

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-

тионов. Этот рост понятен — чем выше концентрация катионов, тем в большей степени компенсированы отрицательные заряды фосфатных групп и, следовательно, тем меньше отталкивание между комплементарными цепями.

Плавление ДНК было изучено Доти еще в 1957 г. Явление это своеобразно, ДНК — уникальный пример одномерной упорядоченной структуры с аперриодическим распределением звеньев.

Прежде чем обратиться непосредственно к ДНК, целесообразно рассмотреть более простую двойную спираль, построенную из двух комплементарных гомополинуклеотидных цепей. В области перехода спираль — клубок такая молекула состоит из чередующихся спиральных и неупорядоченных участков — петель (рис. 7.13). Если обозначить число разорванных

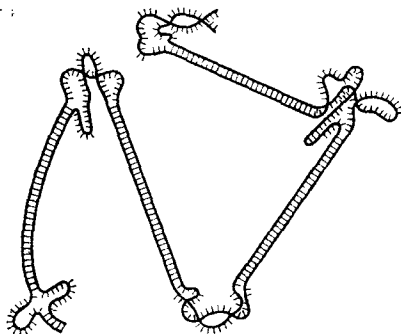


Рис. 7.13. Схема строения полинуклеотида в области перехода спираль — клубок

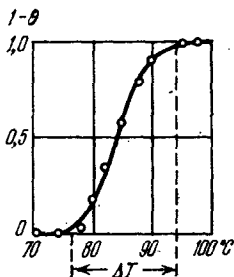


Рис. 7.14. Переход спираль — клубок ДНК

пар N_1 , число связанных пар N_2 и число дуспиральных участков, равное числу петель, n , то свободная энергия системы запишется в виде

$$G(N_1, N_2, n) = N_1 G_1 + N_2 G_2 + n G_s - TS_0, \quad (7.1)$$

где G_1 и G_2 — свободные энергии полностью разделенных и полностью дуспиральных молекул, отнесенные к одной паре оснований, G_s — свободная энергия, необходимая для возникновения петли, т. е. расплавленной области между двумя спиральными. Наконец, S_0 есть энтропия смешения спиральных и неспиральных участков, т. е. (и расчете на моль)

$$S_0 = R \ln \frac{N_1!}{n! (N_1 - n)!} \frac{N_2!}{n! (N_2 - n)!}. \quad (7.2)$$

Минимум G при данной температуре соответствует условию

$$\left(\frac{N_1}{n} - 1\right) \left(\frac{N_2}{n} - 1\right) = \frac{1}{\sigma}, \quad (7.3)$$

где $\sigma = \exp(-G_s/RT)$ есть фактор кооперативности (см. с. 101). Чем меньше σ , тем больше кооперативность. Равновесные значения N_1 , N_2 и n находятся путем дифференцирования G по N_1 , причем $N_2 = N - N_1$, где N — константа. Приравняв $\partial G/\partial N_1$ нулю, получаем

$$\frac{1 - n/N_2}{1 - n/N_1} = s = \exp \frac{G_1 - G_2}{RT}. \quad (7.4)$$

Таким образом, гомополимер в области перехода является последовательностью спиральных и неспиральных участков, размеры которых определяются σ . Это связано с одномерностью системы, которая, согласно *теореме Ландау и Лифшица* (1930), не может разделиться на фазы (с. 104).

Кривая плавления, т. е. зависимость доли неупорядоченных пар $N_1/N = 1 - \theta$ (θ — степень спиральности) от T , идет тем круче, чем меньше σ . При $\sigma = 1$ кооперативность отсутствует, при $\sigma = 0$ кооперативность полная. В середине интервала плавления производная $|d\theta/dT|$ максимальна и интервал определяется условием

$$\Delta T = \frac{1}{|d\theta/dT|_{\max}}. \quad (7.5)$$

Ход кривой показан на рис. 7.14. Расчет, основанный на модели Изинга (см. с. 73, 101), дает

$$\Delta T = 4\sigma^{1/2} \frac{RT_{\text{пл}}^2}{\Delta H}, \quad (7.6)$$

где ΔH — разность энтальпий спиральной и неспиральной молекул в расчете на пару оснований. Из экспериментальных значений ΔT для синтетических гомополинуклеотидов получается $\sigma \sim 10^{-4} - 10^{-3}$, т. е. $G_s \approx 30$ кДж/моль. Степень кооперативности очень высока.

Как и в случае α -спирали, плавление двойной спирали ДНК представляет собой не фазовый переход, а кооперативное конформационное превращение.

Подробные исследования гетерополимеров, проведенные Лазуркинским, Франк-Каменецким и их сотрудниками, позволили построить теорию, применимую к ДНК и ее комплексам с малыми молекулами. Рассмотрение гетерогенности требует учета двух факторов — различий стабильности пар АТ и ГЦ и добавочного упрочнения или ослабления двойной спирали лигандами. Эти факторы влияют по-разному, так как лиганды могут перераспределяться по цепи в процессе плавления, а первичная структура неизменна.

Допустим, что m_1 молекул лиганда связано неспиральными и m_2 — спиральными участками полимера. Вместо (7.1) имеем

$$G(N_1, N_2, n, m_1, m_2) = N_1 G_1 + N_2 G_2 + n G_s + m_1 g_1 + m_2 g_2 - TS_0 - RT \ln \frac{N_1!}{m_1! (N_1 - m_1)!} \frac{N_2!}{m_2! (N_2 - m_2)!}, \quad (7.7)$$

где g_1 и g_2 — свободные энергии лигандов соответственно в неспиральных и спиральных участках. Последний член содержит энтропию смешения полимера с лигандами. Условие минимума $\partial G/\partial n = 0$ совпадает с (7.3), т. е. средняя длина спиральных участков при данном θ не зависит от присутствия лигандов. С другой стороны, из условия $\partial G/\partial N_1 = 0$ вместо (7.4) получается

$$\frac{1 - n/N_2}{1 - n/N_1} = s \frac{1 - c_1}{1 - c_2} = s^*, \quad (7.8)$$

где $c_1 = m_1/N_1$, $c_2 = m_2/N_2$. Эти концентрации лигандов выражаются через концентрацию лиганда в растворе c_0 и константы связывания K_1 и K_2 следующим образом:

$$c_1 = \frac{c_0}{1/K_1 + c_0}, \quad c_2 = \frac{c_0}{1/K_2 + c_0}. \quad (7.9)$$

Кривая плавления гомополимера без лигандов описывается функцией

$$\theta = f(s), \quad (7.10)$$

причем $\theta = 0,5$ при $s_{\text{пл}} = 1$, т. е. при $G_1 = G_2$. При наличии лигандов

$$\theta = f(s^*) \quad (7.11)$$

и $\theta = 0,5$ при $s^* = 1$, т. е. при (см. (7.8))

$$s_{\text{пл}} = \frac{1 - c_2}{1 - c_1}. \quad (7.12)$$

Сдвиг температуры плавления по сравнению с таковой для чистого полимера T_0 определяется как

$$\delta \left(\frac{1}{T_{\text{пл}}} \right) = \frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_{\text{пл}}} = \frac{R}{\Delta H} \ln \frac{1 - c_1}{1 - c_2}. \quad (7.13)$$

Изменение интервала температур плавления есть

$$\delta \left(\frac{\Delta T}{T_{\text{пл}}^2} \right) = \frac{\Delta T}{T_{\text{пл}}^2} - \frac{\Delta_0 T}{T_0^2} = - \frac{R}{\Delta H} \left[\frac{\partial}{\partial \theta} \ln \frac{1 - c_1}{1 - c_2} \right]_{\theta=0,5}. \quad (7.14)$$

Полная концентрация лигандов в растворе и на полинуклеотиде равна

$$c = c_0 + (1 - \theta) \frac{c_1 p}{2} + \theta \frac{c_2 p}{2}, \quad (7.15)$$

где p — концентрация связывающих лиганды фосфатных групп полинуклеотида. Если $c \gg p$, то

$$\delta \left(\frac{1}{T_{\text{пл}}} \right) = \frac{R}{\Delta H} \ln \left(\frac{1 + K_2 c}{1 + K_1 c} \right) \quad (7.16)$$

и

$$\delta \left(\frac{\Delta T}{T_{\text{пл}}^2} \right) = 0. \quad (7.17)$$

Напротив, при прочном связывании лигандов полимером во всей области перехода, т. е. при $K_1 p \gg 1$ или $K_2 p \gg 1$ и $c \approx p$,

$$\delta T_{\text{пл}} = T_{\text{пл}} - T_0 = 2 \left(\frac{q - 1}{q + 1} \right) \frac{RT_0^2}{\Delta H} \frac{2c}{p}, \quad (7.18)$$

$$\delta \Delta T = \Delta T - \Delta_0 T = 4 \left(\frac{q - 1}{q + 1} \right)^2 \frac{RT_0^2}{\Delta H} \frac{2c}{p}, \quad (7.19)$$

где $q = K_2/K_1$.

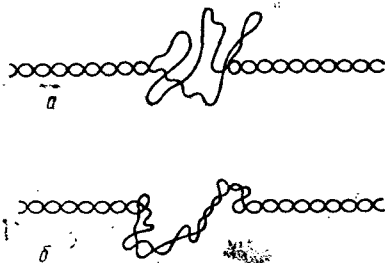
Таким образом, лиганды действуют в качестве «скрепок», стабилизирующих двойную спираль.

Опыт подтверждает приведенные соотношения. Уравнение (7.16) описывает, в частности, влияние рН на кривые плавления. С его помощью при высоких ионных силах и нейтральных рН найдены значения $\Delta H = 40-45$ кДж/моль. В качестве лигандов изучались акридиновые красители, ионы щелочных металлов, Ag^+ , Cu^+ и т. д. Ионы Ag^+ и Cu^+ преимущественно связываются парами ГЦ в двойной спирали ДНК. Исследования

связывания ионов металлов дали значения $\Delta H 34 \pm 4$ при $0,01 \text{ M NaCl}$ и 46 ± 8 кДж/моль при $0,1 \text{ M NaCl}$. Указанные определения ΔH согласуются с результатами прямых калориметрических измерений.

Обратимся теперь к плавлению двуспирального гетерополимера. Такое плавление может происходить с образованием больших петель или без их образования (рис. 7.15). Теория разработана для обоих случаев. При беспорядочном распределении

Рис. 7.15. Схема плавления двойной спирали: с образованием петель (а) и без образования петель (б)



пар АТ и ГЦ получается линейная зависимость $T_{пл}$ от содержания пар ГЦ (ср. с. 233).

Особенность гетерополимера состоит в относительно малом числе микросостояний, отвечающих данной энергии. Маловероятно, чтобы два разных распределения клубков и спиралей по цепи с теми же значениями N_1 , N_2 и n имели одинаковую энергию, так как они почти наверняка будут содержать разное число пар ГЦ в расплавленных участках. Поэтому энтропия смешения не может существенно влиять на плавление гетерополимеров. Вместе с тем появляется новый энергетический фактор, определяемый тем, что при уменьшении средней длины расплавленных участков содержание в них более стабильных пар ГЦ должно уменьшаться. Конкуренция этого фактора и фактора, обусловленного невыгодностью «стыков» спиральных и неспиральных участков, должна приводить к чередованию спиральных и неспиральных участков определенной длины при данном значении θ .

Приближенное решение задачи о плавлении гетерополимера с беспорядочной последовательностью пар получено Лазуркиным и Франк-Каменецким. Разделим молекулу на одинаковые отрезки, каждый из которых содержит λ пар. Если λ достаточно велико, то распределение концентрации пар ГЦ по этим отрезкам будет гауссовым, т. е.

$$P_{\lambda}(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}b_{\lambda}} \exp \left[-\frac{(x-x_0)^2}{2b_{\lambda}^2} \right], \quad (7.20)$$

где $b_{\lambda}^2 = x_0(1-x_0)/\lambda$, x — содержание пар ГЦ, x_0 — значение x , отвечающее максимуму распределения.

Общее число пар ГЦ в расплавленных участках минимально, если все отрезки с содержанием этих пар, меньшим некоторого предельного значе-

ния x_λ , расплавлены и все отрезки с $x > x_\lambda$ спиральны. Значение x_λ определяется условием

$$\int_0^{x_\lambda} P_\lambda(x) dx = \frac{N_1}{N}. \quad (7.21)$$

Средняя концентрация ГЦ в расплавленных участках равна

$$\bar{x}_1 = \int_0^{x_\lambda} x P_\lambda(x) dx \left(\int_0^{x_\lambda} P_\lambda(x) dx \right)^{-1} = \frac{N}{N_1} \int_0^{x_\lambda} x P_\lambda(x) dx. \quad (7.22)$$

Так как состав каждого отрезка не зависит от состава других, вероятность того, что расплавленная область состоит из r отрезков, следующих друг за другом, равна

$$w_r = (1 - N_1/N)(N_1/N)^{r-1}, \quad (7.23)$$

и среднее число отрезков в расплавленной области

$$\bar{r} = (1 - N_1/N)^{-1}. \quad (7.24)$$

Среднее число пар оснований в расплавленной области

$$\bar{m}_1 = \lambda \bar{r} = \lambda(1 - N_1/N)^{-1} \quad (7.25)$$

и число расплавленных областей во всей молекуле

$$n = N_1/(\lambda \bar{r}) = N_1(1 - N_1/N)/\lambda. \quad (7.26)$$

Свободная энергия полимера равна

$$G(N_1, N_2, n) =$$

$$= N_1 [\bar{x}_1 G_1^{\text{ГЦ}} + (1 - \bar{x}_1) G_1^{\text{АТ}}] + N_2 [\bar{x}_2 G_2^{\text{ГЦ}} + (1 - \bar{x}_2) G_2^{\text{АТ}}] + n G_s, \quad (7.27)$$

где G_s — энтропийный вклад, определяемый смещением областей. Вводя условия $N_1 + N_2 = N$, $\bar{x}_1 N_1 + \bar{x}_2 N_2 = x_0 N$, выражая n через λ по (7.26), обозначая $\Delta G_{\text{ГЦ}} = G_1^{\text{ГЦ}} - G_2^{\text{ГЦ}}$, $\Delta G_{\text{АТ}} = G_1^{\text{АТ}} - G_2^{\text{АТ}}$ и отбрасывая постоянные члены, получаем

$$G(N_1, \lambda) = N_1 \bar{x}_1 \Delta G_{\text{ГЦ}} + N_1 (1 - \bar{x}_1) \Delta G_{\text{АТ}} + N_1 (1 - N_1/N) G_s / \lambda. \quad (7.28)$$

Здесь \bar{x}_1 определено формулой (7.22) с x_λ из (7.21). Равновесные значения N_1 и λ находятся из условия минимума выражения $G(N_1, \lambda)$ по отношению к обоим переменным. Для того чтобы найти среднюю длину спиральной области и интервал плавления гетерополимера ΔT , необходимо рассмотреть выражения (7.21), (7.22) и (7.28) вблизи $N_1 = 1/2 N$, т. е. провести разложение в ряд Тейлора по $z = N_1/N - 1/2$. Пользуясь уравнением (7.20) и вновь отбрасывая постоянные члены, получаем

$$G(N_1, \lambda) = N \left\{ z \Delta G - \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \left[\frac{x_0(1-x_0)}{\lambda} \right]^{1/2} (\Delta G_{\text{ГЦ}} - \Delta G_{\text{АТ}}) (1 - \pi z^2) + \frac{G_s}{4\lambda} (1 - 4z^2) \right\}, \quad (7.29)$$

где

$$\Delta G = x_0 \Delta G_{\text{ГЦ}} + (1 - x_0) \Delta G_{\text{АТ}}. \quad (7.30)$$

Из условия $\partial G / \partial \lambda = 0$ получаем при $z = 0$

$$\lambda_0 = \frac{\pi}{2} \left(\frac{G_s}{\Delta G_{\text{ГЦ}} - \Delta G_{\text{АТ}}} \right)^2 \frac{1}{x_0(1-x_0)}, \quad (7.31)$$

причем

$$\Delta G_{\text{ГЦ}} - \Delta G_{\text{АТ}} = (T_{\text{ГЦ}} - T_{\text{АТ}}) \Delta H_{\text{АТ}} / T_{\text{АТ}}, \quad (7.32)$$

где $T_{ГЦ}$ и $T_{АТ}$ — температуры плавления для соответствующих полимеров. Находим с помощью (7.25)

$$\bar{m}_1 = \pi \left[\frac{T_{АТ}}{\Delta H_{АТ}} \frac{G_s}{T_{ГЦ} - T_{АТ}} \right]^2 \frac{1}{x_0 (1 - x_0)}. \quad (7.33)$$

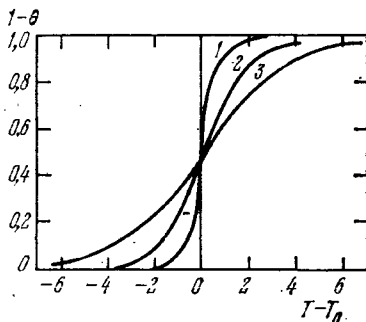
Приравняв нулю производную свободной энергии по x при постоянном λ и продифференцировав полученное выражение по T , находим

$$\Delta T = 2 \frac{\pi - 2}{\pi} \frac{\Delta H_{АТ}}{T_{АТ}} \frac{(T_{ГЦ} - T_{АТ})^2}{G_s} x_0 (1 - x_0). \quad (7.34)$$

Строгое решение задачи отличается от приведенного лишь числовыми множителями. Образование петель при плавлении учитывается добавочным вкладом в G , отвечающим энтропии петель.

Численные расчеты на ЭВМ с использованием в качестве независимых параметров доли пар ГЦ x_0 , температур плавления гомополимеров $T_{АТ}$ и $T_{ГЦ}$, а также $\Delta H_{АТ}$ и σ позволили определить кривые плавления, зависимость средней длины спирального

Рис. 7.16. Зависимость $1 - \theta$ полигетеронуклеотида от T : 1 — $x_0 = 0$, $T_{пл} = 340$ К, $N = 2 \cdot 10^4$; 2 — $x_0 = 0,1$, $T_{пл} = 344$ К, $N = 4 \cdot 10^4$; 3 — $x_0 = 0,5$, $T_{пл} = 360$ К, $N = 6 \cdot 10^4$



участка от степени спиральности θ и зависимость ширины интервала перехода от x_0 при различных значениях указанных параметров. На рис. 7.16—7.18 показаны кривые, полученные при $T_{АТ} = 340$ К, $T_{ГЦ} = 380$ К, $\Delta H_{АТ} = 29$ кДж/моль, $\sigma = 5 \cdot 10^{-5}$, $N = 2 \cdot 10^4 - 10^5$. Линейная зависимость $T_{пл}$ от x_0 получается непосредственно (в К)

$$T_{пл} = T_{АТ} + (T_{ГЦ} - T_{АТ}) x_0 = 340 + 40 x_0. \quad (7.35)$$

Учет образования петель несколько уменьшает ΔT . Форма теоретической кривой плавления согласуется с опытом практически независимо от модели. Напротив, теоретический график для ΔT существенно зависит от принятой модели и выбранных значений параметров. Все они, кроме σ , находятся из независимых экспериментов. Прекрасное согласие с опытом для ряда типов ДНК получено при $\sigma = 5 \cdot 10^{-5}$. Тем самым, опыт позволяет найти σ . Кооперативность плавления ДНК очень велика.

Определения оптической плотности (n , следовательно, степени спиральности θ) и размеров молекулы ДНК в растворе путем измерения характеристической вязкости в процессе плавления

позволили найти средние длины спиральных участков. В согласии с теорией в области $\theta = 0,8-0,9$ длины спиральных отрезков варьируют от 1000 до 2500 пар, тогда как в области перехода, т. е. при $\theta = 0,5$, получается $m = 400-500$ пар.

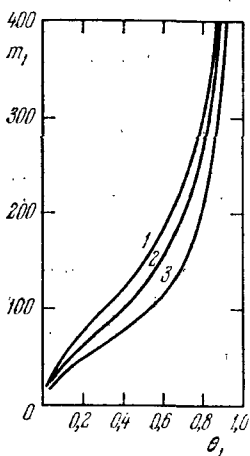


Рис. 7.17. Зависимость среднего числа пар оснований в расплавленных участках от $\theta_1 = 1 - \theta$. Кривые 1, 2, 3 для тех же параметров, что и на рис. 7.16

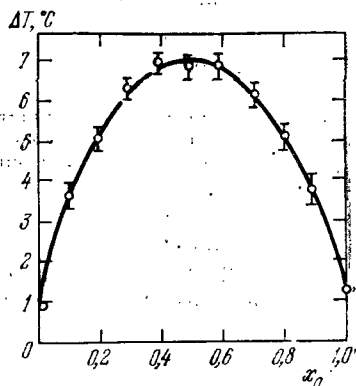


Рис. 7.18. Зависимость интервала температур плавления от концентрации пар ГЦ

Температура плавления понижается и ΔT увеличивается с уменьшением длины цепи.

Термодинамические характеристики плавления ДНК были изучены методами микрокалориметрии (Привалов). Теплота и

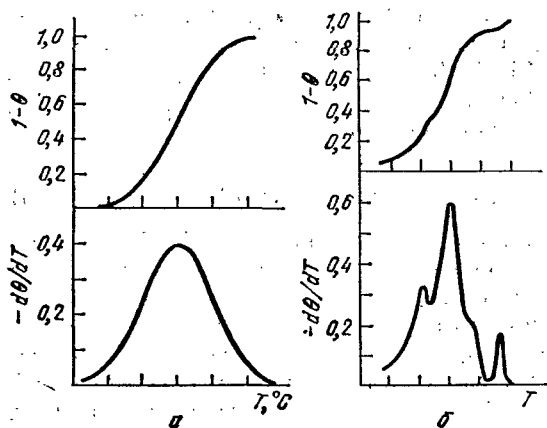


Рис. 7.19. Обычные и дифференциальные кривые плавления ДНК: а — гладкие кривые; б — с тонкой структурой

температура плавления сильно зависят от рН. При возрастании рН от 7,0 до 9,7 $T_{пл}$ убывает от 84,8 до 66,3 °С, ΔH — от 40,4 до 29,9 кДж/моль, ΔS — от 113 до 88 Дж/(моль · К). При убы-

вании рН от 5,4 до 3,2 $T_{пл}$ убывает от 84 до 55 °С, ΔH — от 39,5 до 10,4 кДж/моль, ΔS — от 107 до 52 Дж/(моль · К). Значение $T_{пл}$ зависит и от ионной силы.

Основные результаты теоретических расчетов для реальных молекул ДНК со случайной последовательностью нуклеотидов при физиологических условиях Лазуркин суммирует следующим образом.

1. Ширина интервала плавления $\Delta T = 2,5-3$ °С.

2. Зависимость средней длины спирального участка от степени спиральности θ изображается S-образной кривой.

Кольцевые замкнутые ДНК, фигурирующие в фагах и бактериях, вследствие топологической невозможности свободного раскручивания с образованием петель, должны плавиться при более высокой температуре, чем те же ДНК в линейной форме.

Эксперимент подтверждает эти предсказания для ряда бактериофагов. В то же время заметно более высокие значения ΔT для ДНК бактерий (~ 5 °С) и высших организмов (~ 10 °С) привели к выводу о блочном строении этих ДНК. Всю ДНК в геноме можно разбить на ряд последовательностей, отличающихся друг от друга средним содержанием ГЦ-пар и имеющих каждая квазислучайную последовательность оснований. Молекулярная масса блоков равна $(5-15) \cdot 10^6$.

Увеличение точности оптических измерений позволило обнаружить тонкую структуру кривых плавления. Впервые она наблюдалась у ДНК фага T7. Для выявления тонкой структуры удобно изображать кривые плавления в виде температурной зависимости производной от степени плавления $(1-\theta)$ по температуре. Это показано на рис. 7.19. Применяются методы графического или машинного дифференцирования кривых плавления или автоматического дифференцирования кривых плавления в ходе измерения. Последнее осуществляется, в частности, измерением разности поглощения света в двух кюветах, температуры которых поддерживаются одинаковыми, но между раство-

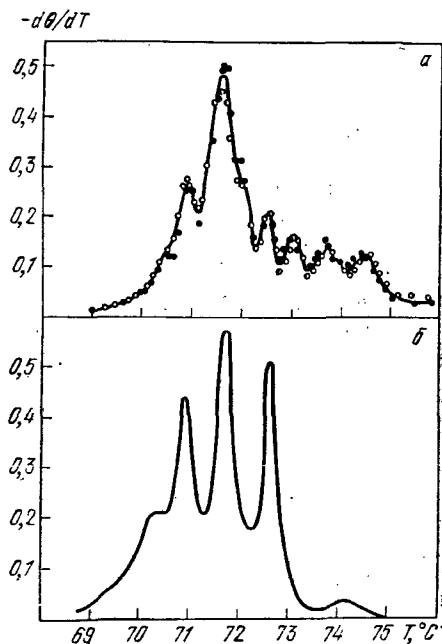


Рис. 7.20. Дифференциальные кривые плавления репликативной двуспиральной формы ДНК фага ϕ X174

рами создана малая разность $T_{пл}$ за счет различия в концентрации соли. Тонкая структура дифференциальной кривой плавления (ДКП) наблюдаема для не слишком длинных двойных спиралей ДНК, она исчезает, если число пар превышает 10^5 .

Теория показывает, что каждому пику на ДКП соответствует плавление сравнительно длинного участка, содержание ГЦ-пар которого таково, что его $T_{пл}$ совпадает с температурой опыта. Теория объясняет тонкие особенности ДКП. На рис. 7.20, а показана экспериментальная ДКП фага ϕ X174, а на рис. 7.20, б — теоретическая ДКП, вычисленная на основе известной последовательности 5375 нуклеотидов в этой ДНК.

§ 7.5. Кинетика расплетания двойной спирали

Мы пока не касались вопросов о скоростях переходов спираль — клубок. Вопросы эти не тривиальны.

Кинетика расплетания двойной спирали ДНК была впервые исследована Куном (1957). Расплетание возникает после разрыва связей между цепями. Если допустить, что оно происходит в результате вращательного броуновского движения, то этот процесс потребует времени τ , гораздо большего, чем наблюдаемое. Так, для ДНК с м. м. $3 \cdot 10^6$ раскручивание 450 витков спирали, что необходимо для полного разделения, требует 150 дней. Между тем τ для ДНК с м. м. порядка 10^6 составляет около 1 мин. Кун рассмотрел разделение цепей, происходящее при сочетании вращательного теплового движения с поступательным, и получил для ДНК с м. м. $3 \cdot 10^6$ τ порядка 1 мин, что также слишком много.

Время расплетания существенно уменьшается, если учесть вращательный момент, возникающий вследствие увеличения энтропии у разделившихся цепей (Лонгет-Хиггинс и Зимм, 1960). Момент этот равен

$$P = \frac{T\Delta S}{\varphi} = \frac{57,3}{36} T\Delta S, \quad (7.36)$$

$\varphi = 36/57,3$ — выраженный в радианах угол, на который нужно повернуть конец цепи для освобождения одной пары оснований. Скорость раскручивания, т. е. относительная угловая скорость двух половин спирали, есть $\omega = P/\beta$, где β — коэффициент трения. Для спиралей с м. м. порядка 10^6 τ оказывается порядка секунд. Эта оценка не учитывает необратимости расплетания и перепутывания освободившихся цепей.

Не останавливаясь на других моделях, обратимся к теории, предложенной Фонгом (1964). Перепутывание свободных цепей не должно возникать, если разрыв межцепных связей происходит в средней точке двойной спирали. Две ее половины флуктуируют независимо, половину времени они расплетаются, половину — сплетаются вновь. Однако на начальной стадии разделения ввиду плотной упаковки спирали вторичное скручивание невозможно и