

# Численное моделирование полимеразной цепной реакции для различных профилей поля скоростей\*

Е.В.Волкова

*Институт механики УНЦ РАН*

e-mail: afrokat@yandex.ru

К.В. Моисеев

Исследуется полимеразная цепная реакция, проходящая в условиях естественной конвекции в ячейке Рэля-Бенара. Во время реакции создаются копии исходных ДНК-шаблонов, процесс создания которых (амплификация ДНК) описывается уравнениями эволюции, определяющими концентрации для каждого из компонентов смеси. Перенос компонентов осуществляется за счет движения потока между областями с различной температурой и описывается уравнениями Навье-Стокса в приближении Буссинеска.

## 1. Введение

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) используется во многих областях для проведения анализов и в научных экспериментах. Это перспективный способ увеличения количества ДНК. Для выяснения диагноза или установления наследственности необходим большой объем определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК). В биоматериале, взятом у пациента, количество ДНК зачастую является недостаточным. Таким образом, с помощью ПЦР специалисты получают необходимое количество исследуемой ДНК, что существенно облегчает диагностику.

Реакция протекает при нагревании буферной смеси реактивов, содержащей двуниевые ДНК-матрицы, короткие фрагменты ДНК (праймеры), дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, а также амплификационные ферменты. Выделяют три этапа ПЦР: денатурация (обычно 95 °С), при которой двойная спираль ДНК разделяется на две однонитевые; отжиг (50–65 °С) — в зависимости от последовательности праймеров), где праймеры связываются с концами разделенных нитей ДНК; элонгация (72 °С), во время которой образуются две новые копии исходных ДНК. В результате нескольких циклов, обычно порядка 30-ти, количество копий ДНК-шаблонов растет экспоненциально.

В данной работе рассмотрена реакция ПЦР в квадратной ячейке со стороной  $L^2$ , нижняя пластина которой поддерживается при температуре денатурации, а верхняя — при температуре отжига. Для достаточно больших чисел Рэля разность температур дает повышение неустойчивости Рэля-Бенара, проявляющееся в движении потока между пластинами. Тщательной настройкой параметров потока можно подобрать такие режимы конвекции, при которых молекулы ДНК перемещаются между двумя пластинами таким образом, что проходят все необходимые температурные области. Производится температурная история, аналогичная той, что достигается в обычном термоцикле. Одна из моделей ПЦР в условиях естественной конвекции была предложена в работе [1].

---

\*Программа фундаментальных исследований ОЭММПУ РАН ОЭ-14

Целью нашей работы является исследование влияния различных режимов конвекции на процесс развития и успешность выполнения ПЦР.

## 2. Постановка задачи

Двумерное движение жидкости моделируется с помощью уравнений неразрывности (1), Навье-Стокса (2) с использованием приближения Буссинеска [2], а также уравнения теплопроводности (3).

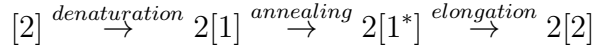
$$\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} = 0, \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} \left( u \cdot u - \frac{\partial u}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left( v \cdot u - \frac{\partial u}{\partial y} \right) &= -\frac{\partial P}{\partial x}; \\ \frac{\partial v}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} \left( v \cdot u - \frac{\partial v}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left( v \cdot v - \frac{\partial v}{\partial y} \right) &= -\frac{\partial P}{\partial y} + Gr \cdot \theta, \end{aligned} \quad (2)$$

$$\frac{\partial \theta}{\partial t} + \left( \frac{\partial}{\partial x} (u \cdot \theta) + \frac{\partial}{\partial y} (v \cdot \theta) \right) = \frac{1}{Pr} \left( \frac{\partial^2 \theta}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \theta}{\partial y^2} \right) \quad (3)$$

$u(x)$ ,  $v(x)$  — горизонтальная и вертикальная составляющие поля скоростей,  $g$  — ускорение свободного падения, поле температуры характеризуется безразмерными числами Грасгофа и Прандтля  $Gr = \frac{gL^3\beta\Delta t}{\nu^2}$ ,  $Pr = \frac{\nu}{\alpha}$ , соответственно.

Различные элементы нуклеиновой кислоты преобразуются вследствие реакций первого порядка:



где [1] - однополовая ДНК, [1\*] - отожженная с праймером ДНК, [2] - двухполовая ДНК.

Пренебрежем любыми воздействиями поверхностей на кинетику. Предположим, что диффузия всех разновидностей ДНК характеризуется постоянным коэффициентом диффузии  $D$ . Поля концентраций для указанных выше трех компонентов смеси описываются уравнениями конвекции-диффузии-реакции, представленными в безразмерной форме:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x} \left( u \cdot c_i - \frac{1}{Pe} \frac{\partial c_i}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left( v \cdot c_i - \frac{1}{Pe} \frac{\partial c_i}{\partial y} \right) = Da^C r_i, \quad (4)$$

где  $c_i$ ,  $i = (1, 2, 3)$  — концентрации однополовых, двухполовых и отожженных ДНК соответственно,  $r_i$  — источниковый член, представимый в виде

$$\begin{aligned} r_1 &= 2k_d f_d(\mathbf{x}, t) c_2 - k_a f_a(\mathbf{x}, t) c_1, \\ r_3 &= 2k_a f_a(\mathbf{x}, t) c_1 - k_e f_e(\mathbf{x}, t) c_3, \\ r_2 &= 2k_e f_e(\mathbf{x}, t) c_3 - k_d f_d(\mathbf{x}, t) c_2, \end{aligned}$$

где  $k_a$ ,  $k_e$ ,  $k_d$  — безразмерные константы скоростей реакций соответственно: отжиг, элонгация и денатурация, функции  $f_a$ ,  $f_e$ ,  $f_d$  — интенсивности соответствующих реакций.

Безразмерные параметры

$$Pe = \frac{\nu}{D}, \quad Da = \frac{kL^2}{\nu}$$

это число Пекле и конвективное число Дамкелера, где  $\nu$  — кинематическая вязкость,  $k$  — характерная скорость реакции. Конвективное число Дамкелера отражает отношение химической реакции к конвективным процессам.

Предполагается, что  $f_i(\mathbf{x}, t)$  являются функциями, зависящими лишь от температуры. Тогда их можно переписать в виде [3].

$$\phi_i(\theta) = \exp \left[ -\frac{(\theta - \theta_i^*)^2}{2\sigma_i^2} \right]$$

где  $\theta_i^*$  — это идеальная температура для  $i$ -й реакции и  $\sigma_i$  — допустимое отклонение температуры для  $i$ -й реакции.

Для модели выбраны следующие параметры: оптимальная температура денатурации равна  $95^\circ\text{C}$ , отклонение  $85\text{--}95^\circ\text{C}$ , отжига —  $55^\circ\text{C}$ , отклонение  $55\text{--}60^\circ\text{C}$ , элонгации —  $72 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Граничные условия для  $i$ -го компонента соответствуют отсутствию потока через границы области:  $\mathbf{n} \cdot \nabla c_i = 0$ , где  $\mathbf{n}$  — вектор нормали к границе. Начальные условия:  $c_1 = c_3 = 0$ ,  $c_2 = c_0$ .

Для компонент вектора скорости на всех границах заданы условия прилипания, для температуры вертикальные стенки — адиабатические, горизонтальные — изотермические.

Константы скоростей химических реакций определяются из тех соображений, что реакция элонгации проходит вдвое медленнее реакций отжига и денатурации:  $k_a = k_d = 1$  и  $k_e = 1/2$ .

### 3. Основные результаты

Численное решение системы дифференциальных уравнений в частных производных (1–3) методом контрольного объема [4] позволило исследовать развитие и установление полей скоростей и температуры. Распределение концентраций компонентов смеси

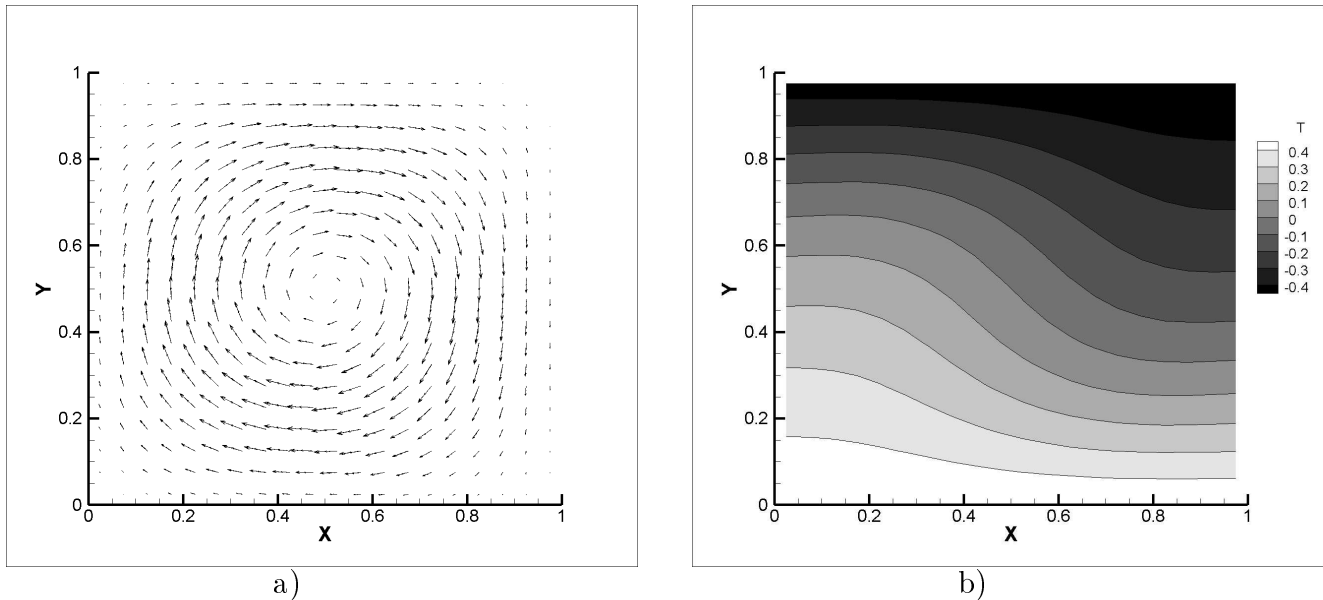


Рис. 1. Поля скоростей а) и температуры б) при  $Gr = 1290$ ,  $Pe = 0.01$ ,  $Da^C = 0.1$

по замкнутой области было найдено вследствие решения системы (4). Для расчета физических величин использовалась схема продольно-поперечной прогонки [5].

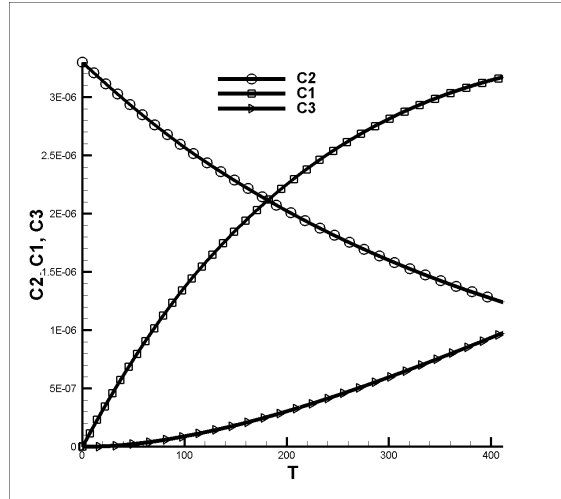


Рис. 2. Зависимость  $c_1$ ,  $c_2$ ,  $c_3$  от времени

На рис. 1 показаны поля скоростей и температуры, переход от светлого к темному соответствует уменьшению температуры. Данная задача решалась для чисел Дамкелера  $Da^C = 0.1; 1; 10$ , Пекле, начиная с  $Pe = 0.01$  и чисел Грасгофа, начиная с  $Gr = 1290$ , что соответствует установившемуся конвективному течению – отдельному конвективному валику (рис. 1a). По мере увеличения этих параметров поле скоростей потока перестает представлять собой круговое поле, направленное по часовой стрелке и переходит в различные другие режимы. При этом изменяется и характер полей концентрации. Как и следовало ожидать, процесс изменения полей концентраций реагирующих компонентов можно наблюдать только после начала конвективного движения

Наиболее подходящим режимом для успешного осуществления реакции полагают конвективный валик. Но на рис. 2 видно, что для выбранных размеров ячейки, кинетики реакции и параметров течения жидкости мы не получаем экспоненциальный рост концентрации  $c_2$ , как ожидалось. Молекулы денатурируют быстрее, чем воссоздают свои копии. Можно показать, что повышение эффективности ПЦР связано с изменением соотношения характерных размеров областей, в которых происходит та или иная стадия реакции производства двунитевых молекул ДНК. Очевидно, что необходимый характер термоцикличности реакции можно обеспечить подбором граничных условий, отражающих способ подвода тепла к ячейке Рэлея-Бенара.

## 4. Заключение

Рассмотрена модель амплификации ДНК вследствие полимеразной цепной реакции в ячейке Рэлея-Бенара. Для решения задачи реализован численный алгоритм с помощью метода контрольного объема. С использованием схематической модели конвективной ячейки изучено поведение полей скоростей и температуры, а также полей концентрации компонентов реагирующей смеси. Приведен пример изменения концентраций компонентов реакции амплификации ДНК.

## Список литературы

- [1] Yariv E., Ben-Dov G., Dorfman K.D. Polymerase chain reaction in natural convection system: A convection-diffusion-reaction model // *Europhysics Letters*. 2005. Vol. 71, No 6. P. 1008–1014.
- [2] Гершуни Г. З., Жуховицкий Е. М. Конвективная устойчивость несжимаемой жидкости. М.:Наука, 1972. 392 с.
- [3] Allen J. W., Kenward M., Dorfman K. D. Coupled flow and reaction during natural convection // *Microfluid Nanofluid*. 2009. No 6. P. 121–130.
- [4] Патанкар С. Численные методы решения задач теплообмена и динамики жидкости. Москва: 1984. 149 с.
- [5] Яненко Н. Н. Метод дробных шагов решения многомерных задач математической физики. Новосибирск: Наука, 1967. 197 с.