

На рис. 7.11 показана структура одной из РНК. Спаривание оснований происходит лишь в двуспиральных участках. Денатурационная стабильность РНК также растет с содержанием ГЦ-пар.

Особенно детально изучены сравнительно малые молекулы тРНК. Они также содержат двуспиральные участки. О них рассказано в § 8.4.

Недавно было установлено, что РНК может функционировать в качестве катализатора, подобно ферменту. Оказалось, что ферменты рибонуклеазы Р содержат 80% РНК, которая и выполняет основную функцию. В других случаях была обнаружена ферментативная активность РНК и в отсутствие белка. Не подлежит сомнению, что это связано со значительной конформационной гибкостью и со сложной третичной структурой РНК. Надо думать, что эти, еще далеко недостаточно изученные, явления существенны для регуляции генов. Вполне возможно, что в клетках функционируют и другие, еще не выявленные виды РНК.

Двойная спираль ДНК замыкается в кольцо в клетках бактерий (например, в *E. coli*), в частицах бактериофагов и т. д. Можно рассматривать ДНК — кольцевую или незамкнутую — на основе модели упругого стержня, характеризуемого двумя энергетическими параметрами — жесткостью на изгиб оси и жесткостью на кручение (см. с. 256). Персистентная длина ДНК велика (с. 228) — двойная спираль обладает высокой жесткостью на изгиб.

§ 7.3. Внутримолекулярные взаимодействия в двойной спирали

Структура двойной спирали ДНК и двуспиральных участков РНК определяется слабыми взаимодействиями — водородными связями, электростатическими и дисперсионными силами.

Свободные азотистые основания образуют водородно связанные комплексы в твердом состоянии. Структуры таких комплексов в ряде случаев установлены. Найдены структуры, отличные от структуры Уотсона — Крика. На рис. 7.12 показано строение пары 9-метиладенин — 1-метилтимин (МА — МТ). Атомы азота N₁ в Т и N₆ в А заблокированы метильными группами для того, чтобы избежать образования дополнительных водородных связей. Мы видим, что атом N₁ МТ образует водородную связь с имидазольным азотом МА. Эта структура отлична от структуры Уотсона — Крика. Возможности образования водородных связей между различными атомами азотистых оснований ДНК, а также таутомерия азотистых оснований существенны для мутагенеза. Сильный мутаген — бромурацил (метилированный) изучался в парах с этиладенином и метиладенином. Интересно, что в этих двух близких случаях получаются разные структуры. В первой паре образуются водородные связи O₂—N₆ и N₃—N₇, во второй O₄—N₆ и N₃—N₇.

Примечательно, что в растворах преимущественная ассоциация оснований происходит в согласии с моделью Уотсона — Крика. Водородные связи возникают в парах АУ, АТ и ГЦ, но не в ГУ, АГ и АЦ. Соответственно не удается получить из раствора кристаллы с некомплементарными парами.

Температура плавления двойной спирали, т. е. температура перехода спираль — клубок линейно зависит от содержания ГЦ-пар. Отсюда, однако, не следует, что энергетика двойной спирали всецело определяется водородными связями. При плавлении водородные связи между основаниями заменяются связями с молекулами воды. Поэтому разность энергий водородных связей в спирали и в клубках мала. Должны быть и другие факторы, стабилизирующие двойную спираль.

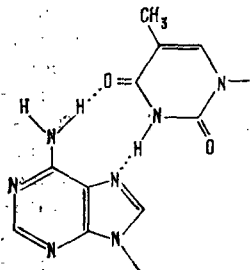


Рис. 7.12. Структура комплекса МА — МТ

Наряду с «горизонтальными» взаимодействиями азотистых оснований в их плоскости в двойной спирали существуют и «вертикальные» взаимодействия оснований, принадлежащих соседним парам. Это — взаимодействия между параллельными, а не

компланарными основаниями, направленные перпендикулярно к основаниям вдоль оси двойной спирали (stacking).

Азотистые основания представляют собой π -электронные системы. Между плоскими π -электронными циклами, расположенными параллельно друг другу, реализуются значительные дисперсионные взаимодействия. Поэтому плоские молекулы красителей, чья цветность определяется сопряжением π -электронных связей, оказываются способными образовывать полимеры в растворе. Эти полимеры, в которых мономеры связаны дисперсионными силами, обладают особыми оптическими свойствами, так как в них происходит экситонная передача энергии возбуждения. В двойных спиральях полинуклеотидов параллельная упаковка оснований проявляется, в частности, в эффекте гипохромизма (см. § 5.4).

Уже первые теоретические расчеты взаимодействий между азотистыми основаниями в ДНК показали, что ван-дер-ваальсовы (т. е. диполь-дипольные, индукционные и дисперсионные) взаимодействия в паре ГЦ значительно сильнее, чем в АТ. В дальнейшем электростатические взаимодействия были рассмотрены более строго, а также с помощью атом-атомных потенциалов учтены силы отталкивания. Разработан метод расчета энергий горизонтальных и вертикальных взаимодействий, вычисляемых как суммы взаимодействий атомов. Определяется сумма энергий электростатических и поляризационных взаимодействий и энергии отталкивания. Заряды на атомах и связях находятся с помощью приближенных методов квантовой химии. Контролем эффективности методов расчета служат расчеты энергии ряда

молекулярных кристаллов и их сравнение с экспериментальными значениями теплот сублимации. Для нафталина найдено 75,6 кДж/моль (на опыте 72,4), для антрацена 104,2 (на опыте 98,8, 100,0, 104,2). Эти цифры дают представление о порядке величины вертикальных взаимодействий. Наибольшая энергия отвечает двум соседним антипараллельным парам ЦГ, ГЦ. Мы не приводим числовых данных, так как они пока не однозначны и существенно зависят от метода расчета. По-видимому, энергия вертикального взаимодействия меняется для различных пар в пределах 40—60 кДж/моль, что заметно превосходит энергии водородных связей.

Данилов показал, что главный вклад в энергию вертикальных взаимодействий в двойной спирали определяется взаимодействиями вытесненных молекул воды друг с другом.

§ 7.4. Термодинамика плавления двойной спирали

Денатурация нуклеиновых кислот сводится к разрушению двойной спирали (ДНК) или двуспиральных участков (РНК). Нагревание раствора нативной ДНК вызывает разделение двойной спирали на две цепи, сворачивающиеся в статистические клубки. При этом значительно уменьшаются вязкость и оптическая активность, исчезает гипохромизм, т. е. возрастает интенсивность поглощения в области 260 нм. Разделение на две цепи непосредственно доказывается центрифугированием ДНК, содержащей ^{15}N , в градиенте плотности CsCl (ср. с. 82). Клетки *E. coli*, выращенные в среде, содержащей ^{15}N , переносились в среду с обычным ^{14}N . При делении клеток образовывались редуплицированные двойные спирали, в которых одна цепь содержала ^{15}N , другая — ^{14}N . До денатурации наблюдался один пик плотности 1,717 г/см³, отвечающий двойным спиральям ^{15}N — ^{14}N . После денатурации появляются два пика — 1,740 и 1,724 г/см³, отвечающие однитчатым клубкам соответственно с ^{15}N и с ^{14}N . Плотность повышается, так как клубки более компактны, чем спираль. М. м. ДНК уменьшается при денатурации вдвое. Образование клубков наблюдается в электронном микроскопе.

Простейшая модель двойной спирали образуется двумя комплементарными цепями гомополинуклеотидов, например, поли-А — поли-У. Эта двойная спираль плавится при 65 °С в 0,15 М растворе NaCl при рН 7,0. Интенсивность полосы поглощений 260 нм увеличивается при плавлении на 34%, а удельное вращение $\varphi_{\text{д}}$ убывает на 275°.

Линейная зависимость температуры плавления ДНК от содержания ГЦ-пар дает при экстраполяции предельные значения $T_{\text{пл}} = 69$ °С для поли-АТ и 110 °С для поли-ГЦ, хорошо согласующиеся с экспериментальными значениями для соответствующих синтетических полинуклеотидов (65 и 104 °С). Температура плавления ДНК растет с увеличением ионной силы раствора приблизительно пропорционально логарифму концентрации ка-