnétiques [AYPL96]. La dernière méthode est particulièrement appropriée pour travailler à force fixée, car les gradients de champs magnétiques sont presque constants sur les distances caractéristiques pour l'étirement des molécules. Pour fixer l'élongation, il est préférable de travailler avec des pièges optiques [SCB96] et magnétiques [SAB⁺96] ou avec un levier.

Dans les manipulations où la force est transmise de façon mécanique à l'extrémité, elle peut être mesurée par la déformation élastique du levier ou de la fibre. Dans le cas des manipulations optiques et magnétiques, elle est déterminée de manière indirecte à partir des fluctuations browniennes de la position de la bille. Celles-ci sont reliées à la force appliquée par une relation de fluctuation-dissipation.

Limites

Chaque technique de micromanipulation a ses propres avantages et ses limites. La transmission de force par un levier permet de contrôler l'élongation et la force assez précisément (au niveau de 0.1 nm et 1 pN), mais le bruit de Langevin est relativement im-

portant ($\approx 0.1 \text{ pN Hz}^{-1/2}$), ce qui réduit vite la résolution surtout dans des expériences à haute vitesse d'étirement.

Dans le cas de manipulations optiques et magnétiques, le bruit thermique est moins grand ($\approx 0.1 \text{ pNHz}^{-1/2}$ pour les petites billes d'un diamètre de l'ordre d'un micron). La position peut être mesurée à quelques angstroms près, et de très petites forces peuvent être atteintes, surtout avec des pinces magnétiques où l'on arrive facilement à stabiliser la force à 0.1 pN près. En revanche, le régime de grande force est plus restreint.

Régimes de forces à l'échelle moléculaire

La plus petite échelle de force est donnée par le bruit thermique auquel la sonde de force est exposée. Ces effets peuvent être réduits en travaillant dans la limite quasi-statique de très petites vitesses d'étirement. Les forces les plus petites qui sont inhérentes à la molécule sont de nature entropique, comme l'est l'élasticité de ces molécules à petite force : pour imposer une élongation à la molécule et donc une réduction de son espace de configurations, il faut appliquer une force. Les énergies typiques sont de l'ordre de $k_B T$ tandis qu'une distance typique en jeu est le diamètre d'un monomère qui est de l'ordre de $l \approx 1 \text{ nm}$. L'échelle des forces entropiques est donc de l'ordre de $k_B T/l \approx 4 \text{ pN}$. C'est également l'ordre de grandeur de forces exercées par des moteurs moléculaires comme la myosine. La force nécessaire pour ouvrir une double-hélice d'ADN est un peu plus élevée ($10 - 14 \text{ pN}$, dépendant des paires de bases), puisque les énergies d'appariements Watson-Crick correspondent à quelques $k_B T$. Des forces beaucoup plus grandes sont nécessaires pour détacher un ligand ou un récepteur d'un site fonctionnel en rompant toutes ses liaisons non-covalentes (interactions de van der Waals, liaisons hydrogène et liaisons ioniques). Celles-ci dépassent typiquement une centaine de piconewton. Finalement, la rupture de liaisons covalentes n'apparaît qu'à des forces de l'ordre de $f \sim 1 \text{ eV}/\text{Å} \approx 1600 \text{ pN}$, ce qui est loin du régime des micromanipulations.

3.1.2 Expériences avec l'ADN et l'ARN

Le biopolymère le plus étudié par micromanipulation est l'ADN. Ce système particulier a également attiré l'intérêt de beaucoup de physiciens théoriciens, voir [CMM02] et les références dedans. D'une part, les propriétés élastiques du double brin [SFB92, SAB⁺96] et ses transitions structurales à plus grande force [SCB96] ont été caractérisées. D'autre part, des études ont été menées sur la dynamique d'ouverture et de fermeture de la double-hélice ainsi que sur les signatures de la séquence qui s'y manifestent [ERBH97, BERH97, BTER⁺02]. En effet, en présence d'hétérogénéités dans la séquence des nucléotides, l'ouverture d'un double brin ne se passe pas de manière homogène mais présente le phénomène de "*stick-slip*". Chaque fois qu'une région riche en

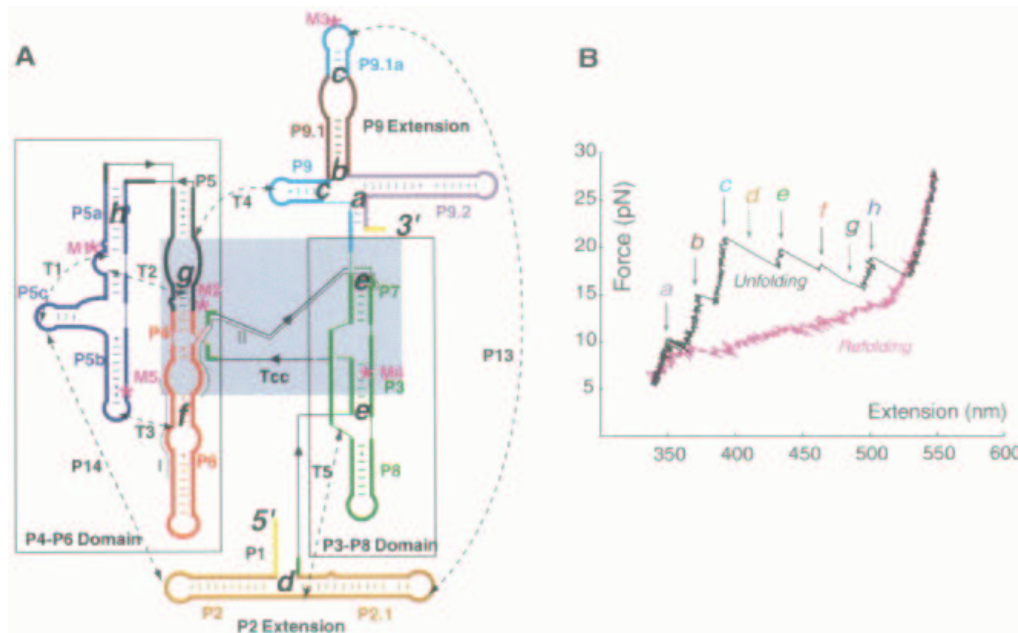


FIG. 3.2 – Figure 1 de l'article [LOS⁺01]. À gauche : structure secondaire du ribozyme L21 de *Tetrahymena thermophila*. Les différentes hélices (régions appariées) sont nommées $P1, \dots, P9$. Les arcs en pointillé indiquent des pseudonœuds ($P13$ et $P14$) et d'autres contacts tertiaires (T). À droite : courbe force-élongation typique (en présence de Mg^{2+}). Les lettres a, \dots, h indiquent des barrières cinétiques qui sont associées à la rupture de différents éléments de la structure secondaire.

GC est atteinte, le processus d'ouverture est momentanément interrompu tant que la force reste inférieure au seuil critique caractéristique de cette région.

En fixant la force et en laissant l'élongation fluctuer, il est possible d'observer des bistabilités entre deux états qui diffèrent par leur degré d'ouverture [BTER⁺02]. En général, ces états sont séparés par des barrières énergétiques assez importantes qui sont responsables pour les effets d'hystérésis observés lors de cycles d'ouverture et de refermeture.

Grâce à leur structure secondaire, l'ARN et l'ADN simple brin ont une structure plus riche que l'ADN double brin. Par conséquent, les courbes force-élongation contiennent plus d'informations. Récemment, le groupe de Bustamante a commencé à faire des expériences de micromanipulation avec le ribozyme L21 de *Tetrahymena thermophila* [LOS⁺01, LDS⁺02, ODL⁺03], un ARN enzymatique de 390 nucléotides dont la structure secondaire et tertiaire est très bien caractérisée expérimentalement. Dans la figure 3.2, nous montrons la structure secondaire native et une courbe typique de la force en fonction de l'élongation. Ces expériences mettent en évidence des effets d'hystérésis¹ qui sont d'autant plus importants que la vitesse d'ouverture est élevée. En étudiant la

¹En particulier, les courbes correspondant au repliement sont beaucoup plus lisses que celles du dépliage.

sous-partie $P5abc$ de cette molécule soumise à une force constante de 14 pN, le même groupe a observé une bistabilité très nette entre l'état replié (contenant une hélice) et l'état déplié [LOS⁺01].

Dans ce même système réduit, l'égalité de Jarzynski [Jar97] a été vérifiée pour la première fois. Selon ce théorème de la mécanique statistique la différence d'énergie libre ΔG_{ab} entre deux états d'équilibre a et b (qui diffèrent par exemple par rapport à leurs élongations, $l_a < l_b$) peut être obtenue par une grande série de N mesures *hors équilibre*,

$$e^{-\beta\Delta G_{ab}} = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N e^{-\beta w_{ab}^{(i)}}. \quad (3.1)$$

Ici, $w_{ab}^{(i)}$ est le travail mécanique nécessaire pour aller de a à b au cours de la mesure i . L'application de ce théorème à des (petits) ARNs permet donc d'obtenir des paramètres thermodynamiques associés à la formation et à la rupture d'éléments de la structure secondaire *et* tertiaire. Ces derniers sont souvent difficilement accessibles par d'autres méthodes.

Il est clair que ces expériences viennent seulement d'être mises en place, et qu'elles ont encore un grand potentiel à explorer. L'un des buts de ce chapitre est de discuter quels sont les effets de la séquence qui peuvent se voir dans des expériences de force, et quelles informations peuvent en être tirées sur la structure des repliements et le paysage d'énergie en général.

Considérations générales

La perturbation du paysage d'énergie que représente une force extérieure est assez particulière dans le sens où elle ne couple pas directement au degrés de liberté qui sont d'habitude considérés comme coordonnées de réaction (par exemple le nombre de contacts natifs) [SOW99]. Avant que la molécule soit assez étirée, la force couple de manière très inefficace à cette quantité, et ce n'est qu'à plus grande force que l'élongation de la molécule représentera une coordonnée de réaction significative. Il faut également noter que l'échelle d'énergie associée à un étirement substantiel est très importante devant celle caractérisant le paysage d'énergie de repliement, un fait qui limitera à un certain degré la résolution avec laquelle le paysage d'énergie pourra être étudié.

Néanmoins, en étudiant un modèle de protéines sur réseau soumis à une force, Klimov et Thirumalai [KT99, KT01] prédisent que des informations importantes sur le paysage d'énergie *en absence de la force*, notamment la distribution de barrières associées au dépliement, peuvent être obtenues en faisant la statistique de plusieurs expériences d'étirement. Nous allons trouver des résultats similaires pour l'ARN.

ment, voir figure 3.2.

3.2 Le cas homogène

3.2.1 Homopolymères soumis à une force

La description théorique de l'ouverture d'ADN homogène sous l'action d'une force appliquée aux deux simples brins complémentaires est un exercice simple : jusqu'à une force critique f_c la plupart des bases sont appariées, une fourche s'ouvrant jusqu'à une distance qui diverge en $(f_c - f)^{-1}$ en approchant le seuil au-dessus duquel l'ADN est complètement dénaturé. Le cas d'homopolymères plus généraux, y inclus le cas de l'ARN, est beaucoup plus intéressant.

La réponse à une force extérieure d'un homopolymère dans un mauvais solvant a déjà été étudiée par Halperin et Zhulina [HZ91] avant que les expériences de molécules uniques ne fussent développées. Ces auteurs ont prédit une transition entre un état globulaire compact (d'un diamètre en $N^{1/3}$) et une chaîne essentiellement étirée (avec une élongation extensive, $L \sim a(f)N$), la force critique f_c étant déterminée par l'égalité des énergies libres par monomère dans les deux phases. Cette transition est du premier ordre : à f_c , le globule devient instable² et s'allonge, atteignant brusquement une élongation non nulle par monomère, ce qui est reflété par $a(f_c) > 0$. Grassberger et Hsu [GH02] ont remarqué qu'à deux dimensions cette transition est continue, $a(f_c) = 0$. Dans les deux cas, le comportement proche de la transition est déterminé par la compétition entre un terme dû à la tension de surface en $N^{(d-1)/d}$ et le gain en énergie de l'ordre de $fN^{1/d}$ obtenu par déformation du globule. Tandis qu'à trois dimensions, la tension de surface domine et la déformation du globule reste négligeable en dessous de f_c , les deux contributions sont du même ordre de grandeur à deux dimensions et le globule s'allonge graduellement jusqu'à ce que la force critique soit atteinte. À f_c , les globules de différents degrés d'allongement sont presque dégénérés dans la limite thermodynamique³, ce qui donne lieu à la coexistence de régions étirées et globulaires dans de longues chaînes [MMSR03] ainsi qu'à un comportement critique [RMMS03].

3.2.2 ARN homogène

Pour l'ARN, le raisonnement précédent ne s'applique pas directement parce que la tension de surface est déjà prise en compte en grande partie par les énergies libres des appariements Watson Crick. Les effets résiduels de surface peuvent être considérés comme des interactions tertiaires que nous négligeons dans la suite en nous concentrant sur la structure secondaire. Nous verrons que l'absence de la tension de surface pour l'ARN rend la transition induite par la force continue, même en trois dimensions.

²Pour des chaînes finies, ceci apparaît déjà légèrement plus tôt.

³Leur énergie libre diffère de l'ordre de $O(N^{1/2})$

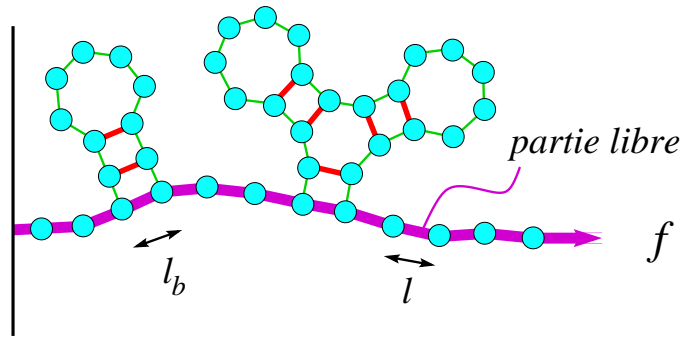


FIG. 3.3 – L’ARN soumis à une force extérieure. La force n’agit que sur la partie libre de la chaîne que l’on peut considérer comme une succession alternée de simples brins libres et de structures latérales fermées.

L’effet d’une force appliquée à l’extrémité d’une molécule d’ARN est facile à inclure dans le formalisme récursif que nous avons développé dans le chapitre précédent. L’énergie libre est modifiée par le terme $-\vec{F} \cdot (\vec{r}_N - \vec{r}_1)$ où \vec{r}_i est la position de la i -ème base. Il est naturel de décomposer la structure secondaire sous tension dans une séquence de structures latérales fermées qui sont reliées par des simples brins “libres”, voir figure 3.3. La force extérieure n’agit que sur les simples brins libres et les paires de bases qui terminent les structures latérales. En effet, nous pouvons réécrire le terme de force sous la forme :

$$-\vec{F} \cdot (\vec{r}_N - \vec{r}_1) = - \sum_{i=1}^{N_L-1} \vec{F} \cdot (\vec{r}_{b(i+1)} - \vec{r}_{b(i)}), \quad (3.2)$$

où $\{b(i)\}$ est la liste ordonnée des N_L bases dans la partie libre de la chaîne.

Le comportement élastique de simples brins d’ADN ou d’ARN est bien décrit par une chaîne librement jointe (*freely jointed chain*, FJC) de maillons effectifs de taille $b = 2\xi$ (la longueur de Kuhn) où $\xi \approx 2 \text{ nm}$ est la longueur de persistance d’un simple brin [MM01]. C’est seulement à haute force que des effets supplémentaires comme l’élasticité des liaisons chimiques ou la répulsion électrostatique du squelette doivent être pris en compte [DMZ⁺02]. Pour simplifier l’analyse, nous considérons les éléments du squelette directement comme les maillons rigides de longueur l d’une chaîne librement jointe. Les paires de bases qui terminent les structures latérales jouent le rôle de joints que nous traitons également comme des bâtons rigides, mais de longueur différente⁴, $l_b \approx (3 - 4)l$. Nous nous intéressons plutôt à un régime de température bien en dessous de la dénatura-tion où nous pouvons négliger les contributions de boucles en première approximation.

La fonction de partition satisfait à une récursion analogue à (2.4). Selon que la dernière

⁴Évidemment, ceci ne s’applique qu’au cas d’ARN décrit au niveau des nucléotides. Si l’on utilise la description homogène pour un ARN désordonné regardé à plus grande échelle, la longueur des maillons doit être renormalisée comme $l = 2\zeta$, tandis que l_b garde sa valeur.

base reste libre ou termine une structure latérale fermée, nous obtenons

$$Z_{i,j}^f(f) = \delta_{ij} + \Theta(j-i) \left(\frac{Z_{i,j-1}^f}{\zeta_{ss}(f)} + \sum_{m=i}^{j-1} \frac{Z_{i,m-1}^f}{\zeta_{ss}(f)} \frac{Z_{m,j}^c}{\zeta_b(f)} \right). \quad (3.3)$$

$Z_{i,j}^f$ est la fonction de partition partielle de la sous-séquence $[i, j]$ exposée à la force f , et $Z_{i,j}^c$ est la fonction de partition d'une structure fermée (c'est-à-dire, une structure dans laquelle les bases i et j sont contraintes à être appariées). Elle s'obtient par la relation $Z_{i,j}^c = e^{-\beta e_{ij}} Z_{i+1,j-1}$ à partir de la fonction de partition non-contrainte de (2.4). Nous avons introduit les poids de Boltzmann,

$$\begin{aligned} \zeta_b^{-1}(f) &\equiv \frac{\int d\vec{r} \delta(|\vec{r}| - l_b) e^{-\beta f \cdot \vec{r}}}{\int d\vec{r} \delta(|\vec{r}| - l_b)} = \frac{\sinh(\beta f l_b)}{f \beta l_b}, \\ \zeta_{ss}^{-1}(f) &\equiv \frac{\sinh(\beta f l)}{f \beta l}, \end{aligned} \quad (3.4)$$

associés aux deux types de maillons dans la partie libre de la chaîne⁵.

En utilisant l'homogénéité du système, $Z_N^{f/c} \equiv Z_{i,i+N-1}^{f/c}$ et en passant à la transformée de Laplace de l'équation (3.3), nous trouvons

$$\Xi_f(\zeta; f) = \left(1 - \frac{\zeta}{\zeta_{ss}(f)} - \frac{\Xi_c(\zeta)}{\zeta_b(f) \zeta_{ss}(f)} \right)^{-1}. \quad (3.5)$$

3.2.3 La force critique et les deux phases : globulaire et allongée

Comme nous l'avons expliqué dans la section 2.2.3, le comportement asymptotique de la fonction de partition Z_N^f est déterminé par la singularité la plus petite $\zeta(f)$ de la fonction génératrice $\Xi_f(\zeta; f)$, $Z_N^f \sim \zeta(f)^{-N} / N^\alpha$ où α dépend de la nature de la singularité. A petite force, $\zeta(f)$ coïncide avec la singularité ζ_* de la fonction génératrice de structures fermées, $\Xi_c(\zeta)$, qui est indépendante de la force. À plus grande force, le dénominateur de (3.5) s'annule déjà pour $\zeta < \zeta_*$, ce qui donne lieu à une singularité de pôle, $\zeta(f)$, qui est une fonction décroissante de la force.

À la force critique f_c où les deux singularités se croisent,

$$\zeta(f_c) = \zeta_*, \quad (3.6)$$

la molécule subit une transition de phase. Pour analyser les propriétés proche de la transition, nous ne retenons que la structure essentielle des singularités de la fonction génératrice Ξ_f . En développant le dénominateur autour de f_c et ζ_* , et en rappelant que $\Xi_c(\zeta) \simeq \Xi_c(\zeta_*) - C(\zeta_* - \zeta)^{1/2}$, cf. (2.9), nous obtenons au premier ordre non-trivial

$$(1 - \zeta(f)/\zeta_*)^{1/2} \approx A'(f - f_c), \quad f > f_c, \quad (3.7)$$

⁵La notation quelque peu baroque pour ces poids est motivée par le fait que $\zeta_{ss}(f)$ et $\zeta_b(f)$ correspondent à la singularité de la fonction génératrice d'une chaîne librement jointe de bâtons de longueurs l et l_b , respectivement.

ou de manière équivalente,

$$\zeta(f) \simeq \zeta_* - [A(f - f_c)]^2, \quad f > f_c, \quad (3.8)$$

où A' et A sont des constantes.

Au dessus de la force critique, l'élongation par base, L/N , se calcule à partir de $\zeta(f)$ par la relation

$$\frac{L}{N} = \frac{1}{\beta N} \frac{\partial Z_N}{\partial f} \approx -\frac{1}{\beta} \frac{\partial \zeta(f)}{\partial f} \approx 2A^2(f - f_c), \quad (3.9)$$

tandis qu'en dessous, elle s'annule trivialement [MM01]. La transition est donc du second ordre, $L[f \rightarrow f_c]/N \rightarrow 0$. Ceci constitue une différence importante par rapport aux homopolymères sans saturation d'interaction où la tension de surface rend la transition toujours du premier ordre.

Les lois d'échelle et la longueur de corrélation

En analysant les singularités de Ξ_f plus en détail et en calculant analytiquement la transformée inverse de (3.5) proche de la transition [Mül03], on obtient des informations plus fines sur le comportement critique. L'élongation totale L est décrite par une loi d'échelle

$$L(f) = N^\delta \psi_L [A(f - f_c)N^{1/\nu}], \quad (3.10)$$

avec des exposants critiques $\delta = 1/2$ et $\nu = 2$. Nous en déduisons en particulier que $L(f_c) \sim N^\delta$. Des exposants analogues ont été discutés dans le cadre de la transition continue d'homopolymères à deux dimensions [RMMS03].

La forme de la variable d'échelle, $x = A(f - f_c)N^{1/2}$, nous indique qu'il y a une longueur caractéristique,

$$N_c \sim (f - f_c)^{-2}, \quad (3.11)$$

dans le problème. Ceci est surprenant étant donné qu'au-dessus de la force critique, la taille typique des structures latérales est beaucoup plus petite $N/L \approx (f - f_c)^{-1}$. Ces structures donnent lieu à une élongation extensive en $L \sim (f - f_c)N$. Néanmoins, il existe des grandes structures latérales de taille $O((f - f_c)^{-2})$ contenant un pourcentage important de toutes les bases. Cette information est contenue sous forme condensée dans la distribution de probabilité $P(l)$ qu'une structure latérale tirée au hasard contienne l bases⁶,

$$P(l) \sim \frac{\exp(-lA^2(f - f_c)^2)}{l^{3/2}}. \quad (3.12)$$

⁶Dans le mouillage d'un copolymère périodique alterné, on trouve un comportement presque identique pour les longueurs des parties mouillées [MGO00].

3.2.4 La force critique en fonction de la température

La force critique sépare une phase globulaire d'une phase allongée, caractérisée par une élongation extensive. Non loin de la force critique, la structure secondaire de la phase allongée est toujours riche et consiste en une succession de structures latérales relativement grandes. En augmentant la force, celles-ci s'ouvrent graduellement et finissent par être rompues complètement à $f \approx 14$ pN, force nécessaire pour ouvrir une double-hélice d'ADN. Nous soulignons que la force critique est typiquement bien plus petite que cette force de rupture comme nous verrons plus loin, cf. (3.13).

En analysant la condition (3.6), on trouve qu'en approchant la dénaturation ($s \approx 1$, s étant le paramètre de Zimm et Bragg qui décrit l'énergie d'appariement de paires de bases), $f_c(T)$ diminue en $(s - 1)^{1/2}$. Cependant, dans ce régime, il faudrait également tenir compte des termes entropiques pour les boucles qui induisent la transition de type pelote-globule discutée dans la section 2.2.4. Celle-ci a lieu à la température T_d où $s(T_d)$ est toujours légèrement plus grand que 1. On peut vérifier que la force critique s'annule à la transition pelote-globule, $f_c(T_d) = 0$, comme on s'y attendrait.

Effets de la coopérativité pour ARN homogène

À plus basse température, la force critique est très sensible aux détails du modèle. Si l'on décrit des ARNs homogènes, c'est-à-dire des séquences $ATATAT$ ou $GCGCGC$, le paramètre de coopérativité est très petit, $\sigma \approx 10^{-4} - 10^{-3}$, favorisant de longues hélices. De plus les structures secondaires contiennent peu de branchements puisque la formation d'épingles à cheveux coûte cher parce que les bases dans la boucle ne peuvent pas s'apparier⁷. Sous des conditions comme *in vivo*, suffisamment loin de la température de dénaturation, le repliement le plus favorable d'une telle molécule consiste donc essentiellement en une seule épingle à cheveux. En effet, chaque branchement contribue d'un facteur de σ dû à l'initiation d'une nouvelle hélice, ainsi que d'une pénalité associée à la formation d'une boucle en épingle à cheveux supplémentaire. Ceci se reflète dans les courbes force-élongation [ZZOY02] : au-dessus de la force critique, les structures latérales sont très grandes, contenant de longues hélices et très peu de branchements. Par conséquent, le coefficient $2A^2$ (cf. (3.9)) qui décrit l'élongation linéaire en $f - f_c$ est très petit, $2A^2 \sim \eta s^{-t/4}$, et la force critique est à peine discernable. Puisque l'on tire essentiellement sur une seule épingle à cheveux les courbes force-élongation sont presque identiques à celles obtenues pour l'ouverture d'un ADN homogène. Elles présentent un *crossover* abrupt entre l'état en hélice et l'état complètement dénaturé qui a lieu dans une petite fenêtre de force de largeur de l'ordre de $\Delta f \sim (\sigma s)^{1/2}$. Ce comportement est illustré

⁷Rappelons que les plus petites boucles en épingle à cheveux contiennent au moins 4 bases non-appariées.

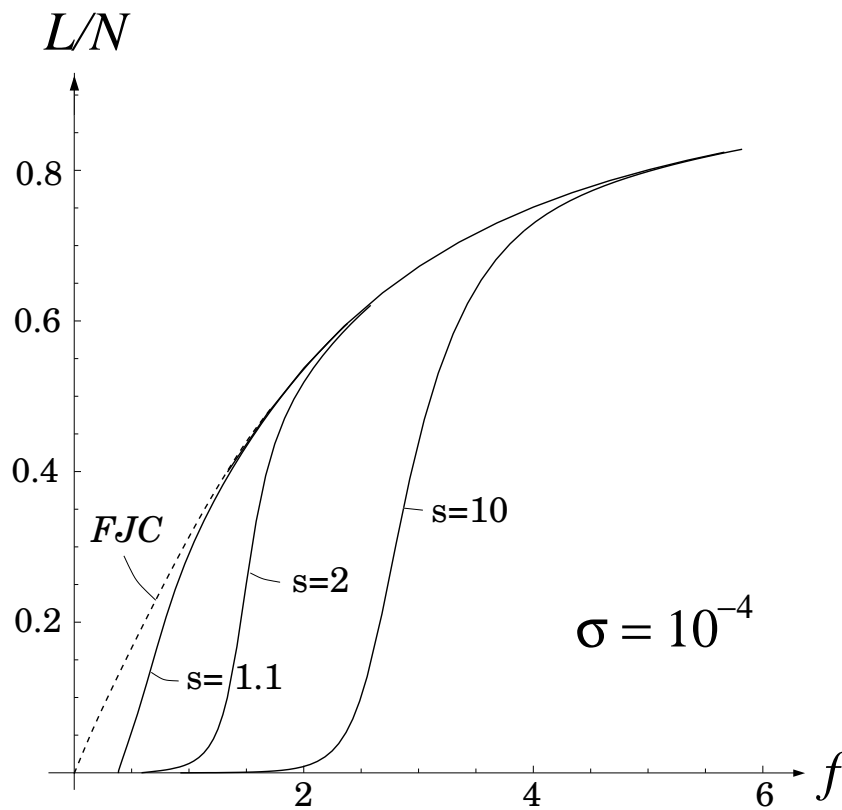


FIG. 3.4 – Courbes force-élongation pour une grande coopérativité ($\sigma = 10^{-4}$) et différentes valeurs de l’affinité d’appariement s . La ligne en pointillé correspond à une chaîne librement jointe sans structure secondaire. La coopérativité se manifeste dans une très faible pente de la courbe force-élongation au-dessus de la force critique, sauf très proche de la dénaturation ($s = 1.1$). La structure secondaire disparaît lors d’un *crossover* à plus grande force. Celui-ci est d’autant plus net que la coopérativité est grande.

dans la figure 3.4 pour une coopérativité $\sigma = 10^{-4}$ et différentes affinités d'appariement s .

La force critique dans l'ARN désordonné

Si le modèle homogène est censé décrire un ARN désordonné à plus grande échelle (et à suffisamment haute température où le désordre est marginal), il faut renormaliser les paramètres dans les arguments précédents. Comme nous l'avons souligné dans la section 2.2.4, la coopérativité est beaucoup moins importante dans le cas d'ARN désordonné. De plus, comme il n'est en général pas possible d'apparier toutes les bases dans un tel ARN, le fait qu'une boucle en épingle à cheveux empêche l'appariement des bases la constituant ne pèse pas autant que dans une chaîne homogène. Tandis que dans les molécules homogènes la force critique résulte de la compétition entre la force et la perte d'énergie d'appariement dans une boucle en épingle à cheveux, $\exp(\beta f_c l) \sim s$, elle est d'origine purement entropique dans le cas désordonné : une elongation extensive de la chaîne réduit l'entropie de branchements, ce qui est en compétition avec l'énergie que la chaîne gagne par la force. En utilisant les paramètres $l = 2$ nm [MM01, DMZ⁺02] et $l_b = 1$ nm ($= l/2$) pour l'ARN désordonné décrit à plus grande échelle, on trouve approximativement⁸

$$f_c(T) \simeq 1.9 \frac{k_B T}{l} \simeq 1.3 \text{ pN}. \quad (3.13)$$

Ceci est bien l'ordre de grandeur observé dans les expériences, voir figure 3.5. La force critique est donc dix fois plus petite que la force nécessaire pour rompre une double-hélice!

La figure 3.5 montre que l'ouverture de toutes les structures secondaires est beaucoup moins abrupte que dans le cas d'une molécule homogène. Comme la coopérativité effective est plus petite, un grand nombre de structures latérales coexistent.

Réentrance

Dans le régime de basse température, la force critique (3.13) croît linéairement avec la température, ce qui reflète son origine entropique⁹. Cependant, nous savons qu'elle est une fonction décroissante suffisamment proche de la dénaturation. Il y a donc une température intermédiaire où elle atteint un maximum. Ceci donne lieu à un *comportement réentrant* à force fixe en dessous de ce maximum, voir figure 3.6 : en baissant la température, la molécule se compacte en croisant la ligne critique une première fois, mais rentre dans la phase extensive à plus basse température. Un comportement simi-

⁸Ceci s'ensuit de l'équation (29) de [Mül03].

⁹Rappelons à cet endroit que le modèle homogène ne s'applique à l'ARN désordonné que dans le régime du globule fondu bien au-dessus de la transition vitreuse. Cependant, nous ne savons pas caractériser la forme fonctionnelle de la force critique dans le régime vitreux.

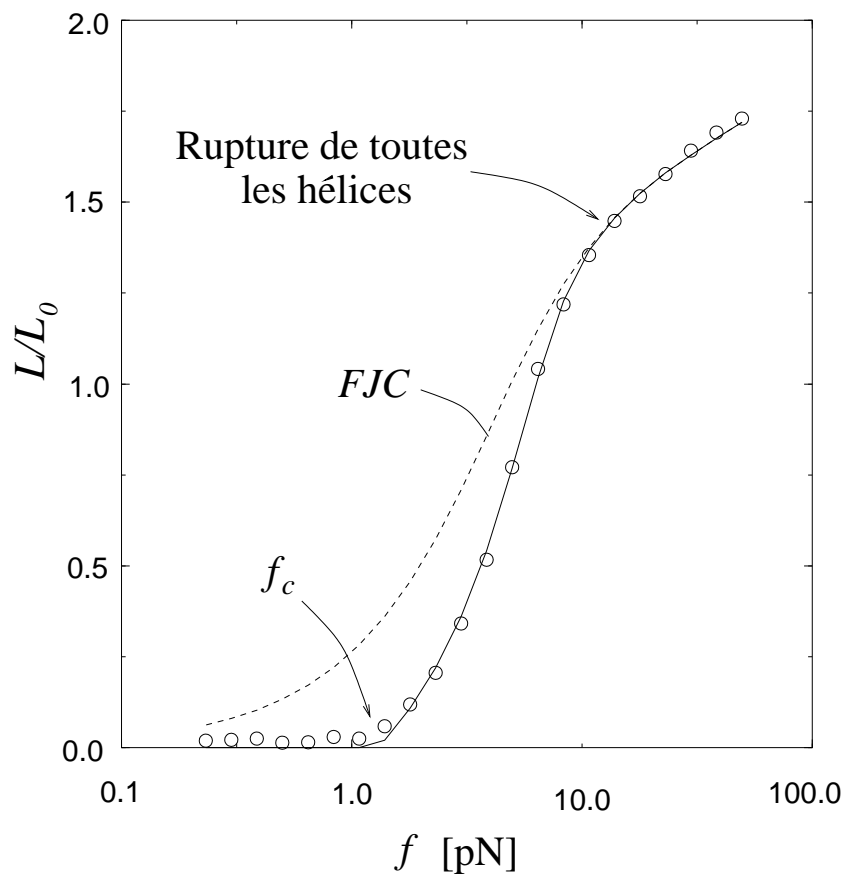


FIG. 3.5 – Fit des données expérimentales de [MBC00] avec le modèle homogène [MM01]. L'élongation est extensive seulement au-dessus de la force critique $f_c \approx 1$ pN. La structure secondaire ne résiste plus à la force au-dessus de $f \approx 12 - 14$ pN. La courbe en pointillé correspond à une chaîne librement jointe en l'absence de structures secondaires.

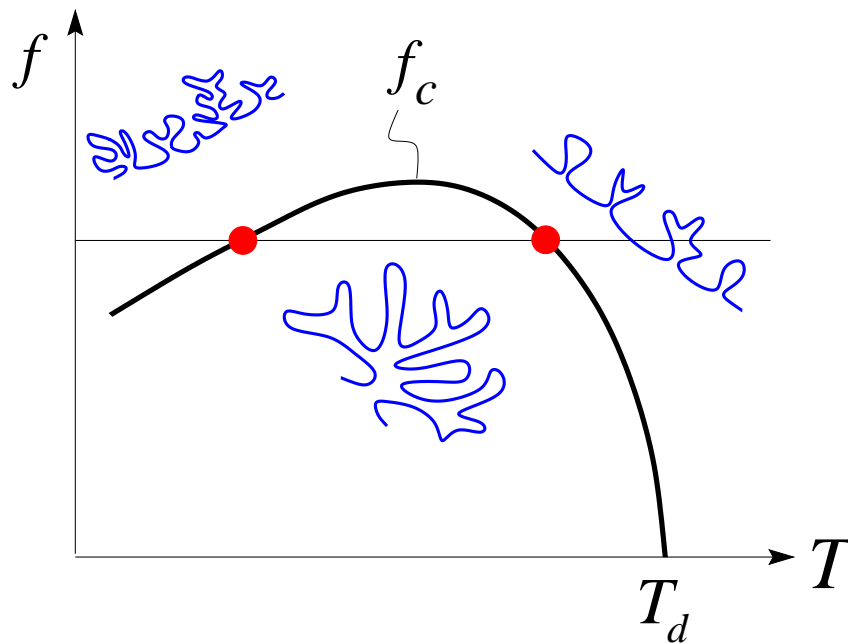


FIG. 3.6 – Comportement réentrant de l’ARN à force fixe (ligne horizontale) : à haute et à basse température l’élongation de la chaîne est extensive. Sa structure secondaire est composée d’un grand nombre de structures latérales se succédant. Le repliement est compact seulement à température intermédiaire.

laire a été prédit pour l’ouverture d’ADN [MS02] et dans le dépliage mécanique de protéines [MTM01, KT99, KT01]

3.2.5 Le critère de Harris : marginalité du désordre

Jusqu’ici nous avons traité le désordre dans la séquence en supposant qu’il n’est pas pertinent à grande échelle et ne fait que renormaliser les paramètres du modèle homogène. Ce traitement est probablement juste pour des températures suffisamment au-dessus de la transition vitreuse, il faut cependant s’attendre à ce que l’hétérogénéité de la séquence se manifeste de manière plus distincte dans les courbes force-élongation à plus basse température (y compris la température ambiante). En particulier, le comportement au voisinage de la force critique est susceptible d’être influencé par la présence de désordre.

D’après le critère de Harris[Har74] le désordre est pertinent pour une transition de phase si l’exposant de la capacité calorifique $\alpha = 2 - d\nu$ est positif, où ν est l’exposant associé à la longueur de corrélation¹⁰. Dans le cas présent, nous sommes tentés de mettre $d = 1$ puisque la séquence de l’ARN est unidimensionnelle, et $\nu = 2$, voir (3.11), ce

¹⁰Il est clair que dans le cas d’une transition induite par la force, il faut plutôt considérer l’exposant α_f associé au comportement critique de $\partial^2 G / \partial f^2$, où $G(f, T) = F(L, T) - fL$.

qui impliquerait que le désordre est une perturbation marginale. En effet, nous pouvons rendre l'argument plus rigoureux en regardant les fluctuations locales Δf_c de la force critique associée à une sous-séquence de longueur $\xi \sim (f - f_c)^{-2}$. Puisque dans le globule fondu, la force critique est essentiellement d'origine entropique, les énergies d'appariements n'ayant qu'un effet perturbatif, il est raisonnable de supposer que Δf_c se comporte comme les fluctuations de l'énergie d'appariement d'une structure repliée restreinte à cette sous-séquence, $\Delta f_c \sim \xi^{-1/2} \sim (f - f_c)$. Le fait que les fluctuations soient linéaires en $f - f_c$ reflète la marginalité du désordre : c'est juste le cas limite où il reste cohérent de supposer l'existence d'une force critique f_c bien définie et un exposant $\nu = 2$ invariant. En effet, les résultats numériques de la section suivante suggèrent que l'exposant ν ne change pas en présence de désordre¹¹. Toutefois, il n'est pas exclu que le désordre soit marginalement pertinent. Les résultats numériques de la section suivante suggère qu'en effet, l'exposant ν reste invariant en présence de désordre, tandis que d'autres exposants critiques sont modifiés.

3.3 Séquences avec désordre

3.3.1 Hétéropolymères soumis à une force

Le cas le plus simple de dépliement d'un hétéropolymère sous l'action d'une force est l'ouverture d'un double brin d'ADN composé d'une séquence aléatoire de paires de bases Watson-Crick. Dans ce cas, le critère de Harris implique que le désordre est une perturbation pertinente pour la transition d'ouverture. Puisque la force n'agit que sur le point où la double-hélice s'ouvre, il n'est pas surprenant que la courbe force-élongation dépend même très fortement de la séquence et n'est pas automoyennante. La physique de la transition peut cependant être caractérisée par la *statistique* des ouvertures partielles en dessous de la rupture complète [LN00, LN02].

Il est plus difficile d'analyser les hétéropolymères comme les protéines où l'ARN dont l'état natif a une structure plus compliquée. Lee et Vilgis [LV02] ont utilisé une méthode variationnelle gaussienne pour minimiser l'énergie libre d'un hétéropolymère en présence d'une force. Dans le cas de petits copolymères, ils montrent que l'étirement procède de manière discontinue. Différents domaines sont rompus pour des valeurs spécifiques de force dépendant de la séquence en question. De plus, les auteurs observent que les cycles

¹¹L'analyse rigoureuse de [CCFS86] montre que dans les phénomènes critiques en présence du désordre, l'exposant ν associé à une longueur de corrélation bien définie satisfait toujours à l'inégalité $\nu \geq 2/d$. Cependant, ce résultat a été démontré pour des systèmes où le désordre est gelé dans l'espace (percolation, systèmes d'Ising en champ aléatoire, etc.) tandis que dans le cas de l'ARN le désordre est lié à la chaîne. Il n'est donc pas tout à fait évident si l'argument peut être adapté au cas présent où le théorème impliquerait la contrainte $\nu \geq 2$.

de dépliement et de repliement présentent des effets importants d’hystérésis.

En utilisant la théorie de champ moyen pour les hétéropolymères [SG89b], Geissler et Shakhnovich [GS02] prédisent une structure en collier de perles dans un intervalle de longueur $O(N^{-1/2})$ autour de la force critique où les sous-séquences les plus favorables se replient en petits globules, résistant plus longtemps à la force. Bien que ces structures ne persistent pas dans la limite thermodynamique, elles pourraient jouer un rôle important pour des molécules de taille moyenne¹².

Dans le cas de l’ARN, la structure en collier de perles existe dans un intervalle fini au-dessus de la force critique, même sans désordre. Ceci est lié au fait que les interactions des nucléotides sont essentiellement saturées une fois qu’ils ont formé un appariement Watson-Crick. Tandis que dans le cas des protéines, la force critique sépare la phase globulaire d’une phase presque étirée¹³, le nombre d’appariements Watson-Crick ne change pas de manière significative autour de la force critique. Ce n’est que la structure secondaire qui est réarrangée de manière à former une séquence de petits globules plutôt qu’une grande pelote.

3.3.2 Les courbes forces-élongation pour ARN désordonné : considérations générales

La récursion (3.3) pour la fonction de partition de l’ARN soumis à une force nous permet de faire des prédictions et des analyses quantitatives. Nous analyserons en premier lieu des modèles simplifiés comme dans le chapitre précédent lors de la discussion de la phase vitreuse.

Bien que la structure secondaire subisse beaucoup de réarrangements lors de l’étirement, les courbes force-élongation expérimentales (voir par exemple la figure 3.5) d’ARN sont souvent très lisses en comparaison avec les courbes en “*stick-slip*” observées lors de l’ouverture de l’ADN double brin. La raison en est simple : dans la phase extensive de l’ARN, la force tire sur un grand nombre de structures latérales en même temps. L’élongation observée représente donc une moyenne sur la réponse des différentes structures. De plus, l’ouverture partielle d’une structure latérale peut être compensée par un réarrangement des structures voisines qui intègrent les bases libérées dans leur repliement, ce qui contribue à lisser les courbes [GBH01]. Il faut donc s’attendre à ce que la réponse d’équilibre de grandes molécules d’ARN aléatoire soit automoyennante. Au vu de ces arguments, il n’est plus si surprenant qu’un modèle homogène arrive à décrire si bien le

¹²Dans les polyélectrolytes, des structures similaires apparaissent mais pour une raison tout à fait différente. Une chaîne chargée dans un mauvais solvant a tendance à se compacter, mais la formation de grands globules est empêchée par l’instabilité de Rayleigh. Cette compétition résulte en une séquence de petits globules séparés par des bouts de chaîne étirés, même en l’absence de toute force [VJJ00].

¹³On parle de “transition *all or none*” [KT01].

comportement au-dessus de la force critique, même à température ambiante où *a priori* les effets du désordre sont importants.

Ces considérations sont valables dans la phase extensive au-dessus de la force critique où le nombre de structures latérales est grand. Cependant, le régime de forces au voisinage de f_c n'a pas de raison d'être automoyennant. Il peut alors fournir des informations sur le paysage d'énergie. En particulier, nous allons caractériser le comportement critique et la façon dont il est modifié en présence de désordre.

La phase extensive : au-delà des mesures d'équilibre

Pour extraire des informations sur des transitions structurelles dans la phase extensive, il faut aller au-delà des mesures à l'équilibre thermodynamique. Remarquons qu'en effet la plupart des micromanipulations de molécules uniques d'ARN sont effectuées hors équilibre : en imposant une certaine vitesse de l'étirement, on empêche la molécule d'établir son état d'équilibre. Ceci permet de voir l'ouverture abrupte d'hélices et une réponse en “*stick-slip*” (cf. figure 3.2). En revanche, la courbe d'équilibre obtenue en relâchant lentement la chaîne ne présente aucune structure particulière.

Une façon plus subtile de révéler les réarrangements sous-jacents de la structure secondaire consiste à regarder les fluctuations de l'élongation à force fixe [GBH03]. Celles-ci sont plus grandes lorsque deux ou plusieurs repliements coexistent pour une force donnée que lorsqu'une seule structure secondaire domine. Il est donc naturel d'associer les minimas dans les fluctuations à des états intermédiaires et les maximas à des transitions structurales.

3.3.3 Analyse numérique du dépliement sous l'action d'une force

L'état dominant en fonction de la force

Du point de vue de la rugosité du paysage d'énergie et de sa relation avec la phase vitreuse, le régime de petite force est plus intéressant. Dans l'esprit de l'analyse statistique des ouvertures partielles d'un double brin d'ADN [LN02], nous avons étudié les événements élémentaires dans l'ouverture d'un ARN aléatoire en augmentant graduellement la force appliquée [MKM02]. Pour chaque séquence aléatoire, nous avons déterminé à l'aide d'une récursion similaire à (3.3) la structure de plus basse énergie $E(n)$ en imposant une longueur totale n de la partie libre¹⁴. Dans l'approximation d'une chaîne librement jointe de n éléments de longueur $l = 1$, la force extérieure ajoute à l'énergie libre de la structure

¹⁴Rappelons que la “partie libre” consiste en les paires de bases fermant les structures latérales ainsi qu'en les simples brins qui les relient. Pour simplifier l'analyse, nous ne distinguons pas les longueurs l_b et l de ces deux types d'éléments.

secondaire un terme $n\phi(f)$ où

$$\phi(f) = \beta^{-1} \log [\sinh(\beta f) / \beta f] . \quad (3.14)$$

L'état dominant¹⁵ à la force fixe f s'obtient en minimisant l'énergie libre par rapport à la longueur de la partie libre,

$$G(f) = \min_n [E(n) - n\phi(f)] . \quad (3.15)$$

Les forces f_i pour lesquelles un réarrangement a lieu, correspondent aux points où $G(f)$ change de pente, i.e. où le n minimisant (3.15) saute de n_{i-1} à n_i . Nous les trouvons facilement à partir de la fonction $E(n)$,

$$\phi(f_{i+1}) = \min_{n_{i+1} > n_i} \frac{E(n_{i+1}) - E(n_i)}{n_{i+1} - n_i} . \quad (3.16)$$

Caractéristiques de la phase compacte et de la phase extensive

La statistique des sauts dans la phase compacte en dessous de la force critique est très différente de celle de la phase allongée à plus grande force. Le nombre de réarrangements de la structure secondaire dans l'intervalle $f \in [0, f_c]$ est fini et presque indépendant de la taille de la molécule, tandis que dans la phase extensive, le nombre de sauts par intervalle de force, $n(f)$, croît linéairement avec la taille N et peut être décrit par une densité $\rho(f) = n(f)/N$. Ceci reflète le fait qu'un nombre $O(N)$ de structures latérales réagissent simultanément à la force extérieure, chaque région locale se réarrangeant indépendamment à certaines forces de seuil, dont la densité de sauts $\rho(f)$ décrit la distribution.

Ces sauts sont plutôt simples, ne concernant qu'une ou deux hélices dans la plupart des cas. Par contre, les réarrangements à plus basses forces sont beaucoup plus complexes. En étudiant des chaînes aléatoires de taille $N = 2000$ nous avons trouvé que les réarrangements autour de la force critique consistent très souvent en un changement coopératif du repliement de 2-3 structures latérales voisines, et le nombre de bases participant à un seul réarrangement augmente significativement avec la taille de l'ARN. Nous revenons aux caractéristiques de ces grandes transitions structurelles plus loin.

Le comportement critique modifié : exposants et lois d'échelle

Pour chaque séquence aléatoire donnée, nous avons déterminé l'ensemble des $\{f_i\}$ et avons calculé les observables de l'état fondamental correspondant. À part l'élongation $L(f)$, nous avons considéré la hauteur moyenne \bar{h} de la représentation en relief de montagne qui est reliée au rayon de gyration.

¹⁵En nous restreignant à l'état dominant nous négligeons les fluctuations thermiques. Celles-ci ainsi que les effets dus à l'élasticité entropique limitent la résolution de l'élongation [TS95] et lissent les signaux dans les courbes force-élongation.

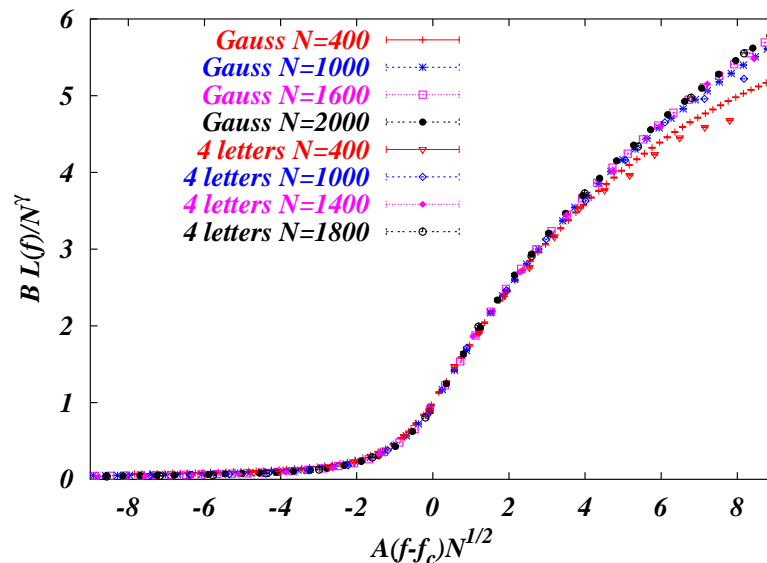


FIG. 3.7 – Superposition des courbes force-élongation pour le modèle à quatre lettres et le modèle gaussien (après multiplication des variables d'échelle par des facteurs A et B dépendant du modèle). L'exposant critique vaut $\gamma \approx 0.71$.

Le critère de Harris (voir la section 3.2.5) indique que le désordre est marginal pour la transition à la force critique. En supposant qu'il n'est pas (marginale) pertinent par rapport à l'exposant ν associé à la longueur de corrélation, nous nous attendons à ce qu'au voisinage de la force critique, l'élongation soit décrite par une loi d'échelle du type

$$L = N^\gamma \psi_L[N^{1/2}(f - f_c)], \quad (3.17)$$

par analogie avec la loi (3.10) correspondant au cas homogène, où $\gamma = 1/2$. La supposition que la valeur $\nu = 2$ n'est pas modifiée sera justifiée *a posteriori* par le fait qu'elle optimise la superposition des données numériques.

La loi (3.17) implique en particulier que l'élongation à la force critique croît en $L(f_c) \sim N^\gamma$. De plus, pour des grandes valeurs de son argument, la fonction d'échelle doit prendre la forme asymptotique $\psi_L(x) \sim x^{2(1-\gamma)}$ pour donner lieu à une élongation extensive, $L[f > f_c] \sim N(f - f_c)^{2(1-\gamma)}$. Celle-ci n'est plus linéaire en force, contrairement au cas homogène.

Dans le régime critique, les courbes force-élongation (moyennées sur quelques centaines de séquences pour chaque taille) se superposent bien pour une valeur $\gamma \approx 0.71 \pm 0.02$, voir figure 3.7. Plus remarquable encore, la fonction d'échelle et l'exposant critique sont essentiellement les mêmes pour le modèle à quatre lettres A, C, G et U et pour le modèle à interactions aléatoires gaussiennes, ce qui suggère que le comportement critique est universel.

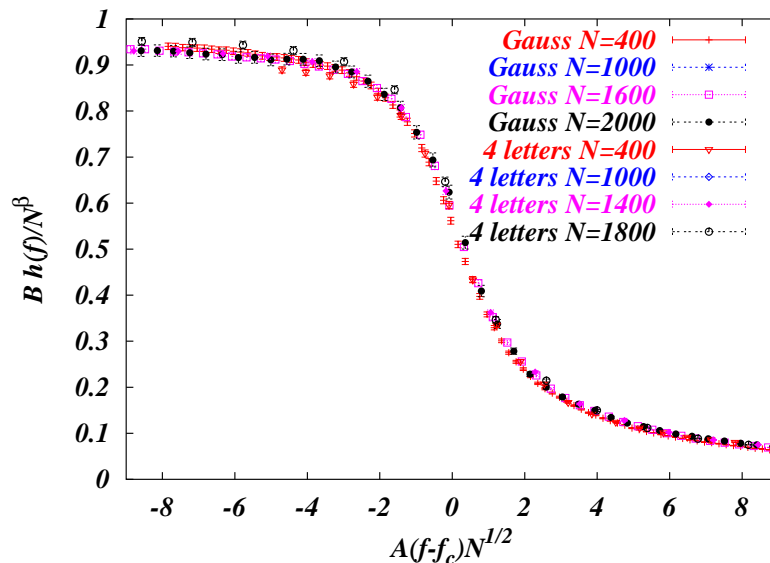


FIG. 3.8 – Superposition des données pour la hauteur moyenne \bar{h} du relief de montagne avec un exposant critique $\beta \approx 0.67$.

De même, les données numériques pour l'observable \bar{h} se superposent bien et indépendamment du modèle selon une loi d'échelle

$$\bar{h} = N^\beta \psi_h[N^{1/2}(f - f_c)], \quad (3.18)$$

avec un exposant critique $\beta \approx 0.67 \pm 0.02$, voir figure 3.8. Puisqu'à petites forces, la propriété structurelle \bar{h} ne peut pas dépendre de f , la fonction d'échelle $\psi_h(x)$ doit tendre vers une constante pour des grandes valeurs négatives de l'argument. En extrapolant (3.18) à $f = 0$, nous trouvons donc le comportement $\bar{h} \sim N^\beta$ décrivant l'état fondamental¹⁶. Rappelons que le rayon de gyration s'ensuit comme $R_g \sim N^{\beta\nu_{\text{SAW}}} \approx N^{0.39}$ comme nous avons expliqué dans le chapitre précédent.

Le fait que $\beta = \gamma = 1/2$ dans le modèle homogène, ainsi que le résultat numérique $\beta \approx \gamma$ dans le cas désordonné suggèrent l'égalité de ces exposants. Dans l'article [MKM02] nous donnons un argument heuristique en faveur de cette conjecture.

¹⁶En principe, l'exposant β pourrait être déterminé directement à partir des données en l'absence de force. Cependant, il se trouve que les effets de taille finie sont assez importants, ce qui peut être attribué à la proximité du point critique f_c . L'analyse du comportement critique tient explicitement compte de la dépendance en taille et permet donc d'extraire les exposants à $f = 0$ de manière plus nette.

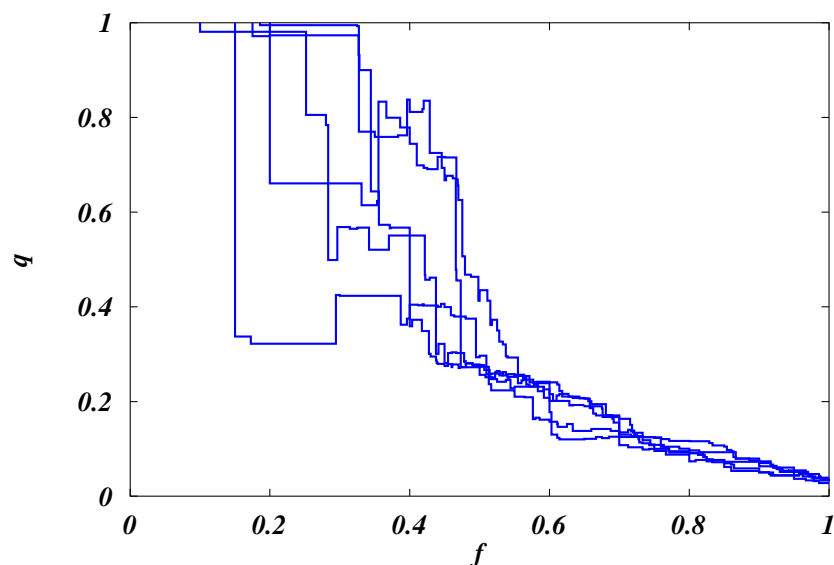


FIG. 3.9 – Le recouvrement de la structure secondaire avec l'état fondamental en fonction de la force pour 5 séquences d'un modèle à quatre lettres ($N = 1800$). Dans la région $f < f_c \approx 0.39$, quelques séquences présentent un grand réarrangement de la structure secondaire. Le régime critique est probablement le plus intéressant expérimentalement : un grand nombre de réarrangements relativement importants ont lieu dans une petite fenêtre de force. À grande force, les sauts sont très petits et ne révèlent pas de caractéristiques particulières du paysage d'énergie.

3.3.4 Discussion

Caractéristiques des réarrangements à petite force

En dessous de la force critique, les réarrangements sont complexes et requièrent l'ouverture de plusieurs hélices successives dont le nombre typique augmente avec la taille. Cependant, bien que la réorganisation des structures latérales soit très profonde, il y a également une grande partie des appariements qui sont conservés. La fraction moyenne de bases qui changent leur appariement lors d'un saut décroît approximativement en $N^{-0.25}$ avec la taille de la molécule. À la limite thermodynamique, des réarrangements macroscopiques sont donc exclus. Néanmoins, pour des chaînes de taille moyenne, les transitions structurelles en dessous de la force critique concernent souvent une grande fraction de la molécule. Ceci est illustré dans la figure 3.9 où nous affichons pour quelques séquences aléatoires le recouvrement de la structure secondaire avec l'état fondamental en fonction de la force.

D'un point de vue expérimental, de telles transitions structurelles prennent beaucoup de temps, comme l'illustre l'exemple simple de la bistabilité entre une hélice ouverte et une hélice fermée, observée par le groupe de Bustamante [LOS⁺01]. La fréquence du

signal télégraphique associée à l'ouverture et à la fermeture de l'hélice [LOS⁺01] est assez basse, de l'ordre de 5-20 Hz. Il faut donc s'attendre à ce que des réarrangements nécessitant la réorganisation simultanée de plusieurs hélices prennent facilement quelques secondes, voir quelques minutes. Ceci est comparable à l'échelle de temps nécessaire à un grand ARN afin de trouver son repliement natif. Pour observer les effets décrits ci-dessus, il est nécessaire de stabiliser la force extérieure pendant longtemps à une faible valeur de l'ordre de 1 pN. Cela touche aux limites des possibilités expérimentales actuelles, mais de telles manipulations devraient en principe être réalisables avec les techniques de pinces magnétiques.

Le régime critique est probablement le plus intéressant du point de vue du paysage d'énergie. D'une part, les réarrangements dans ce régime sont toujours complexes, sans qu'ils concernent autant d'hélices que les réarrangements à très petite force. Les temps d'activation sont donc plus petites, ce qui rend l'observation expérimentale plus accessible. D'autre part, le régime critique est très sensible à un changement de force : la fraction de bases qui changent leur appariement entre une force f et $f + df$ croît en $N^{0.3}$ tant que l'on reste dans la fenêtre critique où $N(f - f_c)^2$ est petit. En même temps, le nombre de réarrangements par unité de force est assez grand ($\sim N^{0.7}$), ce qui assure la coexistence de plusieurs états intermédiaires presque dégénérés, mais séparés de barrières d'activation.

Il est important de noter que l'échelle d'énergie ($\Delta E \sim f_c \Delta L$) associée aux transitions entre ces états intermédiaires est comparable à la *différence entre minima locaux* du paysage d'énergie plutôt qu'aux barrières d'activation (contrairement à la situation dans la plupart des expériences actuelles où des forces de l'ordre d'une dizaine de piconewtons sont appliquées). On peut donc espérer que des expériences effectuées autour de la force critique aident à éclaircir la dynamique de repliement au-delà de l'ouverture et de la fermeture de simples hélices. Il serait intéressant, par exemple, d'étudier la relaxation de la structure secondaire après un petit changement de force.

Le paysage d'énergie vitreux et les réarrangements sous l'action d'une force

Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction de ce chapitre, une force extérieure représente une perturbation inhabituelle du paysage d'énergie. Elle agit en premier lieu sur les paires de bases au voisinage de la partie libre, tandis que l'intérieur du globe replié est écranté de l'influence directe de la force. Par conséquent, son effet est différent de celui du couplage de deux répliques par rapport à leur recouvrement (voir la section 2.3.3) où la répulsion correspond à une perturbation plus ou moins homogène à travers le système entier¹⁷. Dans un sens, cette différence ressemble à celle entre les

¹⁷Ceci constitue une différence par rapport au polymère dirigé en 1+1 dimensions étudié dans [Méz90]. Dans ce système plus simple, la méthode du couplage de deux répliques donne d'une part la loi d'échelle

barrières en $N^{1/2}$ dans l'ensemble de tous les états fondamentaux et les barrières en $N^{1/4}$ que l'ARN franchit durant sa polymérisation (voir la section 2.3.3). Ces dernières transitions ainsi que les transitions induites par la force extérieure ne représentent qu'un sous-ensemble particulier de toutes les transitions possibles. Leurs propriétés sont reliées aux changements extérieurs imposés - l'ajout d'un nouveau bout de simple brin à l'extrémité de la séquence dans la polymérisation et la variation de la force dans les micromanipulations.

À petite force, les réarrangements consistent essentiellement en la division en deux de grandes structures latérales, ce qui requiert la libération d'un petit nombre de bases à l'intérieur d'une grande structure. Ceci est comparable à l'effet d'un "pinçage" que Bundschuh et Hwa ont proposé pour caractériser l'échelle d'énergie associée à une certaine taille [BH02b]. Comme nous avons expliqué dans la section 2.3.3, la différence d'énergie entre l'état fondamental et les excitations générées par ce type de perturbation est en général plus petite que celle entre deux états métastables génériques. Le même raisonnement s'applique également aux excitations induites par une force extérieure.

Le diagramme de phase

Les propriétés physiques de l'ARN désordonné en fonction de la température et de la force appliquée sont résumées dans le diagramme de phase, voir figure 3.10. À haute température ($T > T_d$), l'ARN est dénaturé dans le sens où sa configuration n'est pas compacte mais consiste en une succession de petits globules contenant toujours des structures secondaires. À la température T_d , la molécule se compacte et forme un globule fondu (ou liquide) pour lequel un grand nombre de structures secondaires contribuent à la thermodynamique. À basse température, en dessous de T_g , l'ARN se trouve dans une phase vitreuse caractérisée par un paysage d'énergie rugueux avec une structure très riche. Dans cette phase, le désordre se manifeste dans les propriétés géométriques du repliement : les longs liens sont plus fréquents que dans la phase liquide, et par conséquent, le rayon de gyration est plus grand. Le changement de l'exposant associé est probablement le meilleur indice de l'existence d'une phase vitreuse.

Lorsqu'une force constante est appliquée aux extrémités de l'ARN, l'état compact demeure dans l'état globulaire jusqu'à une force critique f_c où une transition du second ordre vers une phase étirée a lieu. La dépendance qualitative de f_c en fonction de la tem-

$q(\epsilon; L) = \Phi(\epsilon/L^\theta)$ pour le recouvrement, confirmant la valeur théorique $\theta = 1/3$. D'autre part, pour la réponse à une force transverse appliquée à l'un des bouts, on trouve le résultat $\overline{x}_{\text{th}}(f; L) = L^\zeta \Psi(fL^\zeta/L^\theta)$, x étant le déplacement transverse du bout par rapport à la position d'équilibre. Cette loi d'échelle reflète la longueur caractéristique L^ζ ($\zeta = 2/3$) des déplacements transverses *et* met en relation l'échelle d'énergie due à la force, fL^ζ , avec l'échelle d'énergies d'excitations macroscopiques, L^θ . Dans ce cas particulier, la réponse à une force donne accès au *même* exposant d'énergie, θ . Ceci est dû au fait que les deux perturbations, $\epsilon \cdot q$ et $f \cdot x$, sont comparables dans le sens où elles agissent de manière homogène sur le système.

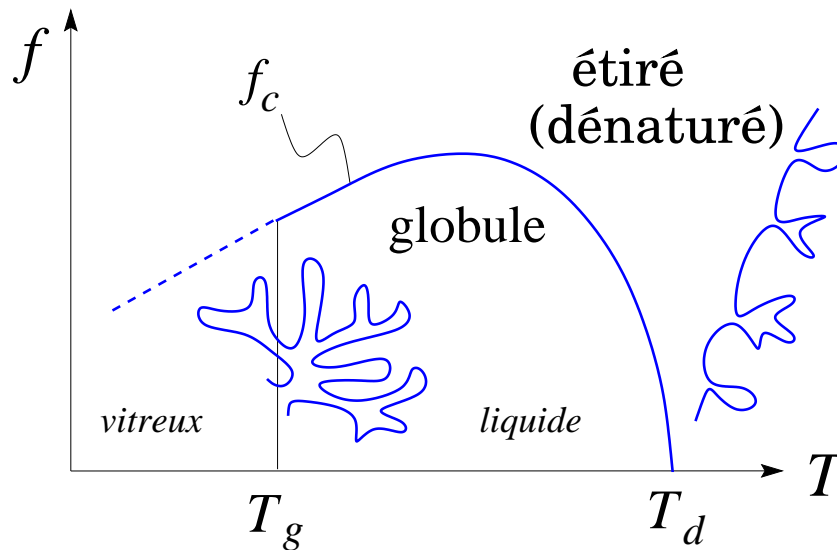


FIG. 3.10 – Diagramme de phase en fonction de la température et de la force.

pérature a été établie pour le régime non-vitreux dans la section 3.2.4 : suffisamment loin de la dénaturation (mais toujours au-dessus de T_g), f_c est d'origine entropique et croît essentiellement linéairement avec la température. À plus haute température, elle commence à décroître et finit par s'annuler à T_d .

Le comportement critique autour de $f_c(T)$ dans la phase liquide est celui d'un ARN homogène. En dessous de T_g , il est modifié de manière relativement subtile, parce que le désordre n'est que marginalement pertinent. Tandis que l'exposant $\nu = 2$ décrivant la longueur de corrélation reste le même, l'exposant associé au comportement critique de l'élongation est modifié par rapport au liquide. Ceci est étroitement lié au changement de la loi d'échelle pour le rayon de gyration dans la phase vitreuse.

RNA secondary structure under tension

M. Müller, F. Krzakała et M. Mézard

Euro. Phys. Jour. E, **9** : 67–77 , 2002

The secondary structure of RNA under tension

M. Müller^a, F. Krzakala, and M. Mézard

Laboratoire de Physique Théorique et Modèles Statistiques, Bât. 100, Université Paris-Sud, F-91405 Orsay, France

Received 18 June 2002 and Received in final form 23 September 2002 /

Published online: 22 November 2002 – © EDP Sciences / Società Italiana di Fisica / Springer-Verlag 2002

Abstract. We study the force-induced unfolding of random disordered RNA or single-stranded DNA polymers. The system undergoes a second-order phase transition from a collapsed globular phase at low forces to an extensive necklace phase with a macroscopic end-to-end distance at high forces. At low temperatures, the sequence inhomogeneities modify the critical behaviour. We provide numerical evidence for the universality of the critical exponents which, by extrapolation of the scaling laws to zero force, contain useful information on the ground-state ($f = 0$) properties. This provides a good method for quantitative studies of scaling exponents characterizing the collapsed globule. In order to get rid of the blurring effect of thermal fluctuations, we restrict ourselves to the ground state at fixed external force. We analyze the statistics of rearrangements, in particular below the critical force, and point out its implications for force-extension experiments on single molecules.

PACS. 87.14.Gg DNA, RNA – 87.15.-v Biomolecules: structure and physical properties – 64.60.-i General studies of phase transitions

1 Introduction

The last years have witnessed a lot of progress in the experimental study of force-induced unfolding of biomolecules using techniques such as atomic-force microscopy and optical tweezers. A variety of experiments on RNA and single- or double-stranded DNA have been devised [1–7] to study the behaviour of these polymers under an external force which allows to determine their elastic properties and provides new insight into the folding problem of biomolecules. In particular, these techniques offer a means to investigate the energy landscape and folding pathways and to extract specific thermodynamic parameters. In this paper, we will study the force-induced unfolding of RNA or single-stranded DNA, with special emphasis on the effects of sequence heterogeneity (disorder).

Several theoretical models to describe molecules under external forces have been investigated for the case of general heteropolymers [8–11], polyelectrolytes [12], DNA-unzipping [13–16] and unfolding of RNA [17, 18]. Within a mean-field treatment of heteropolymers [8, 9], disorder has been shown to be relevant in the glassy low-force regime where a random energy model applies. In a critical region around the (first-order) denaturation transition the disorder induces a necklace structure in the polymer chain which is intermediate between the globular and the fully extended state. The breaking of individual globular do-

main upon increasing the force leads to step-like force-extension characteristics [10].

In the unzipping of a DNA double-strand sequence, heterogeneity has been shown to modify the critical behaviour of the opening phase transition [13, 14] which has been characterized in terms of the statistics of elementary unzipping events below the threshold force.

The case of unfolding of RNA is more involved in that the ground state usually has a much more complicated structure than a single hairpin (the equivalent of a DNA double strand) and competes with a large number of low-lying metastable states into which the system can be driven by the external force. On the other hand, for the same reason, the force-extension characteristics at low enough forces may reveal more information about the energy landscape of the molecule [17, 11]. In previous articles, force-extension curves have been discussed for a homogeneous model of RNA [19, 20] as well as for disordered RNA [18]. The homogeneous description exhibits a second-order phase transition from a collapsed globular state to an extended necklace-like phase. We will show that the phase transition persists under the introduction of sequence disorder. However, at low temperatures, the critical behaviour is modified and the globular phase becomes glassy which manifests itself in the statistics of jumps in force-extension curves. At higher temperatures, the homogeneous description has been argued to be a valid coarse-grained description of random RNA [20].

^a e-mail: muller@ipno.in2p3.fr

The extended phase is not very sensitive to disorder, and random RNA exhibits rather few specific features in pulling experiments [7,18]. Indeed, the fit of the experimental data in [19] based on a homogeneous model is remarkably good. The force-extension curves of naturally selected RNA are usually richer than those of random sequences of the same size which probably reflects the bias of naturally selected RNA towards sequences with a particularly stable ground state and favourable folding characteristics [21,18].

In this paper we concentrate on the low forces and the critical window around the above-mentioned second-order phase transition. This regime exhibits a lot of interesting features that are intimately related to the energy landscape of the molecule. It is in this regime that the most complex force-induced rearrangements in the secondary structure take place. These are expected to proceed *via* a slow activated dynamics giving rise to long equilibration times and ageing or hysteresis effects (see [6] for related experiments done on DNA). The latter are probably relevant for the behaviour of large RNA molecules such as messenger RNA or heteronuclear RNA. Most current experiments, however, usually operate at forces comparable to the threshold force to unzip double-stranded DNA (≈ 10 pN) which is considerably larger than the critical force mentioned above. In sufficiently small molecules, these experiments allow for the identification of parts of the folding pathway in short molecules [3,17,2]. The nature of the events that dominate the force-extension curve in the extensive phase is however rather simple in that they are transitions between two competing foldings of a relatively small domain. The results of this article show that the large-scale energy landscape should be studied at forces in the critical window and at modest chain extensions, and we give qualitative predictions for the expected behaviour of random disordered molecules in this regime.

The relative smoothness of the force-extension curves of RNA hides a large part of the structural transitions in the molecule and thus hinders the understanding of the underlying processes. The authors of [18] trace the origin of the smoothness to essentially three factors: i) the thermal effects in the form of entropic elasticity that naturally limit the resolution of any force-extension experiment [22], ii) the contribution of several competing secondary structures with comparable free energy but different extension, and, most importantly, iii) the fact that several globules are pulled upon in parallel so that opening one of them may be accompanied by the reclosure of a neighbouring one, smearing out the jumps in extension that one would observe from a single globule.

Since we do not aim at giving an accurate prediction of force-extension curves, but rather want to analyze the dynamics in the secondary structure, we will circumvent the first two smoothing effects by eliminating thermal fluctuations: Instead of averaging over all secondary structures with their appropriate Boltzmann weight (at fixed force) we restrict ourselves to the structure with the lowest free energy which allows us to get rid of the entropic fluctuations in the phase space of pairing patterns. Furthermore,

we characterize the extension of a given secondary structure by its fully stretched end-to-end distance rather than the extension in real space which is subject to thermal fluctuations. In this way, we can analyze the direct signatures of sequence disorder as a succession of sharp jumps in the equilibrium force-extension characteristics. In an experiment, they would show up as bistabilities [3,6,17] that are further smoothed by entropic fluctuations of the extension. However, we believe that (at low enough temperatures) thermal effects do not alter the physics in an essential way apart from blurring the data to a certain extent.

The second-order phase transition mentioned above appears in a new light if considered from the point of view of sequence specific response. The critical force separates two qualitatively different regimes: At low force, the chain folds into very few large globular structures that may rearrange dramatically upon an increase of the force under quasi-equilibrium conditions, thus revealing information about folding pathways and the energy landscape. On the other hand, at forces above the threshold the chain organizes into a necklace-like structure with an extensive number of small globules linked by unpaired single strands. The disorder manifests itself only weakly in this phase since the sequence specific response of the individual globules is averaged out when the force pulls on an extensive number of structures in parallel. In the high-force regime the force-extension curves become indeed rather featureless.

In this paper, we study in detail the critical behaviour in the vicinity of the threshold force. We find numerically that different disordered models belong to the same universality class and derive relations between the critical exponents. Extrapolation of the scaling laws to zero force allows us to obtain the scaling behaviour of various observables in the ground state. In particular, we discuss the scaling of the radius of gyration and the implications for the mean monomer density in real space. Furthermore, we characterize the statistical properties of the jump-like events in the low-force and the critical regime, emphasizing the relevance of these results with respect to single-molecule experiments.

The models are introduced in Section 2. In Section 3 we review the properties of homogeneous RNA and introduce the relevant structural observables. The algorithm to obtain the force-extension curve for disordered RNA is explained in Section 4, and the results are presented in Section 5. Finally, Section 6 concludes with a summary and an outlook including experimental perspectives.

2 Models for RNA

2.1 Topological rules for the secondary structure

We will use a simplified model of RNA as in previous works [23–25], describing the folding of a sequence of N bases $\{b_i\}_{i=1,\dots,N}$ by its secondary structure, *i.e.*, the list of ordered base pairs (b_i, b_j) with $i < j$, whereby each base can at most be paired to one other base. As usual in the prediction of secondary structure (see, *e.g.*, [26]), we

do not allow for pseudo-knots, *i.e.*, base pairs (b_i, b_j) and (b_k, b_l) with either $i < k < j < l$ or $k < i < l < j$. In order to account for the importance of the base stacking energy as compared to the covalent pairing energy, we do not allow for isolated base pairs that are known to be thermodynamically unstable.

The free energy of a given secondary structure is taken to be the sum of independent local contributions, but instead of using the extensive set of rules established by Turner's group [27] (as has been done in [18]) we study two simplified models which we believe to reproduce the essential features of the energy landscape and the force-extension curves in particular.

2.2 The models

The *Gaussian model* assigns a random pairing energy $e_{i,j}$ to each base pair (b_i, b_j) where the $e_{i,j}$'s are independent Gaussian variables with zero mean and unit variance. Studies of the glass phase with such a model have shown that it captures well the relevant features of more elaborate models. However, due to the absence of detailed microscopic constraints and the continuous distribution of pairing energies the model approximates fairly well the behaviour of real disordered RNA on a coarse-grained level where the bases b_i correspond to small substrands of the real molecule and the $e_{i,j}$'s describe effective pairing affinities between those substrands. As a consequence, the finite-size effects are smaller than in a model with detailed sequence-dependent interactions.

The *four-letters model* starts from a sequence of letters A, C, G, U and assigns a stacking energy to each couple of adjacent base pairs where only Watson-Crick (A-U and G-C) and wobble (G-U) pairs are allowed. We have taken the thermodynamic values used in Zuker's algorithm [28] at 37°. The model differs from the full set of Turner rules mainly by the neglect of entropic costs for hairpin and internal loops and bulges. The inclusion of these terms would reshuffle the low-lying states without altering the qualitative response to an external force. We therefore expect the results of the four-letters model to be representative for real molecules.

Both toy models behave qualitatively in the same way but the finite-size effects are stronger in the four-letters model (and there is a (trivial) bunching of jump events at higher forces due to the discreteness of the stacking energies which does not occur in the Gaussian model with continuous energies). For most of the subsequent discussion we will present the results of the Gaussian model. However, we will refer to the more realistic four-letters model when we discuss signatures of specific single molecules.

Similar toy models have been considered by many authors to study the low-temperature behaviour of RNA [23, 29, 30, 25, 31]. There is wide agreement that at sufficiently low temperatures the sequence heterogeneity leads to a glassy phase where the molecule is trapped within a rugged energy landscape whose precise character is still not very well understood, however.

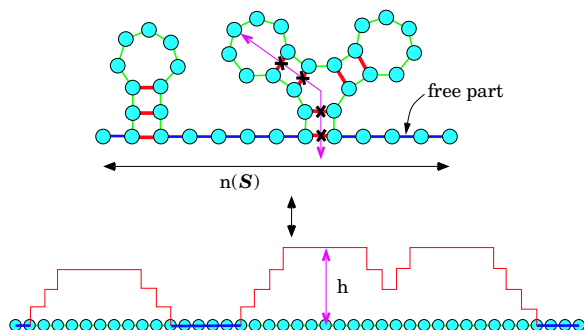


Fig. 1. The standard representation (top) of the secondary structure and the corresponding mountain height representation (bottom): up- or downward steps correspond to bases that are paired down- or upstream in the sequence, respectively. The height of the mountain above a given base equals the number of bonds to be crossed when linking it to the free part of the chain (bases at the bottom of the standard representation) following helices and internal loops, as indicated by the arrow. The average height \bar{h} of the mountain is a measure of the typical distance between peripheral bases. The extension $n(S)$ of a secondary structure is taken to be the length of the free part. This equals the number of backbone elements and globules the free part contains.

We note in passing that there could also be a glass transition on the level of the tertiary structure, *i.e.*, the arrangement of a given secondary structure in real space, as has been predicted in [32]. Of course, this aspect of the energy landscape cannot be captured by our description restricted to the secondary structure.

2.3 RNA under tension

An external force couples to the system by adding a term $-\mathbf{f} \cdot (\mathbf{r}_N - \mathbf{r}_1)$ to the total energy. The end-to-end distance of the molecule $\mathbf{r}_N - \mathbf{r}_1$ can be decomposed into a sum of contributions from the globules in the chain and from the single strands linking them. We keep the description simple by adding an energy $-fl$ for each backbone element in a linker strand and for each globular structure within the free part of the chain, see Figure 1. Thereby, l denotes the (mean) projection of the chain elements onto the direction of the force. This description eliminates by hand the thermal fluctuations due to entropic elasticity. By treating the closing bonds of the globules on the same level as the linker elements, we most probably underestimate their contribution to the free length, but we do not expect the physics to depend crucially on these details.

Finally, the total energy of a secondary structure S reads

$$E_N(S) = \sum_{\text{pairs or stacks} \in S} e_{\text{pair/stack}} - fl \cdot n(S), \quad (1)$$

where $n(\mathcal{S})$ is the extension of the chain in the direction of the force, see Figure 1.

3 Review of homogeneous RNA

We briefly review the results [33,20] obtained in the framework of a homogeneous description of RNA where all pairing or stacking energies are independent of the interacting bases. This model applies to homogeneous polymers (periodic self-complementary series ATAT... or GCGC...) as well as to disordered sequences at high temperatures on a coarse-grained level. For details we refer the reader to [20].

3.1 Radius of gyration

The radius of gyration R_g of the molecule is an important and experimentally accessible observable. Its leading dependence on the length N of the molecule can be derived most easily from the mountain height representation of the secondary structure [24], see Figure 1.

The height of the mountain above the linear sequence indicates the number of bonds that are crossed when one follows the helices and internal loop in the secondary structure from the free part to the considered base. The average height \bar{h} is proportional to the typical distance between peripheral bases within the secondary structure. If the latter is not too dense in real space, one may assume that the helices and loops essentially follow a random walk in space, and the radius of gyration is expected to scale as $R_g \sim \bar{h}^{1/2}$. The thermal average of the typical mountain height scales like $N^{1/2}$ since the ensemble of possible mountains is in one-to-one correspondence to a random walk in a half-plane, constrained to return to the origin after N steps (possibly with a constant energy gain per up/down step) whose typical excursion is well known to scale like $N^{1/2}$.

For the homogeneous model we thus deduce $R_g \sim N^{1/4}$ which leads to a monomer density in three-dimensional space scaling like $N/R_g^3 \sim N^{1/4}$. As pointed out in [33,20] this result can only be valid for small enough N since for large molecules excluded-volume effects become essential and cannot be disregarded in the discussion of secondary structure. This makes the usual approaches to RNA folding questionable in the case of large molecules since they are all based on the assumption that tertiary interactions can safely be neglected when the secondary structure is determined. However, we will see below that sequence disorder reduces this problem in that it increases the typical base-to-base distance in the molecule just sufficiently to avoid too high monomer densities in real space.

Finally, let us introduce the notion of the hierarchy level of a base within the secondary structure which we define as the number of multi-branched loops (loop junction of at least three stems) crossed when following the secondary structure from the free part to the base. It indicates how deep in the tree-like structure of the pairing pattern the base is located. It will be a useful quantity

to characterize the size and importance of force-induced rearrangements.

3.2 Distribution of base pair lengths

The mountain height is closely connected to the distribution of base pair lengths (defined as $l = j - i + 1$ for a base pair (b_i, b_j)). In the homogeneous case, the probability distribution $P(l) \sim l^{-3/2}$ (cut off on a scale $\mathcal{O}(N)$) derives directly from the partition function of a molecule with N bases that scales as $Z_N \sim \zeta^{-N}/N^{3/2}$ [33,34]. The distribution of base pair lengths will be modified in the presence of disorder since there will be a tendency to pair bases over longer distances in order to take advantage of favourable pairing energies. This will result in lowering the exponent $3/2$.

The scaling of the average height can be derived from the distribution $P(l)$ by noting that the total area under the mountain can be written as the sum over the length of each base pair,

$$\bar{h} = \frac{1}{N} \sum_{l=1}^N P(l)l \sim \frac{1}{N} \int_1^N \frac{l}{l^{3/2}(1-l/N)^{3/2}} dl \sim N^{1/2}. \quad (2)$$

3.3 Critical behaviour under an external force

Let us now consider the coupling of a homogeneous molecule to an external force. Up to a critical force f_c the molecule is in a globular state and its extension remains very small. At high forces the molecule is extended, the number of bases in the free stretched part being proportional to N . The number of globules is extensive as well, and for forces near to the threshold it is essentially proportional to the extension since the mean length of the linker strands in between is only weakly force dependent. As discussed in [19,20], a second-order phase transition takes place at the critical force, and both the height and the extension obey a scaling law of the form

$$h = N^{1/2} \psi_h [N^{1/2}(f - f_c)] \quad (3)$$

and

$$\mathcal{L} = N^{1/2} \psi_{\mathcal{L}} [N^{1/2}(f - f_c)] \quad (4)$$

as is obtained from a careful analysis of the partition function of a homopolymer under tension, *cf.* [20]. The scaling argument of the functions ψ_h and $\psi_{\mathcal{L}}$ indicates the existence of a correlation length that takes the form

$$N_c \sim (f - f_c)^{-2}. \quad (5)$$

It is related to the size of the largest globules in the chain in the sense that a finite fraction of all bases belongs to globules of size $N_{\text{glob}} \geq N_c$.

The critical force results from a competition between the energy gained from the external force upon increasing the free length of the chain and the corresponding

free-energy loss. While the latter is of almost purely entropic origin in the homogeneous case (since the extension can increase without reducing the number of paired bases and thus without energy cost) there is also an enthalpic component to be included for disordered models. (In our effective zero-temperature study it is even the unique contribution.) Using a Harris-type criterion [20], one can show that the disorder will only marginally affect the correlation length and the corresponding exponent will remain the same, $\nu^{\text{dis}} = \nu^{\text{pure}} = 2$. At high temperatures, the disordered models turn out to be in the same universality class as homogeneous RNA, while at low temperatures disorder modifies the other critical exponents and renders the globular phase glassy.

4 Disordered RNA

4.1 Observables

Since in a homogeneous chain a lot of energetically equivalent states exist that can be smoothly transformed into each other in phase space (by sliding the base pairing pattern), the secondary structure will respond to an applied force in an essentially continuous manner. However, the force-induced unfolding of disordered RNA proceeds in stepwise rearrangements that occur at well-defined forces when thermal smearing is neglected. We will describe these jump-like events statistically, averaging over all events in a narrow force window. The density of jumps, *i.e.*, the frequency of occurrence per unit of force is small below the critical force, since the polymer is trapped in metastable states, but it becomes extensive in the high-force regime. The relevant characteristics of rearrangements are their sizes as given by the number of bases that change their pairing behaviour and the depth that is best captured by the largest hierarchy level involved in the rearrangement.

4.2 Numerical methods

The force-extension curves of random RNA were obtained numerically by determining all jump events, *i.e.*, the set of forces at which the lowest free-energy state changes, together with the corresponding secondary structures. To this end, we first solved recursively the folding problem restricted to the substrand from bases i to j with the standard $\mathcal{O}(N^3)$ algorithm introduced by McCaskill [35, 36], that yields the ground-state energies $E_0(i, j)$ and the corresponding configurations (see Fig. 2). In a second step, we determined the ground state $E_L(j; n)$ of the substrand from bases 1 to j constrained to contribute n elements to the free part of the chain (with $n < j$). This can be done using the recursion (see [18] for a similar algorithm)

$$E_L(j; n \geq 2) = \min \left\{ \min_{k=n, \dots, j-2} E_L(j-1; n-1), \left[E_L(k-1; n-2) + e_{k,j} + E_0(k+1, j-1) \right] \right\}, \quad (6)$$

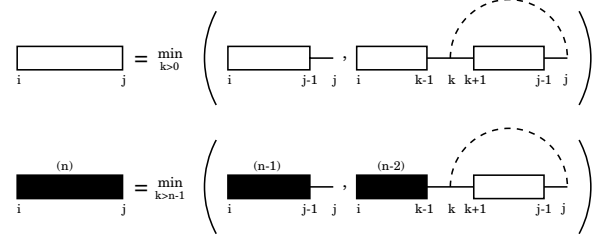


Fig. 2. Schematic representation of the recursions over substrand lengths used to calculate the ground-state energy $E_0(i, j)$ of the substrand from base i to j (white boxes, top), and the ground-state energy $E_L(j; n)$ of the substrand from base 1 to j constrained to have extension n (black boxes, bottom).

starting from the initial conditions

$$\begin{aligned} E_L(j; 0) &= 0, \\ E_L(2; 1) &= E_0(1, 2), \end{aligned} \quad (7)$$

$$E_L(j > 2; 1) = e_{1,j} + E_0(2, j-1). \quad (8)$$

In order to keep the explanation of the algorithm simple, the restriction that isolated base pairs are not allowed has been dropped here and we only treated the case of pairing interactions (as in the Gaussian model). Both stacking energies and the exclusion of isolated base pairs can be taken into account by a minor modification of the algorithm.

The lowest free energy for fixed extension n in the presence of force is given by $E_L(N; n) - f \cdot n$. The extension n_0 at vanishing force is the value of n that minimizes $E_L(N; n)$. The forces f_i at which jumps of the ground-state configuration occur, together with the respective extensions n_i , are iteratively determined from

$$f_{i+1} = \min_{n_{i+1} > n_i} \frac{E_L(N; n_{i+1}) - E_L(N; n_i)}{n_{i+1} - n_i}, \quad (9)$$

n_{i+1} being the argument that minimizes the right-hand side. (In the case of a degeneracy we chose the largest possible n_{i+1} .)

Once all force intervals and the corresponding lowest free-energy states were known, we averaged the single state observables (extension, height, maximal hierarchy level) over all states in a window of width $\Delta f = 0.01$, while the characteristics of jump events (density, size, hierarchy level involved) were averaged over all events in a window of width $\Delta f = 0.05$. Finally, a quenched average over about 1000 samples of fixed lengths in the range $N = 200$ –2000 was performed.

5 Results

5.1 General properties of globular and extended phase

In Figure 3 we plot the extension per base, $n(f)/N$, as a function of the force for the Gaussian model. Above the

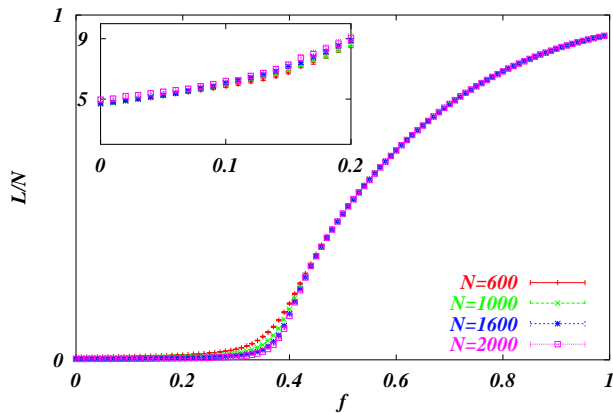


Fig. 3. Extension per base as a function of the force (Gaussian model, average over 1000 samples). The extension in the high-force regime is clearly seen to be extensive. The inset shows the total extension of the chain in the low-force regime. There the extension is very small and the chain typically does not contain more than 3 globules.

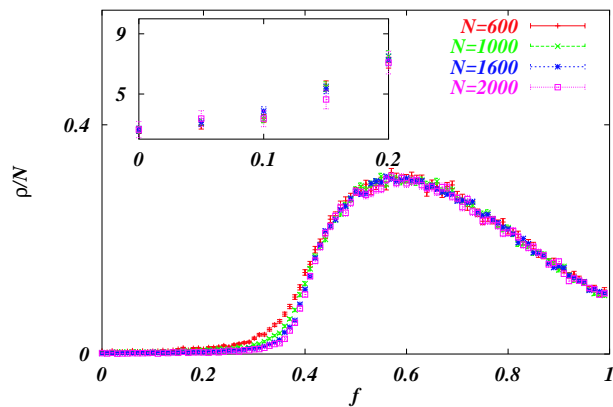


Fig. 4. Frequency of occurrence of rearrangements per unit of force, divided by N . In the high-force regime the rearrangements occur locally and effect mostly single globules. The associated jump forces are uncorrelated and thus the frequency of events is proportional to the number of globules and thus to N . The inset shows the unscaled frequency of occurrence in the low-force regime. Up to the critical force $f_c \approx 0.39$ only few jumps occur on average, their number being essentially independent of the size of the molecule.

critical force $f_c \approx 0.39$ the chain contains an extensive number of globules, and its free length is proportional to the number of bases N . At low forces, the extension is very small and on average there are only very few globules in the chain, independently of N . This is also reflected in the frequency of rearrangements, see Figure 4: Jumps are very rare below the critical force, on average only one or two usually rather important rearrangements take place up to $f = 0.2$. The situation changes dramatically above f_c where the force pulls on an extensive number of essentially independent globules in parallel and a typical rearrangement only involves a single globule. In a model with continuously distributed pairing energies, the glob-

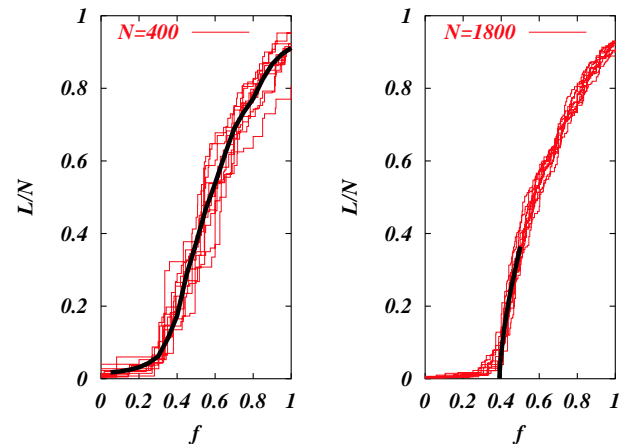


Fig. 5. Force-extension plot for 10 random sequences of the four-letters model for $N = 400$ (left) and $N = 1800$ (right). The magnitude of the sample-to-sample fluctuation decreases clearly when N increases, demonstrating that the system is self-averaging in the extensive phase. The continuous line in the left plot indicates the sequence-averaged extension, while in the right figure we plot the non-linear critical law $\mathcal{L} \sim (f - f_c)^{2(1-\gamma)}$ to be expected in the thermodynamic limit.

ules rearrange or break up at well-defined forces that are practically uncorrelated among each other. Thus, the frequency of such events is expected to be proportional to the number of globules and thus scales like N . The release of bases, *i.e.*, the increase of extension per jump event is finite and rather small on an experimental scale so that the force-extension characteristics become very smooth. This effect is also at the basis of self-averaging of the force-extension curves in the extensive phase as illustrated in Figure 5. The sample-to-sample fluctuations in the extension per base at a given force decrease with N since the force acts on a large number of globules in parallel and disorder effects are averaged out.

The rearrangements are much more interesting in the low-force regime and around the critical force. Far below the critical force a typical rearrangement consists in a large globule breaking up in several (up to 7) smaller substructures. Thereby, the rearrangement is not just superficial, that is, it does not only concern the uppermost levels of the hierarchical tree structure but typically involves a hierarchy level that grows like $N^{0.5}$ as we will see later. It reaches an average of 8 for $N = 1600$ at low forces in the Gaussian model which means that (at least) a cascade of 8 successive helices has to open up (and close differently) during the rearrangement. This involves a complicated pathway in the space of secondary structures, and the equilibration times in this regime of forces will be considerable. One therefore expects to see slow dynamics in real experiments that may reveal interesting information on the intermediate stages of the refolding.

A rearrangement is not necessarily restricted to a single globule but can involve several neighbouring ones. This sort of cooperativity is particularly large slightly below the critical force where on average 2–3 globules are involved.

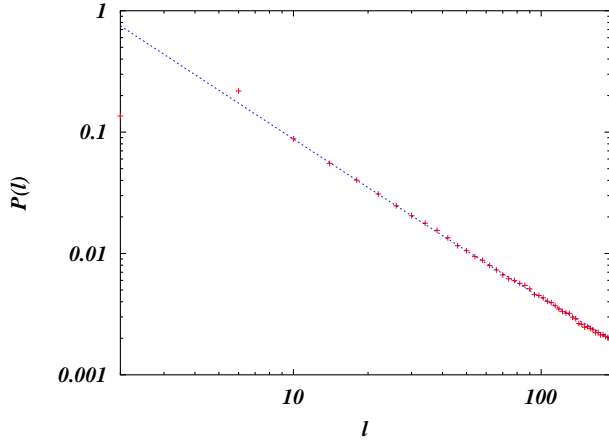


Fig. 6. Histogram of base pair lengths at $f = 0$, averaged over sequences of length $N = 1600$ in the Gaussian model. The curve is the best fit to $\text{const} \cdot l^{-\alpha}$ which yields $\alpha \approx 1.34$.

At higher forces the most frequent events are those where one small globule is opened up and stretched out.

5.2 Scaling and universality

Let us now examine the phase transition and the associated critical behaviour in more detail. In analogy to the homogeneous case, equations (3) and (4), we expect the mountain height and the extension to obey scaling laws

$$h = N^\beta \psi_h[N^{1/2}(f - f_c)] \quad (10)$$

and

$$\mathcal{L} = N^\gamma \psi_{\mathcal{L}}[N^{1/2}(f - f_c)]. \quad (11)$$

Note that we used the same correlation length exponent $\nu = 2$ as in the homogeneous case as suggested by a Harris-type criterion [20]. The exponents β and γ may however be modified by the disorder. Since forces sufficiently below f_c are irrelevant for the structural properties such as the height h , it follows that the scaling function $\psi_h(x)$ tends to a constant for large negative values of x . Thus, we can extrapolate (10) to $f = 0$ and obtain the scaling behaviour in the ground state $h(f = 0) \sim N^\beta$. The determination of β via the critical scaling allows for a much better control of finite-size effects than a simple fit at $f = 0$ (as was done in [30]) where small samples are effected by the vicinity of the critical point.

In equation (2) we established a general relation between the average height \bar{h} and the probability distribution of base pair lengths, $P(l)$, both in the absence of force. In analogy to the homogeneous case, we expect a power law decay for the probability of long pairings according to $P(l) \sim l^{-\alpha}$, from which we derive the scaling of the average height as $\bar{h} = 1/N \sum_{l=1}^N P(l)l \sim N^{2-\alpha}$, and hence $\alpha = 2 - \beta$. Since the disorder favours distant pairings in order to gain energy from particularly well-matching sub-strands, we expect α to be lowered with respect to the homogeneous case (where $\alpha = 3/2$).

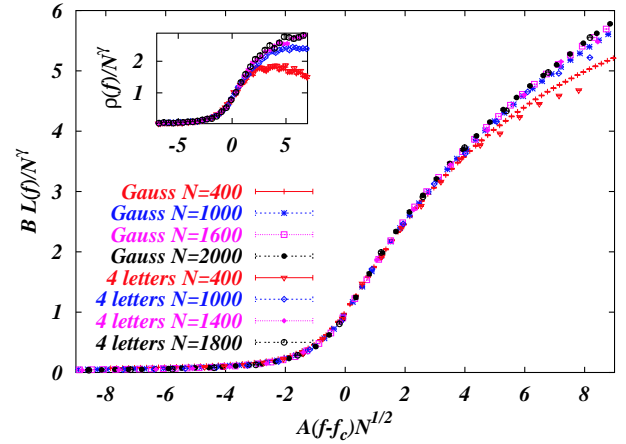


Fig. 7. Universal critical scaling of the extension for both the Gaussian and the four-letters model. A and B are model-dependent constants. The critical exponent is found to be $\gamma \approx 0.71$. The inset shows a scaling plot of the frequency of rearrangements in the Gaussian model with the same critical exponent γ .

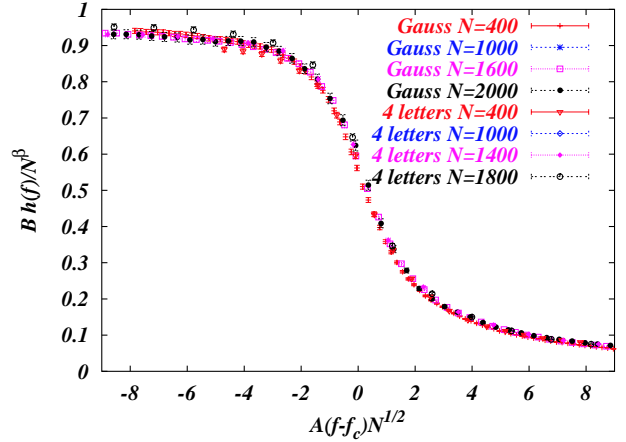


Fig. 8. Universal critical scaling of the mountain height h for both disordered models. The constants A and B are the same as in Figure 7. From the extrapolation to large negative values, the scaling $h(f = 0) \sim N^\beta$ can be extracted with $\beta \approx 0.67$.

In Figure 6 we plot the sample averaged probability distribution $P(l)$. The best fit to a power law yields $\alpha \approx 1.340 \pm 0.003$. Scaling plots for the height and the extension, with optimized values for f_c , $\gamma \approx 0.71 \pm 0.02$ and $\beta \approx 0.67 \pm 0.02$ are shown in Figures 7 and 8 for both the Gaussian ($f_c = 0.395 \pm 0.005$) and the four-letters model ($f_c = 0.39 \pm 0.01$). Note that the exponent relation $\beta = 2 - \alpha$ is very well confirmed by the numerical data. After a global rescaling of the axes with model-dependent factors A and B , the curves all collapse on a single scaling function. This strongly suggests that the two different disordered models belong to the same universality class, implying that the critical exponents are independent of

the specific kind of disorder (but clearly distinct from the values in the homogeneous case).

In the critical regime, there are numerous globules in the chain, each of which defines a (randomly distributed) force where it will rearrange. The frequency of rearrangements is thus proportional to the number of globules which in turn is proportional to the extension, at least in the critical regime. Therefore the frequency of jumps scales with the same critical exponent γ as the extension, as shown in the inset of Figure 7.

The scaling (11) suggests that in the thermodynamic limit the extension grows like $\mathcal{L} \sim (f - f_c)^{2(1-\gamma)}N$ just above the critical force, *i.e.*, exhibiting a rather unexpected non-linear response. Experimentally, this effect can only be seen in very large molecules that are sufficiently self-averaging in order not to mask the phase transition by sequence specific signals, see Figure 5.

5.3 Base pair lengths and the radius of gyration with disorder

Following the reasoning in Section 3.1, we expect the radius of gyration to scale like $R_g \sim h^{1/2} \sim N^{\beta/2}$. This in turn gives rise to a monomer density in real space scaling like $N/R_g^3 \sim N^{1-3\beta/2} \approx N^0$. In contrast to the homogeneous model where this density grows as $N^{1/4}$, sequence disorder leads to more elongated secondary structures that are not increasingly dense. In this sense, disorder re-establishes (at least marginally) the self-consistency of the standard approach to RNA-folding which neglects excluded-volume effects (and other tertiary interactions) when optimizing the secondary structure. The latter would not be justified if the individual side chains came into conflict with each other in real space, as would be inevitable for large molecules if $\beta < 2/3$.

The inequality $\beta \geq 2/3$ is only a necessary global condition to avoid too dense structures. However, it is unclear whether it is sufficient to prevent structures with too high *local* densities. In any case, since the global condition is just marginally verified in random disordered RNA, we expect that excluded-volume effects still play an important, if not decisive, role in large molecules and have to be taken into account in the secondary-structure prediction of large molecules.

5.4 Equality of β and γ

The critical exponents β and γ seem to be equal within the error bars. We will argue in favour of their equality by considering statistical properties of the secondary structure at the critical force.

At f_c the number of globules in the chain is already large ($\sim N^\gamma$) and we assume that the globule sizes L are distributed according to a power law $P(L) \sim L^{-\delta}$ with a cut-off on the scale N . This has been confirmed numerically with an exponent $\delta \approx 1.7$. The total number of bases in the chain can be estimated as the sum over

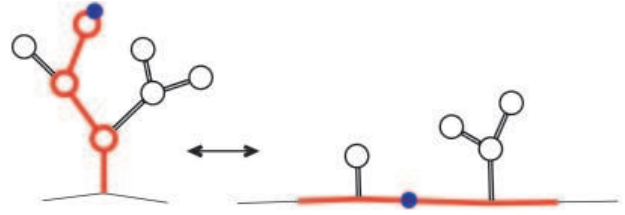


Fig. 9. A large structure is split into two halves along the path from the free part to the most distant base (thick line on the left). At the critical force, the cost in pairing energy for this splitting will essentially equal the energy gained from the external force upon stretching (right part). We therefore consider the folding within the full globule to be essentially equivalent to the folding of the same strand exposed to the critical force.

all globule sizes,

$$N \approx N^\gamma \int_1^{\mathcal{O}(N)} P(L)L dL \sim N^\gamma N^{2-\delta}, \quad (12)$$

which implies $\gamma = \delta - 1$.

Let us now consider the largest globule in the chain. The scaling with N of the number L_{\max} of bases it contains follows easily from extreme value statistics,

$$\int_{L_{\max}}^{\infty} P(L)dL = \mathcal{O}(N^{-\gamma}), \quad (13)$$

or $N^\gamma/L_{\max}^{\delta-1} = \mathcal{O}(1)$. Thus, $L_{\max} \sim N$, *i.e.*, the largest globule contains a finite fraction of all bases. We recall that according to equation (10) its height scales as N^β .

For the further discussion, we refer to Figure 9. The path through the secondary structure from the topmost base in the mountain representation down to the free part splits the largest globule into two parts. If we imagine to apply the critical force separately to those two parts (see the right part of Fig. 9) we would expect their new folding to be qualitatively the same as in the intact globule. This is because the bases marked by the thick lines in Figure 9 will gain an equivalent energy from exposure to the critical force as they gained from the pairing to the bases of the other strand. This simply reflects the equality of the free energy per base in a globular structure and in the free part at the critical force. The height of the original globule ($\sim N^\beta$) must therefore scale in the same way as the extension of one of the two halves subject to the critical force. For the latter equation (11) implies $h \sim L_{\max}^\gamma \sim N^\gamma$, and hence the equality $\beta = \gamma$.

This picture is slightly too simplistic, for one expects that a certain fraction of the side structures of the globule have a smaller (local) critical force and would open up when the substrands are exposed directly to the (global) critical force. However, the unzipping of such weakly bound side structures will by far not be complete. In a first step, the closing helix will be unzipped up to the first internal loop, and the subsequent structures attached to that loop will become directly exposed to the critical force. Again, a fraction of them will be unstable and rearrange.

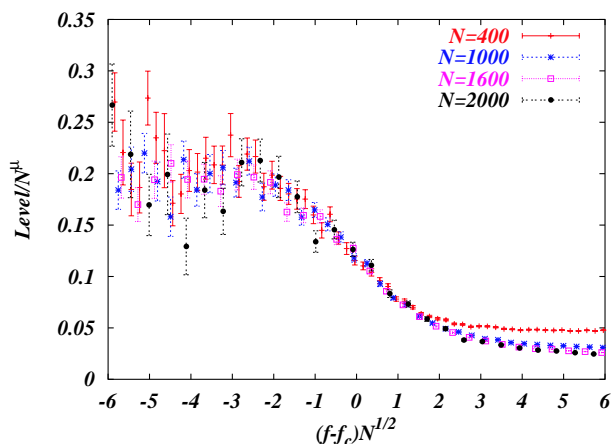


Fig. 10. Scaling plot of the hierarchy level involved in a rearrangement, averaged over events in a force window $\Delta f = 0.01$. The scaling at $f = 0$, N^μ , with $\mu = 0.5$, is smaller than that of the maximal hierarchy level in the structure ($N^{0.65}$). However, it shows that a substantial fraction of the globule is involved in a rearrangement.

If one assumes this fraction to be constant (and not too large) on all hierarchy levels, the number of opening base pairs in a side structure is finite. We thus conclude that the total number of opening base pairs in the complete substrand is at most proportional to the number of side structures, and thus scales like the height $h \sim N^\beta$ of the globule. The new extension \mathcal{L} of the substrands therefore still scales like $\sim N^\beta$, though with a larger prefactor.

We expect finite-size effects to be responsible for the slight difference in the numerical values found for β and γ . The partial opening of side structures in the above argument, is naturally cut off at the maximal hierarchy level in the considered secondary structure. The latter is still rather small for the molecule sizes we studied numerically. The ratio \mathcal{L}/h between the extension of the substrands and the height of the original globule becomes slightly larger when more hierarchy levels are available, but it will saturate at sufficiently large sizes. This might be at the basis of the numerical trend to find $\gamma > \beta$.

5.5 Characteristics of force-driven jumps

Let us now analyze in more detail the single rearrangements and their statistics. The depth of a rearrangement is best characterized by the maximal hierarchy level involved. We note that the total number of hierarchy levels in a secondary structure scales in the same way as the height ($\sim N^\beta$) since a single level always contains a bounded number of bases.

To find the scaling of the average level involved in a jump we again resort to a critical point analysis, see Figure 10, and extrapolate the scaling function to $f = 0$. The scaling is less neat than for other observables since finite-size effects are rather important. Furthermore, the statistics of jump events is sparse in the low-force regime which

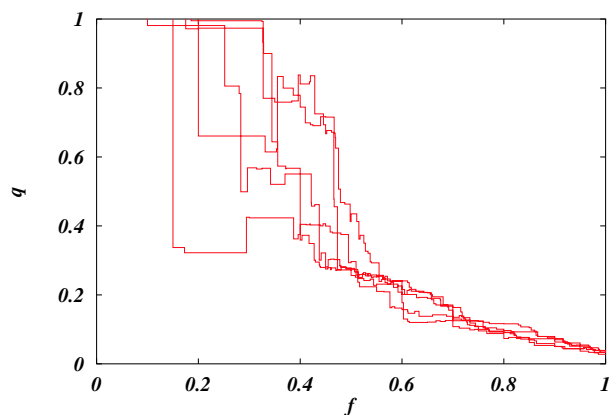


Fig. 11. Overlap between the secondary structure at force f and the ground state ($f = 0$) for five sequences with 1800 bases in the four-letters model. The amplitudes of jumps are very important in the low-force phase, where the behaviour is strongly sequence dependent. In the high-force regime the overlap with the ground state is not particularly meaningful. Very stable structures that have resisted any rearrangement up to that point are finally broken up by the force. This happens in an almost continuous manner since the individual structures and their respective rupture forces are almost randomly distributed.

causes the large error bars. Nevertheless, an approximate increase of the average level as $N^{0.5}$ can be established, showing that usually a considerable fraction of a globule takes part in rearrangements. The latter will be far from trivial, giving rise to long equilibration times and ageing effects in the low-force regime, even in molecules of moderate size.

Another important characteristic of a rearrangement is the fraction of bases that change their pairing behaviour. This includes the bases that were paired before the rearrangement and are unpaired afterwards, or vice versa. This quantity measures a kind of phase space distance between the secondary structure before and after the jump. We denote it by $1 - q$, where q is the overlap between the secondary structures which bears some resemblance to the overlap defined in spin glasses [23].

Macroscopic rearrangements correspond to phase space distances $1 - q \sim \mathcal{O}(1)$. At low forces, the relative probability of occurrence for such events is found to decrease with the system size as $\langle 1 - q \rangle \sim N^{-\sigma}$, where $\langle \cdot \rangle$ denotes the average over rearrangement events in a small force window and the subsequent average over disorder realizations. The exponent $\sigma \approx 0.25 \pm 0.05$ is relatively small, and thus, in RNA of moderate sizes macroscopic rearrangements are rather frequent. We illustrate this point in Figure 11 where we plot the overlap of the secondary structure at a given f with the ground-state ($f = 0$) structure for five randomly chosen sequences in the four-letters model. At low force, large changes on the scale of the system size are quite common, but, of course, the behaviour differs a lot from sample to sample. The high-force regime

is far less interesting, being dominated by the rupture of small globules.

In the critical regime the changes in the secondary structure are also quite dramatic since a lot of rather important rearrangements occur in a small force window. Indeed, the phase space distance $1 - q(f; f + df)$ between the equilibrium secondary structures at the forces f and $f + df$ (for df fixed) increases approximately as $N^{0.3}$, provided both f and $f + df$ belong to the critical regime (for fixed df , this restricts N to values such that Ndf^2 is still small). This suggests that hysteresis effects in cycling force experiments are particularly strong in the vicinity of the critical point.

Force-extension experiments clearly probe the energy landscape of RNA. However, it is difficult to relate the statistics of the jump events, and in particular the overlap between the secondary structures before and after the jump, to global properties of the energy landscape. If the latter is characterized by a unique size-dependent energy scale $E(N) \sim N^\theta$, as proposed in [25,31], one might conjecture that at low forces the probability distribution of large rearrangements in a chain of length N follows a scaling law $P_N(q) = E(N)\tilde{P}((1-q)E(N))$. However, the data is not consistent with such a simple ansatz. This is probably due to the fact that the force does not couple to the secondary structure *via* a bulk perturbation (as in the ϵ -coupling method used in [25,31]), but only *via* the extension. This seems to slightly favour successions of smaller rearrangements instead of single large jumps.

Let us recall at this point that we completely neglected thermal fluctuations, and thus all jump events are infinitely sharp and occur at well-defined forces. In reality such transitions are smoothed out over a small force window, and if the density of rearrangements is high, the individual peaks cannot be distinguished any more. This is true in particular for the extensive phase, and lies at the basis of the observed smoothness of experimental force-extension curves. In that regime it proves to be better to identify transitions between competing foldings *via* increased fluctuations [17,18]. However, at low forces, thermal effects are far less important since the rearrangements are rare, and we expect the present analysis to give a good qualitative picture of typical experimental curves. Of course, it does not reproduce correctly the detailed characteristics of force-extension curves, but it provides a rather quantitative insight into the nature of the energy landscape as described by the size and frequency of occurrence of rearrangements, in particular in the low-force regime.

6 Summary and discussion

We have studied the force-induced unfolding of random disordered RNA under equilibrium conditions, whereby we have eliminated thermal fluctuations by restricting ourselves to the secondary structure with the lowest free energy. The disorder effects on the second-order opening transition have been analysed in detail and the phases at low and high force have been characterized in terms of their different structural properties and response to the

force. The critical behaviour of the opening transition was found to be modified with respect to the homogeneous case and strong evidence for the universality of different disorder models has been provided. The extrapolation of scaling laws to vanishing force has allowed to determine the scaling of several observables with N in a clean manner.

The statistics of rearrangement events at low forces have been characterized. While in the thermodynamic limit global macroscopic rearrangements of the secondary structure are ruled out since their probability decreases as $N^{-0.25}$, macroscopic jump events remain possible up to quite large system sizes.

From the experimental point of view the low-force regime is certainly the most interesting since the transformations in the secondary structure required to reach equilibrium are rather complex and will proceed in several steps, possibly passing through metastable intermediates. It will be interesting to observe the approach to equilibrium after slightly changing the force to a new fixed value. Alternatively, cycling force experiments should exhibit interesting hysteresis effects as have been observed in the closely related DNA un- and re-zipping [6]. The critical regime is particularly suited for this kind of experiments since the overlap between equilibrium secondary structures decreases very rapidly as the force is varied.

Such experiments might also shed some light on the energetic barriers $B(N)$ between metastable states in globules of size N . Those are related to typical equilibration times $\tau(N)$ *via* $\tau(N) \sim \exp[B(N)/kT]$. On the theoretical side, those barriers are not very well understood yet. In the spirit of the scaling picture [25,31], one would expect $B(N) \sim E(N) \sim N^\theta$, with $\theta \approx 0.15-0.35$, whereas the analysis of barriers in the ground-state ensemble of a degenerate toy model [37] as well as dynamic simulations [38, 39] of RNA-folding rather point towards barriers growing like $B(N) \sim N^{1/2}$. Further work is needed to clarify this important issue.

M. Müller and F. Krzakala acknowledge a fellowship from the MRT. The LPTMS is an Unité de Recherche de l'Université Paris XI associée au CNRS.

References

1. S.B. Smith, Y. Cui, C. Bustamante, *Science* **271**, 795 (1996).
2. J.S. Liphardt *et al.*, *Science* **296**, 1832 (2002).
3. M. Rief *et al.*, *Science* **276**, 1109 (1997).
4. M. Rief, H. Clausen-Schaumann, H.E. Gaub, *Nat. Struct. Biol.* **6**, 346 (1999).
5. U. Bockelmann, B. Essevaz-Roulet, F. Heslot, *Phys. Rev. Lett.* **79**, 4489 (1997).
6. U. Bockelmann *et al.*, *Biophys J.* **82**, 1537 (2002).
7. B. Maier, D. Bensimon, V. Croquette, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 12002 (2000).
8. P.L. Geissler, E.I. Shakhnovich, *Phys. Rev. E* **65**, 056110 (2002).
9. P.L. Geissler, E.I. Shakhnovich, *Macromolecules* **35**, 4429 (2002).

10. N. Lee, T.A. Vilgis, *Europhys. Lett.* **57**, 817 (2002).
11. D.K. Klimov, D. Thirumalai, *J. Phys. Chem. B* **105**, 6648 (2001).
12. T. Vilgis, A. Johner, J.-F. Joanny, *Eur. Phys. J. E* **2**, 289 (2000).
13. D.K. Lubensky, D.R. Nelson, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 1572 (2000).
14. D.K. Lubensky, D.R. Nelson, *Phys. Rev. E* **65**, 031917 (2002).
15. D. Marenduzzo, A. Trovato, A. Maritan, *Phys. Rev. E* **64**, 031901 (2001).
16. S. Cocco, R. Monasson, J.F. Marko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 8608 (2001).
17. S. Chen, K. Dill, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 646 (2000).
18. U. Gerland, R. Bundschuh, T. Hwa, *Biophys. J.* **81**, 1324 (2001).
19. A. Montanari, M. Mézard, *Phys. Rev. Lett.* **86**, 2178 (2001).
20. M. Müller, submitted to *Phys. Rev. E*, cond-mat/0206225 (2002).
21. P.G. Higgs, *J. Phys. I* **3**, 43 (1993).
22. R.E. Thompson, E.D. Siggia, *Europhys. Lett.* **31**, 335 (1995).
23. P.G. Higgs, *Phys. Rev. Lett.* **76**, 704 (1996).
24. R. Bundschuh, T. Hwa, *Phys. Rev. E* **65**, 031903 (2002).
25. F. Krzakala, M. Mézard, M. Müller, *Europhys. Lett.* **57**, 752 (2002).
26. I. Tinoco, C. Bustamante, *J. Mol. Biol.* **293**, 271 (1999).
27. M.E. Burkard, D.H. Turner, I.T. jr., in *RNA World*, 2nd edition, edited by R.F. Gesteland, T.R. Cech, J.F. Atkins (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1999).
28. D.H. Mathews, J. Sabina, M. Zuker, D.H. Turner, *J. Mol. Biol.* **288**, 911 (1999).
29. A. Pagnani, G. Parisi, F. Ricci-Tersenghi, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 2026 (2000).
30. R. Bundschuh, T. Hwa, *Europhys. Lett.* **59**, 903 (2002).
31. E. Marinari, A. Pagnani, F. Ricci-Tersenghi, *Phys. Rev. E* **65**, 041919 (2002).
32. A.M. Gutin, A.Y. Grosberg, E.I. Shakhnovich, *J. Phys. A* **26**, 1037 (1993).
33. P.-G. de Gennes, *Biopolymers* **6**, 715 (1968).
34. M. Waterman, *Adv. Math. Suppl. Studies* **1**, 167 (1978).
35. M. Zuker, P. Stiegler, *Nucl. Acid. Res.* **9**, 133 (1981).
36. J.S. McCaskill, *Biopolymers* **29**, 1105 (1990).
37. S.R. Morgan, P.G. Higgs, *J. Phys. A* **31**, 3153 (1998).
38. A. Fernandez, *Phys. Rev. Lett.* **64**, 2328 (1990).
39. A. Fernandez, E. Shakhnovich, *Phys. Rev. A* **42**, 3657 (1990).

Chapitre 4

Hétéropolymères

Dans ce chapitre nous revenons à l'étude des hétéropolymères en général, en gardant un intérêt particulier pour le repliement des protéines. Après avoir introduit dans la section 4.1 les modèles d'hétéropolymères les plus importants, nous présentons dans la section 4.2 différentes approches du problème. Nous discutons en détails le modèle à énergies aléatoires (REM) et ses faiblesses, surtout en tant que modèle pour les protéines. Nous approfondissons cette revue critique en discutant l'approche classique basée sur la technique des répliques et en analysant la nature des approximations qu'elle utilise. Nous montrons que le "REM" ainsi que les approches du champ moyen souffrent principalement du fait qu'ils négligent les corrélations entre les différentes configurations du polymère. Nous terminons cette section en présentant brièvement différentes approches récentes qui tentent de pallier ces difficultés.

Dans la section 4.3 nous proposons une nouvelle approche basée sur la méthode de cavité. Après avoir discuté son application au cas particulier d'un homopolymère, ce qui nous permet en particulier de discuter la transition pelote-globule, nous adaptons le formalisme à la description des hétéropolymères. À basse température, le cadre conceptuel doit être élargi pour tenir compte de la structure complexe de l'espace de phase dans la phase vitreuse. Après avoir établi le formalisme général, nous appliquons la méthode au cas de copolymères pour lesquels nous discutons en détails la relation entre les caractéristiques de la phase vitreuse et les corrélations dans la séquence de monomères. Nous proposons un jeu d'observables locaux qui mesurent le degré de gel du polymère et permettent ainsi de distinguer les différents types de transitions de phase vitreuses. Nous concluons le chapitre par une discussion de la méthode de cavité et de ses applications possibles aux protéines et à l'ARN (section 4.4).

4.1 Modèles d'hétéropolymères

Les modèles les plus courants se restreignent à des interactions de paires, e_{ij} , entre les monomères. Pour éviter que le polymère ne s'effondre quand les interactions attractives entre paires sont fortes, un terme répulsif à trois corps est inclus. Cela n'est pas nécessaire pour des modèles sur réseau, où l'auto-évitement des monomères est automatiquement pris en compte.

Les différents modèles étudiés dans la littérature se distinguent par rapport aux interactions de paires e_{ij} considérées. Les modèles les plus réalistes de ce genre partent d'un alphabet de types de monomères et associent à chaque paire une énergie d'interaction¹. Souvent les caractéristiques physiques et chimiques des monomères sont réduites à une seule quantité ξ essentielle (par exemple l'hydrophilicité ou la charge), et les interactions de paires sont exprimées en fonction de ce paramètre sous la forme

$$e_{ij} = e_0 + b(\xi_i + \xi_j) + \chi\xi_i\xi_j. \quad (4.1)$$

Le terme e_0 décrit une attraction générale (pour $e_0 < 0$) qui induit le compactage de la chaîne à suffisamment basse température². Le second terme provient de l'interaction des monomères avec le solvant : l'interaction du monomère i avec le solvant est diminuée par la présence d'un autre monomère j ce qui donne lieu au terme $b\xi_i$ dans (4.1). En solution aqueuse - l'environnement naturel des protéines - les ξ_i 's décrivent l'hydrophilicité des monomères.

Le dernier terme décrit les interactions directes entre monomères, où χ est le paramètre de Flory. Dans le cas où il n'y a que deux espèces de monomères, A et B , qui sont décrites par $\xi_A = 1$ et $\xi_B = -1$, il prend la forme

$$\chi = \frac{e_{AA} + e_{BB} - 2e_{AB}}{4}. \quad (4.2)$$

Dans le modèle de la *chaîne hydrophile-hydrophobe* [Obu86, GLO94], l'accent est mis sur les interactions des monomères avec l'eau, et le dernier terme est négligé³. Les parties hydrophiles tendent à gonfler la molécule tandis que les monomères hydrophobes préfèrent former des globules.

¹Pour les protéines, les 20 acides aminés constituent l'alphabet naturel. Différents jeux de paramètres pour la matrice des 20×20 interactions de paires ont été proposés dont l'un des plus populaires est celui de Miyazawa et Jernigan [MJ85]. Pour simplifier la description des protéines, les acides aminés sont souvent regroupés en un petit nombre de classes (2-5) qui constituent alors un alphabet réduit. Le modèle HP en est le plus simple.

²Cependant, il n'est pas *nécessaire* pour une phase compacte comme nous verrons plus loin où nous considérons pratiquement exclusivement des modèles avec $e_0 = 0$. En outre, nous notons que ce terme peut toujours être absorbé en effectuant une transformation linéaire $\xi_i \rightarrow \xi_i + \delta$.

³Dans ce contexte, il est intéressant de noter qu'en très bonne approximation la matrice de Miyazawa et Jernigan peut être représentée par des interactions de la forme (4.1) où les ξ décrivent en premier lieu l'hydrophilicité des acides aminés [LTW97]. En outre, il se trouve que le terme linéaire en ξ est dominant.

Si les interactions directes entre les monomères sont plus importantes, le second terme n'est souvent pas pris en compte⁴ [SG89a]. Les chaînes chargées (*polyampholytes*) constituent un exemple important dans lequel les ξ 's correspondent à la charge électrique (écran-tée) des monomères et le paramètre de Flory est positif, $\chi > 0$ [KK94]. Le cas opposé, $\chi < 0$, avec des "charges" $\xi_i = \pm 1$, correspond aux *copolymères* dont les constituants ont une tendance à la ségrégation [FML92, SGS93]. Les hétéropolymères de ce type, surtout des copolymères à blocs, ont une énorme importance technologique à cause de leurs propriétés extraordinaires [BF99].

Le modèle HP [Dil85] - une description très simplifiée des protéines - est un cas hybride entre la chaîne hydrophile-hydrophobe et les copolymères, dans le sens où une interaction non-nulle est seulement associée aux paires de constituants hydrophobes, $e_{HH} = -1$, tandis que $e_{HP} = e_{PH} = e_{PP} = 0$ ⁵. Le comportement physique du modèle HP ressemble beaucoup à celui de la chaîne hydrophile-hydrophobe. À l'intérieur d'un globule d'une longue chaîne, nous nous attendons à ce qu'il se comporte de façon similaire aux copolymères.

Dans les calculs, il est souvent commode de supposer que les ξ_i 's sont des variables aléatoires et indépendantes⁶. En revanche, un tel modèle n'arrivera pas à bien décrire les particularités des protéines ou d'hétéropolymères dont la composition n'est pas aléatoire.

Dans la limite d'un très grand nombre de types de monomères qui se distinguent beaucoup par rapport à leurs propriétés chimiques, les interactions de paires sont peu corrélées et peuvent être considérées comme indépendantes. Dans la mesure où la séquence est aléatoire, les couplages e_{ij} le sont aussi, ce qui mène au modèle de la *chaîne à liens aléatoires* [GO88b, SG89b, SG89c]. Cependant, ce modèle n'est pas très réaliste. Même pour les protéines où il y a 20 types d'acides aminés différents, les interactions de paires restent corrélées. Néanmoins, le modèle a eu une grande importance pour l'approche physique théorique. En fin de compte, c'est pour ce modèle-ci que l'hypothèse qu'un hétéropolymère est bien décrit par le modèle à énergies aléatoires (REM) a été "prouvée". D'un point de vue technique, l'indépendance des e_{ij} facilite beaucoup les calculs analytiques, ce qui explique pourquoi ce modèle est toujours autant étudié dans la littérature actuelle.

En plus du repliement d'un hétéropolymère, les systèmes de polymères en interaction avec un environnement inhomogène attirent beaucoup d'intérêt. Nous mentionnons seulement l'accrochage d'un hétéropolymère au voisinage d'une interface [TC01], le mouillage [MGO00], le polymère dirigé dans un milieu aléatoire [KN85]. Ce dernier

⁴Dans la littérature, on parle alors de modèles de séquences.

⁵Cela peut être décrit par un choix approprié des paramètres e_0 , b et χ .

⁶Normalement, les charges naturelles correspondent à des variables discrètes ξ_i . Néanmoins, on considère souvent des variables continues distribuées selon une loi gaussienne en supposant que les propriétés physiques n'en dépendent pas de manière décisive. Cependant, la nature discrète est cruciale dans le cas des copolymères [DE95, GSS94].

est étroitement lié à la physique des vortex dans les supraconducteurs à haute température (voir par exemple [NV93]).

4.2 Différentes approches des hétéropolymères

4.2.1 Le REM : un modèle simple avec une transition de gel

Bryngelson et Wolynes [BW87] ont proposé de décrire le paysage de basse énergie des hétéropolymères par un modèle à énergies aléatoires [Der81]. Leur raisonnement se fonde sur la supposition que les conformations de basse énergie sont si différentes qu'elles ont très peu de contacts en commun. Leurs énergies devraient donc être essentiellement indépendantes. De plus, le fait que le REM subit une transition de gel à une température finie, en dessous de laquelle le système est confiné à un nombre fini d'états, semble - à première vue - offrir une explication au paradoxe de Levinthal.

Le REM est un modèle simple pour un système à N particules⁷, dont l'espace de phase contient a^N microconfigurations où a compte le nombre de degrés de liberté par particules⁸. Les énergies E_i de ces configurations sont supposées indépendantes, toutes tirées de la même loi de probabilité $P(E)$. Plus précisément, pour la probabilité de trouver deux conformations avec énergies E_1 et E_2 , nous avons

$$P(E_1, E_2) = P(E_1)P(E_2). \quad (4.3)$$

La forme explicite de $P(E)$ n'est pas essentielle tant qu'elle n'a pas de queue large. Une loi gaussienne est souvent considérée,

$$P(E \equiv eN) = \mathcal{N} \exp\left(-\frac{E^2}{NJ^2}\right) = \mathcal{N} \exp\left(-\frac{e^2 N}{J^2}\right), \quad (4.4)$$

où \mathcal{N} est la constante de normalisation, et nous avons introduit la densité d'énergie $e \equiv E/N$.

Le nombre moyen $n(E)$ d'états dans l'intervalle $[E, E + dE]$ est donc proportionnel à

$$n(E) = a^N P(E) = \exp\left[N(\ln(a) - e^2/J^2)\right] \equiv \exp[Ns(e)], \quad (4.5)$$

et nous trouvons la densité d'entropie microcanonique $s(e) = \ln(a) - e^2/J^2$. Dans l'ensemble canonique, l'énergie libre est donnée par $f = [e - s(e)T]|_{e=e^*}$ où la densité d'énergie e^* correspondant à la température T est donnée par $ds(e)/de|_{e=e^*} = 1/T \equiv \beta$. Elle

⁷Par exemple des spins ou les monomères d'un polymère.

⁸Dans le cas de polymères, a correspond à la constante de connectivité. Pour un système de spins d'Ising, nous avons $a = 2$.

détermine le point de col qui domine la fonction de partition

$$Z = \sum_{i=1}^{a^N} \exp(-\beta E_i) = \int dE n(E) \exp(-N\beta e). \quad (4.6)$$

Ce raisonnement n'est correct que si l'entropie $s(e^*)$ au point de col est positive⁹. En dessous de la température critique

$$T_c = \frac{J}{2\sqrt{\ln(a)}}, \quad (4.7)$$

déterminée par $s(T_c) = 0$, la fonction de partition est dominée par un nombre fini de termes. Ils correspondent aux plus petites énergies E_i dans le système, ayant toutes la même densité d'énergie $e = e(T_c)$ dans la limite $N \rightarrow \infty$ ¹⁰.

Le mécanisme de gel est donc tout à fait simple : à température suffisamment basse ($T < T_c$) le poids de Boltzmann se concentre sur un petit nombre de conformations, et toutes les observables gèlent aux valeurs qu'elles prennent dans ces états. Pour la densité de l'énergie libre, nous trouvons explicitement

$$f(T) \equiv \frac{F(T)}{N} = \begin{cases} -T \ln(a) - J^2/4T & , T > T_c, \\ -J\sqrt{\ln(a)} [= e(T_c)] & , T < T_c. \end{cases} \quad (4.8)$$

4.2.2 Le REM et les hétéropolymères : un argument simple et ses défauts

La proposition de Bryngelson et Wolynes de décrire la physique des hétéropolymères par un REM se fondait en premier lieu sur des considérations heuristiques. Pour rendre un peu plus rigoureux leur argument intuitif en faveur de l'indépendance des énergies de conformations, nous reproduisons ici un raisonnement qui se trouve à plusieurs endroits dans la littérature [GOP97, TK01]. Une analyse critique de cet argument nous indiquera déjà la principale faiblesse du REM.

Nous considérons un hétéropolymère de N monomères sur réseau. Quant aux interactions, nous choisissons le modèle à liens aléatoires avec des énergies d'interaction $e_{ij} = v_0 + v_{ij}$ indépendantes, gaussiennes qui sont centrées sur une constante négative v_0 . Les fluctuations gaussiennes ont un écart type e ,

$$P(v_{ij}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi e^2}} \exp\left(-\frac{v_{ij}^2}{2e^2}\right). \quad (4.9)$$

⁹Cette condition assure que les fluctuations du nombre $n(e^*)$ sont petites et que ce calcul recuit est donc correct.

¹⁰La différence typique entre les états de plus basse énergie se comporte comme $N^{1/2}$.

L'énergie du polymère s'exprime comme

$$H = \sum_{i < j} (v_0 + v_{ij}) \delta(r_i - r_j) + \sum_{i \neq j \neq k} \delta(r_i - r_j) \delta(r_j - r_k), \quad (4.10)$$

où r_i est la position du monomère i . Le terme à trois corps contrebalance l'attraction globale des paires de monomères et empêche l'effondrement de la molécule. Nous supposons que la densité ρ de monomères dans la phase compacte est constante. Dans ce cas, la seule contribution à l'énergie qui dépend de la conformation est celle du terme aléatoire à deux monomères. En tant que sommes de variables gaussiennes, les énergies E_α et E_β de conformations compactes α et β sont elles-mêmes des variables gaussiennes. Pour établir la validité du REM, c'est-à-dire de l'équation (4.3), il suffit alors de montrer que les corrélations $\overline{E_\alpha E_\beta}$ sont négligeables comparées à l'autocorrélation

$$\overline{E_\alpha^2} = \frac{e^2}{2} \sum_{i,j} \delta(r_i^{(\alpha)} - r_j^{(\alpha)}) = \frac{e^2}{2} N \rho. \quad (4.11)$$

Pour les corrélations entre différentes conformations nous trouvons

$$\overline{E_\alpha E_\beta} = \frac{e^2}{2} \sum_{i,j} \delta(r_i^{(\alpha)} - r_j^{(\alpha)}) \delta(r_i^{(\beta)} - r_j^{(\beta)}) = \frac{e^2}{2} \sum_{r,r'} Q_{\alpha\beta}^2(r, r'), \quad (4.12)$$

où

$$Q_{\alpha\beta}(r, r') = \sum_i \delta(r - r_i^{(\alpha)}) \delta(r' - r_i^{(\beta)}) \quad (4.13)$$

est le recouvrement (fonctionnel) des deux conformations. Nous observons que $\sum_{r,r'} Q_{\alpha\beta}(r, r') = N$. Suivant l'argument standard, cette relation, ainsi que le fait que la densité soit constante impliquerait que le recouvrement soit homogène,

$$Q_{\alpha\beta}(r, r') = \frac{\rho^2}{N}. \quad (4.14)$$

Pour de grands N , il s'ensuit que

$$\overline{E_\alpha E_\beta} = \frac{e^2}{2} \rho^2 \ll \overline{E_\alpha^2}, \quad (4.15)$$

ce qui établit en très bonne approximation la validité du REM, pourvu que (4.14) soit justifiable.

Cependant, pour arriver à (4.14), on fait tacitement la supposition supplémentaire qu'il n'y ait aucune corrélation entre les positions $r_i^{(\alpha)}$ et $r_i^{(\beta)}$ des monomères dans les deux conformations. En particulier, la probabilité $Q_{\alpha\beta}(r, r)$ de trouver le monomère i sur le même sommet dans les deux conformations disparaît dans la limite thermodynamique. Pourtant, il est plutôt naturel de s'attendre à ce que deux conformations typiques de basse énergie aient quelques parties du repliement en commun, surtout quand la dimension de l'espace est petite. Dans ce cas, la contrainte polymérique représente une grande

restriction sur les r_i 's, et favorise des corrélations entre “bonnes” conformations. En revanche, sur un réseau complètement connecté (un hypercube avec $V = N\rho$ sommets) la contrainte polymérique n'est pas importante et il semble plus plausible qu'il y ait un très grand nombre de conformations de basse énergie qui sont décorréelées par rapport à la position des monomères. Néanmoins, même dans ce cas, une analyse plus soignée des corrélations en fonction du recouvrement est nécessaire pour juger de l'équivalence des hétéropolymères et du REM.

Un simple calcul [PWW96] montre que les énergies de deux conformations qui coïncident sur une fraction q de contacts sont corrélées selon

$$P(E_1, E_2) = \mathcal{N} \exp \left[-\frac{1}{4\Delta E^2} \left(\frac{(E_1 + E_2)^2}{1 + q} + \frac{(E_1 - E_2)^2}{1 - q} \right) \right], \quad (4.16)$$

où $\Delta E^2 \equiv \langle E_1^2 \rangle_c$ est la variance des énergies d'une conformation. C'est seulement dans la limite $q \rightarrow 0$ que l'indépendance $P(E_1, E_2) = P(E_1)P(E_2)$ est retrouvée, tandis que pour $q \rightarrow 1$ les deux énergies deviennent identiques, $P(E_1, E_2) \rightarrow \delta(E_1 - E_2)P((E_1 + E_2)/2)$. Nous discuterons les possibilités d'inclure de telles corrélations et d'aller au-delà du REM dans la section 4.2.5.

4.2.3 Les théories du champ moyen et la technique des répliques

L'argument de champ moyen de la section précédente néglige le fait que le squelette du polymère est connexe. L'approche des répliques y remédie [Obu86, SG89c] en tenant explicitement compte des contraintes de la chaîne. Ces théories microscopiques sont inspirées par des calculs similaires dans les verres de spins, surtout le modèle SK. Dans le problème des hétéropolymères, il y a cependant deux nouveaux aspects qui rendent le traitement analytique beaucoup plus compliqué : la contrainte polymérique qui impose de fortes restrictions sur les positions des monomères, et le fait que le désordre gelé est lié au squelette de la chaîne au lieu d'être stationnaire sur le réseau.

Nous exposons la technique des répliques pour le cas d'un copolymère de deux types de monomères A et B qui ont une tendance à la ségrégation. Le copolymère est donc décrit par un paramètre de Flory χ négatif¹¹. Dans une telle situation, il y a non seulement la possibilité d'une *transition de gel* induite par le désordre dans la séquence, mais la tendance des monomères de mêmes types à s'aggréger peut aussi mener à une *séparation en microphases*. Celle-ci se manifeste dans la formation d'amas locaux qui sont dominés par un type de monomères. Cependant, une ségrégation macroscopique est impossible à cause de la contrainte polymérique.

¹¹Nous négligeons les interactions avec le solvant en posant $b = 0$ (cf. (4.1)). De plus nous mettons $e_0 = 0$ puisque dans la phase compacte, une attraction homogène entre monomères ne fait que décaler l'énergie par une constante.

Nous suivons essentiellement la présentation de [SS97], les calculs détaillés pouvant être trouvés dans l'article original [SGS93]. Le désordre gelé est décrit par la séquence des $\xi_i \in \{1, -1\} \leftrightarrow \{A, B\}$, que nous considérons comme des variables aléatoires indépendantes. En décrivant les interactions à une plus grande échelle (comme nous l'avons souvent fait dans le cas de l'ARN), nous pouvons passer à des variables continues ξ_i , distribuées selon une loi gaussienne $\exp[-\xi_i^2/2\mu^2]$.

Les paramètres d'ordre

La densité de monomères est donné par

$$\rho(\mathbf{R}) = \sum_i \delta(\mathbf{r}_i - \mathbf{R}). \quad (4.17)$$

Comme dans l'argument de la section précédente, nous allons supposer que la densité est constante dans la phase compacte, stabilisée à une valeur finie par un terme répulsif à trois corps que nous n'écrivons pas explicitement.

Le paramètre naturel pour la séparation en microphases est donné par la différence des densités locales des deux types de monomères,

$$m(\mathbf{R}) = \sum_i \xi_i \delta(\mathbf{r}_i - \mathbf{R}). \quad (4.18)$$

Le paramètre d'ordre canonique pour détecter une transition vitreuse (gel), est le recouvrement $Q_{\alpha\beta}(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2)$ entre deux répliques α, β , que nous avons introduit plus haut, (4.13). Dans le bulk du système, l'invariance par translation impose que le recouvrement ne soit qu'une fonction de la différence de ses arguments, $Q_{\alpha\beta}(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2) = Q_{\alpha\beta}(\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2)$.

À haute température, le recouvrement entre deux conformations tirées au hasard selon le poids Boltzmann est très petit puisque les conformations sont très différentes. Cependant, à basse température où le paysage d'énergie est dominé par un petit nombre de vallées de basse énergie (également appelées "états purs"), les deux conformations thermalisées ont une probabilité finie de tomber dans la même vallée où leur recouvrement est grand. La transition de gel se manifeste donc par un changement drastique de la distribution de probabilités de recouvrements, $P(Q)$, où un pic proche de $Q = 1$ surgit à la transition.

L'Hamiltonien du copolymère est donné par

$$\mathcal{H} = \chi \sum_{i < j} \xi_i \xi_j \delta(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j), \quad (4.19)$$

avec $\chi < 0$. Nous posons donc $e_0 = b = 0$ dans la forme générale (4.1). Le point de départ de la technique des répliques est la moyenne de la fonction de partition de n répliques,

$$\overline{Z^n} = \int \prod_{\alpha, i} \mathcal{D}\mathbf{r}_i^\alpha g(\mathbf{r}_{i+1}^\alpha - \mathbf{r}_i^\alpha) \exp \left[-\frac{\chi}{T} \sum_{\alpha=1}^n \sum_{i < j} \xi_i \xi_j \delta(\mathbf{r}_i^\alpha - \mathbf{r}_j^\alpha) \right], \quad (4.20)$$

qu'il faut prolonger analytiquement pour $n \rightarrow 0$. La contrainte de la chaîne est prise en compte par un terme élastique

$$g(\mathbf{r}_{i+1}^\alpha - \mathbf{r}_i^\alpha) = \frac{1}{(2\pi a^2)^{3/2}} \exp \left[-\frac{(\mathbf{r}_{i+1}^\alpha - \mathbf{r}_i^\alpha)^2}{2a^2} \right], \quad (4.21)$$

comme dans le modèle d'une chaîne gaussienne, où ce facteur impose une distance moyenne entre monomères consécutifs égale à a .

En effectuant une transformation de Hubbard-Stratonovich par rapport aux variables $m_\alpha(\mathbf{R}) = \sum_i \xi_i \delta(\mathbf{r}_i^\alpha - \mathbf{R})$, et en moyennant sur la réalisation de la séquence, nous obtenons

$$\overline{Z^n} = \int \prod_{\alpha, \beta} \mathcal{D}Q_{\alpha\beta} \exp [-E(Q_{\alpha\beta}) + S(Q_{\alpha\beta})]. \quad (4.22)$$

Dans cette expression

$$E(Q_{\alpha\beta}) = -\ln \left\{ \int \mathcal{D}\hat{m}_\alpha(\mathbf{k}) \exp \left[-V \sum_{\alpha, \beta} \sum_{\mathbf{k} \neq 0} \left(-\frac{\chi}{T} \delta_{\alpha\beta} - \frac{4\mu^2 \chi^2}{T^2} Q_{\alpha\beta}(\mathbf{k}) \right) \hat{m}_\alpha(\mathbf{k}) \hat{m}_\beta(-\mathbf{k}) \right] \right\} \quad (4.23)$$

est l'énergie d'un système contraint par l'ensemble des recouvrements $\{Q_{\alpha\beta}\}$, tandis que

$$S(Q_{\alpha\beta}) = \ln \left\{ \int \prod_{\alpha, i} \mathcal{D}\mathbf{r}_i^\alpha g(\mathbf{r}_{i+1}^\alpha - \mathbf{r}_i^\alpha) \delta \left(Q_{\alpha\beta}(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2) - \sum_i \delta(\mathbf{r}_i^\alpha - \mathbf{R}_1) \delta(\mathbf{r}_i^\beta - \mathbf{R}_2) \right) \right\} \quad (4.24)$$

décrit le nombre de possibilités de réaliser ces recouvrements. $Q_{\alpha\beta}(\mathbf{k})$ et $\hat{m}(\mathbf{k})$ sont les transformées de Fourier de la fonction de recouvrement et de la variable associée à la transformation de Hubbard-Stratonovich.

La forme (4.22) apparaît de manière générale dans les approches de répliques, mais l'expression pour $E(Q_{\alpha\beta})$ dépend du problème. L'idée de l'approche du champ moyen est d'approximer l'intégrale fonctionnelle (4.22) par l'intégrand au point de col. Cependant, tandis que dans les verres de spins l'intégration ne s'étend que sur les $n(n-1)$ nombres $q_{\alpha\beta}$, la structure du paramètre d'ordre est beaucoup plus compliquée ici. Il est donc moins évident que le point de selle soit une bonne approximation pour l'intégrale¹². De plus, en général, l'évaluation du terme entropique (4.24) est très difficile. En utilisant une méthode due à Lifschitz, ce terme peut être transformé en une intégrale de chemin pour un système

¹²Remarquons que le nombre de degrés de liberté décrits par $Q_{\alpha\beta}$ est de l'ordre de $n^2 V^2$ alors que le grand paramètre qui justifierait une approximation du col est de l'ordre de $N \sim V$.

de mécanique quantique à n particules dans un potentiel déterminé par le recouvrement. En supposant que l'intégrale de chemin soit dominée par l'état fondamental, on se ramène au problème de déterminer la fonction d'onde correspondante qui, en outre, est sujette à une condition d'autocohérence par rapport au recouvrement. Ceci constitue un problème ingérable et on est forcé de recourir à des approximations plus ou moins *ad hoc* pour estimer $S(Q_{\alpha\beta})$. Le statut des résultats obtenus après cette série d'approximations est difficile à juger [FMP92]. En particulier, la “démonstration” de [SG89b] que les hétéropolymères à liens aléatoires sont un REM reste sujette à caution.

Ici, nous prenons une voie plus heuristique, [SGS93]. Premièrement, nous observons que le recouvrement de deux conformations identiques est $\rho \delta(\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2)$ tandis qu'il vaut zéro pour des conformations tout à fait différentes. Pour des cas intermédiaires, nous faisons l'*ansatz* que les recouvrements peuvent être écrits sous la forme

$$Q_{\alpha\beta}(\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2) = \frac{\rho}{R_t^3} \phi_{\alpha\beta} \left(\frac{|\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2|}{R_t} \right), \quad (4.25)$$

où $\phi_{\alpha\beta}$ est une fonction qui varie à l'échelle d'ordre $O(1)$. L'*ansatz* consiste dans la supposition qu'il n'y ait qu'une seule échelle R_t qui caractérise les déviations typiques entre deux conformations similaires (pour les conformations très différentes nous avons toujours $Q_{\alpha\beta} = 0$).

Dans une approximation à un pas de brisure de symétrie des répliques, nous partageons les répliques en n/m groupes, $1 \geq m \geq n$. Nous supposons que l'échelle R_t est la même pour toutes les paires de répliques du même groupe, tandis que $R_t = 0$ pour les répliques appartenant à différents groupes. On peut se convaincre avec des arguments d'échelle à la Flory ou avec un calcul rigoureux [SG89b] que la perte en entropie (4.24) se comporte comme $(n/m)(m-1)/R_t^2$, puisque dans chacun des n/m groupes il faut confiner $m-1$ répliques dans un tube de diamètre R_t autour de la conformation d'une réplique choisie. En calculant l'intégrale gaussienne pour le terme d'énergie (4.23), et en développant le déterminant obtenu en puissances du recouvrement, on établit un comportement $E(Q_{\alpha\beta}) \sim 1/R_t^d$ en d dimension. L'énergie prend alors la forme

$$F(R_t) = -\frac{C_1}{R_t^2} + \frac{C_2}{R_t^d}, \quad (4.26)$$

où $C_1 > 0$ à cause du facteur $(m-1)$ dans le terme pour l'entropie. Comme toujours dans l'approche du champ moyen avec $n < 1$ répliques, cette expression doit être *maximisée* en fonction de R_t . Pour $d > 2$, nous trouvons deux maxima, un à $R_t = \infty$ et l'autre à l'échelle microscopique $R_t \sim v^{1/3}$ où v est le volume exclu d'un monomère.

La première possibilité correspondra à deux répliques dans différents groupes, tandis que l'autre maximum suggère que les répliques dans le même groupe aient des conforma-

tions identiques à l'échelle microscopique. Le recouvrement aura donc la structure

$$Q_{\alpha\beta}(\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2) = \begin{cases} \rho\delta(\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2) & \text{pour } \alpha, \beta \text{ dans le même groupe,} \\ 0 & \text{pour } \alpha, \beta \text{ dans différents groupes.} \end{cases} \quad (4.27)$$

Nous remarquons en passant qu'en deux dimensions, la compétition entre énergie et entropie dans (4.26) est subtile, car les deux contributions se comportent comme R_t^{-2} . Il n'y a donc pas forcément une seule échelle optimale, mais tout un ensemble de R_t doit être considéré. Cet effet est à la base de la prédiction que l'hétéropolymère en deux dimensions est décrit par une brisure continue de la symétrie des répliques ("full RSB"). Une analyse analogue pour le cas de polymères ramifiés mène à un phénomène similaire, mais déjà pour $d \leq 4$, parce que l'entropie varie en $1/R_t^4$ [GG93]. Comme nous avons mentionné dans la section 2.3.3, l'hétéropolymère ramifié peut être considéré comme modèle pour l'ARN au niveau de la structure tertiaire pour lequel le calcul des répliques suggère donc une brisure de symétrie continue.

La forme simple (4.27) permet d'évaluer $E(Q_{\alpha\beta})$ exactement. En estimant la perte en entropie comme expliquée plus haut, nous obtenons finalement l'énergie libre par réplique

$$\frac{\beta f_n}{n}[m] = \ln\left(\frac{|\chi|}{T}\right) + \frac{\ln(1 - 4m\rho\mu^2\chi/T)}{m} + \frac{(m-1)s}{m}, \quad (4.28)$$

où le paramètre s quantifie la perte en entropie due au confinement des répliques. Évidemment, il dépend des détails microscopiques.

L'énergie libre dans l'approximation à un pas de brisure de symétrie des répliques s'obtient en maximisant (4.28) pour $m \in [0, 1]$. Au-dessus d'une température critique T_c , le maximum est atteint à $m = 1$. En dessous de T_c , le paramètre qui maximise (4.28) est donné par $m = T/T_c$. L'énergie libre devient indépendante de la température et l'entropie s'annule¹³. Nous trouvons donc une transition de gel classique, exactement comme dans le REM.

La transition de gel et la séparation en microphases

La séparation en microphases peut être décrite sans utiliser les répliques. Ceci se reflète dans le fait que le paramètre d'ordre (4.18) est une quantité à une réplique. La ségrégation des monomères et la formation de microphases enrichies de l'un ou de l'autre type de monomères se manifestent par une instabilité de la phase homogène (caractérisée

¹³C'est le même comportement que l'on trouve dans le REM. Le paramètre m a une interprétation en termes du nombre de configurations qui contribuent à la thermodynamique,

$$m = 1 - \sum_c w_c^2,$$

où les w_c sont les poids de Boltzmann des conformations \mathcal{C} du polymère.

par $m(\mathbf{R}) = 0$). Dans l'expression (4.23), elle apparaîtrait sous la forme d'un coefficient $b\delta_{\alpha\alpha} - 4\mu^2 b^2 Q_{\alpha\alpha}(\mathbf{k}) = b - 4\mu^2 b^2 \rho$ qui devient négatif, indiquant la divergence des fluctuations gaussiennes. Cependant, il est facile de vérifier que cette instabilité est précédée par la transition de gel à T_c qui empêche la séparation en microphases à plus basse température.

Ce résultat est modifié si les fluctuations de $Q_{\alpha\beta}$ sont prises en compte [SGS93]. Il se trouve que pour des polymères possédant un squelette suffisamment flexible la température de gel T_c est abaissée en dessous de la transition de gel¹⁴, de sorte qu'une séparation en microphases préalable devient possible. Les calculs de champ moyen ont été réexaminés en tenant compte des termes du quatrième ordre en m de l'expansion de Landau, et en traitant en détail les effets des fluctuations [DE95, GSS94]. Ces analyses ont montré que la ségrégation des monomères n'a lieu qu'à condition que le squelette soit flexible et que la concentration locale d'un type de monomère soit suffisamment inhomogène le long de la séquence¹⁵. Ce résultat implique en particulier qu'une séquence aléatoire ne subit pas de séparation en microphases.

Des simulations numériques récentes [HM02] ont également mis en évidence les limites de la théorie du champ moyen de [FML92], en montrant que la ségrégation de monomères apparaît dans une région du diagramme de phase beaucoup plus petite que prédite par la théorie.

Critique de l'approche des répliques

Le scénario de gel qui résulte du calcul des répliques semble corroborer l'hypothèse que le REM soit valable pour les copolymères. Cependant, une analyse approfondie du calcul révèle que nous avons refait, de manière plus subtile et plus éduquée, les mêmes erreurs que dans l'argument simple de la section 4.2.2. La supposition (4.25) concernant la forme fonctionnelle du recouvrement constitue une restriction importante dans le sens où elle impose que deux conformations doivent se suivre à l'échelle R_t *tout le long de la chaîne*. L'existence d'une seule échelle R_t exclut la possibilité que deux conformations coïncident dans une certaine région mais diffèrent beaucoup dans une autre. Cependant, il semblerait que la probabilité de rencontrer une telle constellation pour deux conformations de basse énergie tirées au hasard soit au moins aussi grande que celle de les trouver complètement indépendantes. Tandis que le paramètre R_t permet d'interpoler entre des paires de conformations presque identiques et des paires de répliques tout à

¹⁴Une chaîne flexible peut se replier *localement* sur elle-même en formant des contacts entre monomères qui sont proches dans le squelette. Ce genre de contacts sont communs à de nombreuses conformations de basse énergie. Ils induisent des corrélations d'énergie qui sont responsables des fluctuations qui abaissent la température de gel.

¹⁵Il faut, par exemple, que la séquence du copolymère possède une structure en blocs de monomères ou que sa structure microscopique soit corrélée, favorisant la succession de monomères du même type.

fait indépendantes, il ne représente qu'une possibilité parmi beaucoup d'autres de décrire des situations de similarité intermédiaire entre conformations. En particulier, la forme (4.25) ne nous permet pas de considérer des conformations qui coïncident sur une fraction des monomères. Remarquons finalement que l'*ansatz* (4.27) pour le recouvrement - une conséquence presque directe de la supposition (4.25) - est adapté de sorte à décrire une transition de gel du genre REM, tandis qu'il n'est pas capable de décrire une situation où le paysage de basse énergie est corrélé.

La description des recouvrements par la fonction $Q_{\alpha,\beta}(\mathbf{R})$ contient beaucoup d'informations structurales. Des approximations au niveau de cette fonction, comme l'*ansatz* (4.25), sont donc assez délicates. En particulier, elles sont susceptibles de biaiser le résultat final qui reflétera les particularités de l'approximation utilisée.

4.2.4 Corrélations

Évidence pour des déviations du REM

Même si l'hypothèse de la validité du REM était correcte pour les hétéropolymères aléatoires, ce modèle atteint ses limites quand il s'agit d'expliquer le repliement des protéines [PGT00] : d'abord, au niveau cinétique, le paradoxe de Levinthal persiste : n'importe quelle dynamique dans le REM n'est pas capable d'explorer l'espace configurationnel de manière efficace, car le système n'a pas la moindre indication de la direction où il faut aller pour s'approcher de l'état fondamental. Cependant, une simple descente en énergie finirait par bloquer le système dans l'un des nombreux états métastables. Les énergies de ces derniers ne sont souvent pas très éloignées de celle de l'état fondamental, bien qu'ils puissent différer beaucoup au niveau de la configuration. Le REM prédit une différence typique entre états de basse énergie qui croît en \sqrt{N} ce qui est négligeable comparée à la partie extensive de l'énergie. De petits changements (de l'ordre de $O(1/\sqrt{N})$) des paramètres extérieurs (la qualité du solvant, le pH etc.) ou des énergies d'interaction peuvent donc inverser l'ordre des états de basse énergie - une propriété qui n'est pas acceptable pour les protéines dont l'état natif doit être relativement robuste [Bry94].

La question de savoir si le REM décrit bien la physique des hétéropolymères n'est pas seulement un problème académique. D'une part, en supposant la validité du REM, il est en général relativement facile de calculer les propriétés thermodynamiques¹⁶ en fonction des paramètres définissant un modèle d'hétéropolymères donné. D'autre part, le paradigme du REM est très utile pour le design de séquences dont le but est de trouver des séquences possédant une vallée native bien plus profonde que le reste du paysage d'énergie. Une façon naturelle de procéder consiste à rendre les contacts natifs aussi stables que

¹⁶En particulier la température de la transition de gel et les caractéristiques de la phase gelée (la densité d'énergie etc.).

possibles et à réduire la frustration dans l'état replié. Si le REM décrit bien le paysage de basse énergie, de telles modifications n'influencent pas les autres conformations de basse énergie qui sont en compétition avec l'état natif puisqu'elles n'ont essentiellement pas de contacts en commun¹⁷

Néanmoins, la validité du REM pour les hétéropolymères a été mise en question [PGJT96]. Non seulement ce modèle laisse beaucoup de questions concernant le repliement des protéines ouvertes, mais il y a plusieurs indications montrant que les conformations de basse énergie ne sont pas vraiment indépendantes. Les corrélations dans le paysage d'énergie semblent bien plutôt jouer un rôle décisif dans le repliement.

Les corrélations d'énergies proviennent en premier lieu du recouvrement entre les conformations, c'est-à-dire des contacts qu'elles ont en commun. D'autres effets plus subtiles peuvent apparaître si la matrice des interactions de paires et la composition des séquences satisfont à une certaine condition d'asymétrie¹⁸ [PGJT96]. Pour tester le REM, Pande et al. [PGJT96] ont énuméré toutes les conformations maximale-ment compactes sur des réseaux cubiques de taille $3 \times 3 \times 3$ et $3 \times 3 \times 4$, ainsi que des conformations, appelées "*crumpled*", sur le cube $4 \times 4 \times 4$ qui sont contraintes de visiter successive-ment les 8 sous-cubes $2 \times 2 \times 2$. Il se trouve que la distribution des recouvrements entre conformations générales est piquée sur de petites valeurs, ce qui favoriserait le scénario du REM. En revanche, les conformations *crumpled* ont des recouvrements assez grands. Ceci reflète le fait que pour de telles conformations des réarrangements locaux (et donc des grands recouvrements entre conformations) sont beaucoup plus fréquents que pour des conformations compactes aléatoires où ils sont rarement possibles.

Ces propriétés se manifestent également dans le paysage d'énergie d'hétéropolymères compacts. En étudiant les conformations d'un copolymère, les mêmes auteurs ont trouvé que dans le cas de conformations compactes, la distribution de recouvrements, $P(q)$, à température $T = 0$ ¹⁹ ne se distingue pas de celle d'un ensemble de conformations tirées au hasard. Ceci est bien en accord avec les travaux originaux de Shakhnovich et Gutin [SG90, GS93] et avec l'hypothèse du REM. En revanche, la situation est tout à fait différente pour les 64-mères *crumpled* où, grâce à la possibilité de beaucoup de petits réarrangements locaux, les états fondamentaux sont souvent assez proches dans l'espace de phase et $P(q)$ n'est pas centrée à $q \approx 0$.

Ce dernier fait n'est pas une bizarrerie de l'espace des conformations que l'on a choisi sur le cube $4 \times 4 \times 4$, mais est plutôt lié aux plus nombreuses possibilités de réarrange-ments locaux. En fait, leur rareté dans les conformations compactes aléatoires n'est qu'un

¹⁷En principe, cette idée est également à la base de beaucoup d'expériences de mutagenèse dirigée, bien que la notion du REM soit rarement utilisée dans le domaine expérimental.

¹⁸Cette condition est notamment satisfaite pour le modèle HP et pour les protéines décrites par la matrice de Miyazawa et Jernigan.

¹⁹C'est-à-dire $P(q)$ évaluée dans l'ensemble des états fondamentaux.

artefact de la limite de densité maximale qui supprime toute fluctuation locale²⁰. Ceci suggère qu'en relâchant la condition sur la compacité maximale et en admettant des fluctuations de la densité, le REM devient de moins en moins applicable comme modèle pour les hétéropolymères.

En conclusion, l'analyse de [PGJT96] montre que l'approximation du REM n'est un bon modèle que dans la limite de haute densité, pour des interactions symétriques et des compositions de séquences non-biaisée.

Corrélations dans les séquences de protéines

Même si quelques finesses leur échappent, les calculs de répliques montrent clairement que le paysage de basse énergie d'un hétéropolymère *aléatoire* est très rugueux, dominé par peu de conformations de basse énergie très différentes. Bien qu'à basse température l'état fondamental domine la thermodynamique à l'équilibre, le polymère met en général beaucoup de temps pour l'atteindre parce que la dynamique de repliement se fige dans des états métastables. En outre, comme nous l'avons remarqué plus haut, dans une séquence aléatoire, de petits changements de paramètres peuvent entraîner l'inversion de l'ordre des états de basse énergie. En particulier, la mutation d'un petit nombre de monomères suffira pour changer l'état fondamental du polymère. En vue de ce fait, il faut supposer qu'au cours de l'évolution les séquences des protéines ont été optimisées de sorte à rendre l'état natif plus robuste [Bry94].

Expérimentalement, il est connu depuis longtemps que des séquences aléatoires se replient très mal. Cependant, les expériences récentes de Sauer [Sau96] sur le repliement de séquences aléatoires ont montré qu'une fraction d'environ 1% de telles séquences se replient tout de même assez vite et peuvent être considérées, au moins à cet égard, comme similaires aux protéines. Ceci suggère que déjà une sélection modérée au cours de l'évolution suffirait pour trouver des séquences avec de bonnes propriétés de repliement. Évidemment, le paysage d'énergie de ces séquences est distinctement modifié par rapport à celui d'une séquence aléatoire.

Tandis qu'il est évident qu'il doit y avoir des propriétés particulières qui distinguent les séquences de protéines d'un hétéropolymère aléatoire, c'est seulement récemment que des analyses statistiques ont révélé des corrélations dans les séquences naturelles d'acides aminés [PGT94, IPP96]. Les auteurs de [PGT94] ont trouvé que les monomères hydrophiles ont tendance à être suivis par d'autres monomères hydrophiles. En ce qui concerne la charge partielle des acides aminés, l'analyse [PGT94] révèle une anticorrélation, c'est-à-dire une plus grande fréquence de monomères voisins qui portent des charges opposées. Ces tendances sont en faveur de la minimisation de l'énergie libre dans l'état replié. Elles

²⁰Ceci se manifeste aussi dans une sorte de non-ergodicité de l'espace de phase au-dessus d'une densité seuil [RGTR00].

suggèrent que l'effet de l'évolution consisterait à recuire - à un certain degré - les séquences d'acides aminés de sorte à minimiser la frustration dans l'état natif²¹. La question de savoir sous quelle forme ces corrélations se manifestent dans le paysage d'énergie est encore ouverte.

Conclusion

L'image du REM pour les hétéropolymères résulte dans certaines limites très restrictives de la compacité et de la nature des interactions entre monomères. Pour comprendre, le repliement des protéines, il est cependant nécessaire de développer une théorie qui soit capable de tenir compte des corrélations entre les énergies de conformations et d'aller au-delà des séquences aléatoires. Rappelons de plus que des séquences qui se replient bien sont caractérisées par une petite différence entre la température T_{Θ} où la molécule se compacte, et la température de repliement dans l'état natif, T_F , voir la relation (1.1) dans l'introduction. Dans l'espace des paramètres le régime déplié et peu dense est donc assez proche de la phase native qui est souvent presque maximale compacte²². Pour une description complète du processus de repliement et des transitions de phase associées, il est donc indispensable d'inclure des états de densité intermédiaire en admettant également des hétérogénéités spatiales. Enfin, les fluctuations de densités sont une source importante des corrélations dans le paysage d'énergie.

4.2.5 Au-delà du REM : d'autres approches aux hétéropolymères

Corrélations du paysage d'énergie et le GREM

Dans la littérature, on trouve différentes propositions pour inclure certains des aspects mentionnés dans la section précédente.

Les approches semi-quantitatives de Plotkin et al. [PWW96, PWW97] et de Pande et al. [PGT00] développent l'idée du REM plus loin en tenant compte des corrélations d'énergies suivant le recouvrement q entre les conformations, voir l'équation (4.16). Au lieu d'imposer la compacité maximale, la densité moyenne des monomères est traitée comme un paramètre libre²³.

Le second élément qui entre dans la théorie est l'entropie $S(q)$ des conformations qui ont un recouvrement q avec une conformation donnée. Les auteurs de [PWW96] uti-

²¹Cependant, en utilisant une méthode un peu différente, les auteurs de [IPP96] mettent en évidence des anticorrélations dans l'hydrophobicité des monomères. Tandis que cette contradiction avec l'analyse [PGT94] n'a pas été tout à fait clarifiée, les deux travaux mettent hors de doute que les séquences de protéines présentent *certaines* corrélations non-triviales, déviant clairement des séquences aléatoires.

²²Notamment, pour les protéines globulaires.

²³Ceci constitue un point faible de la théorie car la densité devrait être une fonction de la température et des interactions dans le problème.

lisent le modèle à énergies aléatoires généralisé (GREM) de Derrida et Gardner [DG86] pour obtenir une théorie plus détaillée de la transition de gel. Ils trouvent qu’au niveau du recouvrement la transition de gel est moins abrupte que dans le REM, tout en restant discontinue à haute densité²⁴. En revanche, à basse densité les auteurs prédisent une transition continue où le recouvrement croît graduellement (mais assez vite) en baissant la température²⁵.

Le principal effet de l’inclusion des corrélations est une réduction significative du nombre des vallées de basse énergie²⁶ par rapport au REM. Par contre les quantités thermodynamiques ne sont que peu modifiées. Dans le travail [PWW97], l’approche du repliement des protéines par le GREM a été adaptée pour inclure la présence d’un état natif minimalement frustré.

Approches dynamiques

L’expérience avec la plupart des systèmes désordonnés suggère qu’il faut s’attendre à une brisure de l’ergodicité²⁷ et à des phénomènes de vieillissement²⁸. Si c’est le cas, un système expérimental reste constamment hors de l’équilibre (à l’exception de petits systèmes comme les protéines ($N \approx 100$) qui peuvent finir par trouver leur état fondamental). Une approche *dynamique* du problème semblerait donc plus naturelle que des calculs à l’équilibre thermodynamique. De plus, les calculs dynamiques contournent en général l’utilisation des répliques, ce qui permet de vérifier indépendamment certaines prédictions de la méthode des répliques.

Les auteurs de [TAB96] étudient la dynamique de relaxation de la chaîne hydrophile-hydrophobe dans une approximation auto-cohérente du type Hartree. Ils considèrent la possibilité de corrélations entre les positions de monomères dans la limite asymptotique de grands temps, ce qui signifierait la brisure de l’ergodicité. Leur analyse suggère qu’à basse température, de telles corrélations peuvent en effet survivre, où le critère déterminant la température critique dépend de la distance des monomères le long du squelette. Les auteurs interprètent cela comme indication pour la dépendance de la transition de gel de

²⁴Dans le sens où le recouvrement saute à une valeur finie à la transition vitreuse. La nature de transition vitreuse (continue et discontinue) sera expliquée plus tard (voir section 4.3.5).

²⁵Nous allons retrouver une phénoménologie similaire dans le cadre de la méthode de cavité présentée dans la section 4.3. Cependant, la relation avec l’approche plutôt phénoménologique [PWW96] ne nous est pas entièrement claire.

²⁶Quelquefois appelé le “nombre de Levinthal”.

²⁷La brisure de l’ergodicité a été établie pour les hétéropolymères à liens aléatoires en étudiant l’évolution temporelle des fonctions de corrélation de réponse à l’aide de techniques de groupe de renormalisation [PS01] et le formalisme supersymétrique [KHF01, OB01].

²⁸C’est-à-dire une dépendance des observables du temps depuis la trempe à basse température, dans la phase vitreuse des hétéropolymères.

l'échelle spatiale considérée²⁹.

Dans le même esprit, Timoshenko et al. ont développé une approche numérique astucieuse de la dynamique de Langevin de chaînes hydrophiles-hydrophobes [TKD96] qui se fonde sur une approximation gaussienne auto-cohérente. Cette approche permet de traiter dans le même formalisme la phase dépliée et la phase compacte. La cinétique du repliement peut alors être étudiée quantitativement et de manière très détaillée. Le diagramme de phase que les auteurs trouvent par simulations exhaustives [TKD97] raffine considérablement le scénario de la transition de gel, en distinguant trois phases denses différentes : (i) le globule liquide - une phase relativement compacte mais non-vitreuse ; (ii) le globule vitreux, une phase de conformations denses, dominée par des états intermédiaires partiellement mal repliés qui sont figés dans leur vallée, n'en sortant que par activation thermique³⁰ ; (iii) la phase native - la conformation correspondant à l'état fondamental. En étudiant des séquences spécifiques les auteurs trouvent que le diagramme de phase est assez sensible à la composition de la séquence [TKD98].

La méthode de cavité que nous développerons dans la section suivante nous permettra de quantifier ce genre d'effets à un certain degré. De plus, nous trouverons un diagramme de phase pour les copolymères qui ressemble beaucoup à celui trouvé numériquement pour les chaînes hydrophiles-hydrophobes.

4.3 Une nouvelle approche locale : la méthode de cavité

4.3.1 Motivation

La principale difficulté de l'approche des répliques provient de la structure compliquée de l'espace des conformations. Comme nous l'avons vu, le recouvrement de deux repliements, décrit par la fonction $Q(r)$, est beaucoup plus compliqué que son équivalent dans les verres de spins, où il suffit de caractériser la fraction de spins alignés. Ceci rend les calculs exacts très difficiles, même dans l'approximation du champ moyen³¹, de sorte qu'il faut recourir à des simplifications de la forme de $Q(r)$ qui sont susceptibles de masquer des effets inattendus.

La complication majeure au niveau des calculs est due au fait que les conformations sont étudiées à l'échelle globale de la molécule, où une grande quantité d'informations est nécessaire pour caractériser une structure repliée. Ici, nous proposons une approche

²⁹Cette conclusion a été critiquée par Takada et al. [TPW97] qui utilisent une méthode très similaire basée sur l'approximation de couplage de modes. Cependant, ils évitent la séparation des différentes échelles qu'ils disent être artificielle.

³⁰Il est possible que la phase du "globule fondu" (*molten globule*) conjecturée pour les protéines [PR98] corresponde à cette phase observée en général dans les hétéropolymères.

³¹L'approximation de col pour l'intégrale fonctionnelle sur $Q(r)$.

dont l'esprit est tout à fait opposé, en décrivant les effets de frustrations de manière auto-cohérente à l'échelle locale. Ceci réduit la complexité du problème à un niveau où des calculs exacts sont possibles. De plus, la qualité de l'approximation peut être améliorée de façon systématique en élargissant le rayon des régions qui sont considérées dans l'approximation. Plus important encore, une telle approche locale permet de prendre en compte les propriétés statistiques des séquences, en particulier les corrélations à courte portée entre monomères voisins dans la séquence. Ceci est d'autant plus intéressant que de telles corrélations ont été trouvées dans des séquences de protéines (voir la section 4.2.4), ce qui suggère qu'elles jouent un rôle important pour le repliement.

La méthode de cavité a été développée récemment pour des systèmes dilués frustrés, d'abord pour les verres de spins [MP01, MP03] où sa capacité de traiter les phases vitreuses et, en particulier, d'éclaircir leur riche structure interne a été démontrée. Cette méthode s'est également avérée utile pour les verres structuraux [BM02, CTdCC03, RBMM03] ainsi que pour un nombre de problèmes d'optimisation comme la satisfaction de contraintes (le problème "KSAT") [MZ02, FL03] ou le coloriage de graphes [MPWZ02]. Nous l'adaptions ici au problème des hétéropolymères, où elle apporte une nouvelle vue de la transition vitreuse.

4.3.2 L'approximation de Bethe et la méthode de cavité

L'idée principale de l'approche locale consiste à établir une approximation du champ moyen au niveau microscopique, en adaptant l'approximation de Bethe-Peierls au cas des hétéropolymères sur réseau. Cette approximation peut être considérée comme la première approximation non-triviale dans le cadre de la méthode variationnelle des amas (*cluster variation method* - CVM) [Kik51]. Le point de départ de la méthode CVM est un développement exact pour l'énergie libre en termes des poids de Boltzmann restreints à des amas α qui contiennent de plus en plus de sommets,

$$F = \sum_{\alpha} \left(\sum_{\mathcal{C}_{\alpha}} p_{\alpha}(\mathcal{C}_{\alpha}) e_{\alpha}(\mathcal{C}_{\alpha}) + T a_{\alpha} \sum_{\mathcal{C}_{\alpha}} p_{\alpha}(\mathcal{C}_{\alpha}) \log [p_{\alpha}(\mathcal{C}_{\alpha})] \right), \quad (4.29)$$

où $p_{\alpha}(\mathcal{C}_{\alpha})$ est la probabilité de Gibbs de trouver le système dans la configuration \mathcal{C}_{α} sur l'amas α . Les e_{α} décrivent les interactions "irréductibles" qui ne peuvent pas être exprimées comme somme de termes associés à des amas plus petits. Les coefficients a_{α} doivent être déterminés par une transformation de Möbius [An88]. Nous donnerons la forme explicite pour l'approximation de Bethe-Peierls dans les équations (4.31)-(4.33).

L'expression (4.29) est variationnelle dans le sens où elle est minimisée si et seulement si les poids $p_{\alpha}(\mathcal{C}_{\alpha})$ correspondent aux poids de Boltzmann. L'approximation de CVM consiste à tronquer le développement à une certaine taille des amas et à minimi-

ser³² cette expression par rapport aux poids³³. Ce procédé revient à décrire exactement les corrélations locales dont les propriétés statistiques doivent être déterminées de manière auto-cohérente.

Dans l'approximation de Bethe-Peierls, on tronque le développement déjà au niveau des paires de sommets voisins. Pour un problème de polymère, cela correspond à la première approximation non-triviale, puisque le squelette du polymère ne pourrait pas être décrit de manière satisfaisante au niveau des sommets individuels. Cette approche a été utilisée pour la première fois dans la série d'articles d'Aguilera-Granja et Kikuchi [AGK91, AGK92a, AGK92b, AGK92c, AGK93].

Il est important de noter que l'approximation de Bethe-Peierls est exacte sur un arbre. Ceci se manifeste par exemple dans le fait que pour n'importe quelle mesure de probabilité sur l'arbre, il est vrai que

$$P(\mathcal{C}_1, \dots, \mathcal{C}_N) = \frac{\prod_{\langle i,j \rangle} P_{ij}(\mathcal{C}_i, \mathcal{C}_j)}{\prod_i P_i(\mathcal{C}_i)^{c_i-1}}, \quad (4.30)$$

où \mathcal{C}_i décrit la configuration locale du système sur le sommet i , et c_i est la connectivité du sommet i . P_i et P_{ij} sont respectivement les marginales de la mesure P par rapport aux sommets i et par rapport aux paires de sommets voisins (liens), $\langle i, j \rangle$.

Il s'ensuit de (4.30) que l'entropie sur l'arbre peut être exprimée *exactement* en fonction des marginales des sommets et des liens³⁴ :

$$S_{BP}(\{\mathcal{C}_i\}) = - \sum_{\langle i,j \rangle} P_{ij}(\mathcal{C}_i, \mathcal{C}_j) \log [P_{ij}(\mathcal{C}_i, \mathcal{C}_j)] + \sum_i (c_i - 1) P_i(\mathcal{C}_i) \log [P_i(\mathcal{C}_i)]. \quad (4.31)$$

Ainsi, nous obtenons pour l'énergie interne

$$E_{BP} = \sum_{\langle i,j \rangle} \sum_{\mathcal{C}_i, \mathcal{C}_j} P_{ij}(\mathcal{C}_i, \mathcal{C}_j) E_{ij}^{(2)}(\mathcal{C}_i, \mathcal{C}_j) + \sum_i \sum_{\mathcal{C}_i} P_i(\mathcal{C}_i) E_i^{(1)}(\mathcal{C}_i), \quad (4.32)$$

où les sommes sont sur toutes les configurations de sommets et de liens et $E^{(1)}$ et $E^{(2)}$ sont respectivement les interactions à une particule (par exemple dues à un potentiel chimique) et les interactions de paires.

La combinaison de ces deux expressions,

$$F_{BP} = E_{BP} - TS_{BP}, \quad (4.33)$$

³²Il faut noter, cependant, que pour la forme tronquée aucune inégalité du type $F_{\text{CVM}} \geq F_{\text{exact}}$ (comme dans le principe de Bogoliubov) ou $F_{\text{CVM}} \leq F_{\text{exact}}$ n'est satisfaite en général.

³³Les poids sont sujets à des contraintes de cohérence : les marginales obtenues en restreignant les poids à des sous-amas $\beta \subset \alpha$ doivent être indépendants de l'amas α par rapport auquel les marginales sont calculées.

³⁴Noter les coefficients non-triviaux $c_i - 1$ qui correspondent aux facteurs a_α associés aux sommets.

est appelée *l'énergie libre de Bethe-Peierls*.

L'approximation de Bethe-Peierls pour un problème sur réseau est équivalente à idéaliser la structure locale du réseau comme un arbre, en négligeant les corrélations induites par des boucles. Cette observation nous permettra de trouver les équations de champ moyen de manière très naturelle, sans utiliser directement la machinerie lourde (et souvent peu transparente) de l'approche générale de la méthode CVM.

4.3.3 Homopolymères : formalisme et diagramme de phase

Polymères sur un graphe

Avant de traiter le cas général d'hétéropolymères, nous allons développer la méthode pour un homopolymère. Nous considérons un modèle de polymère sur réseau, ou plus généralement, sur un graphe $\mathcal{G} = (\mathcal{V}, \mathcal{E})$ donné par l'ensemble de sommets $i \in \mathcal{V}$ et de liens $(i, j) \in \mathcal{E}$. Les conformations \mathcal{C} d'un polymère de $N \leq |\mathcal{V}| \equiv V$ monomères correspondent aux marches auto-évitantes du squelette sur le graphe³⁵. L'énergie d'une conformation est la somme sur toutes les interactions de paires de monomères plus proches voisins mais non-consécutifs dans la chaîne,

$$H_N(\mathcal{C}) = \sum_{\substack{(i,j) \in \mathcal{E} \\ i,j \text{ occupés dans } \mathcal{C}}} e_0, \quad (4.34)$$

où e_0 est l'énergie d'interaction homogène entre deux monomères.

Dans ce qui suit nous allons considérer deux types de graphes \mathcal{G} : le réseau cubique en dimension d et le *réseau de Bethe* à connectivité fixe $(k+1)$. Ce dernier peut être considéré comme limite thermodynamique de graphes aléatoires de $V \equiv |\mathcal{V}|$ sommets dont chacun est relié à $k+1$ voisins³⁶. Ces deux types de graphes sont homogènes dans le sens où les environnements locaux des sommets sont isomorphes. En particulier, la structure locale de graphes aléatoires est la même que celle d'un arbre homogène. Comme la longueur typique des boucles de ces graphes diverge avec la taille comme $\log(V)$, l'approximation de Bethe-Peierls devient asymptotiquement exacte. L'approximation pour le réseau cubique revient à l'idéaliser comme un réseau de Bethe de même connectivité $k+1 = 2d$.

³⁵Formellement, si $r_a \in \mathcal{V}$ est la position du monomère $a \in [1, N]$, nous imposons $(r_a, r_{a+1}) \in \mathcal{E}$ et $r_a \neq r_{a'}$ pour $a \neq a'$.

³⁶À l'origine, le terme "réseau de Bethe" était utilisé pour la partie intérieure d'un arbre de Cayley. Dans le contexte des systèmes désordonnés, ce concept a été élargi à la notion définie ici.

Description canonique et grand-canonique

Nous pouvons décrire le polymère dans un cadre canonique, en fixant le nombre de monomères N et donc la densité $\rho = N/V$. L'énergie libre par unité de volume³⁷ est donnée par

$$-\beta f(\beta, \rho) = \lim_{\substack{V \rightarrow \infty \\ N = \rho V}} \frac{1}{V} \log \left(\sum_c e^{-\beta H_N(c)} \right). \quad (4.35)$$

Pour une approche locale, la description grand-canonique est beaucoup plus pratique puisque le nombre de monomères n'a pas besoin d'être fixé. La densité est contrôlée par un potentiel chimique associé à la présence d'un monomère, et le potentiel grand-canonique par sommet est défini comme

$$-\beta \omega(\beta, \mu) = \lim_{V \rightarrow \infty} \frac{1}{V} \log \left(\sum_{N \geq 0} e^{\beta \mu N} \sum_c e^{-\beta H_N(c)} \right). \quad (4.36)$$

Comme d'habitude, les deux potentiels thermodynamiques sont liés par une transformée de Legendre,

$$\omega(\mu) = f(\rho) - \mu \rho, \quad (4.37)$$

et

$$\mu = \frac{\partial f}{\partial \rho}, \quad \rho = -\frac{\partial \omega}{\partial \mu}. \quad (4.38)$$

Nous rappelons la relation simple entre le potentiel grand-canonique et la pression p exercée par le système, $\omega = -p$. Pour décrire un polymère libre qui est en équilibre avec le solvant³⁸, il faut donc ajuster le potentiel chimique à la valeur critique μ_c de sorte que $\omega(\mu_c) = -p = 0$ [dG75].

Pour mieux comprendre cette condition, nous discutons le diagramme de phase dans l'ensemble grand-canonique (voir aussi la figure 4.4). En utilisant (4.35), nous voyons que la somme sur N dans (4.36) s'exprime approximativement comme $\int d\rho \exp[-\beta V(f(\rho) - \mu \rho)]$. Nous pouvons approximer cette intégrale par son point de col, ce qui nous donne $\exp[-\beta V \omega(\mu)]$, mais seulement à condition que $\omega(\mu) \leq 0$. Cependant, pour μ tel que la transformée de Legendre $\omega(\mu)$ est positive, i.e. pour $\mu < \mu_c$, la contribution des petites valeurs de N ($\rho \approx 0$) domine.

Pour $\mu < \mu_c$, on décrit alors une phase diluée à densité globale $\rho = 0$, tandis que le polymère occupe une fraction finie du réseau (en exerçant une pression osmotique) si

³⁷Ou, de manière équivalente, par sommet du réseau. Remarquons que dans le cas de réseaux aléatoires, il faudrait en principe moyennner sur les réalisations du réseau. Cependant, dans la limite thermodynamique, les réalisations typiques ont toutes les mêmes propriétés.

³⁸Dans notre description le solvant correspond simplement au réseau vide.

$\mu > \mu_c$. La ligne critique décrite par $\mu_c(\beta)$ correspond à une transition dans l'ensemble grand-canonique entre une phase diluée et une phase dense. Sur la ligne critique, les deux phases coexistent, comme c'est également le cas à la surface d'un polymère en solution : le solvant pur entourant le polymère coexiste avec la phase dense contenant le polymère. Cette image nous offre une explication plus intuitive pour la condition $\omega(\mu_c) = 0$ décrivant un polymère libre.

Au-dessus d'une température T_Θ la transition entre les phases est du second ordre, tandis qu'elle est du premier ordre en dessous de T_Θ . Ceci se reflète dans les propriétés d'un polymère libre décrit par la limite $\mu \searrow \mu_c$: pour $T > T_\Theta$, les propriétés de la phase dense rejoignent de manière continue celles de la phase diluée. En particulier la densité du polymère libre disparaît, $\rho(\mu \searrow \mu_c) = 0$. Ce régime de températures correspond donc à la phase "pelote" (*random coil*) du polymère en solution. En revanche, quand la transition de phase grand-canonique est discontinue, la densité $\rho(\mu \searrow \mu_c)$ reste finie sur la ligne de coexistence, ce qui est à interpréter comme le régime globulaire du polymère libre. Le point tricritique $(T_\Theta, \mu_c(T_\Theta))$, où les deux régimes se joignent sur la ligne critique décrit donc la transition pelote-globule (ou le point Θ) où le polymère libre se compacte. Mentionnons encore que dans le régime de basse température la transition de premier ordre est accompagnée de deux spinodales qui limitent la région de métastabilité des deux phases, dense et diluée. En particulier, une situation avec $\omega > 0$ dans l'ensemble grand-canonique peut être interprétée comme un état métastable dense. Ceci deviendra plus clair lors du traitement explicite avec la méthode de cavité.

La méthode de cavité

Comme nous l'avons expliqué plus haut, l'approximation de Bethe-Peierls revient à approximer la structure locale du réseau par un arbre. Au lieu d'appliquer aveuglement le formalisme de la méthode variationnelle des amas, nous allons directement exploiter cette observation.

Pour l'instant, nous nous restreignons à un arbre de connectivité fixe $(k + 1)$. L'observation pertinente est la suivante : en enlevant un sommet et ses $(k + 1)$ liens, nous obtenons $(k + 1)$ arbres tronqués³⁹. De même, nous obtenons deux arbres tronqués en effaçant un lien de l'arbre. Les arbres tronqués ont une propriété récursive qui est à la base de la méthode de cavité : en reliant les racines de k arbres tronqués à un sommet supplémentaire, on obtient à nouveau un arbre tronqué (voir figure 4.2). L'idée de la méthode de cavité⁴⁰ consiste à utiliser cette structure récursive pour trouver de manière auto-cohérente

³⁹Nous appelons "arbre tronqué" un arbre dont la racine n'a que k voisins.

⁴⁰Le sommet ajouté est souvent appelé "sommet de cavité" puisque son environnement - les k arbres tronqués - est traité comme une source fixe à laquelle il réagit, sans lui-même l'influencer. Une approche similaire a été développée pour le modèle SK [MPV86].

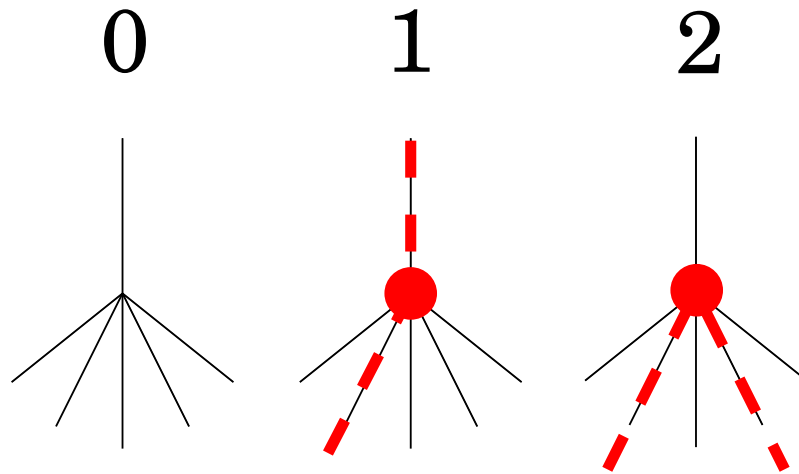


FIG. 4.1 – Les conformations locales d’un homopolymère sur les sommets d’un arbre tronqué.

les propriétés statistiques des conformations sur ces arbres tronqués. La méthode de cavité se concentre sur les probabilités (poids de Boltzmann) $p_{\mathcal{C}}^{(r)}$ de trouver la racine r d’un arbre tronqué (vu comme un sous-arbre d’un arbre complet) dans la conformation \mathcal{C}^{41} . Dans la suite, nous appelons ces poids “champs locaux”. Pour le polymère homogène il y a trois possibilités de conformations \mathcal{C} sur un tel sommet, voir figure 4.1 : (i) le sommet est libre ($\mathcal{C} = 0$); s’il y a un monomère sur le sommet, il faut distinguer deux cas. Soit (ii) le squelette du polymère occupe le lien qui a été enlevé et qui relie la racine au reste de l’arbre ($\mathcal{C} = 1$), soit (iii) le squelette occupe deux liens appartenant à l’arbre tronqué ($\mathcal{C} = 2$). Nous utilisons la notation $\mathbf{p}^{(r)} \equiv \{p_{\mathcal{C}}^{(r)}\}$ pour nous référer à l’ensemble des champs locaux de la racine r . Pour trouver les probabilités associées à ces conformations, nous établissons une récursion comme suit (voir figure 4.2) : nous considérons les k branches attachées à la racine r de l’arbre tronqué, et nous exprimons les poids de Boltzmann sur r en fonction des poids sur les k sommets voisins. Pour chaque conformation \mathcal{C}_r de la racine, nous sommes sur tous les ensembles de conformations $\mathcal{C}_1, \dots, \mathcal{C}_k$ qui sont compatibles avec \mathcal{C}_r , pondérant chaque contribution avec la probabilité⁴²

⁴¹Notons que la méthode de cavité comme nous l’exposons ici peut être adaptée directement à n’importe quel problème sur un réseau dilué, à condition que le nombre de conformations locales soit fini, et que les interactions soient de courte portée.

⁴²Nous utilisons explicitement l’absence de corrélations entre les conformations sur les différents sommets. Sur l’arbre, cette propriété est trivialement exacte puisque les sommets sont déconnectés. Pour les graphes aléatoires, les sommets sont asymptotiquement indépendants en l’absence de corrélations à longue portée puisque la longueur de boucles, et donc la distance des sommets dans le réseau tronqué, diverge comme $\log(V)$. Sur un réseau contenant de petites boucles, l’équation (4.39) constitue l’approximation cruciale de la méthode de cavité.

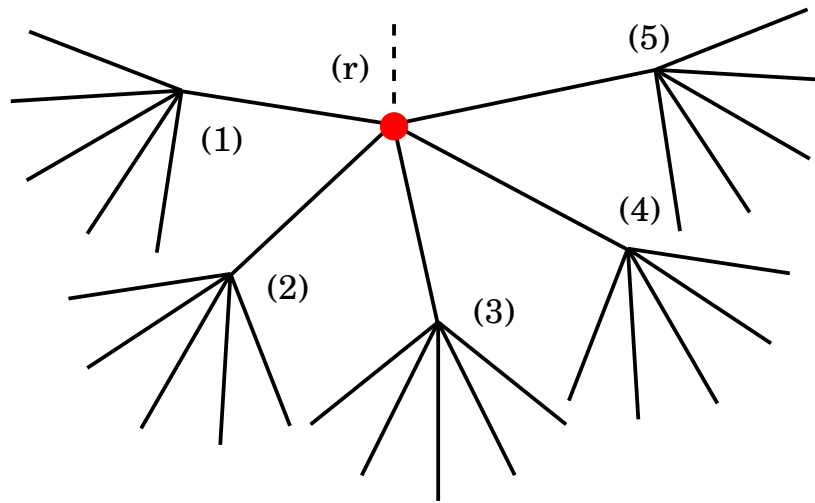


FIG. 4.2 – L'itération de cavité ($k = 5$) : les poids de conformations sur la racine r , $p_C^{(r)}$ sont exprimées en fonction des champs locaux $p_C^{(1)}, \dots, p_C^{(k)}$, des k branches attachées à la racine.

$$P(C_1, \dots, C_k) = \prod_{i=1}^k p_{C_i}^{(i)} \quad (4.39)$$

de trouver les branches dans leurs configurations respectives. En outre, il faut inclure le facteur de Boltzmann qui tient compte des interactions avec les monomères, ainsi que du potentiel chimique au cas où un monomère est ajouté :

$$p_0^{(r)} = \frac{1}{C} \prod_{i=1}^k (p_0^{(i)} + p_2^{(i)}), \quad (4.40)$$

$$p_1^{(r)} = \frac{1}{C} e^{\beta\mu} \sum_{i=1}^k p_1^{(i)} \prod_{j \neq i}^k (p_0^{(j)} + e^{-\beta e_0} p_2^{(j)}), \quad (4.41)$$

$$p_2^{(r)} = \frac{1}{C} e^{\beta\mu} \sum_{i_1 < i_2}^k p_1^{(i_1)} p_1^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2}^k (p_0^{(j)} + e^{-\beta e_0} p_2^{(j)}), \quad (4.42)$$

Le facteur $C \equiv C[\{\mathbf{p}^{(i)}\}]$ assure la normalisation des probabilités sur la racine : $p_0^{(r)} + p_1^{(r)} + p_2^{(r)} = 1$.

Dans une phase liquide, nous nous attendons à ce que les sommets soient tous équivalents et que les champs locaux soient indépendants du sommet, $p_C^{(i)} \equiv p_C^*$. Dans ce cas, p_C^* doit être un point fixe de la récursion (4.40)-(4.42). Numériquement, il peut être trouvé très facilement, par exemple par itération.

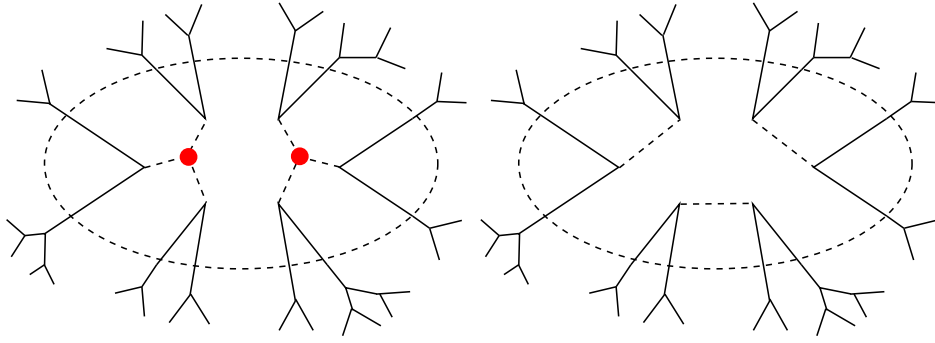


FIG. 4.3 – Deux façons de construire un arbre complet à connectivité fixe (ici, $k + 1 = 3$) à partir de $2(k + 1)$ arbres tronqués : par l’ajout de deux sommets avec $(k + 1)$ liens pour chacun (à gauche), ou par l’ajout de $(k + 1)$ liens (à droite).

Calcul de l’énergie libre

Pour obtenir l’énergie libre (grand-canonique) à partir des probabilités p_c nous considérons $2(k + 1)$ arbres tronqués, voir figure 4.3. Nous en obtenons un graphe complet, soit en regroupant les arbres tronqués en paires et en reliant leurs racines par $k + 1$ liens supplémentaires, soit en ajoutant deux nouveaux sommets au graphe et en les reliant chacun à $(k + 1)$ des racines. Or, le graphe obtenu par la seconde opération contient deux sommets de plus que le graphe issu de l’ajout de liens. Dans la limite thermodynamique, la différence des énergies libres des deux graphes complets correspond donc au double de l’énergie libre par sommet ω ,

$$\omega = \Delta\Omega_{\text{sommet}} - \frac{k + 1}{2} \Delta\Omega_{\text{lien}} . \quad (4.43)$$

$\Delta\Omega_{\text{sommet}}$ est le changement d’énergie libre associé à l’ajout d’un sommet, et $\Delta\omega_{\text{lien}}$ est celui associé à l’ajout d’un lien entre deux racines d’arbres tronqués. Nous allons expliciter cela pour le terme du sommet. Par définition, le changement d’énergie libre est

$$e^{-\beta\Delta\omega_{\text{sommet}}} = \frac{Z_{\text{tot}}^{(0)}}{\prod_{i=1}^{k+1} Z_{\text{tot}}^{(i)}} , \quad (4.44)$$

où $Z_{\text{tot}}^{(0)}$ est la fonction de partition du graphe complété par le sommet de cavité (0), et les $Z_{\text{tot}}^{(i)}$ sont les fonctions de partition des $(k + 1)$ arbres tronqués. $Z_{\text{tot}}^{(0)}$ se calcule en sommant sur le poids de toutes les conformations possibles sur (0). Dans le cas de l’homopolymère, le sommet est soit vide, les arbres tronqués étant dans une conformation $\mathcal{C} = 0$ ou $\mathcal{C} = 2$; soit il est occupé. Dans ce dernier cas, les deux sommets voisins par lesquels le squelette du polymère passe ont la conformation $\mathcal{C} = 1$, tandis que tous les autres sommets admettent une conformation $\mathcal{C} = 0$ ou $\mathcal{C} = 2$. À nouveau, il faut inclure les facteurs de

Boltzmann associés aux interactions et au potentiel chimique. Explicitement, nous avons

$$Z_{\text{tot}}^{(0)} = \prod_{i=1}^{k+1} \left(Z_0^{(i)} + Z_2^{(i)} \right) \quad (4.45)$$

$$+ e^{\beta\mu} \sum_{a=1}^L \sum_{i_1 < i_2}^{k+1} Z_1^{(i_1)} Z_1^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2}^{k+1} \left(Z_0^{(j)} + e^{-\beta e_0} Z_2^{(j)} \right),$$

où $Z_C^{(i)}$ est la fonction de partition de l'arbre tronqué i , restreinte à la conformation C sur la racine. Finalement, sachant que les probabilités de Boltzmann s'expriment comme $p_C^{(i)} = Z_C^{(i)} / Z_{\text{tot}}^{(i)}$, nous obtenons

$$w_1(\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k+1)}) \equiv e^{-\beta \Delta \omega_{\text{sommet}}} = \prod_{i=1}^{k+1} \left(p_0^{(i)} + p_2^{(i)} \right) \quad (4.46)$$

$$+ e^{\beta\mu} \sum_{a=1}^L \sum_{i_1 < i_2}^{k+1} p_1^{(i_1)} p_1^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2}^{k+1} \left(p_0^{(j)} + e^{-\beta e_0} p_2^{(j)} \right),$$

où l'on injectera $p_C^{(i)} = p_C^*$ pour l'état liquide.

Un argument tout à fait analogue mène à l'expression pour l'ajout d'un lien,

$$w_2(\mathbf{p}^{(1)}, \mathbf{p}^{(2)}) \equiv e^{-\beta \Delta \omega_{\text{lien}}} = p_0^{(1)} p_0^{(2)} + p_2^{(1)} p_2^{(2)} e^{-\beta e_0} \quad (4.47)$$

$$+ p_0^{(1)} p_2^{(2)} + p_2^{(1)} p_0^{(2)} + p_1^{(1)} p_1^{(2)}.$$

Il est intéressant de noter que l'énergie libre de Bethe exprimé sous la forme

$$-\beta \omega(\mathbf{p}^*) = \log [w_1(\mathbf{p}^*, \dots, \mathbf{p}^*)] - \frac{k+1}{2} \log [w_2(\mathbf{p}^*, \mathbf{p}^*)], \quad (4.48)$$

est variationnelle dans le sens où les équations pour un minimum de $\omega(\mathbf{p}^*)$ par rapport à \mathbf{p}^* sont équivalentes à la récursion de cavité⁴³. Pour voir cela, nous considérons le sommet de cavité (0) comme la racine d'un arbre tronqué rejoignant les k branches $i = 2, \dots, k+1$, reliée ensuite à la branche $i = 1$ en ajoutant un dernier lien. La différence d'énergie libre pour l'ajout du sommet se compose donc d'une part de la contribution associée à l'itération de cavité, et d'autre part de l'énergie libre associée à l'ajout d'un lien. En formules, cette relation s'exprime comme

$$w_1(\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k+1)}) = w_2(\mathbf{p}^{(1)}, \mathbf{p}^{(r)}(\mathbf{p}^{(2)}, \dots, \mathbf{p}^{(k+1)})) C(\mathbf{p}^{(2)}, \dots, \mathbf{p}^{(k+1)}), \quad (4.49)$$

où $\mathbf{p}^{(r)}$ et C sont définis par la récursion de cavité (4.40-4.42). En utilisant cette relation dans (4.48), il est facile de vérifier que $\partial \omega(\mathbf{p}^*) / \partial \mathbf{p}^* = 0$.

⁴³Cette propriété est naturelle puisqu'il est possible de montrer que la méthode de cavité, et en particulier la forme de l'énergie libre (4.48), est équivalente à l'approche standard (CVM) [LMP98] où cette propriété est imposée dès le début.

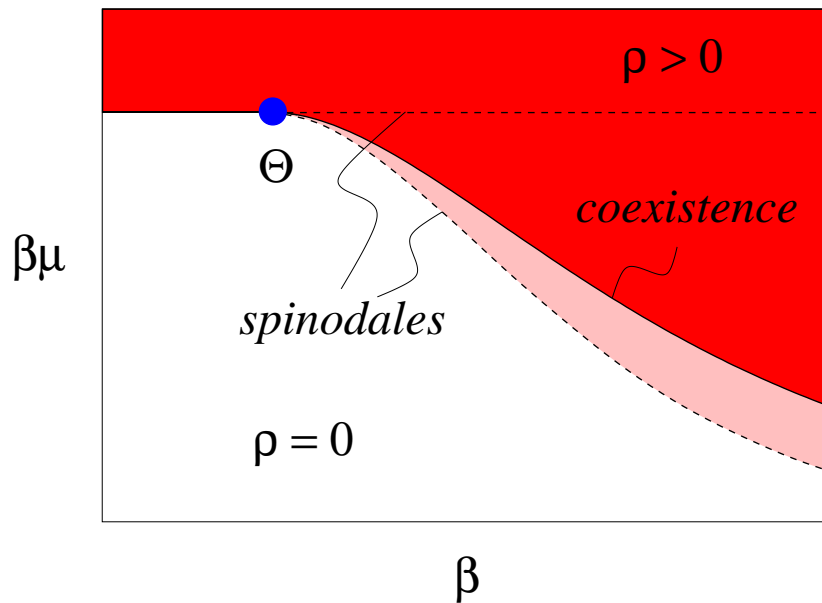


FIG. 4.4 – Diagramme de phase grand-canonique pour l’homopolymère. La ligne critique indique une transition de phase dans l’ensemble grand-canonique. Sur la ligne même, la phase dense et la phase diluée coexistent, ce qui correspond à la situation d’un polymère libre en coexistence avec le solvant. Au point Θ , le polymère libre se compacte dans un état de densité finie. Dans le régime $T < T_\Theta$, la densité du polymère peut être réduite en dessous de la densité d’équilibre $\rho(\mu_c)$ (en créant une dépression par exemple) jusqu’à la ligne spinodale où l’état dense devient instable et le polymère s’allonge spontanément. De manière analogue l’état dilué décrit par la solution triviale reste localement stable jusqu’à la spinodale $\exp(\beta\mu_{\text{sp}}^{\text{triv}}) = 1/k$.

Le diagramme de phase

L’équation de point fixe, dépendant des valeurs de β et μ , possède différentes solutions. Pour discuter le diagramme de phase [LMP98], nous nous référons à la figure 4.4. La solution triviale $p_c^* = \delta_{c,0}$ est toujours présente. Elle décrit une phase diluée où l’énergie libre et la densité disparaissent. Une solution non-triviale n’existe que pour un potentiel chimique μ suffisamment grand. Nous pouvons distinguer deux régimes de températures, $T > T_\Theta$ et $T < T_\Theta$, suivant le comportement de cette solution lorsque le potentiel chimique est abaissé adiabatiquement. Pour $T > T_\Theta$, la solution non-triviale rejoint de manière continue la solution diluée à l’endroit où celle-ci devient instable. En analysant la récursion (4.40-4.42) pour de petites déviations autour de la solution diluée, on trouve facilement qu’une instabilité apparaît à la valeur critique μ_c donnée par $\exp(\beta\mu_c) = 1/k$. Dans la région $\mu > \mu_c$, l’énergie libre ω de la solution non-triviale est toujours négative et ne s’annule que sur la ligne critique. Selon la discussion plus haut, nous identifions ce régime de température à la phase “pelote” du polymère libre.

En dessous de T_Θ , le prolongement analytique de la solution non-triviale ne rejoint pas la solution triviale. Comme expliqué plus haut, la valeur critique μ_c correspondant au polymère libre est déterminée par la condition $\omega(\mu_c) = 0$. Cependant, la solution non-triviale peut être prolongée plus loin, jusqu'à la valeur spinodale $\mu_{\text{sp}}(\beta)$ où elle cesse d'exister. Dans la région $\mu_{\text{sp}} < \mu < \mu_c$, l'énergie libre ω associée est positive, et la solution non-triviale décrit un polymère dense dans un état métastable. L'état d'équilibre pour la même densité totale correspondrait à la séparation en une phase dense contenant le polymère (avec $\rho = \rho(\mu_c)$) et une phase de solvant pur ($\rho = 0$). En effet, cette séparation de phase réduit l'énergie libre à $\omega = 0$.

De manière analogue, pour $T < T_\Theta$, la solution diluée peut être prolongée au-delà de μ_c , jusqu'à la spinodale donnée par $\exp(\beta\mu_{\text{sp}}^{\text{triv}}) = 1/k$ où elle devient instable.

Le point Θ du polymère libre découle de cette analyse comme la température T_Θ où les deux régimes différant par la nature de la transition se rejoignent. Il est repéré le plus facilement en analysant la récursion pour de petites déviations et en observant que pour $T \lesssim T_\Theta$ une solution non-triviale existe sur la spinodale de la solution triviale. Après un peu d'algèbre nous trouvons la condition

$$e^{-\beta_\Theta e_0} = \frac{k}{k-1}, \quad (4.50)$$

déterminant le point Θ .

4.3.4 Hétéropolymères

Pour les homopolymères, la solution liquide \mathbf{p}^* décrit tout le diagramme de phase. La situation est plus intéressante pour les hétéropolymères où nous nous attendons à des effets de frustration à basse température.

Le formalisme de la méthode de cavité s'adapte sans difficulté majeure au cas d'hétéropolymères [MMM03a]. Nous décrivons la séquence de l'hétéropolymère comme $\xi_1 \dots \xi_N$, où $\xi_a \in \mathcal{A}$ indique le type du monomère a , et \mathcal{A} est un alphabet fini de types de monomères. Quant aux conformations \mathcal{C} , il faut maintenant distinguer quel monomère occupe le sommet considéré. De plus, pour les conformations de type $\mathcal{C} = 1$, il faut indiquer l'orientation de la chaîne. *A priori*, pour une chaîne aléatoire de N monomères, cela nécessiterait de distinguer $3N + 1$ conformations locales. Pour nous retrouver malgré tout avec un nombre fini de conformations, nous considérons des chaînes périodiques de période L avec $\xi_i = \xi_{L+i}$. On s'attend à obtenir la limite des chaînes aléatoires pour $L \rightarrow \infty$.

Nous distinguons donc les conformations suivantes (voir figure 4.5) :

- (0) : conformation de type $\mathcal{C} = 0$; le sommet est vide.

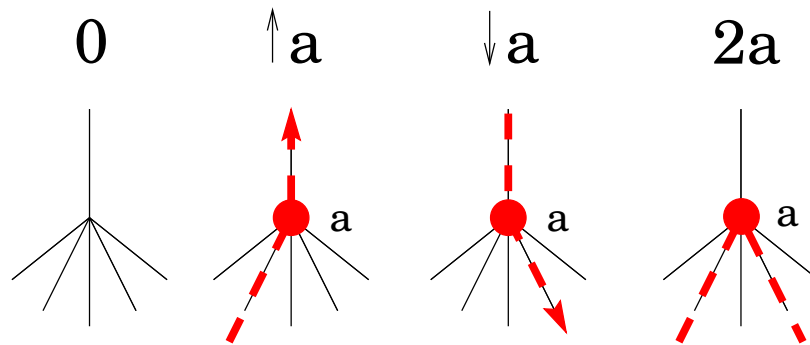


FIG. 4.5 – Les conformations locales d’un hétéropolymère sur les sommets d’un arbre tronqué. En plus de la forme du squelette, il faut distinguer le type du monomère a ainsi que l’orientation de la chaîne (pour les conformations $\mathcal{C} = 1$).

- (\uparrow, a) : conformation de type $\mathcal{C} = 1$; il y a un monomère a sur le sommet⁴⁴, et le lien qui relie l’arbre tronqué au reste de l’arbre est occupé par la paire $(a, a + 1)$ de monomères successifs.
- (\downarrow, a) : comme (\uparrow, a) , mais avec l’orientation de la chaîne opposée. Le lien vers le reste de l’arbre est donc occupé par la paire $(a, a - 1)$.
- $(2a)$: conformation de type $\mathcal{C} = 2$; le sommet est occupé par un monomère a , mais le squelette retourne vers l’arbre tronqué.

Concernant les interactions, nous supposons qu’une matrice d’interactions \tilde{e}_{XY} pour toutes les paires $X, Y \in \mathcal{A}$ est donnée⁴⁵. L’interaction entre les monomères a et b est alors⁴⁶ $e_{ab} = \tilde{e}_{\xi_a \xi_b}$.

Remarquons la flexibilité de la méthode de cavité qui nous permet de traiter avec le même formalisme tous les modèles mentionnés au début de ce chapitre (section 4.1).

⁴⁴Les index sont à lire modulo L . Le “monomère a ” se réfère à l’ensemble des monomères $\{\xi_a, \xi_{a+L}, \xi_{a+2L}, \dots\}$.

⁴⁵En principe, il est possible d’inclure les interactions des monomères avec le solvant en introduisant des énergies $e_{X,0}$ qui décrivent la préférence d’un monomère de type X à être exposé au solvant.

⁴⁶Pour le modèle à liens aléatoires, les différents e_{ab} sont par contre tirés au hasard.

Pour les hétéropolymères, la récursion de cavité prend la forme

$$p_0^{(0)} = C^{-1} \prod_{i=1}^k \psi_0^{(i)}, \quad (4.51)$$

$$p_{\uparrow,a}^{(0)} = C^{-1} e^{\beta\mu} \sum_{i=1}^k p_{\uparrow,a-1}^{(i)} \prod_{j \neq i} \psi_a^{(j)}, \quad (4.52)$$

$$p_{\downarrow,a}^{(0)} = C^{-1} e^{\beta\mu} \sum_{i=1}^k p_{\downarrow,a+1}^{(i)} \prod_{j \neq i} \psi_a^{(j)}, \quad (4.53)$$

$$p_{2a}^{(0)} = C^{-1} e^{\beta\mu} \sum_{i_1 \neq i_2} p_{\uparrow,a-1}^{(i_1)} p_{\downarrow,a+1}^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2} \psi_a^{(j)}, \quad (4.54)$$

où à nouveau $C \equiv C[\{p^{(i)}\}]$ est une constante de normalisation, et nous avons introduit les champs auxiliaires

$$\psi_0^{(i)} = p_0^{(i)} + \sum_{a'=1}^L p_{2a'}^{(i)}, \quad \psi_a^{(j)} = p_0^{(j)} + \sum_{a'=1}^L p_{2a'}^{(j)} e^{-\beta e_{aa'}}. \quad (4.55)$$

Comme auparavant, l'énergie libre prend la forme (4.43), où maintenant le terme associé à l'ajout d'un sommet est donné par

$$w_1(\mathbf{p}_1, \dots, \mathbf{p}_{k+1}) = \prod_{i=1}^{k+1} \psi_0^{(i)} + e^{\beta\mu} \sum_{a=1}^L \sum_{i_1 \neq i_2} p_{\uparrow,a-1}^{(i_1)} p_{\downarrow,a+1}^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2} \psi_a^{(j)}, \quad (4.56)$$

et la contribution des liens est

$$w_2(\mathbf{p}_1, \mathbf{p}_2) = p_0^{(1)} p_0^{(2)} + \sum_{a,b=1}^L p_{2a}^{(1)} p_{2b}^{(2)} e^{-\beta e_{ab}} \quad (4.57)$$

$$+ \sum_{a=1}^L \left(p_0^{(1)} p_{2a}^{(2)} + p_{2a}^{(1)} p_0^{(2)} + p_{\uparrow,a-1}^{(1)} p_{\downarrow,a}^{(2)} + (1 \leftrightarrow 2) \right).$$

De nouveau, la solution liquide \mathbf{p}^* , qui est invariante par translation, se trouve facilement par itération.

Le point Θ

L'analyse de la récursion montre que la valeur critique du potentiel chimique μ_c est toujours donnée par $\exp(\beta\mu_c) = 1/k$, mais la condition qui détermine le point Θ dépend maintenant de la composition de la séquence,

$$\sum_{a,b=1}^L e^{\beta\Theta e_{ab}} = \sum_{X,Y \in \mathcal{A}} \nu_X \nu_Y e^{\beta\Theta \tilde{e}_{XY}} = \frac{k}{k-1}, \quad (4.58)$$

où ν_X est la fraction de monomères de type X dans la séquence⁴⁷.

Il est intéressant de noter que dans la phase liquide, le point Θ , ainsi que d'autres observables ne dépendent que de la composition globale de la séquence (donnée par les fractions ν_X) et non de l'ordre des monomères. Ceci a une explication naturelle : dans la phase liquide, les corrélations sont de courte portée. La probabilité de trouver parmi les voisins d'un monomère donné un monomère a ne peut donc dépendre que du *type* ξ_a , mais pas de sa *position* dans la chaîne. Pour les propriétés de la phase liquide, la structure microscopique de la séquence n'est donc pas importante.

La comparaison de la prédiction (4.58) du point Θ pour le réseau de Bethe avec les résultats de simulations numériques sur un réseau cubique est plutôt favorable. Pour un homopolymère⁴⁸, en unités où $e_0 = 1$, la méthode de cavité donne $T_{\Theta, \text{Bethe}} \approx 2.466$ (pour $k = 3$) tandis que les simulations en $2d$ [GH95b] arrivent à $T_{\Theta} = 1.50$. En $3d$ ($k = 5$), la prédiction de (4.50) est $T_{\Theta, \text{Bethe}} \approx 4.481$ qui est comparable à la valeur numérique $T_{\Theta} \approx 3.716(7)$, [TvROW96]. Comme d'habitude, l'approximation du champ moyen est meilleure en dimensions plus élevées. Nous remarquons que les prédictions de la méthode de cavité sont bien plus proches des valeurs numériques que celles d'une théorie de champ moyen [DGO96].

Pour les hétéropolymères à liens aléatoires, le travail [BG01] montre que l'approximation recuite est presque exacte, ce qui est bien en accord avec notre observation que le point Θ ne dépend que de la composition globale de la chaîne. Pour le cas d'ampholytes neutres⁴⁹ en $3d$, les auteurs de [KK94, GH95a] trouvent $T_{\Theta} \approx 1.2$, tandis que l'approximation de Bethe-Peierls prédit $T_{\Theta, \text{Bethe}} = 1/\log(2) \approx 1.443$ pour $k = 5$.

Le cas de séquences portant une charge globale est plus particulier. Les simulations numériques [GH95a] suggèrent qu'au-delà d'un certain excédent de charge, la transition pelote-globule n'existe plus. Cependant, l'approximation de Bethe-Peierls prédit un point Θ à température suffisamment basse dès qu'il y a une paire $(X, X' \in \mathcal{A})$ de monomères qui s'attirent mutuellement, $e_{XX'} < 0$. Cette différence est due à l'approximation négligeant les boucles dans la méthode de cavité. Autrement dit, l'approximation de Bethe ne tient pas compte du fait que l'approche de deux monomères attractifs entraîne un nombre de contacts défavorables dans leur voisinage quand il y a un grand excès de charges.

⁴⁷Ce résultat a été obtenu par Pretti [Pre02] dans le cadre de la méthode CVM par un développement de Landau de l'énergie libre. En comparant la complexité de ce calcul au critère simple sur l'existence d'un point fixe non-trivial qui mène immédiatement à (4.58), on appréciera mieux la méthode de cavité.

⁴⁸Remarquons que l'équation (4.50) pour l'homopolymère représente juste un cas particulier de (4.58).

⁴⁹C'est-à-dire des chaînes chargées composées d'autant de monomères de type A que de type B qui interagissent selon $e_{AA} = e_{BB} = -e_{AB} = 1$.

4.3.5 Le régime vitreux

États purs

À basse température, l'hétérogénéité de la séquence et la contrainte polymérique causent des frustrations. Selon les théories des répliques, il faut s'attendre à une transition vitreuse. En effet, dans l'approximation de Bethe-Peierls, l'existence d'une telle transition découle du fait que pour tout *hétéropolymère*, l'entropie de la solution liquide devient négative à basse température.

Dans la phase vitreuse, l'ergodicité est brisée comme le démontrent les approches dynamiques mentionnées plus haut. Selon la compréhension récente des transitions vitreuses, on s'attend à ce que l'espace de phase se divise en une multitude de composantes, dites *états purs*, qui sont séparées par de hautes barrières d'énergie. Un état pur peut être considéré comme un ensemble de configurations du système qui peuvent être atteintes à partir d'une configuration initiale dans un temps intermédiaire. L'échelle de temps associée à ces transitions intra-état est nettement plus petite que le temps nécessaire pour franchir la barrière entre différents états purs⁵⁰. De manière plus abstraite, un état pur peut être caractérisé comme un ensemble de configurations (avec une mesure de Gibbs restreinte) tel que les corrélations dans le système décroissent exponentiellement avec la distance, comme c'est le cas pour le liquide⁵¹.

À l'intérieur d'un état pur, les champs locaux $p_c^{(r)}$ sont toujours bien définis, mais en général, l'invariance par translation est brisée. Ceci se manifeste par une dépendance des champs de la racine (r) d'arbre tronqué. Nous illustrons ceci par l'exemple extrême de l'image du REM pour les hétéropolymères selon laquelle un état pur consiste en une seule conformation de basse énergie. Puisque sur chaque sommet la conformation locale du polymère est gelée, la symétrie entre sommets est brisée.

Pour tenir compte de la présence des états purs, nous devons élargir le formalisme de la cavité. Nous considérons la distribution de probabilité $\rho(\mathbf{p})$ de trouver un certain ensemble de champs locaux \mathbf{p} sur une racine fixée quand nous tirons au hasard un état pur γ selon son poids de Boltzmann w_γ ,

$$\rho(\mathbf{p}) = \frac{1}{\mathcal{N}} \sum_{\gamma} w_{\gamma} \delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^{(i,\gamma)}). \quad (4.59)$$

Pour être précis, il faudrait restreindre la somme aux états purs d'une certaine densité

⁵⁰Tandis que le concept d'états purs est bien défini sur le réseau de Bethe (i.e., dans la limite thermodynamique de réseaux aléatoires), une définition rigoureuse n'a pas été donnée pour des réseaux en dimension finie. Dans ce dernier cas le problème conceptuel réside dans le fait que les barrières entre différents états purs présumés sont finies et peuvent être franchies grâce à des processus de nucléation.

⁵¹En particulier, nous allons supposer l'indépendance (4.39) des champs locaux lors d'une itération de cavité pour un état pur.

d'énergie ω_0 de laquelle la distribution dépendra, $\rho(\mathbf{p}) = \rho(\mathbf{p}; \omega_0)$. Nous verrons ci-dessous comment ω_0 peut être fixée de manière implicite.

À l'intérieur d'un état pur, la recursion de cavité (4.51-4.54) est toujours valable⁵². Pour trouver une équation fermée pour $\rho(\mathbf{p})$, il faut moyenner la récursion de cavité sur tous les états purs. Ceci mène à

$$\rho(\mathbf{p}) = \frac{1}{\mathcal{Z}} \int \prod_{i=1}^k \rho(\mathbf{p}^{(i)}) d\mathbf{p}^{(i)} \delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^{(0)}[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}]) e^{-m\beta\Delta\Omega[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}]} \quad (4.60)$$

où $\mathbf{p}^{(0)}[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}]$ est donné par (4.51-4.54).

L'origine du facteur $\exp(-m\beta\Delta\Omega)$ est subtile : à gauche, nous voulons décrire des états purs à une énergie libre fixe $\Omega \equiv \omega_0 N$. Les différentes contributions dans l'intégrale proviennent d'états purs dont l'énergie libre est donnée par $\Omega' = \Omega - \Delta\Omega$, où

$$\Delta\Omega[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}] = -\beta^{-1} \log(C[\{\mathbf{p}^{(i)}\}]) \quad (4.61)$$

est le changement d'énergie libre associée à la récursion de cavité. Or, le nombre d'états purs de densité d'énergie ω croît exponentiellement avec la taille du système,

$$\mathcal{N}(\omega) \sim \exp[V\Sigma(\omega)], \quad (4.62)$$

où la fonction $\Sigma(\omega)$ est la *complexité* ou *entropie configurationnelle* que l'on suppose être une fonction monotone croissante et concave de ω . En vue de la distribution (4.62) des états purs, il faut donc pondérer les différentes contributions dans la récursion (4.60) en favorisant celles qui proviennent d'états de haute énergie libre ($\Delta\Omega$ petit) avec un facteur proportionnel à

$$\exp[V\Sigma(\omega' \equiv \Omega'/V)] \approx \text{const.} \cdot \exp[-\Delta\Omega \Sigma'(\omega)]. \quad (4.63)$$

En comparant (4.60) et (4.63), nous voyons que le choix du paramètre $m = \Sigma'(\omega)/\beta$ nous permet de fixer implicitement la densité d'énergie ω considérée.

L'énergie libre répliquée et la complexité

La multiplication de $\Delta\Omega$ par m dans (4.60) peut être interprétée de manière différente [Mon95] : nous considérons m répliques couplées ensemble de sorte qu'elles se trouvent toutes dans le même état pur. Formellement, la fonction de partition d'un tel système est donné par

$$Z_V(m) = \sum_{\gamma} e^{-V[\beta m \omega(\gamma)]} \approx \int d\omega e^{V\Sigma(\omega)} e^{-\beta m V \omega} = e^{-V[\beta m \phi_1(m)]}, \quad (4.64)$$

⁵²Grâce à l'absence de corrélations à longue portée dans un état pur, cf. (4.39).

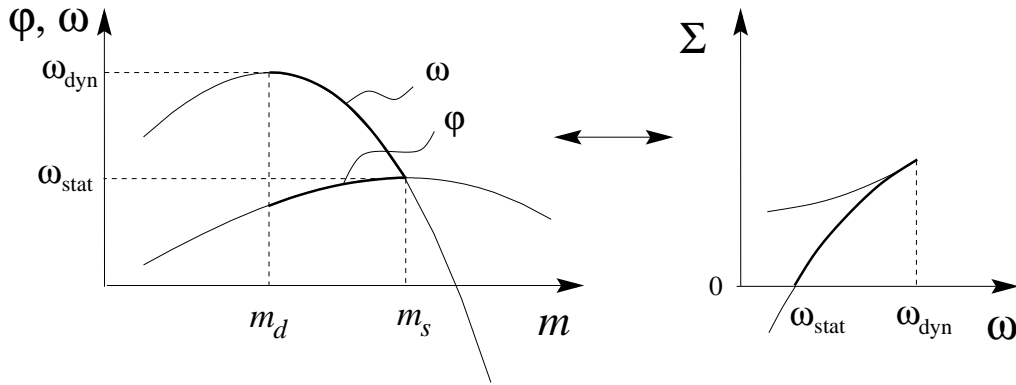


FIG. 4.6 – À gauche : l'énergie libre répliquée ϕ_1 et la densité d'énergie libre ω en fonction du paramètre m . La branche physique correspond à l'intervalle $[m_d, m_s]$ entre les maxima des deux courbes. À droite : la courbe de complexité correspondante.

où dans le dernier pas nous avons défini l'énergie libre répliquée, $\phi_1(m)$. Elle est liée à la complexité par une transformée de Legendre,

$$m\beta\phi_1(m) = m\beta\omega - \Sigma(\omega), \quad (4.65)$$

avec les relations habituelles

$$\beta m = \frac{d\Sigma(\omega)}{d\omega}, \quad \omega = \frac{d[m\phi_1(m)]}{dm}. \quad (4.66)$$

Nous en déduisons en particulier une formule très utile pour la complexité,

$$\Sigma(\omega) = \beta m^2 \frac{d\phi_1(m)}{dm}. \quad (4.67)$$

Nous verrons plus loin, comment on obtient l'énergie libre répliquée dans le formalisme de la méthode de cavité. En général, on trouve une fonction analytique $\phi_1(m)$ à partir de laquelle la densité d'énergie libre des états purs, ω , et leur complexité, $\Sigma(\omega)$, se déduisent des formules (4.65) et (4.66). Notons que seulement un intervalle $[m_d, m_s]$ correspond à une branche physique de $\phi_1(m)$, voir figure 4.6 : le bord supérieur, m_s , est donné par $\Sigma(\omega(m_s)) = 0 = d\phi_1(m_s)/dm$. Pour $m > m_s$, les états purs correspondant sont exponentiellement rares dans un grand système puisque leur complexité est négative. Le bord inférieur, m_d , est déterminé par le maximum de la densité d'énergie libre⁵³, $d\omega(m_d)/dm = d^2(m\phi_1(m))/dm^2[m_d] = 0$.

L'énergie libre *statique* du système est donnée par le minimum de l'énergie libre d'une seule réplique,

$$\omega_{\text{stat}} = \min_{\omega | \Sigma(\omega) \geq 0} \left[\omega - \frac{\Sigma(\omega)}{\beta} \right]. \quad (4.68)$$

⁵³Si l'on utilise $\phi_1(m)$ également pour $m < m_d$, la courbe de complexité exhibe un point de rebroussement à $\omega(m_d)$, où une branche concave se joint à la partie physique. La signification de cette branche n'est pas claire jusqu'à présent.

Cette expression prend en compte non seulement la densité d'énergie libre des états purs, ω , mais aussi leur entropie configurationnelle, $\Sigma(\omega)$. Il est facile de se convaincre que ω_{stat} correspond au *maximum* de $\phi_1(m)$ sur l'intervalle $m \in [0, 1]$,

$$\omega_{\text{stat}} = \max_{m \in [0,1]} \phi_1(m). \quad (4.69)$$

Cependant, dans une situation expérimentale, le système est hors de l'équilibre et la dynamique se bloque facilement dans des états métastables dont les plus nombreux sont ceux correspondant à la complexité maximale,

$$\omega_{\text{dyn}} = \omega(m_d) = \left. \frac{d(m\phi_1(m))}{dm} \right|_{m=m_d} > \omega_{\text{stat}}. \quad (4.70)$$

Ce sont ces états-là qui dominent la *dynamique*.

La condition de coexistence dans la phase vitreuse

La condition de coexistence en présence d'une multitude d'états purs est une question subtile. En imposant que l'ajout d'un monomère dans l'état pur considéré n'augmente pas son énergie libre (l'équivalent d'imposer $\omega_c = 0$ dans le liquide) on trouve [MMM03b] que la coexistence du solvant avec le polymère dans l'état pur s'exprime sous la forme $\phi_1(m, \mu_c(m)) = 0$. La valeur critique μ_c dépend de m , ou autrement dit, de la densité d'énergie libre des états purs considérés. Par exemple, pour décrire les états dominant la dynamique, il faut imposer⁵⁴ $\phi_1(m_d, \mu_c^{\text{vit,dyn}}) = 0$. En revanche, si l'on considère les états thermodynamiquement dominants, la condition de coexistence est $\omega_{\text{stat}}(\mu_c^{\text{vit,stat}}(\beta), \beta) = 0$. Elle détermine le potentiel chimique $\mu_c^{\text{vit,stat}}$ décrivant la coexistence du polymère à l'équilibre *statique* avec le solvant. L'identité générale $\phi_1(m = 1; \mu, \beta) = \omega_{\text{liq}}(\mu, \beta)$ (voir note 58 en bas de la page 171) et la relation (4.69) impliquent $\omega_{\text{liq}}(\mu, \beta) \leq \omega_{\text{stat}}(\mu, \beta)$. Par conséquent, la ligne critique de la phase vitreuse (statique) est toujours située *au-dessus* de celle du liquide, $\mu_c^{\text{vit,s}}(\beta) > \mu_c^{\text{liq}}(\beta)$ (voir par exemple la figure 4.9). Cependant, cela n'implique pas que l'état vitreux soit plus dense que l'état liquide ; au contraire, le polymère préfère un état moins dense pour éviter des interactions défavorables. Intuitivement, on peut expliquer cela en disant que dans la phase vitreuse, il faut exercer une plus grande pression extérieure (sous forme d'un potentiel chimique) pour compacter l'hétéropolymère.

⁵⁴Mentionnons que ceci est relativement délicat puisque les états de seuil ne sont souvent pas bien décrits par l'approximation à un pas de brisure de symétrie des répliques. Le travail récent de Montanari et Ricci-Tersenghi [MRT03] indique que les états purs au bord supérieur du spectre sont souvent instables par rapport à des brisures de symétries supplémentaires (FRSB).

L'énergie libre dans la phase vitreuse

Comment peut-on obtenir l'énergie libre répliquée, $\phi_1(m)$, à partir du formalisme de la cavité ? Nous procédons comme dans le cas du liquide, en ajoutant des sommets et des liens. Cependant, il y a deux subtilités. D'abord, pour obtenir $m\phi_1(m)$, la relation (4.64) indique qu'il faut considérer le changement d'énergie libre de m répliques (plutôt que d'une seule). La façon correcte de moyenner $m\Delta\Omega_{\text{sommet/lién}}$ sur les états purs est donnée par

$$\exp(-\beta m \overline{\Delta\Omega}) = \int dP(\Delta\Omega) \exp(-\beta m \Delta\Omega). \quad (4.71)$$

Ceci provient du fait que l'énergie libre de m répliques est distribuée selon une loi exponentielle, $P(\Omega) \approx \exp[-m\beta(\Omega - \Omega_0)]$. Lors de l'ajout d'un sommet ou d'un lien, on s'intéresse au décalage moyen de la distribution exponentielle, $\overline{\Delta\Omega} = \Omega_0 - \Omega'_0$,

$$\begin{aligned} P(m\Omega) &\approx \exp[-m\beta(\Omega - \Omega_0)] \\ &= \int dP(\Delta\Omega) \int dP(\Omega') \exp[-m\beta(\Omega' - \Omega'_0)] \delta(\Omega - \Omega' - \Delta\Omega), \end{aligned} \quad (4.72)$$

d'où (4.71). Pour l'énergie libre répliquée nous trouvons donc

$$\begin{aligned} -\beta m \phi_1(m) &= -\beta m \overline{\Delta\Omega}_{\text{sommet}} + \frac{k+1}{2} \beta m \overline{\Delta\Omega}_{\text{lién}} \\ &= \log \left[\int \prod_{i=1}^{k+1} d\rho(\mathbf{p}^{(i)}) w_1^m(\{\mathbf{p}^{(i)}\}) \right] \\ &\quad - \frac{k+1}{2} \log \left[\int \prod_{i=1}^2 d\rho(\mathbf{p}^{(i)}) w_2^m(\mathbf{p}^{(1)}, \mathbf{p}^{(2)}) \right], \end{aligned} \quad (4.73)$$

où w_1 et w_2 sont les fonctions (4.56) et (4.58).

Deux types de transitions vitreuses

Tandis que la crise d'entropie de la solution liquide à basse température implique l'existence d'une transition vitreuse, elle nous donne aucune information sur la nature de cette dernière. En général, une transition vitreuse est continue dans le sens thermodynamique, c'est-à-dire qu'elle n'est jamais accompagnée de chaleur latente. Néanmoins, il existe une classification plus subtile des transitions vitreuses qui se reflète plutôt au niveau de la dynamique qu'au niveau de la thermodynamique des systèmes vitreux.

On distingue des transitions désordonnées de premier et de second ordre, ou transitions vitreuses discontinues et continues. Ces transitions diffèrent en premier lieu par rapport aux caractéristiques des états purs. Au bord d'une *transition vitreuse continue* les

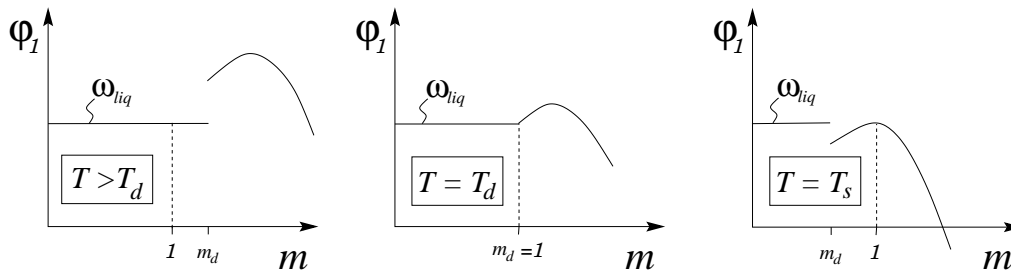


FIG. 4.7 – L'énergie libre répliquée dans différents régimes de température : Pour $T > T_d$, il n'y a que la solution liquide dans l'intervalle $0 < m < 1$. À la transition dynamique ($T = T_d$), la solution non-triviale $\phi_1(m)$ apparaît à $m = m_d = 1$. Lors de la transition statique ($T = T_s$) le maximum (global) de $\phi_1(m)$ est atteint à $m = 1$. Noter que l'on a toujours $\phi_1(m = 1) = \omega_{\text{liq}}$.

états purs sont très peu nombreux⁵⁵. En général, ils comprennent un grand nombre de microconfigurations dont le recouvrement mutuel est assez petit près de T_g . Le modèle SK représente l'exemple classique de ce genre de transition. Cet exemple nous apprend qu'il faut s'attendre à ce que la structuration de l'espace de phase ne s'arrête pas au niveau des états purs, mais que le système possède toute une structure hiérarchique et ultramétrique de *clusters* d'états purs. Cette structure reflète la brisure continue de la symétrie des répliques (“*full replica symmetry breaking*” - FRSB).

Puisque le régime vitreux rejoint la phase à haute température de manière continue, la transition vitreuse se manifeste par une instabilité locale du liquide qui est liée à la divergence d'une susceptibilité non-linéaire. Ceci permet souvent de trouver analytiquement la température critique, T_g , ainsi que d'étudier les propriétés de la phase vitreuse au voisinage de la transition.

La phénoménologie des *transitions vitreuses discontinues* est encore plus riche. Nous l'expliquons en nous référant aux propriétés de l'énergie libre répliquée $\phi_1(m)$, voir la figure 4.7. Puisque la solution vitreuse $\rho(\mathbf{p})$ n'apparaît pas de manière continue à partir de la solution liquide lors d'une instabilité, il n'est en général pas garanti que cette solution existe pour toute valeur de m . Il se trouve que la solution vitreuse n'existe que

⁵⁵Leur complexité tend très vite vers zéro en approchant la température critique T_g . Ceci est lié au fait que le maximum de $\phi_1(m)$ est atteint à $m^* \sim (T_g - T)$. Puisque les états purs de complexité positive correspondent à l'intervalle $m \in [0, m^*]$ et que $\Sigma(m^*) = 0$, la complexité maximale est typiquement de l'ordre de $\Sigma(m = 0) \sim (m^*)^3 \sim (T_g - T)^3$, cf. (4.67). Cependant, nous mentionnons que les résultats de récentes analyses dans le modèle SK suggèrent que dans un système présentant une transition vitreuse continue, l'entropie configurationnelle disparaît *toujours*, tous les états purs ayant la même densité d'énergie libre [CLPR03]. Si ceci est vrai, le fait que l'approximation au niveau d'un pas de brisure de la symétrie des répliques nous donne une faible complexité positive et un *spectre* de densités d'énergie libre, doit être considéré comme un artefact de l'approximation.

pour des valeurs plus grandes qu'un seuil inférieur $m_d(T)$, qui décroît en général avec la température. Tant que $m_d(T) > 1$, ces états n'ont d'importance ni pour la statique ni pour la dynamique, qui sont toutes deux dominées par la partie de l'espace de phase qui est toujours ergodique ou "liquide". Cependant, quand $m_d(T) \leq 1$, l'espace de phase se divise en états purs. La dynamique du système se figera dans l'un des états correspondant à la plus grande complexité, décrit par $m_d(T)$ ⁵⁶. Cette *transition dynamique*⁵⁷ a lieu à la température T_d donnée par $m_d(T_d) = 1$. Cependant, les états correspondant à l'équilibre statique sont décrits par le maximum de $\phi_1(m)$ dans l'intervalle $[m_d(T), 1]$, cf. (4.69). En général, dans un certain régime de températures en dessous de T_d , le maximum est atteint à $m = 1$ et l'énergie libre statique est identique à celle de la solution liquide en raison de l'identité $\phi_1(m = 1) = \omega_{\text{liq}}$ ⁵⁸. La *transition thermodynamique (ou statique)* n'aura lieu qu'à la température $T_s < T_d$ où le maximum de $\phi_1(m)$ se détache de $m = 1$. À températures plus basses, $T \leq T_s$, la complexité des états dominant la statique disparaît.

Dans les systèmes qui présentent une transition discontinue, le recouvrement entre les configurations appartenant au même état pur est toujours relativement grand, même à la transition, où il saute de manière *discontinue* de zéro à une valeur finie. Ceci constitue la différence essentielle par rapport aux transitions continues. Le prototype d'un modèle qui subit une transition de ce genre est le modèle à p spins⁵⁹.

4.3.6 Application aux copolymères

Solution numérique des équations de cavité

Avant de discuter des modèles spécifiques, nous expliquons brièvement comment la récursion de cavité (4.60) peut être résolue numériquement, ce qui constitue une tâche assez compliquée puisqu'il s'agit de trouver une distribution de probabilité dans l'espace

⁵⁶Nous supposons ici que m_d appartient à la branche physique de la courbe de complexité, c'est-à-dire, la fonction $m\phi_1(m)$ est supposée être concave en m_d . Sinon, il faudrait remplacer m_d par le bord inférieur \tilde{m}_d de la région de concavité, $(m\phi_1(m))''[\tilde{m}_d] = 0$.

⁵⁷La transition dynamique est une prédiction de l'approximation du champ moyen. Dans un système de dimension finie, les barrières entre les états purs ne divergent pas, mais peuvent être franchies par des processus rares de nucléation (voir [TW97] pour une discussion de tels phénomènes dans les hétéropolymères).

⁵⁸Ceci s'ensuit de la formule (4.73), en utilisant que pour $m = 1$, l'expression pour l'énergie libre ne dépend que de la moyenne des champs locaux

$$\langle \mathbf{p} \rangle = \int d\mathbf{p} \mathbf{p} \rho(\mathbf{p}) \quad (4.74)$$

sous la forme $\phi_1(m = 1) = \omega_{\text{liq}}(\langle \mathbf{p} \rangle)$. De plus, en intégrant sur l'équation (4.60), on prouve que $\langle \mathbf{p} \rangle$ satisfait à la récursion du liquide, ce qui implique $\langle \mathbf{p} \rangle = \mathbf{p}^*$.

⁵⁹Nous notons que le REM résulte du modèle à p spins dans la limite de $p \rightarrow \infty$ [Der81]. Il représente un cas extrême et - du point de vue dynamique - même quelque peu pathologique de cette classe de systèmes vitreux, en particulier parce que la transition dynamique a formellement lieu à $T_d = \infty$.

$(3L + 1)$ -dimensionnel des champs locaux \mathbf{p} . La technique de dynamique de population [MP01] s'avère très pratique pour ce problème. L'idée consiste à représenter la distribution $\rho(\mathbf{p})$ par une population d'un relativement grand nombre M de champs locaux $\{\mathbf{p}_1, \dots, \mathbf{p}_M\}$ ($M \sim O(10000)$) où les \mathbf{p}_i prennent une valeur particulière \mathbf{p} avec la densité de probabilité $\rho(\mathbf{p})$. Pour trouver un point fixe de la récursion (4.60), nous utilisons la dynamique suivante : nous tirons k champs $\mathbf{p}_{i_1}, \dots, \mathbf{p}_{i_k}$ au hasard dans la population et effectuons une itération de cavité, i.e., nous calculons le champs de cavité $\mathbf{p}^{(0)}[\mathbf{p}_{i_1}, \dots, \mathbf{p}_{i_k}]$ selon (4.51-4.54). Ce nouveau champ est alors inséré dans la population où il remplace n champs déjà présents. Pour tenir compte de la pondération due à la distribution exponentielle des états purs, le nombre n doit être proportionnel au facteur $C[\mathbf{p}_{i_1}, \dots, \mathbf{p}_{i_k}]^m$ associé à l'itération de cavité⁶⁰. Un point fixe de la récursion de cavité est stable sous cette dynamique (au moins asymptotiquement dans la taille de la population), et la dynamique de population est supposée y converger, pourvu que l'initialisation de la population n'en est pas trop loin.

Une fois que la dynamique a convergé vers le point fixe, les observables, en premier lieu l'énergie libre répliquée, peuvent être calculés en approximant les intégrales sur $\rho(\mathbf{p})$ par un échantillonnage sur la population. En pratique, on répète ce calcul avec quelques centaines de populations obtenues au cours des balayages de la dynamique de population après la thermalisation.

La transition vitreuse dans les copolymères

En étudiant des modèles à énergies aléatoires (toujours en imposant la périodicité $e_{i,j} = e_{i+L,j} = e_{i,j+L}$), nous avons trouvé que la solution liquide ne présente quasiment jamais une l'instabilité avant la crise d'entropie. Ceci implique que la transition vitreuse de ces hétéropolymères est forcément discontinue, comme le prédit l'approche des répliques [SG89b].

Les modèles basés sur de vraies séquences de monomères sont cependant plus intéressants. Nous considérons en particulier le cas de copolymères composés de deux types de monomères A et B ($\leftrightarrow \xi \in \{1, -1\}$) dont nous avons discuté le traitement par la méthode standard des répliques dans la section 4.2.3. Nous pouvons toujours choisir les unités telles que le paramètre de Flory est normalisé, $\chi = \pm 1$. Le cas $\chi = 1$ décrit des polymères chargés (*ampholytes*), tandis que $\chi = -1$ correspond aux copolymères avec tendance à la ségrégation. Nous nous référons à ce cas comme *modèle ferromagnétique*. De nouveau, nous posons $e_0 = b = 0$ (cf. (4.1)).

Une grande partie des séquences de copolymères présentent une instabilité de la solu-

⁶⁰En pratique, il est utile de déterminer d'abord la valeur maximale C_{\max} du facteur C qui peut apparaître dans la récursion. Une façon conservatrice mais prudente de procéder consiste alors à choisir le nombre de remplacements n comme $n = 1$ avec probabilité $(C/C_{\max})^m$, et $n = 0$ sinon.

tion liquide. Elle se manifeste directement dans l'itération de cavité, qui ne converge plus vers le point fixe \mathbf{p}^* . Pour comprendre cet effet plus en détail, nous remarquons d'abord que la solution liquide peut être décrite dans le formalisme des états purs comme une distribution de champs triviale $\rho(\mathbf{p}) = \delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^*)$ correspondant à un seul état pur. Cette solution devient instable lors de l'itération de cavité (4.51-4.54), si des fluctuations par rapport à \mathbf{p}^* arrivent à proliférer. Mathématiquement, cette condition se traduit par⁶¹

$$k\lambda_{\max}^2 \geq 1, \quad (4.75)$$

où λ_{\max} est la valeur propre maximale de la matrice qui décrit la propagation de déviations par rapport au point fixe liquide,

$$\mathcal{M}_{CC'} = \partial p_C^{(0)} / \partial p_{C'}^{(1)} \Big|_{\mathbf{p}^{(i)} = \mathbf{p}^*}. \quad (4.76)$$

Au-delà de l'instabilité, la distribution $\rho(\mathbf{p})$ s'élargit, tout en restant centrée autour de la solution liquide. Ceci reflète la division de l'espace de phase⁶². Les états ne se distinguent pas beaucoup du liquide, chacun étant caractérisé par de faibles préférences des sommets pour certaines conformations locales du polymère. Dans le voisinage de l'instabilité, la solution vitreuse $\rho(\mathbf{p})$ peut être caractérisée par les moments des déviations par rapport au liquide. En particulier, en développant l'énergie libre (4.48), on trouve que la transition vitreuse est de troisième ordre, c'est-à-dire

$$\omega_{\text{stat}} - \omega_{\text{liq}} \sim (T_g - T)^3. \quad (4.77)$$

Dans le cas de copolymères neutres, composés d'autant de monomères A que de B , la condition (4.75) peut être évaluée exactement. Pour les valeurs propres de la matrice $\mathcal{M}_{CC'}$ on trouve la relation implicite (l'équivalent du "polynôme caractéristique") [MMM03b]

$$-\chi A(\beta) = \frac{\lambda(1 - (k\lambda)^{-L})}{(k-2) + k(k\lambda)^{-L} + 2(k-1) \sum_{i=1}^{L-1} q_i (k\lambda)^{-i}}, \quad (4.78)$$

où

$$A(\beta) = \frac{1}{k} \frac{\sum_{a=1}^L p_{2a}^* \sinh(\beta)}{p_0^* + \sum_{a=1}^L p_{2a}^* \sinh(\beta)} \quad (4.79)$$

est une fonction positive et croissante de β (à travers la solution liquide $\mathbf{p}^*(\beta)$)⁶³. Il est intéressant que les propriétés de la séquence n'entrent dans l'expression pour l'instabilité

⁶¹Nous remarquons qu'une instabilité de type $k|\lambda_{\max}| = 1$ n'est pas pertinente sur un réseau aléatoire. Elle ne pourrait s'établir que si les fluctuations sur les k sommets de l'itération étaient corrélées ce qui nécessiterait une sorte d'ordre cristallin.

⁶²Puisque la continuité de la transition suggère une brisure continue de la symétrie des répliques, notre approche à un pas de brisure ne peut être qu'une approximation de la vraie solution qui tiendrait compte de la structure hiérarchique de l'espace de phase.

⁶³On peut vérifier que la somme $\sum_{a=1}^L p_{2a}^*$ ne dépend pas de la périodicité L .

que par la fonction d'autocorrélation

$$q_i = \frac{1}{L} \sum_{a=1}^L \xi_a \xi_{a+i}. \quad (4.80)$$

Dans la limite d'une longue période, $L \rightarrow \infty$, nous décrivons des chaînes non-périodiques, caractérisées uniquement par leurs corrélations. Pour la température inverse β_g , où la solution liquide devient instable, nous trouvons

$$A(\beta_g) = \frac{1/\sqrt{k}}{(k-2) + 2(k-1) \sum_{i \geq 1} q_i (-\chi/\sqrt{k})^{-i}}, \quad (4.81)$$

où nous avons utilisé le fait que l'instabilité apparaît quand $\lambda = -\chi/\sqrt{k}$, cf. (4.75).

Chaînes markoviennes

Pour illustrer ce résultat, nous considérons des chaînes markoviennes dont la statistique des séquences est caractérisée par la probabilité π que deux monomères successifs dans le squelette soient du même type⁶⁴.

Dans cet ensemble statistique, les autocorrélations prennent la forme simple, $q_i = (2\pi - 1)^i$. La condition (4.81) se réduit alors à

$$A(\beta_g) = \frac{1}{\frac{2k(k-1)}{k^{1/2} + 2(\pi-1/2)\chi} - k^{3/2}}. \quad (4.82)$$

Dans la figure 4.8, nous dessinons β_g en fonction de π pour $\chi = \pm 1$ ⁶⁵. Les ampholytes sont d'autant plus instables que leur séquence est anticorrélée ($\pi \rightarrow 0$), tandis que le modèle ferromagnétique présente un comportement opposé. Entre les lignes d'instabilité des deux cas, il y a une symétrie exacte $\{\chi, \pi\} \leftrightarrow \{-\chi, 1 - \pi\}$, ce qui se voit facilement dans l'expression (4.82).

Puisque la transition vitreuse doit avoir lieu avant la crise d'entropie du liquide ($\beta_{\text{cris}} \approx 1.4525$), l'instabilité n'a pas de signification physique si $\beta_g > \beta_{\text{cris}}$. Dans ce cas, il est inévitable qu'une transition *discontinue* ait lieu avant la crise d'entropie. Mais il est également possible qu'une telle transition précède l'instabilité (4.82), surtout quand celle-ci est proche de la crise d'entropie.

En résolvant numériquement l'équation de cavité (4.60) avec une dynamique de population, nous avons trouvé qu'à basse température, il y a une solution correspondant à

⁶⁴Nous nous attendons à ce que ce modèle décrive bien la statistique et les corrélations de séquences de copolymères obtenus par polymérisation à radicaux libres, où π dépendra des conditions chimiques du processus.

⁶⁵Dans ce qui suit, toutes les quantités numériques sont évaluées pour $k = 5$, ce qui correspond au réseau cubique en 3d.

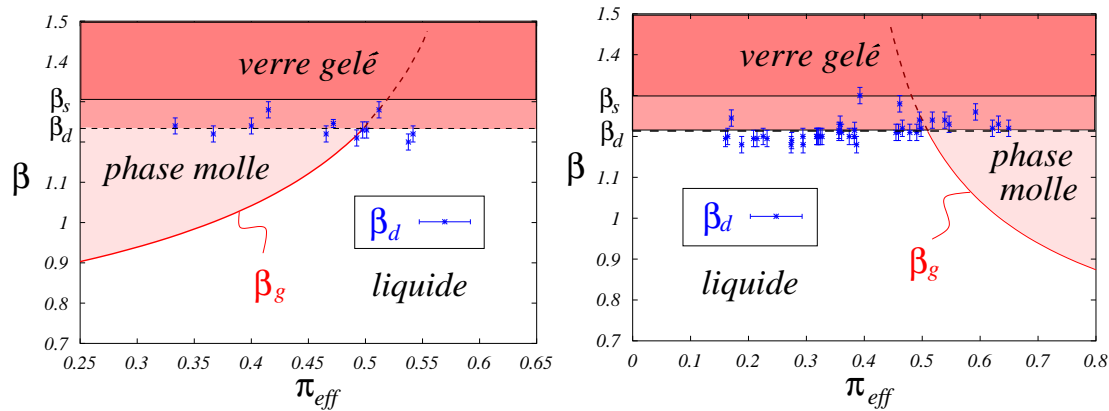


FIG. 4.8 – Diagramme de phase pour l’ampholyte (à gauche) et le modèle ferromagnétique (à droite) en fonction des corrélations et de la température inverse β . Selon les corrélations dans la séquence une instabilité du liquide (indiquée par β_g (4.82)) donne lieu à une phase vitreuse molle qui précède la transition de gel. Les points marquent la transition dynamique β_d vers la phase gelée pour différentes séquences neutres de période $L = 20$ auxquelles nous avons associé un paramètre de corrélation effectif π_{eff} (voir la note 67 au bas de la page 176). La transition dynamique est presque indépendante de la séquence, comme suggéré par la ligne en pointillé. Elle est suivie par une transition statique à une température un peu plus basse. (La ligne continue ne représente qu’une conjecture qui ne se base pas sur des données numériques.)

une phase vitreuse fortement gelée (“*frozen glass*”), qui est stable pour $\beta \gtrsim \beta_d \approx 1.23$ - presque indépendamment de la séquence⁶⁶. Plus précisément, nous avons fixé le paramètre $m = 1$. En initialisant la population à basse température avec une solution fortement gelée, comme décrite ci-dessous, nous avons augmenté adiabatiquement la température pour détecter la transition *dynamique* associée à la phase fortement gelée. Celle-ci peut être identifiée sans difficulté : lorsque on augmente la température au-delà de β_d^{-1} , la solution numérique de la distribution $\rho(\mathbf{p})$ chute de manière discontinue. Si $\beta_d < \beta_g$ elle rejoint directement la solution liquide. Sinon elle tombe sur la solution vitreuse obtenue à partir de la solution liquide en augmentant β adiabatiquement au-delà de l’instabilité β_g . En comparaison avec la solution gelée, cette solution-ci reste relativement proche de la solution liquide décrivant une phase vitreuse *molle* (“*soft glass*”). Dans la figure 4.8 nous indiquons les valeurs de β_d trouvées pour plusieurs séquences périodiques en fonction d’une valeur effective du paramètre de corrélation⁶⁷, π_{eff} . Nous trouvons que les chaînes amphi-

⁶⁶Le fait que β_d est presque indépendant de la séquence pourrait être relié à un résultat de Bryngelson et al. [BOSW95] : en étudiant numériquement la cinétique de repiement de plusieurs séquences aléatoires ces auteurs ont trouvé qu’une transition cinétique a lieu à une température qui ne varie presque pas avec la séquence.

⁶⁷Nous choisissons π_{eff} tel que $\beta_g(\pi_{\text{eff}})$ calculé à partir de (4.82) coïncide avec la vraie instabilité déter-

lytiques anticorrélées et les modèles ferromagnétiques corrélés subissent une transition vitreuse continue avant la transition de gel tandis que les chaînes avec les corrélations opposées gèlent sans intermédiaire. Il est intéressant que les séquences aléatoires décrites par $\pi = 1/2$, semblent être juste un cas limite entre les deux scénarios, un fait pour lequel nous n'avons pas encore trouvé une explication.

La phase gelée

Dans la phase vitreuse gelée, les états purs ne contiennent que peu de conformations qui se ressemblent beaucoup. Chaque sommet du réseau a une forte préférence pour une certaine conformation locale, qui dépend de l'état pur. Dans une telle situation, les champs locaux se concentrent sur une conformation \mathcal{C} bien spécifique,

$$p_{c'}^{(\gamma,r)} \approx \delta_{\mathcal{C}(\gamma,r),c'} \equiv [\mathbf{f}_{\mathcal{C}(\gamma,r)}]_{c'} , \quad (4.83)$$

où nous avons introduit la notation $\mathbf{f}_{\mathcal{C}}$ pour un ensemble de champs locaux maximale-ment biaisé vers la conformation \mathcal{C} . En moyennant sur tous les états, nous nous attendons alors à une distribution

$$\rho(\mathbf{p}) = \sum_{\mathcal{C}} w_{\mathcal{C}} \delta(\mathbf{p} - \mathbf{f}_{\mathcal{C}}) . \quad (4.84)$$

Il est facile de vérifier qu'un tel *ansatz* satisfait aux équations de récursion (4.60), si l'on choisit les poids $w_{\mathcal{C}}$ selon les probabilités correspondant à la solution liquide, $w_{\mathcal{C}} = p_{\mathcal{C}}^*$. L'entropie interne de ces états purs disparaît puisque les champs locaux décrivent des configurations complètement figées.

On peut démontrer qu'à densité finie ($\mu < \infty$), la solution (4.84) n'est pas stable à cause de la présence de lacunes qui permettent au polymère de se réarranger⁶⁸. Néanmoins, pour $\beta \gtrsim \beta_d$ la solution trouvée numériquement reste très proche de cette solution dans le sens où la plus grande partie des champs locaux sont fortement biaisés vers une conformation spécifique.

Le diagramme de phase en fonction des corrélations

Les résultats illustrés dans la figure 4.8 suggèrent le scénario suivant pour le comportement de copolymères en fonction des corrélations dans leurs séquences : les copolymères

minée selon (4.78), valable pour tout L .

⁶⁸La limite $\mu \rightarrow \infty$ décrit des chemins hamiltoniens, c'est-à-dire des marches auto-évitantes qui passent sur chaque sommet. L'analyse numérique de la limite $\phi_1(m; \mu \rightarrow \infty)$ suggère une non-analyticité dans $\phi_1(m; \mu = \infty)$ qui sépare le régime de grand βm où la limite $\rho(\mathbf{p}; \mu \rightarrow \infty)$ correspond en effet à la solution (4.84) du régime de petit βm où la solution limite ("physique") est nettement moins polarisée. La limite de densité maximale n'est pas encore bien comprise. Toutefois, il est clair que la non-analyticité de l'énergie libre répliquée a son origine dans l'absence de lacunes.

ferromagnétiques dont les séquences tendent à être alternées ($\pi \lesssim 0.5$) subissent une transition de gel fortement discontinue qui ressemble beaucoup au scénario du REM. La transition statique est précédée d'une transition dynamique autour de $\beta_d \approx 1.23$. La situation est similaire pour les ampholytes dont les séquences ont tendance à contenir des blocs de mêmes monomères ($\pi \gtrsim 0.5$).

Les copolymères avec des corrélations opposées ont un comportement plus riche : à $\beta_g(\pi)$, donné par (4.82), la phase liquide devient instable et une phase vitreuse "molle" dans laquelle l'ergodicité n'est que faiblement brisée s'établit. Les sommets du réseau commencent à développer une préférence pour certaines conformations. À plus basse température, une véritable transition de gel aura lieu. Ceci est suggéré par l'existence d'une solution similaire à (4.84) au-delà de β_d où la transition dynamique associée à la transition de gel peut être conjecturée. Cependant, pour clarifier comment la transition de la phase vitreuse molle vers la phase gelée se passe, une analyse au-delà de l'approximation à un pas de brisure de symétrie des répliques est nécessaire. La figure 4.9 montre le diagramme de phase dans l'ensemble grand-canonique pour les deux scénarios.

Structures ordonnées et l'origine des frustrations

Les différences dans le comportement vitreux sont dues à la nature de l'ordre qui voudrait s'établir à basse température, ainsi qu'aux frustrations qui en résultent. Ceci devient plus clair dans l'exemple de chaînes alternées $ABABAB \dots$ correspondant au cas limite $\pi = 0$. D'après les résultats de la section précédente, l'ampholyte alterné présente une instabilité proche du point Θ , tandis que la chaîne ferromagnétique passe directement de la phase liquide à la phase gelée⁶⁹.

Dans la figure 4.10 nous montrons des configurations non-frustrées (ou "ordonnées") sur l'arbre, où il n'y a que des interactions favorables. L'ampholyte possède une structure ordonnée en couches : tous les sommets qui ont une distance paire par rapport un sommet donné sont occupés par le même type de monomères. La position des monomères est donc corrélée à longue distance, indépendamment du squelette. Cependant, dans le cas ferromagnétique, la distribution des A et des B dans une configuration non-frustrée est fortement corrélée avec la structure du squelette, qui détruit les corrélations à longue portée entre les types de monomères.

Sur un réseau, ces structures ordonnées sont frustrées. La frustration est évidente pour l'ampholyte où chaque boucle impaire contient forcément une interaction non-satisfaite. Pour la chaîne ferromagnétique, le degré de la frustration dans une zone où deux structures ordonnées se rencontrent dépend de la configuration du squelette. En adaptant le squelette à la structure du réseau, la frustration peut être réduite significativement. Cette différence

⁶⁹Dans ce cas particulier la transition vitreuse apparaît à une température plus basse ($\beta_d \approx 1.387$) que dans les séquences moins régulières ($\beta_d \approx 1.23$). Ceci reflète le fait que le système est très peu frustrée.

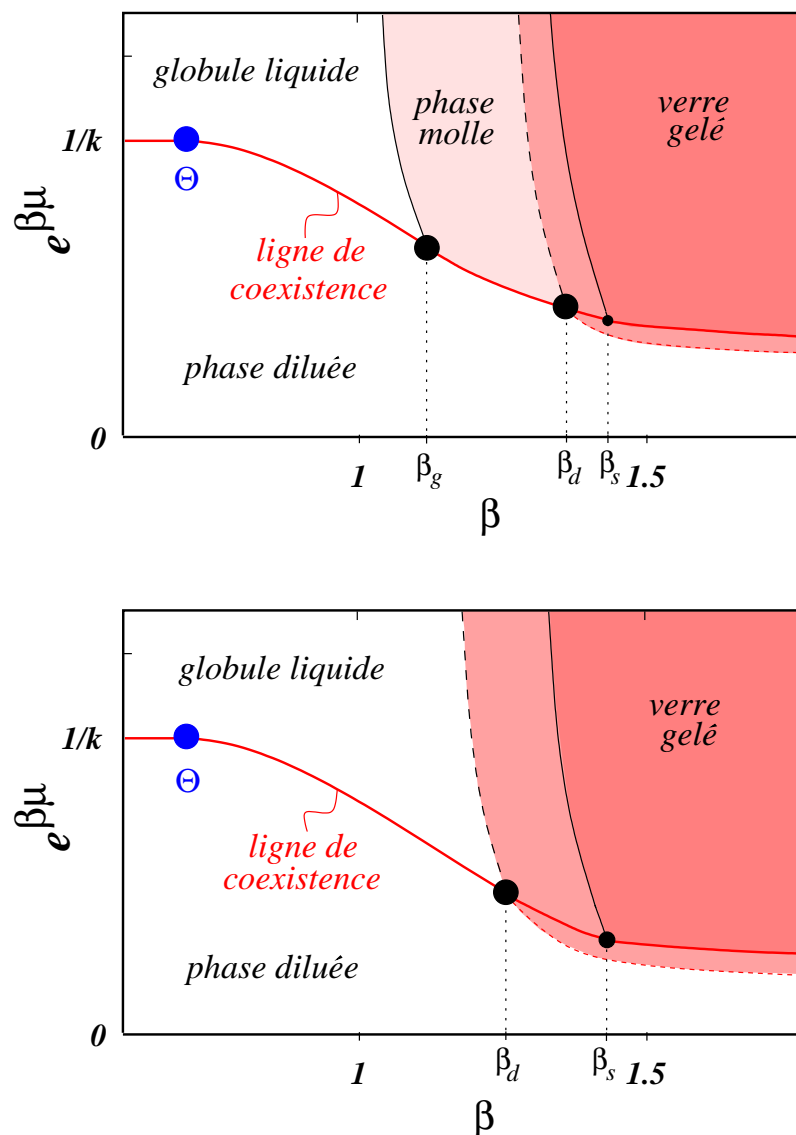


FIG. 4.9 – Diagrammes de phase dans l'ensemble grand-canonique pour les deux scénarios de la transition vitreuse. En haut : scénario avec une phase vitreuse molle (région claire) qui apparaît lors de l'instabilité du liquide à β_g . Elle est suivie d'une transition de gel à plus basse température. En bas : scénario avec une transition de gel directe. Notons que la transition *statique* de gel (β_s , ligne continue), est toujours précédée d'une transition *dynamique* à β_d (ligne en pointillé), comme d'habitude dans les transitions vitreuses discontinues. Le potentiel chimique correspondant aux états dominant la statique et la dynamique est indiqué par une ligne continue et en pointillé respectivement.

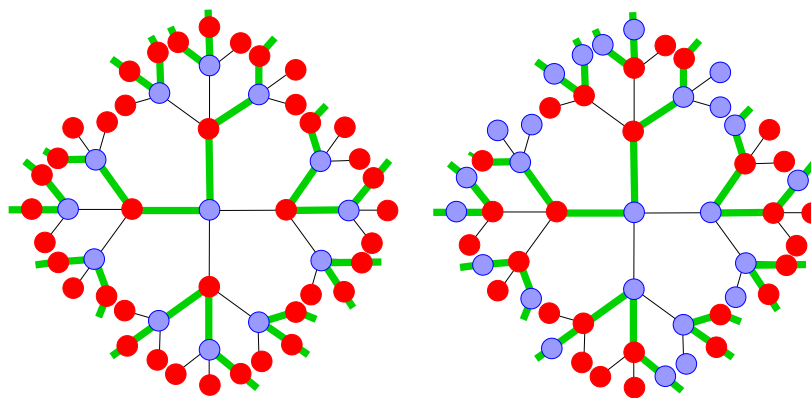


FIG. 4.10 – Configurations denses, non-frustrées sur l’arbre ($k = 3$). L’ampholyte (à gauche) préfère une structure en couches qui induit des corrélations à longue portée. Dans le cas de la chaîne ferromagnétique (à droite), il n’y a pas d’ordre évident parce que la position des A et des B est corrélée avec la structure du squelette.

au niveau de la frustration explique pourquoi la transition vitreuse apparaît bien plus tard dans la chaîne ferromagnétique que dans l’ampholyte. L’instabilité dans l’ampholyte est due à la propagation et à la prolifération des préférences des sommets pour un certain type de monomères. Localement, le polymère essaie de mettre d’accord les différentes préférences, mais à plus grande échelle le problème est toujours frustré. Les configurations d’un état pur consistent alors en un mélange de zones ordonnées qui se rencontrent dans des zones frustrées. La distribution de ces zones n’est point statique, mais change constamment. Dans la statistique d’un état pur, les sommets n’ont que des biais légers vers l’un ou l’autre type de monomères, les champs locaux restant proches du liquide.

Nous pouvons généraliser ces observations à des séquences corrélées plus générales, en remarquant que les frustrations et la tendance à développer une instabilité sont toutes deux dues à la présence de corrélations à longue portée entre les types de monomères sur les sommets. Celles-ci s’établissent de préférence si les interactions favorisent les mêmes paires de monomères voisins sur le réseau que l’on trouve dans la séquence polymérique. Autrement dit, l’instabilité vers la phase vitreuse molle apparaît dans les ampholytes à séquence anticorrélée ($\pi \lesssim 1/2$) et les chaînes ferromagnétiques corrélées ($\pi \gtrsim 1/2$). Ce raisonnement offre également une explication heuristique pour la symétrie $\{\chi, \pi\} \leftrightarrow \{-\chi, 1 - \pi\}$.

4.3.7 Un jeu de paramètres d’ordre locaux pour la transition vitreuse

Comment la nature de la transition vitreuse se manifeste-t-elle dans les observables ? Puisque les deux types de transitions vitreuses sont continus dans le sens thermodynamique, les observables macroscopiques comme la densité ou l’énergie interne ne pré-

sentent pas de caractéristiques particulières lors de la transition. Pour révéler la structure de l'espace de phase, il faut considérer des quantités plus subtiles qui contiennent des informations structurelles sur les configurations.

Les vecteurs de distance $\Delta \mathbf{r}_{i,d} \equiv \mathbf{r}_{i+d} - \mathbf{r}_i$ entre les positions de monomères proches dans le squelette ($d = O(1)$) sont de bons candidats, puisqu'ils sondent la structure locale de la conformation. L'état liquide est parfaitement isotrope et la mémoire de l'orientation du squelette décroît vite en fonction du temps. En revanche, dans la phase vitreuse la configuration de l'hétéropolymère a tendance à se bloquer ce qui empêche une équilibration rapide des conformations locales. La transition vitreuse devrait donc se manifester par un comportement non-trivial de la fonction de corrélation dynamique des $\Delta \mathbf{r}_{i,d}$,

$$C_d(\Delta t, t_w) = \frac{1}{N} \sum_i \langle \Delta \mathbf{r}_{i,d}(\Delta t + t_w) \cdot \Delta \mathbf{r}_{i,d}(t_w) \rangle, \quad (4.85)$$

où t_w est le temps écoulé depuis la trempe qui amène le système à basse température, et Δt est l'intervalle de temps après lequel l'orientation des vecteurs de distance est comparée. Aux temps intermédiaires, le système explore l'état pur dans lequel il est figé. C'est seulement à une échelle de temps beaucoup plus longue⁷⁰, qu'il peut y échapper et explorer d'autres parties de l'espace de phase. Nous nous attendons donc à un plateau dans la fonction de corrélation à temps intermédiaire

$$q_d = \lim_{\Delta t \rightarrow \infty} \lim_{t_w \rightarrow \infty} C_d(\Delta t + t_w, t_w) \quad (4.86)$$

avec q_d fini. Ces quantités peuvent être calculées dans le cadre de la méthode de cavité [MMM03b] en moyennant sur les conformations de deux répliques dans le même état pur. Dans la figure 4.11 nous affichons q_d pour des distances le long du squelette $d = 1, \dots, 4$ en fonction de la température inverse pour les copolymères alternés. Lors de la transition continue dans l'ampholyte, la hauteur du plateau débute de manière continue de 0, tandis qu'elle présente un saut discontinu à la transition discontinue du modèle ferromagnétique. Ceci reflète les différents degrés de gel dans les états purs correspondants : plus le système est gelé, plus les conformations d'un état pur se ressemblent, donnant lieu à un plateau q_d plus élevé. Dans la phase vitreuse molle, le degré de gel augmente de manière continue lorsque la température baisse, tandis qu'il est peu sensible à la température dans la phase gelée du modèle ferromagnétique.

Des résultats similaires à notre scénario de la phase vitreuse molle ont été obtenus pour la chaîne hydrophile-hydrophobe par un calcul variationnel de répliques approximant l'Hamiltonien par une fonction quadratique des vecteurs $\Delta \mathbf{r}_{i,d}$ [MKD97]. Ce travail propose également une application entre l'hétéropolymère et le verre de spins proche de

⁷⁰Cette échelle de temps diverge dans la limite thermodynamique, dans l'approximation du champ moyen, c'est-à-dire sur le réseau de Bethe.

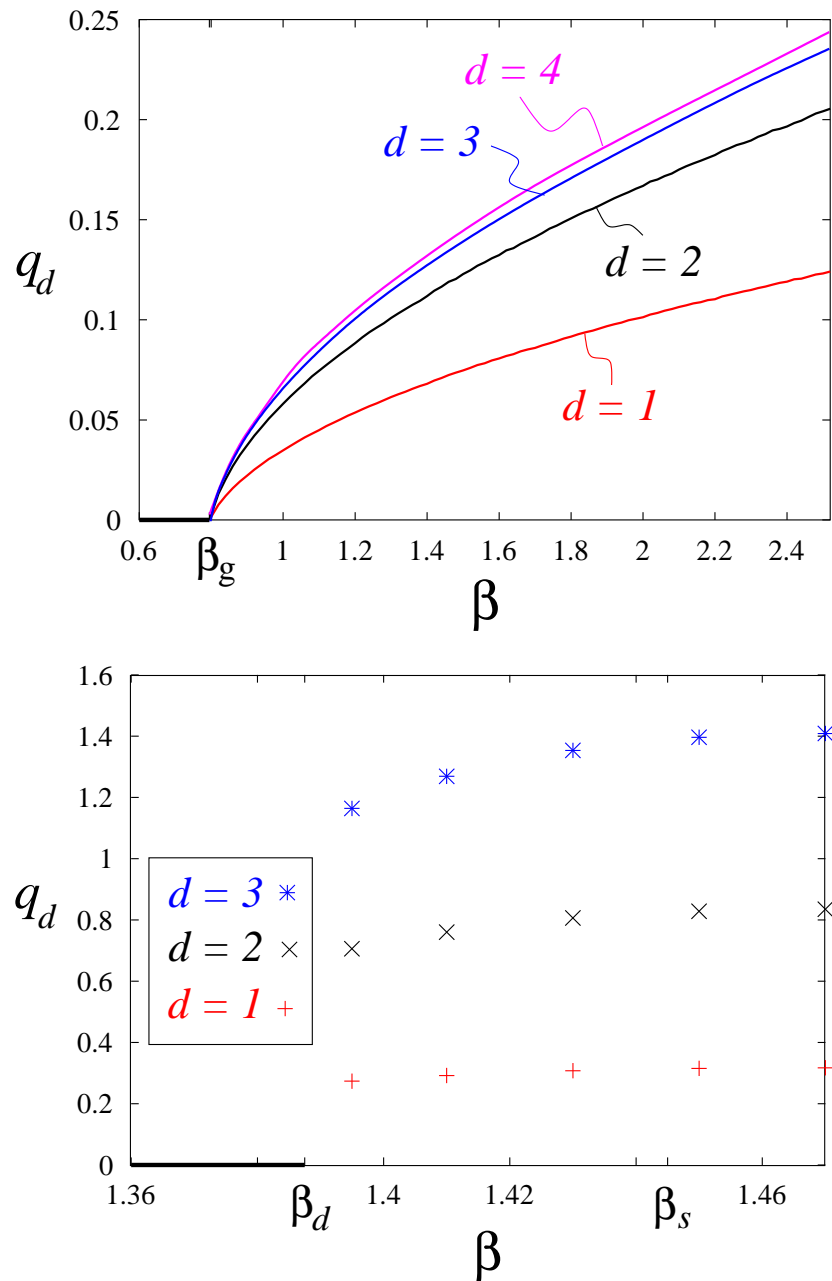


FIG. 4.11 – Paramètres d’ordre locaux pour les copolymères alternés. La valeur du plateau, q_d , mesure la similarité locale des conformations d’un état pur, exprimant le degré de gel du squelette à l’échelle de d monomères. Ces paramètres d’ordre sont continus lors de la transition continue dans l’ampholyte alterné (diagramme en haut) et croissent graduellement quand la température baisse. En revanche, à la température où la chaîne ferromagnétique subit la transition dynamique, les paramètres q_d sautent brusquement à des valeurs finies (diagramme en bas), ce qui indique un degré de gel élevé dans les états purs correspondants. Cependant, celui-ci n’évolue plus beaucoup lorsque la température est abaissée.

la transition vitreuse, suggérant que les deux systèmes appartiendraient à la même classe d'universalité. Ceci impliquerait en particulier une transition vitreuse continue. En outre, les auteurs conjecturent que la croissance du recouvrement intra-états q_d lors d'une baisse de la température soit liée au scénario d'un gel progressif, proposé par Thirumalai et al. [TAB96] pour la chaîne hydrophile-hydrophobe.

4.4 Discussion et perspectives

4.4.1 Avantages de la méthode de cavité

La philosophie de la méthode de cavité, en particulier son approche de la phase vitreuse, est tout à fait opposée à celle de la méthode standard des répliques. Tandis que la dernière essaie de décrire les conformations au niveau global en se servant de la fonction de recouvrement $Q(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$, la méthode de cavité est purement locale. Les conformations ne sont comparées qu'à petites distances spatiales, ce qui donne lieu à des paramètres de recouvrement locaux, comme les corrélations de monomères à courte distance, décrites par q_d .

Cette approche locale a de nombreux avantages. En particulier, elle permet de décrire des transitions vitreuses qui ne correspondent pas nécessairement à un gel de la conformation entière du polymère. De plus, la méthode n'impose pas de contraintes sur la densité du repliement. Des fluctuations sont naturellement admises, et la densité moyenne se détermine de façon auto-cohérente par la condition de coexistence entre le polymère et le solvant qui l'entoure. Ceci permet en particulier de traiter la transition pelote-globule (le point Θ) et la transition vitreuse à plus basse température dans le cadre du même formalisme - propriété d'une théorie qui est considérée pertinente pour comprendre le repliement des protéines.

4.4.2 Applications aux biopolymères

Nous concluons ce chapitre en discutant quelques applications pour les biopolymères. L'approche de la cavité est particulièrement intéressante à cet égard car elle permet d'inclure les propriétés de la séquence de monomères, au moins au niveau des corrélations à courte portée. Les résultats de la section 4.3.6 montrent que le diagramme de phase peut être très riche, même dans le régime vitreux où des phases de différent degré de gel sont possible.

Implications pour les protéines

Comme nous l'avons mentionné dans la section 4.2.4, les séquences de protéines ne sont pas aléatoires. L'analyse statistique de [PGT94] suggère des anticorrélations par rapport à la charge électrique (i.e. au caractère ampholytique) d'acides aminés voisins dans la séquence, et des corrélations⁷¹ par rapport à l'hydrophilicité des monomères. D'après les considérations de la section précédente, ces deux tendances sont en faveur d'une transition continue vers une phase vitreuse molle, liée à une instabilité du globule liquide.

Il est possible qu'en effet, les protéines profitent de la présence d'une phase vitreuse molle précédant la transition de gel (ou plutôt le repliement à l'état natif) pour "préstructurer" la molécule et réduire ses degrés de liberté, dans un sens qui est favorable aux étapes suivantes du repliement. En quelque sorte, une telle phase pourrait constituer le début d'un "entonnoir" dans le paysage d'énergie⁷².

Ces conjectures devraient être étudiées plus quantitativement, en étudiant des séquences dessinées, ayant certains degrés de corrélations locales entre monomères. Une autre approche possible consisterait à étudier des modèles simples sur un réseau et à déterminer la vitesse ou la fiabilité de leur repliement. L'analyse statistique des séquences avec des propriétés favorables pourrait alors révéler les corrélations qui sont en faveur d'un comportement ressemblant aux protéines. Une telle approche a été suivie par Irbäck et al.. Ils trouvent que dans un simple modèle $A-B$ décrivant seulement le degré d'hydrophobicité des monomères, les "bonnes" séquences présentent des anticorrélations dans l'hydrophobicité, comme ils les ont observées dans des séquences de protéines [IPP96]⁷³. Ceci est en contradiction avec la conjecture du paragraphe précédent, et suggérerait plutôt que les protéines évitent une phase vitreuse molle⁷⁴. Cependant, les analyses de [IPP97, IS00a] étaient restreintes à un modèle HP en deux dimensions de très petite taille ($N = 20$). La répétition du même genre de simulations de repliement en trois dimensions [IPPS97] ne révélait pas le même biais vers les séquences anticorrélées. En effet, on s'attendrait plutôt

⁷¹Cependant, ceci est mis en question par l'analyse de [IPP96].

⁷²Une question intéressante concerne le nombre d'états purs qu'il y a dans la phase vitreuse molle d'une protéine typique de $N = 100 - 500$ acides aminés. Rappelons que la densité d'états purs est donnée par $\mathcal{N}(\omega) \sim \exp[N\Sigma(\omega)]$. Lors d'une transition continue, la complexité est petite, de l'ordre de $O((m^*)^3)$, (ou même zéro d'après des conjectures récentes [CLPR03]). Pour l'ampholyte régulier (où elle est particulièrement petite) nous avons trouvé que m^* se stabilise autour d'une valeur de 0.08 lorsque la température diminue. La complexité sera donc de l'ordre de 10^{-3} , ce qui suggère que pour les protéines, un très petit nombre d'états purs sont présents dans la phase vitreuse molle présumée.

⁷³Mentionnons que ces anticorrélations ne se voient qu'en moyennant l'hydrophobicité sur plusieurs monomères et en analysant les corrélations parmi ces variables de bloc. Au niveau local des acides aminés, les résultats de [IPP96] ne montrent pas de différence par rapport à des séquences aléatoires.

⁷⁴Un argument en faveur d'un tel scénario mettrait en avant qu'une molécule qui reste plus longtemps dans la phase liquide où elle est flexible a plus de chance de trouver un état de transition à partir duquel elle se replie facilement à l'état natif.

à ce que une bonne séquence ait une structure en blocs, comme l'ont proposé Khokhlov et Khalatur [KK99]. Leur étude de chaînes de longueurs $N = 512$ met en évidence que des polymères dessinés à posséder un état fondamental dense non-frustré avec tous les monomères hydrophiles à la surface se replient significativement mieux que des polymères aléatoires.

Il est évident que plus d'efforts sont nécessaires pour élucider la nature des corrélations présentes dans les séquences réelles et leurs effets sur la transition vitreuse.

ARN par la cavité

La méthode de cavité peut également être adaptée au cas de l'ARN. La particularité de ce type d'hétéropolymère consiste en la saturation des interactions auxquelles un monomère peut participer : tandis que les acides aminés interagissent avec tous leurs voisins de manière plus ou moins équivalente, les nucléotides de l'ARN ne s'apparient qu'à une seule base complémentaire.

Il y a au moins deux possibilités de modéliser l'ARN sur un réseau. Dans l'esprit du traitement des copolymères, nous pouvons considérer le squelette, i.e. le simple brin de la structure primaire, comme une marche auto-évitante. Le fait que les interactions saturent impose de distinguer plus de conformations locales : non seulement faut-il indiquer quelle base est présente sur un sommet, mais nous devons aussi indiquer son état d'appariement. Ceci rend le formalisme assez lourd⁷⁵.

Une approche plus prometteuse admettrait des simples brins *et* des doubles brins (des hélices) sur le réseau. En se restreignant aux appariements Watson-Crick, le nombre de conformations locales reste relativement modeste dans ce modèle, voir figure 4.12.

Une telle approche réunit plusieurs aspects intéressants : en plus du fait qu'elle traite l'auto-évitement correctement⁷⁶, elle permet d'inclure les énergies d'appariement *et* d'empilement, ainsi que certains types d'interactions tertiaires entre les bases de deux hélices différentes ou entre un simple brin et une hélice. Comme dans le cas des copolymères, il serait très intéressant d'étudier le rôle de corrélations dans la séquence de bases.

Dans cette deuxième version, la méthode de cavité offre alors un cadre unique pour traiter simultanément la transition pelote-globule et les effets vitreux dans l'ARN. De plus, elle permet d'étudier le rôle respectif des structures secondaires et tertiaires - une question toujours ouverte, mais d'autant plus pertinente pour le repliement de ces biomolécules.

⁷⁵Des travaux préliminaires dans cette direction ont mis en évidence que la solution liquide ne subit une crise d'entropie qu'à de très basses températures, ce qui suggère la présence d'une transition continue et une phase vitreuse molle pour l'ARN. Cependant, des analyses plus approfondies sont nécessaires pour clarifier ce point.

⁷⁶Remarquons que la méthode de cavité ne peut pas tenir compte de la contrainte sur l'absence des pseudonœuds. Cependant, cette restriction n'est pas aussi pertinente si l'auto-évitement est correctement pris en compte.

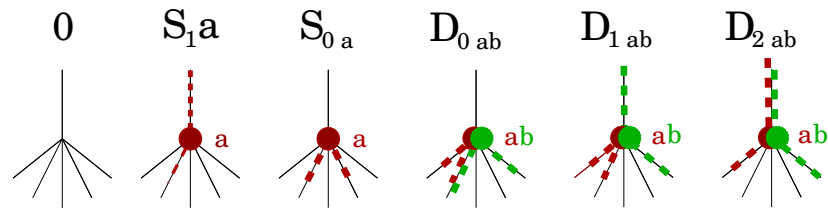


FIG. 4.12 – Les conformations locales pour l'ARN. Nous distinguons le nombre de monomères sur la racine r : (0) racine vide ; (S) un monomère (simple brin) ; (D) deux monomères (double brin). En outre, l'index (0, 1 ou 2) spécifie combien de brins passent vers le reste de l'arbre (vers le haut). Pour tenir compte du désordre, il faut également indiquer quel monomère(s) se trouve(nt) sur le sommet (a ou (a, b)). Dans le cas d'une paire de monomères nous demandons qu'elle soit du type Watson-Crick ((A, U) ou (G, C)). Pour être complet, il faudrait également ajouter l'orientation des brins qui partent en haut.

The phase diagram of random heteropolymers

A. Montanari, M. Müller, and M. Mézard
submitted to *Phys. Rev. Lett.*

The Phase Diagram of Random Heteropolymers

A. Montanari¹, M. Müller², M. Mézard²

¹ *Laboratoire de Physique Théorique de l'Ecole Normale Supérieure and*

² *Laboratoire de Physique Théorique et Modèles Statistiques,
Université Paris-Sud, bâtiment 100, F-91405 Orsay, France.*

We study the phase diagram of random lattice heteropolymers using the cavity method. For copolymers we analyze the nature and phenomenology of the glass transition as a function of sequence correlations. Beside the common scenario of an abrupt freezing transition at low temperature, we show the possibility of a preceding softer glass phase with fully broken replica symmetry and a continuously growing degree of freezing as the temperature is lowered.

The statistical mechanics of random heteropolymers has attracted a lot of interest in the past two decades, mainly for its close relation to the long standing problem of protein folding [1, 2], but it is also a great challenge for material sciences that aim at a deeper understanding of the glassy properties of polymeric chains with heterogeneous composition [3]. It has soon been recognized that the energy landscape and low temperature physics of heteropolymers bear a strong resemblance with that of spin glasses, and many theoretical concepts have been fruitfully adapted to that particular class of disordered systems [4, 5].

A popular guiding idea in this field was the conjecture that typical low energy configurations of a random heteropolymer behave as independent energy levels [6, 7] as it happens in the random energy model (REM) [8]. Mean field replica calculations indeed seemed to corroborate such a discontinuous glass transition with one step of replica symmetry breaking, both for random bond interactions [7, 9] and for copolymers [10, 11].

However, despite the success of these mean field methods in explaining several empirical facts of heteropolymers, one should keep in mind that they involve a series of approximations (among which the use of saddle point methods in a large functional space, and simplifying assumptions on the order parameter), whose status and consistency is difficult to assess [12]. Although they seem to confirm the conjecture about the REM-like nature of heteropolymers, they necessarily reflect to a large extent the structure of the overlap function that is chosen so as to describe a freezing transition. More subtle properties of the glassy energy landscape preceding the global freezing thus can hardly be captured. Furthermore, the applicability of the simple REM-like picture to heteropolymers and proteins in particular has been strongly questioned [13].

Unfortunately, there are very few alternative methods to these mean field ones. Recent works have avoided the use of equilibrium replica calculations and solved the Langevin equations for random copolymers in some self-consistent approximation scheme [14, 15]. The picture emerging from these out of equilibrium studies is a refined phase diagram. Beside the frozen state, a new glass

phase is found, characterized by a proliferation of frustrated (misfolded) metastable states and a slow dynamics in which the system freezes gradually on larger and larger length scales.

In this Letter, we propose a new approach to heteropolymers which is based on the cavity method [17]. We identify two distinct glass transition scenarios when decreasing temperature: one is the widely studied REM-like abrupt freezing, the second one is a weaker transition to a ‘soft glass’ phase with a small degree of freezing (measured by its Edwards-Anderson order parameter). We also find some indication that in this second scenario, further cooling leads to a strongly discontinuous freezing transition. Which scenario takes place depends on the correlations in the monomer sequence, and we compute the corresponding phase diagram.

We consider a lattice polymer whose conformation is given by the vertices and edges that the monomers and the backbone occupy, respectively. Monomers i and j interact with an energy e_{ij} if they occupy neighboring sites. The random bond model considers independent Gaussian e_{ij} 's while for copolymers composed of two species $\{A, B\}$, the interactions are of the form $e_{ij} = \tilde{e}_{\sigma_i, \sigma_j}$ where $\sigma_i \in \{1, -1\} \leftrightarrow \{A, B\}$ describes the sequence. We will restrict to the symmetric case $\tilde{e}_{AA} = \tilde{e}_{BB} = -\tilde{e}_{AB}$ and only consider neutral polymers (equal number of A 's and B 's). The case $\tilde{e}_{AA} = -1$ is close to the popular HP-model for proteins where hydrophobic and polar constituents tend to cluster, while $\tilde{e}_{AA} = 1$ corresponds to charged polymers (ampholytes) with short-range interactions.

We study this problem using the Bethe approximation. This is the first non-trivial approximation in the family of cluster variational methods in that it handles correctly the nearest-neighbor correlations, as can be seen in the case of homopolymers [18]. In a frustrated system like the heteropolymer, this approximation would become exact on a ‘Bethe lattice’ random graph with N vertices and fixed connectivity (which we take here equal to $k + 1 \equiv 6$ to mimic cubic lattices) [17]. Since the size of typical loops in such a graph diverges as $O(\log(N))$, the graph is locally tree-like, allowing for iterative solutions of the statistical physics problem.

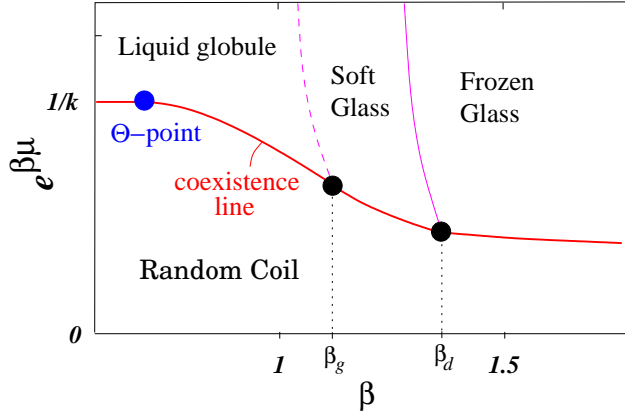


FIG. 1: The phase diagram in the grand canonical ensemble. An unconstrained polymer lives on the coexistence line. In correlated HP-polymers and anticorrelated ampholytes a continuous glass transition occurs at the liquid instability (dashed line). It is presumably followed by a discontinuous freezing transition. Oppositely correlated sequences exhibit a direct freezing transition from the liquid globule. This transition occurs before the liquid instability and makes it irrelevant.

On a lattice with V sites, we consider the polymer in the grand canonical ensemble with a chemical potential μ per monomer. One can identify two phases depending on the scaling of the average length $\langle N \rangle$ of the polymer [18]. For small μ ($\mu < \mu_c(T)$) there exists an infinitely diluted phase where $\langle N \rangle / V \rightarrow 0$ in the thermodynamic limit $V \rightarrow \infty$. For $\mu > \mu_c$, there is a dense phase with a finite $\langle N \rangle / V$. To describe a free polymer in equilibrium with the solvent the chemical potential has to be adjusted to the critical value μ_c . For small enough temperature this transition is first order, for large temperature it is second order. The Θ -point where the free polymer collapses to the liquid globule corresponds to the tricritical point where the two regimes join [19], see Fig. 1.

For technical reasons we work with a periodic sequence of monomers with period L and take the limit $L \rightarrow \infty$ later. Let us now consider an oriented edge of the graph, going from a 'root' site R to another site S . It can be in one of the following states: (0): neither root nor edge are occupied; $(+, a)$ or $(-, a)$: the root is occupied by monomer $a \in [1, L]$ and the backbone continues on the edge, the sign \pm indicating that S is occupied by monomer $a \pm 1$; $(2a)$: the root is occupied by monomer a , but the edge is free. We now exploit the local tree-like structure to recursively express the (Gibbs) probability $p_\alpha^{(0)}$ of finding the oriented edge '0' in the conformation $\alpha \in \{0, (+, a), (-, a), 2a\}$ in terms of the corresponding probabilities $p_{\alpha'}^{(i)}$ on the remaining edges ($i = 1, \dots, k$) that are connected to the root of '0':

$$p_0^{(0)} = C^{-1} \prod_{i=1}^k (p_0^{(i)} + \sum_{a'=1}^L p_{2a'}^{(i)}), \quad (1)$$

$$p_{\pm, a}^{(0)} = C^{-1} e^{\beta\mu} \sum_{i=1}^k p_{\pm, a \mp 1}^{(i)} \prod_{j \neq i}^k \psi_a^{(j)}, \quad (2)$$

$$p_{2a}^{(0)} = C^{-1} e^{\beta\mu} \sum_{i_1 \neq i_2}^k p_{+, a-1}^{(i_1)} p_{-, a+1}^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2}^k \psi_a^{(j)}, \quad (3)$$

where C is a normalization and we have introduced

$$\psi_a^{(j)} = p_0^{(i)} + \sum_{a'=1}^L p_{2a'}^{(j)} e^{-\beta e_{aa'}}. \quad (4)$$

The recursion is exact on a tree, but it also holds asymptotically on a large N Bethe lattice, in the liquid phase or inside a pure state, since the neglected correlations between probabilities on the k parent links vanish.

The liquid phase is described by a fixed point $p_\alpha^{(i)} \equiv p_\alpha^*$ of Eqs. (1-3) which takes the simple form $p_{+, a}^* = p_{-, a}^* \equiv p_1^*$, $p_{2a}^* \equiv p_2^*$ for neutral copolymers. Denoting by \mathbf{p}^* the corresponding vector with $3L + 1$ components, the liquid free energy is obtained as a sum of site and edge contributions [17]:

$$\phi_{\text{liq}} = -\log[w_1(\mathbf{p}^*, \dots, \mathbf{p}^*)] + \frac{k+1}{2} \log[w_2(\mathbf{p}^*, \mathbf{p}^*)] \quad (5)$$

where

$$w_1(\mathbf{p}_1, \dots, \mathbf{p}_{k+1}) = \prod_{i=1}^{k+1} (p_0^{(i)} + \sum_{a'=1}^L p_{2a'}^{(i)}) + e^{\beta\mu} \sum_{a=1}^L \sum_{i_1 \neq i_2}^{k+1} p_{+, a-1}^{(i_1)} p_{-, a+1}^{(i_2)} \prod_{j \neq i_1, i_2}^{k+1} \psi_a^{(j)}, \quad (6)$$

and

$$w_2(\mathbf{p}_1, \mathbf{p}_2) = p_0^{(1)} p_0^{(2)} + \sum_{a, a'=1}^L p_{2a}^{(1)} p_{2a'}^{(2)} e^{-\beta e_{aa'}} + \sum_{a=1}^L (p_0^{(1)} p_{2a}^{(2)} + p_{+, a-1}^{(1)} p_{-, a}^{(2)} + (1 \leftrightarrow 2)). \quad (7)$$

Note that the liquid globule of neutral copolymers bears no trace of disorder since ϕ_{liq} is independent of the sequence.

For any heterogeneous sequence the entropy of the liquid solution turns negative at sufficiently low temperatures, indicating the existence of a glass phase which breaks the translational invariance. The latter is also clearly observed in Monte Carlo simulations both on the Bethe and the cubic 3d lattice [16]. To treat the glass phase, the above framework has to be extended. We assume that below the glass transition the phase space splits into a large number of pure states. Restricting the Gibbs measure to a state γ gives rise to probabilities $p_\alpha^{(i; \gamma)}$, and we again obtain a closed recursion relation if

we look at the distribution of local probabilities over all pure states [17], $\rho(\mathbf{p}) = \mathcal{N}^{-1} \sum_{\gamma} w_{\gamma} \delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^{(i;\gamma)})$. It will not depend on the site i since the graph is regular. The cavity recursion then reads

$$\rho(\mathbf{p}) = \frac{1}{\mathcal{Z}} \int \prod_{i=1}^k \rho(\mathbf{p}^{(i)}) d\mathbf{p}^{(i)} \delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^{(0)}[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}]) e^{-m\beta\Delta f[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}]} \quad (8)$$

where $\mathbf{p}^{(0)}[\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k)}]$ is the pure state recursion (1-3). We have introduced a reweighting with respect to the free energy change Δf corresponding to the addition of θ , in order to take into account the exponential increase of the number of pure states as a function of the total free energy. It is related to the normalization factor in (1-3) by $\exp(-\beta\Delta f) = C$.

This framework is equivalent to a one-step replica symmetry breaking scheme with the Parisi parameter m . The corresponding free energy reads

$$\phi_1(m) = -\frac{1}{m} \log \left[\int \prod_{i=1}^{k+1} \rho(\mathbf{p}^{(i)}) d\mathbf{p}^{(i)} w_1^m(\mathbf{p}^{(1)}, \dots, \mathbf{p}^{(k+1)}) \right] + \frac{k+1}{2m} \log \left[\int \prod_{i=1}^2 \rho(\mathbf{p}^{(i)}) d\mathbf{p}^{(i)} w_2^m(\mathbf{p}^{(1)}, \mathbf{p}^{(2)}) \right]. \quad (9)$$

The static free energy corresponds to m^* which maximizes $\phi(m)$.

The liquid solution is always embedded in the one-step formalism as $\rho(\mathbf{p}) = \delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^*)$, but it becomes unstable if fluctuations around \mathbf{p}^* grow on average under the cavity recursion. This happens when $k\lambda_{\max}^2 \geq 1$ where λ_{\max} is the largest eigenvalue of the transfer matrix for deviations from the liquid, $\mathcal{M}_{\alpha\alpha'} = \partial p_{\alpha'}^{(0)} / \partial p_{\alpha}^{(1)}|_{\mathbf{p}^{(i)} = \mathbf{p}^*}$. Note that an instability towards a crystalline phase [20], as described by $k|\lambda_{\max}| = 1$, is always frustrated on the Bethe lattice.

In random bond sequences, the instability occurs after the entropy crisis of the liquid, implying a discontinuous (REM-like) glass transition as predicted in [7]. For AB-copolymers, the instability can be analyzed for arbitrary sequences of monomers. It occurs at the temperature β_g determined by

$$\frac{1 + z_2(\beta_g) \cosh(\beta_g)}{z_2(\beta_g) \sinh(\beta_g)} = -k^{1/2} + \frac{2(k-1)Q_{\text{seq}}}{k^{1/2}(1 - k^{-L/2})}, \quad (10)$$

where $z_2(\beta_g) = Lp_2^*/p_0^*$ is independent of the sequence [16]. The latter only enters through the term $Q_{\text{seq}} = \sum_{i=0}^{L-1} q_i(\pm\sqrt{k})^{-i}$ where $q_i = 1/L \sum_{a=1}^L \sigma_a \sigma_{a+i}$ is the sequence autocorrelation function and the upper/lower sign corresponds to the HP-model and the ampholyte, respectively.

In Fig. 2 we plot the local instability β_g as a function of sequence correlations in the simple case of Markovian chains described by the probability π for two consecutive

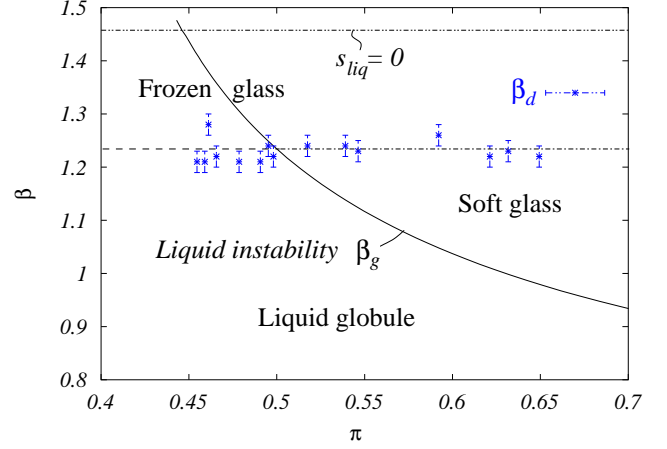


FIG. 2: The phase diagram as a function of sequence correlations π for HP polymers. At low temperatures a frozen glass phase exists that becomes unstable at $\beta_d \approx 1.23 \pm 0.03$ (to be compared to the entropy crisis of the liquid, $\beta_{s=0} \approx 1.453$). For anticorrelated sequences $\pi \leq 0.5$, there is a REM-like freezing transition from the liquid globule, while for $\pi \geq 0.5$ a continuous transition to soft glass at β_g precedes the presumed freezing around β_d . The phase diagram for ampholytes is nearly identical under the replacement $\pi \leftrightarrow 1 - \pi$.

monomers to be equal. If the instability occurs too close to the entropy crisis of the liquid, it will be masked by a discontinuous transition. We have confirmed this by numerically solving the cavity equation (8) for several neutral copolymer sequences with period $L = 20$ and various effective Markov parameters π . Starting from low temperatures, one usually finds a strongly frozen phase that becomes unstable upon adiabatically raising the temperature. Almost independently of the sequence, this transition takes place around $\beta_d \approx 1.23 \pm 0.03$. For ampholytic sequences with a bias to alternation, $\pi \leq 0.5$, and for HP-like polymers with a preference for blocks, $\pi \geq 0.5$, there is a continuous glass transition at $\beta_g < \beta_d$ as predicted by (10). Presumably, it is followed by a discontinuous freezing transition at lower temperature as suggested by the instability β_d of the frozen solution. However, an adequate description of the transition from the soft to the frozen glass phase would require a more elaborate analysis. In copolymers with opposite correlations, the liquid instability is irrelevant and a freezing transition occurs directly from the liquid globule phase. The phase diagram for the first scenario is shown in Fig. 1.

Let us now characterize the phenomenology of the glass phases in more detail. At β_g the glass transition is continuous in the sense that the order parameter $\rho(\mathbf{p})$ continuously departs from the liquid fixed point $\delta(\mathbf{p} - \mathbf{p}^*)$. In the vicinity of the transition it can be examined via an expansion of moments. One finds that the transition is of third order, $\phi_1(\beta, m^*) - \phi_{\text{liq}}(\beta) \sim (\beta - \beta_g)^3$. As usual, the presence of a local instability indicates that the replica symmetry is fully broken: The states will organize in an

ultrametric hierarchy of clusters that comprise a large number of microconfigurations, all with similar preferences of the lattice sites to accommodate certain polymer conformations. On lowering the temperature, these preferences grow and result in increasing correlations on larger and larger length scales between the conformations belonging to one cluster. This effect might be related to the scale-dependent freezing predicted in [14, 21].

The frozen phase at low temperature is of rather different character. The site probabilities $p_\alpha^{(i)}$ are strongly biased towards one particular site-dependent conformation. The pure states correspond to almost frozen conformations and have very small internal entropy, as in the REM. We have confirmed this scenario in detail for the extreme case of alternating HP-polymer ($\pi = 0$). The dynamic transition, i.e. the splitting of phase space into pure states, occurs only at $\beta_d \approx 1.388$, where the liquid is already very dense. It is rapidly followed by the static phase transition at $\beta_s \approx 1.442$ which is extremely close to $\beta_{s=0} = 1.453$ where the liquid would undergo an entropy crisis.

What are the implications of the above mean-field picture for realistic (finite-dimensional) models? At least two features must be seriously reconsidered. First, within our approximation, the formation of ordered structures is generally inhibited. Let us consider, for instance, the HP copolymer with highly correlated sequences $\pi \approx 1$. In dimension d , at low temperature, the system will separate into A-rich and B-rich regions of linear size $\ell \sim \log(1 - \pi)^{1/d}$, with a frustration energy of order ℓ^{-1} per monomer. We expect therefore the phase diagram in Fig. 2 to be modified in the $\pi \approx 1$ (for the HP model) and $\pi \approx 0$ (for the ampholyte) regions.

Second, the dynamic phase transition which precedes the discontinuous phase transition to the frozen glass phase, cannot survive in finite dimensions because of nucleation phenomena. It will be plausibly replaced by a sharp crossover with the appearance of an extremely long time scale. Such a phenomenon could be detected through the following dynamic correlation function: $C_d(t, t_w) = N^{-1} \sum_i \langle \Delta \mathbf{r}_{i,d}(t) \cdot \Delta \mathbf{r}_{i,d}(t_w) \rangle$, where $\Delta \mathbf{r}_{i,d} = \mathbf{r}_{i+d} - \mathbf{r}_i$ and \mathbf{r}_i is the spatial position of the monomer i . This correlation function should exhibit a plateau at $q_d = \lim_{t \rightarrow \infty} \lim_{t_w \rightarrow \infty} C_d(t, t_w)$ when entering the glassy phases [21]. The height q_d of the plateau will develop continuously from 0 in the soft glass phase, while it will be discontinuous at the border of the frozen phase.

In conclusion, we have described a new approach to mean field computations in heteropolymeric systems. The mean-field approximation is introduced in a well-defined and consistent way, and any further calculation can be checked through simulations on the Bethe lattice. We think that the approach is flexible enough to allow for many applications (e.g. designed sequences) and

further refinements (higher orders in the cluster variational method). We considered the case of copolymers with correlated sequences. It turns out that the frozen glass phase, which is commonly thought to describe the low temperature behavior of heteropolymers, can be preceded by a soft glass phase with very different dynamical properties. Since these two types of phases are present in many disordered systems, we expect this prediction to be robust. The sequence correlations were found to be the discriminating parameter, and it would thus be interesting to analyze real protein sequences [22] in the light of our findings.

-
- [1] V. S. Pande, A. Y. Grosberg, and T. Tanaka, *Rev. Mod. Phys.* **72**, 259 (2000).
 - [2] T. Garel, H. Orland, and E. Pitard, in *Spin Glasses and Random Field*, edited by A. Young (World Scientific, Singapore, 1997), pp. 387–443.
 - [3] C. D. Sfatos and E. I. Shakhnovich, *Phys. Rep.* **288**, 77 (1997).
 - [4] P. G. Wolynes, in *Spin Glass Ideas in Biology*, edited by D. Stein (World Scientific, Singapore, 1991).
 - [5] M. Mézard, G. Parisi, and M. A. Virasoro, *Spin-Glass Theory and Beyond*, Vol. 9 of *Lecture Notes in Physics* (World Scientific, Singapore, 1987).
 - [6] J. D. Bryngelson and P. G. Wolynes, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **84**, 7524 (1987).
 - [7] E. I. Shakhnovich and A. M. Gutin, *Biophys. Chem.* **34**, 187 (1989), *Europhys. Lett.* **8**, 327 (1989).
 - [8] B. Derrida, *Phys. Rev. B* **24**, 2613 (1981).
 - [9] T. Garel and H. Orland, *Europhys. Lett.* **6**, 307 (1988).
 - [10] T. Garel, L. Leibler, and H. Orland, *J. Phys. II (France)* **4**, 2139 (1994).
 - [11] C. D. Sfatos, A. M. Gutin, and E. I. Shakhnovich, *Phys. Rev. E* **48**, 465 (1993).
 - [12] S. Franz, M. Mézard, and G. Parisi, *Int. J. Neural Systems (suppl.)* **3**, 195 (1992).
 - [13] V. S. Pande, A. Y. Grosberg, C. Joerg, and T. Tanaka, *Phys. Rev. Lett.* **76**, 3987 (1996).
 - [14] D. Thirumalai, V. Ashwin, and J. K. Bhattacharjee, *Phys. Rev. Lett.* **77**, 5385 (1996).
 - [15] E. G. Timoshenko, Y. A. Kuznetsov, and K. A. Dawson, *Phys. Rev. E* **54**, 4071 (1996), *Phys. Rev. E* **55**, 5750 (1997), *Phys. Rev. E* **57**, 6801 (1998).
 - [16] A. Montanari, M. Müller, and M. Mézard, in preparation.
 - [17] M. Mézard and G. Parisi, *Eur. Phys. J. B* **20**, 217 (2001).
 - [18] J.F. Nagle, *Proc. R. Soc. Lond. A* **337**, 569 (1974), S. Lise, A. Maritan, and A. Pelizzola, *Phys. Rev. E* **58**, R5241 (1998).
 - [19] P. G. de Gennes, *J. Phys. Lett. (Paris)* **36**, L55 (1975).
 - [20] P.G. de Gennes, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **68**, 96 (1979)
 - [21] A. Moskalenko, Y. A. Kuznetsov, and K. A. Dawson, *Europhys. Lett.* **40**, 135 (1997).
 - [22] V. S. Pande, A. Y. Grosberg, and T. Tanaka, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 12972 (1994).

Chapitre 5

Conclusion générale

Le repliement des biopolymères est un phénomène fascinant : pour des molécules pas trop grosses, la séquence des monomères suffit pour déterminer de façon unique la structure repliée native qui rend la molécule fonctionnelle. Non seulement cet état natif est encodé dans la séquence, mais - plus étonnant encore - les biopolymères naturels, notamment, les protéines et les ARNs, le retrouvent également rapidement à partir d'un état dénaturé. La compréhension des mécanismes physiques à la base de ce comportement et des propriétés particulières de séquences présentant les caractéristiques typiques des biopolymères constitue un grand défi pour la physique statistique.

Grâce à la séparation des échelles d'énergie associées aux structures secondaires et tertiaires dans l'ARN, le repliement de ces biopolymères est beaucoup plus accessible à des études théoriques que celui des protéines. Néanmoins, l'étude de ce système plus simple permet de mieux comprendre les mécanismes en jeu dans le repliement de biopolymères en général. Dans la première partie de cette thèse, nous avons étudié les propriétés de l'ARN décrit au niveau de sa structure secondaire. Même en l'absence d'hétérogénéités dans la séquence de bases, l'ARN a une structure riche qui ressemble à un polymère ramifié à plus grande échelle. En tenant compte des effets d'auto-évitement, nous prédisons une transition de type pelote-globule entre une phase en collier de perles à haute température et un globule dense à basse température. Pour cette phase dense, nous avons montré que l'approche purement au niveau de la structure secondaire n'est pas cohérente, au moins dans les grandes molécules car la densité du globule que la théorie prédit croît avec la taille. L'inclusion d'interactions tertiaires est alors indispensable pour une description correcte de cette phase.

À plus basse température (y compris la température ambiante) les ARNs avec des séquences hétérogènes sont dominés par le "désordre" dans la séquence. Comme nous l'avons analysé en détails, celui-ci se manifeste de manière directe dans un changement des propriétés géométriques de la structure secondaire : le globule replié vitreux est en général moins dense que le globule "fondu" au-dessus de la transition vitreuse, résolvant

le problème de grande densité rencontré pour le globule fondu.

Dans la phase vitreuse, le paysage d'énergie possède une structure assez complexe, caractérisée par une multitude d'états métastables séparés par de hautes barrières cinétiques. Notre étude du paysage de basse énergie a révélé que dans des séquences aléatoires (comme représentées par des ARNs messagers, par exemple) l'échelle typique de la différence d'énergie entre deux états métastables croît beaucoup moins vite avec la taille que la hauteur des barrières cinétiques entre ces états. Ceci suggère un paysage d'énergie particulièrement rugueux. Il serait intéressant de voir si les séquences d'ARNs dont la structure tridimensionnelle est cruciale ont des caractéristiques comparables ou beaucoup moins rugueuses.

Comme nous l'avons montré, les propriétés du globule vitreux se manifestent également dans les expériences de molécules uniques. Les informations les plus intéressantes sur le paysage d'énergie et les barrières présentes dans le système sont obtenues en exerçant des forces autour de la force critique où la molécule subit une transition pelote-globule ressemblant beaucoup à celle en température. Cependant, bien qu'il soit accessible, ce régime de basses forces n'a pas été exploré expérimentalement, jusqu'à présent. Nous espérons que nos prédictions théoriques motivent des expériences dans ce régime qui est également intéressant pour des questions de vieillissement et d'hystérésis.

Un problème essentiellement non-résolu dans le repliement d'ARN concerne la formation de la structure tertiaire et son rôle dans la dernière étape du repliement de la structure secondaire. Les approches théoriques de ce problème sont très difficiles. En effet, le repliement d'ARN est presque plus complexe à ce niveau-là que celui des protéines. D'une certaine façon, ceci se reflète même expérimentalement dans le sens où le repliement de grands ARNs est beaucoup moins rapide que celui de protéines de taille comparable. Une possibilité très intéressante pour traiter ce problème est donnée par la méthode de cavité. Son application au repliement d'ARN permettrait d'éclaircir l'importance respective des interactions secondaires et tertiaires, ainsi que le rôle de corrélations le long de la séquence de bases.

La méthode de cavité est une nouvelle façon d'analyser le problème des hétéropolymères d'un point de vue local. Dans ce domaine où les méthodes d'approche théorique ne sont pas légion, elle offre une nouvelle perspective, riche de nombreuses possibilités de développement. Elle réunit plusieurs propriétés considérées comme essentielles pour aller au-delà d'une théorie reproduisant la phénoménologie du modèle à énergies aléatoires : elle admet des fluctuations de densité et n'impose pas de restrictions *a priori* sur la structure de l'espace de phase. De plus, elle permet de prendre en compte les corrélations de séquences. Dans le cas de copolymères, cette nouvelle approche locale nous a permis d'analyser l'origine des frustrations et de les mettre en relation avec les caractéristiques de la phase vitreuse. En particulier, pour un certain type de corrélation, probablement pré-

sent dans les protéines, nous avons trouvé un nouveau type de transition vitreuse continue vers une phase vitreuse “molle” qui précède la véritable transition de gel. Dans l’esprit de l’approche locale nous avons proposé un nouveau type de paramètre d’ordre local qui mesure le degré de gel du système, arrivant ainsi à distinguer les deux types de transition vitreuses possibles.

Dans le futur, une étude systématique des corrélations effectivement présentes dans des séquences de biopolymères, ainsi que de la relation entre la séquence et les caractéristiques du repliement pourrait être combinée avec l’analyse de modèles plus raffinés dans le cadre de la méthode de cavité.

Bibliographie

- [AGK91] F. Aguilera-Granja and R. Kikuchi. Polymer statistics. I. Phase separation in polymer solutions : A new statistical treatment. *Physica A*, 176:514–533, 1991.
- [AGK92a] F. Aguilera-Granja and R. Kikuchi. Polymer statistics. II. New simulation of polymers in solution. *Physica A*, 182:331–345, 1992.
- [AGK92b] F. Aguilera-Granja and R. Kikuchi. Polymer statistics. III. Polymer adsorption on a solid surface. *Physica A*, 189:81–107, 1992.
- [AGK92c] F. Aguilera-Granja and R. Kikuchi. Polymer statistics. IV. Simulation of adsorption of polymers and polyelectrolytes on surfaces. *Physica A*, 189:108–126, 1992.
- [AGK93] F. Aguilera-Granja and R. Kikuchi. Polymer statistics. V. Simulation of polyelectrolytes adsorbed on negative surface. *Physica A*, 195:53, 1993.
- [AGS94] V. Abkevich, A. Gutin, and E. I. Shakhnovich. Specific nucleus as the transition state for protein folding : Evidence from the lattice model. *Biochemistry*, 33:10026–10036, 1994.
- [AH62] C. B. Anfinsen and E. Haber. Side-chain interactions governing the pairing of half-cystine residues in ribonuclease. *J. Biol. Chem.*, 237:1839–1844, 1962.
- [An88] G. An. A note on the cluster variation method. *J. Stat. Phys.*, 52:727, 1988.
- [Anf73] C. B. Anfinsen. Principles that govern the folding of protein chains. *Science*, 181:223, 1973.
- [ATV⁺01] B. Audit, C. Thermes, C. Vaillant, Y. d’Aubenton Carafa, J. F. Muzy, and A. Arneodo. Long-range correlations in genomic DNA : A signature of the nucleosomal structure. *Phys. Rev. Lett.*, 86:2471–2474, 2001.
- [AvdBvBP90] J. P. Abrahams, M. van den Berg, E. van Batenburg, and C. Pleij. Prediction of RNA secondary structure, including pseudoknotting, by computer simulation. *Nucleic Acids Res.*, 18:3035–3044, 1990.

- [AYPL96] F. Amblard, B. Yurke, A. Pargellis, and S. Leibler. A magnetic manipulator for studying local rheology and micromechanical properties of biological systems. *Rev. Sci. Instrum.*, 67:818, 1996.
- [BDB00] M.A. Moore Barbara Drossel, Hemant Bokil and A.J. Bray. The link overlap and finite size effects for the 3d Ising spin glass. *Eur. Phys. J. B*, 13:369, 2000.
- [BERH97] U. Bockelmann, B. Essevez-Roulet, and F. Heslot. Molecular stick-slip motion revealed by opening DNA with piconewton forces. *Phys. Rev. Lett.*, 79:4489–4492, 1997.
- [BF90] F. S. Bates and G. H. Fredrickson. Block copolymer thermodynamics : Theory and experiment. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 41:525, 1990.
- [BF99] F. S. Bates and G. H. Frederickson. Block copolymers - designer soft materials. *Physics Today*, 32(2), 1999.
- [BG01] U. Bastolla and P. Grassberger. Exactness of the annealed and the replica symmetric approximations for random heteropolymers. *Phys. Rev. E*, 63:031901, 2001.
- [BH02a] R. Bundschuh and T. Hwa. Phases of the secondary structures of RNA sequences. *Europhys. Lett.*, 59:903–909, 2002.
- [BH02b] R. Bundschuh and T. Hwa. Statistical mechanics of secondary structures formed by random RNA sequences. *Phys. Rev. E*, 65:031903, 2002.
- [BM02] G. Biroli and M. Mézard. Lattice glass models. *Phys. Rev. Lett.*, 88:025501, 2002.
- [BMW00] C. Bustamante, J. C. Macosko, and G. J. L. Wuite. Grabbing the cat by the tail : Manipulating molecules one by one. *Nature Reviews Molecular and Cell Biology*, 1:130–136, 2000.
- [BOS03] M. Baiesi, E. Orlandini, and A. L. Stella. RNA denaturation : Excluded volume, pseudoknots and transition scenarios. 2003. cond-mat/0303226.
- [BOSW95] J. Bryngelson, J. Onuchic, N. Socci, and P. Wolynes. Funnels, pathways, and the energy landscape of protein folding : A synthesis. *Proteins : Struct. Funct. Genet.*, 21:167–195, 1995.
- [BP66] T. M. Birshtein and O. B. Ptitsyn. *Conformations of Macromolecules*. Interscience, New York, 1966.
- [Bro59] R. Brout. Statistical mechanical theory of a random ferromagnetic system. *Phys. Rev.*, 115:824, 1959.
- [Bry94] J. D. Bryngelson. When is a potential accurate enough for structure prediction ? Theory and application to a random heteropolymer model of protein folding. *J. Chem. Phys.*, 100:6038–6045, 1994.

- [BTER⁺02] U. Bockelmann, P. Thomen, B. Essevaz-Roulet, V. Viasnoff, and F. Heslot. Unzipping DNA with optical tweezers : High sequence sensitivity and force flips. *Biophys J.*, 82:1537–1553, 2002.
- [BTJ99] M. E. Burkard, D. H. Turner, and I. Tinoco Jr. The interactions that shape RNA structure. In R. F. Gesteland, T. R. Cech, and J. F. Atkins, editors, *RNA World*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2nd edition, 1999.
- [BW87] J. D. Bryngelson and P. G. Wolynes. Spin glasses and the statistical mechanics of protein folding. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 84:7524–7528, 1987.
- [BWRW00] K. L. Buchmueller, A. E. Webb, D. A. Richardson, and K. M. Weeks. A collapsed non-native RNA folding state. *Nature Struct. Biol.*, 7:362–366, 2000.
- [BY86] K. Binder and A. P. Young. Spin-glasses : Experimental facts, theoretical concepts and open questions. *Rev. Mod. Phys.*, 58:801–976, 1986.
- [CCFS86] J. T. Chayes, L. Chayes, D. S. Fisher, and T. Spencer. Finite-size scaling and correlation lengths for disordered systems. *Phys. Rev. Lett.*, 57:2999–3002, 1986.
- [CD97] H. S. Chan and K. Dill. From levinthal to pathways to funnels. *Nat. Struct. Biol.*, 4:10–19, 1997.
- [CD98] S.-J. Chen and K. A. Dill. Theory for the conformational changes of double-stranded chain molecules. *J. Chem. Phys.*, 109:4603–4616, 1998.
- [CD00] S.-J. Chen and K. A. Dill. RNA folding energy landscapes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:646–651, 2000.
- [CGK01] J. Chuang, A. Y. Grosberg, and M. Kardar. Free energy self-averaging in protein-sized random heteropolymers. *Phys. Rev. Lett.*, 87:010102, 2001.
- [Cha00] H. S. Chan. Modelling protein density of states : Additive hydrophobic effects are insufficient for calorimetric two-state cooperativity. *Proteins : Struct Funct. Genet.*, 40:543–571, 2000.
- [CLH⁺96] P. Cluzel, A. Lebrun, C. Heller, R. Lavery, J. L. Viovy, D. Chatenay, and F. Caron. DNA : An extensible molecule. *Science*, 271:792–794, 1996.
- [CLPR03] A. Crisanti, L. Leuzzi, G. Parisi, and T. Rizzo. On spin-glass complexity. 2003. cond-mat/0307543.
- [CMM02] S. Cocco, J.F. Marko, and R. Monasson. Theoretical models for single-molecule DNA and RNA experiments : From elasticity to unzipping. *Compte rendu de l'Académie des Sciences, Physique*, 3:569, 2002.

- [Cou02] J. Couzin. Breakthrough of the year : Small RNAs make big splash. *Science*, 298:2296–2297, 2002.
- [CPPS90] S. Caracciolo, G. Parisi, S. Paternallo, and N. Sourlas. 3-d Ising spin glasses in a magnetic field and mean field theory. *Europhys. Lett.*, 11:783, 1990.
- [Cre92] T. E. Creighton. *Protein Folding*. Freeman, New York, 1992.
- [CS02] B. Cohen and S. Skiena. Designing RNA sequences : Natural and artificial selection. In *RECOMB 2002*, 2002.
- [CTdCC03] M. Pica Ciamarra, M. Tarzia, A. de Candia, and A. Coniglio. A lattice glass model with no tendency to crystallize. *Phys. Rev. E*, 67:057105, 2003.
- [DBY⁺95] K. A. Dill, S. Bromberg, K. Yue, K. M. Fiebig, D. P. Yee, P. D. Thomas, and H. S. Chen. Principles of protein folding - a perspective from simple exact models. *Protein Science*, 4:561–602, 1995.
- [DE88] M. Doi and S. F. Edwards. *The Theory of Polymer Dynamics*. University Press, Oxford, 1988.
- [DE95] A. V. Dobrynin and I. Ya. Erukhimovich. Fluctuation theory of random copolymers. *J. Phys. France*, 5:365–377, 1995.
- [Der81] B. Derrida. Random-energy model : An exactly solvable model of disordered systems. *Phys. Rev. B*, 24:2613–2626, 1981.
- [dG68] P.-G. de Gennes. Statistics of branching and hairpin helices for the dAT copolymer. *Biopolymers*, 6:715, 1968.
- [dG75] P.-G. de Gennes. Collapse of a polymer chain in poor solvents. *J. Phys. Lett. (Paris)*, 36:L55–L57, 1975.
- [dG79] P.-G. de Gennes. *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell University Press, Ithaca, 1979.
- [DG86] B. Derrida and E. Gardner. Solution of the generalized random energy model. *J. Phys. C*, 19:2253, 1986.
- [DGO96] S. Doniach, T. Garel, and H. Orland. Phase diagram of a semiflexible polymer in a Θ solvent: application to protein folding. *J. Chem. Phys.*, 105:1601–1608, 1996.
- [Dil85] K. A. Dill. Theory for the folding and stability of globular proteins. *Biochemistry*, 24:1501, 1985.
- [Dil90] K. A. Dill. Dominant forces in protein folding. *Biochemistry*, 29:7133, 1990.

- [DMZ⁺02] M.-N. Dessinges, B. Maier, Y. Zhang, M. Peliti, D. Bensimon, and V. Croquette. Stretching ssDNA, a model polyelectrolyte. *Phys. Rev. Lett.*, 89:248102, 2002.
- [DPW⁺95] U. Dammer, O. Popescu, P. Wagner, D. Anselmetti, H.-J. Güntherodt, and G. Misevic. Binding strength between cell adhesion proteoglycans measured by atomic force microscopy. *Science*, 267:1173, 1995.
- [Dup86] B. Duplantier. Polymer network of fixed topology : Renormalization, exact critical exponent γ in two dimensions, and $d = 4 - \epsilon$. *Phys. Rev. Lett.*, 57:941–944, 1986.
- [ERBH97] B. Essavez-Roulet, U. Bockelmann, and F. Heslot. Mechanical separation of the complementary strands of DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:11935–11940, 1997.
- [Fer90] A. Fernandez. Glassy kinetic barriers between conformational substates in RNA. *Phys. Rev. Lett.*, 64:2328–2331, 1990.
- [Fin97] A. V. Finkelstein. Protein structure : What is it possible to predict now ? *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7:60, 1997.
- [FKJ⁺86] S. M. Freier, R. Kierzek, J. A. Jaeger, N. Sugimoto, M. H. Caruthers, T. Nielson, and D. H. Turner. Improved free energy parameters for prediction of RNA duplex stability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83:9373–9377, 1986.
- [FL03] S. Franz and M. Leone. Replica bounds for optimization problems and diluted spin systems. *J. Stat. Phys.*, 111:535, 2003.
- [Flo53] P. J. Flory. *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press, Ithaca, 1953.
- [FMG94] E. Florin, V. Moy, and H. Gaub. Adhesion forces between individual ligand-receptor pairs. *Science*, 264:415–417, 1994.
- [FML92] G. H. Fredrickson, S. T. Milner, and L. Leibler. Multicritical phenomena and microphase ordering in random block copolymer melts. *Macromolecules*, 25:6341–6354, 1992.
- [FMP92] S. Franz, M. Mézard, and G. Parisi. On the mean field theory of random heteropolymers. *Int. J. Neural Systems (suppl.)*, 3:195, 1992.
- [FS90] A. Fernandez and E. I. Shakhnovich. Activation energy landscape for metastable RNA folding. *Phys. Rev. A*, 42:3657–3659, 1990.
- [GARKC94] A. Yu. Grosberg and A. Iu Grosberg A. R. Khokhlov (Contributor). *Statistical Physics of Macromolecules*. American Institute of Physics, New York, 1994.

- [GBH01] U. Gerland, R. Bundschuh, and T. Hwa. Force-induced denaturation of RNA. *Biophys. J.*, 81:1324–1332, 2001.
- [GBH03] U. Gerland, R. Bundschuh, and T. Hwa. Mechanically probing the folding pathway of single RNA molecules. *Biophys. J.*, 84:2831–2840, 2003.
- [GCA99] R. F. Gesteland, T. R. Cech, and J. F. Atkins. *The RNA World : The nature of modern RNA suggests a prebiotic RNA world*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2nd edition, 1999.
- [GGS93] A. M. Gutin, A. Yu. Grosberg, and E. I. Shakhnovich. Globular state of branched random heteropolymers. *J. Phys. A*, 26:1037–1049, 1993.
- [GH95a] P. Grassberger and R. Hegger. On the collapse of random copolymers. *Europhys. Lett.*, 31:351–356, 1995.
- [GH95b] P. Grassberger and R. Hegger. Simulations of Θ -polymers in 2 dimensions. *J. Phys. I*, 5:597, 1995.
- [GH02] P. Grassberger and H.-P. Hsu. Stretched polymers in a poor solvent. *Phys. Rev. E*, 65:031807, 2002.
- [GHLO89] T. Garel, D. A. Huse, S. Leibler, and H. Orland. Localization transition of random chains at interfaces. *Europhys. Lett.*, 8:9–13, 1989.
- [GK92] A. Yu. Grosberg and D. V. Kuznetsov. Quantitative theory of the globule-to-coil transition. 1. Link density distribution in a globule and its radius of gyration. *Macromolecules*, 25:1970–1979, 1992.
- [GLO94] T. Garel, L. Leibler, and H. Orland. Random hydrophilic hydrophobic copolymers. *J. Phys. II (France)*, 4:2139–48, 1994.
- [GMO01] T. Garel, C. Monthus, and H. Orland. A simple model for DNA denaturation. *Europhys. Lett.*, 55:132–138, 2001.
- [Go83] N. Go. Theoretical studies of protein folding. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, 12:183–210, 1983.
- [GO88a] T. Garel and H. Orland. Chemical sequence and spatial structure in simple models of biopolymers. *Europhys. Lett.*, 6:597–601, 1988.
- [GO88b] T. Garel and H. Orland. Mean field model for protein folding. *Europhys. Lett.*, 6:307–10, 1988.
- [GOP97] T. Garel, H. Orland, and E. Pitard. Protein folding and heteropolymers. In A.P. Young, editor, *Spin Glasses and Random Fields*, pages 387–443. World Scientific, Singapore, 1997.
- [GS93] A. M. Gutin and E. I. Shakhnovich. Ground-state of random copolymers and the discrete random energy-model. *J. Chem. Phys.*, 98:8174–8177, 1993.

- [GS02] P. L. Geissler and E. I. Shakhnovich. Mechanical response of random heteropolymers. *Macromolecules*, 35:4429–4436, 2002.
- [GSS94] A. M. Gutin, C. D. Sfatos, and E. I. Shakhnovich. Fluctuation effects on microphase separation in random copolymers. *J. Phys. A*, 27:7957–7968, 1994.
- [Har74] A. B. Harris. Effect of random defects on the critical behaviour of Ising models. *J. Phys. C*, 7:1671, 1974.
- [Har01] A. Hartmann. Comment on glassy transition in a disordered model for the RNA secondary structure. *Phys. Rev. Lett.*, 86:1382–1382, 2001.
- [HFS⁺94] I. L. Hofacker, W. Fontana, P. F. Stadler, L. S. Bonhoeffer, M. Tacker, and P. Schuster. Fast folding and comparison of RNA secondary structures. *Monatsh. Chem.*, 125:167–188, 1994.
- [Hig93] P. G. Higgs. RNA secondary structure : A comparison of real and random sequences. *J. Phys. I France*, 3:43–59, 1993.
- [Hig96] P. G. Higgs. Overlaps between RNA secondary structures. *Phys. Rev. Lett.*, 76:704–708, 1996.
- [Hig00] P. G. Higgs. RNA secondary structure : Physical and computational aspects. *Quart. Rev. Biophys.*, 33:199–253, 2000.
- [HM02] J. Houdayer and M. Mueller. Deviations from the mean field predictions for the phase behaviour of random copolymers melts. *Europhys. Lett.*, 58:660–665, 2002.
- [HMW03] S. L. Heilman-Miller and S. A. Woodson. Perturbed folding kinetics of circularly permuted RNAs with altered topology. *J. Mol. Biol.*, 328:385–94, 2003.
- [HZ91] A. Halperin and E. B. Zhulina. On the deformation behaviour of collapsed polymers. *Europhys. Lett.*, 15:417, 1991.
- [IPP96] A. Irbäck, C. Peterson, and F. Potthast. Evidence for nonrandom hydrophobicity structures in protein chains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93:9533–9538, 1996.
- [IPP97] A. Irbäck, C. Peterson, and F. Potthast. Identification of amino acid sequences with good folding properties in an off-lattice model. *Phys. Rev. E*, 55:860–867, 1997.
- [IPPS97] A. Irbäck, C. Peterson, F. Potthast, and O. Sommelius. Local interactions and protein folding : A three-dimensional off-lattice approach. *J. Chem. Phys.*, 107:273–281, 1997.

- [IS00a] A. Irbäck and E. Sandelin. On hydrophobicity correlations in protein chains. *Biophys. J.*, 79:2252–2258, 2000.
- [IS00b] H. Isambert and E. D. Siggia. Modeling RNA folding paths with pseudoknots : Application to hepatitis delta virus ribozyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:6515–6520, 2000.
- [Jar97] C. Jarzynski. A nonequilibrium equality for free energy differences. *Phys. Rev. Lett.*, 78:2690–2693, 1997.
- [KC00] H. Kaya and H. S. Chan. Polymer principles of protein calorimetric two-state cooperativity. *Proteins : Struct Funct. Genet.*, 40:637–661, 2000.
- [KHF01] Z. Konkoli, J. Hertz, and S. Franz. Random heteropolymer dynamics. *Phys. Rev. E*, 64:051910, 2001.
- [Kik51] R. Kikuchi. A theory of cooperative phenomena. *Phys. Rev.*, 81:988–1003, 1951.
- [KK94] Y. Kantor and M. Kardar. Collapse of randomly self-interacting polymers. *Europhys. Lett.*, 28:169–174, 1994.
- [KK99] A. R. Khokhlov and P. G. Khalatur. Conformation-dependent sequence design (engineering) of AB copolymers. *Phys. Rev. Lett.*, 82:3456–3459, 1999.
- [KMM02] F. Krzakała, M. Mézard, and M. Müller. Nature of the glassy phase of RNA secondary structure. *Europhys. Lett.*, 57:752–758, 2002.
- [KMP00] Y. Kafri, D. Mukamel, and L. Peliti. Why is the DNA denaturation transition first order ? *Phys. Rev. Lett.*, 85:4988, 2000.
- [KMP02] Y. Kafri, D. Mukamel, and L. Peliti. Melting and unzipping of DNA. *Eur. Phys. J. B*, 27:135, 2002.
- [KN85] M. Kardar and D. R. Nelson. Commensurate-incommensurate transitions with quenched random impurities. *Phys. Rev. Lett.*, 55:1157–1160, 1985.
- [KSGB97] M.S.Z. Kellermayer, S.B. Smith, H.L. Granzier, and C. Bustamante. Folding-unfolding transitions in single titin molecules characterized with force-measuring laser tweezers. *Science*, 276:1112, 1997.
- [KT96] D. K. Klimov and D. Thirumalai. Criterion that determines the foldability of proteins. *Phys. Rev. Lett.*, 76:4070–4073, 1996.
- [KT99] D. K. Klimov and D. Thirumalai. Stretching single-domain proteins : Phase diagram and kinetics of force-induced unfolding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:6166–6170, 1999.
- [KT01] D. K. Klimov and D. Thirumalai. Lattice model studies of force-induced unfolding of proteins. *J. Phys. Chem. B*, 105:6648–6654, 2001.

- [KY88] A. Kishino and T. Yanagida. Force measurements by micromanipulation of a single actin filament by glass needles. *Nature*, 334:74–76, 1988.
- [LDS⁺02] J. S. Liphardt, S. Dumont, S. B. Smith, I. Tinoco, and C. Bustamante. Equilibrium information from nonequilibrium measurements in an experimental test of Jarzynski’s equality. *Science*, 296:1832–1835, 2002.
- [Lei80] L. Leibler. Theory of microphase separation in block copolymers. *Macromolecules*, 13:1602, 1980.
- [Lev68] C. Levinthal. Are there pathways for protein folding? *J. Chem. Phys.*, 65:44–45, 1968.
- [LGK78] I. M. Lifshitz, A. Y. Grosberg, and A. R. Khokhlov. Some problems of the statistical physics of polymer chains with volume interactions. *Rev. Mod. Phys.*, 50:683, 1978.
- [LI78] T. C. Lubensky and J. J. Isaacson. Field theory for the statistics of branched polymers, gelation, and vulcanization. *Phys. Rev. Lett.*, 41:829–832, 1978.
- [LMO92] P. Leopold, M. Montal, and J. Onuchic. Protein folding funnels : A kinetic approach to the structure-sequence relationship. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 89:8721–8725, 1992.
- [LMP98] S. Lise, A. Maritan, and A. Pelizzola. Bethe approximation for a semi-flexible polymer chain. *Phys. Rev. E*, 58:R5241, 1998.
- [LN00] D. K. Lubensky and D. R. Nelson. Pulling pinned polymers and unzipping DNA. *Phys. Rev. Lett.*, 85:1572–1575, 2000.
- [LN02] D. K. Lubensky and D. R. Nelson. Single molecule statistics and the polynucleotide unzipping transition. *Phys. Rev. E*, 65:031917, 2002.
- [LOS⁺01] J. Liphardt, B. Onoa, S. B. Smith, I. Tinoco, and C. Bustamante. Reversible unfolding of single RNA molecules by mechanical force. *Science*, 292:727–730, 2001.
- [LT97] J. Santa Lucia and D. H. Turner. Measuring the thermodynamics of RNA secondary structure formation. *Biopolymers*, 44:309–319, 1997.
- [LTW97] H. Li, C. Tang, and N. S. Wingreen. Nature of driving force for protein folding : A result from analyzing the statistical potential. *Phys. Rev. Lett.*, 79:765–768, 1997.
- [LV02] N. Lee and T. A. Vilgis. Single chain force spectroscopy : Sequence dependence. *Europhys. Lett.*, 57:817–823, 2002.
- [LW98] W. J. Li and J. J. Wu. Prediction of RNA secondary structure based on helical regions distribution. *Bioinformatics*, 14:700–706, 1998.

- [MBC00] B. Maier, D. Bensimon, and V. Croquette. Replication by a single DNA polymerase of a stretched single-stranded DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:12002–12007, 2000.
- [Méz90] M. Mézard. On the glassy nature of random directed polymers in two dimensions. *J. Physique*, 51:1831, 1990.
- [MGO00] C. Monthus, T. Garel, and H. Orland. Copolymer at a selective interface and two dimensional wetting : A grand canonical approach. *Eur. Phys. J. B*, 17:121–130, 2000.
- [MH96] S. R. Morgan and P. G. Higgs. Evidence for kinetic effects in the folding of large RNA molecules. *J. Phys. Chem.*, 105:7152–7157, 1996.
- [MH98] S. R. Morgan and P. G. Higgs. Barrier heights between ground states in a model of RNA secondary structure. *J. Phys. A*, 31:3153–3170, 1998.
- [MJ85] S. Miyazawa and R. Jernigan. Estimation of effective interresidue contact energies from protein crystal structures : Quasi-chemical approximation. *Macromolecules*, 18:534–552, 1985.
- [MKD97] A. Moskalenko, Yu. A. Kuznetsov, and K. A. Dawson. Glass transition of an amphiphilic random copolymer and relation to the Ising model of spin-glass. *Europhys. Lett.*, 40:135–140, 1997.
- [MKM02] M. Müller, F. Krzakala, and M. Mézard. The secondary structure of RNA under tension. *Eur. Phys. J. E*, 9:67–77, 2002.
- [MM01] A. Montanari and M. Mézard. Pulling hairpinned polymers. *Phys. Rev. Lett.*, 86:2178, 2001.
- [MMM03a] A. Montanari, M. Müller, and Mézard. The phase diagram of random heteropolymers. 2003. cond-mat/0307040.
- [MMM03b] A. Montanari, M. Müller, and Mézard. Towards a realistic mean field theory of heteropolymers : Sequence correlations and freezing scenarios. 2003. preprint.
- [MMSR03] D. Marenduzzo, A. Maritan, F. Seno, and A. Rosa. Stretching of a polymer below the Θ point. *Phys. Rev. Lett.*, 90:088301, 2003.
- [MNZ⁺98] E. Marinari, C. Naitza, F. Zuliani, G. Parisi, M. Picco, and F. Ritort. General method to determine replica symmetry breaking transitions. *Phys. Rev. Lett.*, 81:1698–1701, 1998.
- [Mon95] R. Monasson. Structural glass transition and the entropy of the metastable states. *Phys. Rev. Lett.*, 75:2847–2850, 1995.
- [Mon00] C. Monthus. On the localization of random heteropolymers at the interface between two selective solvents. *Eur. Phys. J. B*, 13:111–130, 2000.

- [MP36] A. E. Mirsky and L. Pauling. On the structure of native, denatured, and coagulated proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 22:439, 1936.
- [MP01] M. Mézard and G. Parisi. The Bethe lattice spin glass revisited. *Eur. Phys. J. B*, 20:217, 2001.
- [MP03] M. Mézard and G. Parisi. The cavity method at zero temperature. *J. Stat. Phys.*, 111:1, 2003.
- [MPRT02] E. Marinari, A. Pagnani, and F. Ricci-Tersenghi. Zero temperature properties of RNA secondary structures. *Phys. Rev. E*, 65:041919, 2002.
- [MPS⁺84] M. Mézard, G. Parisi, N. Sourlas, G. Toulouse, and M. A. Virasoro. Replica symmetry breaking and the nature of the spin-glass phase. *J. Physique*, 45:843–854, 1984.
- [MPV86] M. Mézard, G. Parisi, and M. A. Virasoro. SK model : The replica solution without replicas. *Europhys. Lett.*, 1:77–82, 1986.
- [MPV87] M. Mézard, G. Parisi, and M. A. Virasoro. *Spin-Glass Theory and Beyond*, volume 9 of *Lecture Notes in Physics*. World Scientific, Singapore, 1987.
- [MPWZ02] R. Mulet, A. Pagnani, M. Weigt, and R. Zecchina. Coloring random graphs. *Phys. Rev. Lett.*, 89:268701, 2002.
- [MRT03] A. Montanari and F. Ricci-Tersenghi. On the nature of the low-temperature phase in discontinuous mean-field spin glasses. *Eur. Phys. J. B*, 33:339, 2003.
- [MS01] L. Mirny and E. I. Shakhnovich. Protein folding theory : From lattice to all-atom models. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct*, 30:361–396, 2001.
- [MS02] E. A. Mukamel and E. I. Shakhnovich. Phase diagram for unzipping DNA with long-range interactions. *Phys. Rev. E*, 66:032901–032904, 2002.
- [MSZT99] D. H. Mathews, J. Sabina, M. Zuker, and D. H. Turner. Expanded sequence dependence of thermodynamic parameters improves prediction of RNA secondary structure. *J. Mol. Biol.*, 288:911–940, 1999.
- [MTM01] D. Marenduzzo, A. Trovato, and A. Maritan. Phase diagram of force-induced DNA unzipping in exactly solvable models. *Phys. Rev. E*, 64:031901, 2001.
- [Mül03] M. Müller. Statistical physics of RNA folding. *Phys. Rev. E*, 67:021914, 2003.
- [MZ02] M. Mézard and R. Zecchina. The random k-satisfiability problem : From an analytic solution to an efficient algorithm. *Phys. Rev. E*, 66:056126, 2002.

- [NV93] D. R. Nelson and V. M. Vinokur. Boson localization and correlated pinning of superconducting vortex arrays. *Phys. Rev. B*, 48:13060–13097, 1993.
- [OB01] A. I. Olemskoi and V. A. Brazhnyi. The supersymmetric theory of disordered heteropolymers. *Phys. Solid State*, 43:386–396, 2001.
- [Obu86] S. P. Obukhov. Configurational statistics of a disordered polymer chain. *J. Phys. A*, 19:3655–3664, 1986.
- [ODL⁺03] B. Onoa, S. Dumont, J. Liphardt, S. B. Smith, I. Tinoco Jr., and C. Bustamante. Identifying kinetic barriers to mechanical unfolding of the T. thermophila ribozyme. *Science*, 299:1892–1895, 2003.
- [OLSW97] J. N. Onuchic, Z. A. Luthey-Schulten, and P. G. Wolynes. Theory of protein folding : An energy landscape perspective. *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 48:545–600, 1997.
- [OPZ02] H. Orland, M. Pillsbury, and A. Zee. A steepest descent calculation of RNA pseudoknots. 2002. physics/0207110.
- [OTW00] E. Orlandini, M. C. Tesi, and S. G. Whittington. Self-averaging in models of random copolymer collapse. *J. Phys. A*, 33:259–266, 2000.
- [OZ02] H. Orland and A. Zee. RNA folding and large N matrix theory. *Nucl. Phys. B*, 620:456–476, 2002.
- [Par80] G. Parisi. The order parameter for spin-glasses : A function on the interval 0–1. *J. Phys. A*, 13:1101–1112, 1980.
- [PE65] O. B. Ptitsyn and E. Yu. Eizner. Theory of globule-coil transitions in macromolecules. *Biofizika*, 10:3, 1965 (*Biophysics USSR*, 10:1, 1965).
- [PGJT96] V. S. Pande, A. Yu. Grosberg, C. Joerg, and T. Tanaka. Is heteropolymer freezing well described by the random energy model ? *Phys. Rev. Lett.*, 76:3987–3990, 1996.
- [PGT94] V. S. Pande, A. Yu. Grosberg, and T. Tanaka. Nonrandomness in protein sequences : Evidence for a physically driven stage of evolution ? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:12972–12975, 194.
- [PGT00] V. S. Pande, A. Y. Grosberg, and T. Tanaka. Heteropolymer freezing and design. *Rev. Mod. Phys.*, 72:259–314, 2000.
- [PPRT00] A. Pagnani, G. Parisi, and F. Ricci-Tersenghi. Glassy transition in a disordered model for the RNA secondary structure. *Phys. Rev. Lett.*, 84:2026–2030, 2000.
- [PPRT01] A. Pagnani, G. Parisi, and F. Ricci-Tersenghi. Reply to the comment on “Glassy transition in a disordered model for the RNA secondary structure”. *Phys. Rev. Lett.*, 86:1383–1383, 2001.

- [PR98] V. S. Pande and D. S. Rokhsar. Is the molten globule a third phase of proteins? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:1490–1494, 1998.
- [Pre02] M. Pretti. Bethe approximation for a hydrophobic-polar random copolymer. *Phys. Rev. E*, 66:031803, 2002.
- [Pri79] P. L. Privalov. Stability of proteins : Small globular proteins. *Adv. Protein Chem.*, 33:167–241, 1979.
- [PS81] G. Parisi and N. Sourlas. Critical behavior of branched polymers and the lee-yang edge singularity. *Phys. Rev. Lett.*, 46:871–874, 1981.
- [PS01] E. Pitard and E. I. Shakhnovich. Mode-coupling theory for heteropolymers. *Phys. Rev. E*, 36:041501, 2001.
- [Pti95] O. B. Ptitsyn. Molten globule and protein folding. *Adv. Protein Chem.*, 47:83, 1995.
- [PWW96] S. S. Plotkin, J. Wang, and P. G. Wolynes. Correlated energy landscape model for finite, random heteropolymers. *Phys. Rev. E*, 53:6271–6296, 1996.
- [PWW97] S. S. Plotkin, J. Wang, and P. G. Wolynes. Statistical mechanics of a correlated energy landscape model for protein folding. *J. Chem. Phys.*, 106:2932, 1997.
- [PY00] M. Palassini and A. P. Young. Nature of the spin glass state. *Phys. Rev. Lett.*, 85:3017–3020, 2000.
- [RBM92] A. J. Ryan, W. Bras, and C. W. Macosko. Order-disorder transition in a block copolyurethane. *Macromolecules*, 25:6277–6283, 1992.
- [RBMM03] O. Rivoire, G. Biroli, O. C. Martin, and M. Mézard. Glass models on Bethe lattices. 2003. cond-mat/0307569.
- [RFCA96] R. M. Simmons, J. T. Finer, S. Chu, and J. A. Spudich. Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap. *Biophys J.*, 70:1813–1822, 1996.
- [RGO⁺97] M. Rief, M. Gautel, F. Oesterhelt, J. M. Fernandez, and H. E. Gaub. Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by afm. *Science*, 276:1109–1112, 1997.
- [RGTR00] D. Rose, A. Yu. Grosberg, T. Tanaka, and M. Rubinstein. Unexpected scenario of glass transition in polymer globules : An exactly enumerable model. *Phys. Rev. Lett.*, 84:2417–2420, 2000.
- [RMDH00] R. Russell, I. S. Millett, S. Doniach, and D. Herschlag. Small angle X-ray scattering reveals a compact intermediate in RNA folding. *Nat. Struct. Biol.*, 7:367–370, 2000.

- [RMMS03] A. Rosa, D. Marenduzzo, A. Maritan, and F. Seno. Mechanical unfolding of directed polymers in a poor solvent : Critical exponents. *Phys. Rev. E*, 67:041802, 2003.
- [RMV01] V. G. Rostiashvili, G. Migliorini, and T. A. Vilgis. Self-generated disorder and structural glass formation in homopolymer globules. *Phys. Rev. E*, 64:051112, 2001.
- [RSS⁺00] C. Y. Ralston, B. Sclavi, M. Sullivan, M. L. Deras, S. A. Woodson, M. R. Chance, and M. Brenowitz. Time-resolved synchrotron X-ray footprinting and its application to RNA folding. *Methods Enzymol.*, 317:353–368, 2000.
- [SAB⁺96] T. R. Strick, J.-F. Allemand, D. Bensimon, A. Bensimon, and V. Croquette. The elasticity of a single supercoiled DNA molecule. *Science*, 271:1835, 1996.
- [Sau96] R. T. Sauer. Protein folding from a combinatorial perspective. *Folding Des.*, 1:R27–R30, 1996.
- [SCB96] S. B. Smith, Y. Cui, and C. Bustamante. Overstretching B-DNA : The elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules. *Science*, 271:795–799, 1996.
- [SDC⁺03] T. R. Strick, M.-N. Dessinges, G. Charvin, N. H. Dekker, J.-F. Allemand, D. Bensimon, and V. Croquette. Stretching of macromolecules and proteins. *Rep. Prog. Phys.*, 66:1–45, 2003.
- [SF89] E. I. Shakhnovich and A. V. Finkelstein. Theory of cooperative transitions in protein molecules. i. why denaturation of globular protein is a first-order phase transition. *Biopolymers*, 28:1667–1680, 1989.
- [SFB92] S. B. Smith, L. Finzi, and C. Bustamante. Direct mechanical measurements of the elasticity of single DNA molecules by using magnetic beads. *Science*, 258:1122, 1992.
- [SG89a] E. I. Shakhnovich and A. M. Gutin. Formation of microdomains in a quenched disordered heteropolymer. *J. Phys. France*, 50:1843–1850, 1989.
- [SG89b] E. I. Shakhnovich and A. M. Gutin. Formation of unique structure in polypeptide chains. theoretical investigation with the aid of replica approach. *Biophys. Chem.*, 34:187–199, 1989.
- [SG89c] E. I. Shakhnovich and A. M. Gutin. The nonergodic (“spin-glass-like”) phase of heteropolymer with quenched disordered sequence of links. *Europhys. Lett.*, 8:327–332, 1989.

- [SG90] E. I. Shakhnovich and A. M. Gutin. Enumeration of all compact conformations of copolymers with random sequence of links. *J. Chem. Phys.*, 93:5967–5971, 1990.
- [SGS93] C. D. Sfatos, A. M. Gutin, and E. I. Shakhnovich. Phase diagram of random copolymers. *Phys. Rev. E*, 48:465–475, 1993.
- [Sha97] E. I. Shakhnovich. Theoretical studies of protein-folding thermodynamics and kinetics. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7:29–40, 1997.
- [SKMC83] D. Sankoff, J. B. Kruskal, S. Mainville, and R. J. Cedergren. Fast algorithms to determine RNA secondary structures containing multiple loops. In J. B. Kruskal and D. Sankoff, editors, *Time Warps, String Edits, and Macromolecules : The Theory and Practice of String Comparison*, pages 93–120. Addison-Wesley, Reading, Massachusetts, 1983.
- [SMBS92] J. Samseth, K. Mortensen, J. L. Burns, and R. J. Spontak. Effect of molecular architecture on microstructural characteristics in some polysiloxane-imide multiblock copolymers. *J. Appl. Polym. Science*, 44:1245, 1992.
- [SOW99] N. D. Socci, J. N. Onuchic, and P. G. Wolynes. Stretching lattice models of protein folding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:2031–2035, 1999.
- [SS97] C. D. Sfatos and E. I. Shakhnovich. Statistical mechanics of random heteropolymers. *Phys. Rep.*, 288:77–108, 1997.
- [SSK94] A. Sali, E. I. Shakhnovich, and M. Karplus. How does a protein fold? *Nature*, 369:248, 1994.
- [Sto02] G. Storz. An expanding universe of noncoding RNAs. *Science*, 296:1260–1262, 2002.
- [SvFLD92] L. Schäfer, C. von Ferber, U. Lehr, and B. Duplantier. Renormalization of polymer networks and stars. *Nucl. Phys. B*, 374:473–495, 1992.
- [TAB96] D. Thirumalai, V. Ashwin, and J. K. Bhattacharjee. Dynamics of random hydrophobic-hydrophilic copolymers with implications for protein folding. *Phys. Rev. Lett.*, 77:5385–5388, 1996.
- [TB99] I. Tinoco and C. Bustamante. How RNA folds. *J. Mol. Biol.*, 293:271–281, 1999.
- [TC01] L.-H. Tang and H. Chaté. Rare-event induced binding transition of heteropolymers. *Phys. Rev. Lett.*, 86:830–833, 2001.
- [Thi98] D. Thirumalai. Native secondary structure formation in RNA may be a slave to tertiary folding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:11506 – 11508, 1998.

- [TK01] D. Thirumalai and D. K. Klimov. Introducing protein folding using simple models. In J. Moore and N. Spencer, editors, *Encyclopedia of Chemical Physics and Protein Chemistry*. IoP Publishing, Bristol, UK, 2001.
- [TKD96] E. G. Timoshenko, Yu. A. Kuznetsov, and K. A. Dawson. Kinetics of a Gaussian random copolymer as a prototype for protein folding. *Phys. Rev. E*, 54:4071–4086, 1996.
- [TKD97] E. G. Timoshenko, Yu. A. Kuznetsov, and K. A. Dawson. Phase diagram of a Gaussian random copolymer. *Phys. Rev. E*, 55:5750–5758, 1997.
- [TKD98] E. G. Timoshenko, Yu. A. Kuznetsov, and K. A. Dawson. Conformational transitions of heteropolymers in dilute solutions. *Phys. Rev. E.*, 57:6801–6811, 1998.
- [TPW97] S. Takada, J. J. Portman, and P. G. Wolynes. An elementary mode coupling theory of random heteropolymer dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:2318–2321, 1997.
- [TS95] R. E. Thompson and E. D. Siggia. Physical limits on the mechanical measurement of the secondary structure of bio-molecules. *Europhys. Lett.*, 31:335–340, 1995.
- [TTSS97] L. Tskhovrebova, J. Trinic, J. Sleep, and R. Simmons. Elasticity and unfolding of single molecules of the giant muscle protein titin. *Nature*, 387:308–312, 1997.
- [TvROW96] M. C. Tesi, E. J. Janse van Rensburg, E. Orlandini, and S. G. Whittington. Interacting self-avoiding walks and polygons in three dimensions. *J. Physics A*, 29:2451, 1996.
- [TW96] D. Thirumalai and S. A. Woodson. Kinetics of folding of proteins and RNA. *Acc. Chem. Res.*, 29:433–439, 1996.
- [TW97] S. Takada and P. G. Wolynes. Statics, metastable states and barriers in protein folding : A replica variational approach. *Phys Rev. E*, 55:4562, 1997.
- [VJJ00] T. A. Vilgis, A. Johner, and J.-F. Joanny. Stretching necklaces. *Eur. Phys. J. E*, 2:289–300, 2000.
- [WC53] J. D. Watson and F. H. C. Crick. Molecular structure of nucleic acids : A structure for desoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171:737, 1953.
- [WJ98] M. Wu and I. Tinoco Jr. RNA folding causes secondary structure rearrangement. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:11555–11560, 1998.
- [WM94] E. Westhof and F. Michel. Prediction and experimental investigation of RNA secondary and tertiary foldings. In K. Nagai and I.W. Mattaj, editors,

RNA-Protein Interactions: Frontiers in Molecular Biology. IRL Press at Oxford University Press, 1994.

- [Wol91] P. G. Wolynes. Spin glass ideas and the protein folding problems. In D. Stein, editor, *Spin Glass Ideas and Biology*. World Scientific, Singapore, 1991.
- [Woo00] S. A. Woodson. Compact but disordered states of RNA. *Nat. Struct. Biol.*, 7:349–352, 2000.
- [Yer00] E. Yeramian. Genes and the physics of the DNA double-helix. *Gene*, 255:139–50, 2000.
- [ZB59] B. H. Zimm and J. K. Bragg. Theory of the phase transition between helix and random coil in polypeptide chains. *J. Chem. Phys.*, 31:526–535, 1959.
- [ZS49] B. H. Zimm and W. H. Stockmayer. The dimensions of chain molecules containing branches and rings. *J. Chem. Phys.*, 17:1301, 1949.
- [ZZOY02] H. Zhou, Y. Zhang, and Z.-C. Ou-Yang. Stretch-induced hairpin-coil transitions in designed polynucleotide chains. *Phys. Rev. Lett.*, 86:356–359, 2002.

Abstract

The folding of biopolymers, and proteins in particular, is a longstanding problem in modern molecular biology. The explanation of the basic mechanism at work as well as the characterization of the specific properties that allow a linear sequence of monomers to fold to its native state on a reasonable timescale constitutes a major challenge for statistical physics.

In this thesis, we study several aspects of the folding of heteropolymers. As a toy model for protein folding, we consider the simpler case of RNA as described on the level of its secondary structure. For random base sequences, we predict a coil-globule transition in the molten high temperature phase which is succeeded by a glass transition at lower temperature. In the glass phase the sequence heterogeneity manifests itself in the form of modified geometric properties of typical folds of the molecule. Furthermore, we find the energy landscape to be very rugged, with a complex internal structure. We analyse how the characteristics of the low temperature phase can be seen in single molecule experiments and predict that the most interesting results are to be expected at forces around 1 pN, substantially below the regime that experimenters currently concentrate on.

In a second part, we study the lattice polymer problem with the help of the cavity method. This new approach allows for a deeper insight into the nature of the glass transition from the perspective of the local frustration that the individual monomers experience. As a particular bonus, the rôle of sequence correlations can be analysed. In the case of a certain type of correlations that might notably be relevant for proteins, we establish that the “classic” freezing transition is preceded by a continuous glass transition leading to a “soft glass” with only a weak degree of ergodicity breaking. The potential of this technique is by no means exhaustively exploited. A variety of future applications, in particular to designed protein sequences or to the RNA folding problem can be imagined.

Résumé

Le repliement de biopolymères, en particulier celui des protéines, représente un des domaines de recherche les plus actifs de la biologie moléculaire moderne. La compréhension du mécanisme de repliement, ainsi que la caractérisation des propriétés spécifiques d'une séquence de monomères qui lui permettent de se replier relativement rapidement dans l'état natif constituent un grand défi pour la physique statistique.

Dans cette thèse, nous étudions différents aspects du repliement d'hétéropolymères. En particulier, nous considérons l'ARN décrit au niveau de sa structure secondaire dont le repliement est mieux compris et plus facilement accessible à des traitements théoriques que celui des protéines. Pour les séquences aléatoires de bases, nous prédisons une transition pelote-globule dans la phase à haute température, suivie d'une transition vitreuse à plus basse température. Dans la phase vitreuse, l'hétérogénéité de la séquence se manifeste par un changement des propriétés géométriques des repliements typiques. En outre, le paysage d'énergie est très rugueux, présentant une structure complexe de barrières et d'états métastables. Nous discutons en particulier sous quelle forme les caractéristiques de la phase à basse température peuvent être observées lors de micromanipulations de molécules uniques. Nous prédisons que les effets les plus intéressants apparaissent dans un régime de force autour de 1 pN, bien en dessous des forces qui sont appliquées dans les expériences actuelles.

Dans la deuxième partie, nous étudions les hétéropolymères sur réseau en utilisant la méthode de cavité. Cette nouvelle approche nous permet d'analyser la nature de la transition vitreuse d'un point de vue local en décrivant la frustration auxquelles les monomères individuels sont sujets. En particulier, nous étudions le rôle des corrélations à courte portée dans la séquence des monomères. Pour un certain type de corrélations qui semble notamment être présent dans les séquences de protéines, nous trouvons que la transition de gel "classique" est précédée d'une transition continue vers une phase vitreuse "molle" où l'ergodicité n'est brisée que faiblement. La méthode de cavité a encore un grand potentiel pour de futures études. En particulier, on peut imaginer des applications aux séquences dessinées d'acides aminés, ainsi qu'au problème du repliement de l'ARN.