

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ  
СОЕДИНЕНИЯ  
1965

Том VII

№ 2

ТЕОРИЯ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ — КЛУБОК  
ДЛЯ ДЕЗОКСИРИБОНАКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ  
С ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМИ СВЯЗЯМИ МЕЖДУ ЦЕПЯМИ

М. Д. Франк-Каменецкий

Согласно существующим представлениям, биспиральная молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) является одномерным кристаллом. При нагревании упорядоченная структура этого кристалла разрушается и он переходит в «жидкое состояние» — беспорядочный клубок. Такой переход (называемый переходом спираль — клубок) сильно напоминает плавление обычного трехмерного кристалла, однако он не является истинным фазовым переходом. Как было показано [1], в одномерных системах вообще невозможен истинный фазовый переход. Наиболее простой моделью, при помощи которой удается выяснить многие свойства перехода спираль — клубок, является одномерная модель Изинга [2, 3]. В этой модели учитывается взаимодействие лишь ближайших соседей и пренебрегается концевыми эффектами (см., например, [4]). Ширина интервала перехода спираль — клубок определяется величиной взаимодействия соседних вдоль цепи звеньев (соседних пар оснований, в случае ДНК). Для характеристики этого взаимодействия в теорию вводят величину, называемую фактором кооперативности  $\sigma = \exp(-F_2/T)$ , где  $F_2$  свободная энергия взаимодействия соседних звеньев цепи (см. ниже). Согласно вычислениям, основанным на применении модели Изинга, ширина интервала плавления равна [5, 6]:

$$\Delta T = 4\sqrt{\sigma}(T_m^2/U), \quad (1)$$

где  $T_m$  — температура плавления,  $U$  — разность энергий связи комплементарных цепей двойной спирали друг с другом и с водой в расчете на пару оснований.  $T_m$  определяется по средней точке кривой плавления, а  $\Delta T$  по касательной в этой точке, как показано на рис. 1. Температуру  $T$  мы всюду выражаем в энергетических единицах. Отметим, что наблюдаемые на опыте кривые плавления ДНК имеют малую ширину, так что  $\sqrt{\sigma} \ll 1$ .

Известно большое число веществ, добавление которых к раствору ДНК изменяет температуру плавления ДНК. К ним относятся ионы водорода (т. е. изменение pH среды), красители и антибиотики, формальдегид, РНКаза [7] и т. д. Некоторые из них изменяют также ширину интервала плавления. Так, Пермогоровым и Лазуркиным [12] было обнаружено, что при изменении концентрации актиномицина ширина интервала плавления ДНК изменяется приблизительно в полтора раза сильнее, чем температура плавления. Все эти вещества взаимодействуют с нуклеотидами и либо увеличивают, либо уменьшают энергию связи пары нуклеотидов. Независимо от их действия на ДНК мы будем называть их «скрепками» \*. Разли-

\* Лишь в некоторых случаях мы будем использовать термин «распорка» для веществ, уменьшающих энергию связи пары нуклеотидов.

чие между скрепками и распорками заключается лишь в знаке  $\Delta$  — свободной энергии, которую скрепка добавляет к свободной энергии связи пары оснований.

Целью настоящей работы является вычисление зависимости температуры и ширины интервала плавления ДНК от концентрации скрепок в первом приближении по этой концентрации. Зависимость температуры плавления от pH среды была получена ранее [8, 9]; кроме того, основные ре-

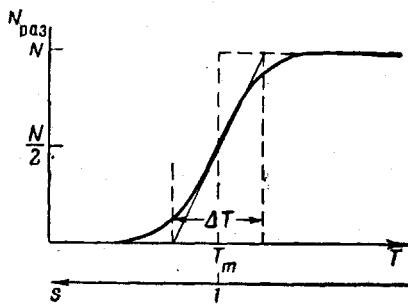


Рис. 1

Рис. 1. Зависимость  $N_{\text{раз}} = N - N_{\text{св}}$  от температуры и от  $s$

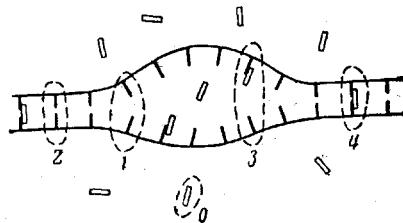


Рис. 2

Рис. 2. Символическое изображение состояний, в которых может находиться пара оснований и скрепка:

0 — свободная скрепка, 1 — разорванная пара, 2 — связанная пара, 3 — разорванная пара со скрепкой, 4 — связанная пара со скрепкой

зультаты настоящей работы были опубликованы в предварительном сообщении [10]. В этой статье теория будет изложена более подробно и в несколько более общей форме, чем в [10], а также будет проведено обсуждение возможности применения результатов к реальным системам и рассмотрено больше приложений.

Задача состоит в том, чтобы найти зависимость среднего числа связанных пар оснований от температуры. Для этого необходимо вычислить статистическую сумму ансамбля рассматриваемых систем — молекул ДНК со скрепками. ДНК мы будем считать гомогенной, т. е. состоящей из одинаковых пар оснований. Гетерогенность создается только скрепками. Каждая пара оснований может находиться в одном из следующих четырех состояний (см. рис. 2): 1 — разорванная пара; 2 — связанная пара; 3 — разорванная пара со скрепкой; 4 — связанная пара со скрепкой. Рассмотрение будет проводиться в рамках одномерной модели Изинга. Хотя все молекулы ДНК в растворе имеют одну и ту же степень полимеризации  $N$  (пар), весьма удобно формально рассматривать ансамбль из систем (молекул), имеющих любое число частиц (звеньев). Рассмотрение при помощи такого ансамбля (который часто называют большим каноническим) является во всех случаях более общим, чем рассмотрение при помощи малого канонического ансамбля, в котором число частиц считается постоянным (см., например, [1]). Пусть  $N_1, N_2, N_3, N_4$  — числа частиц (пар оснований) в состояниях 1, 2, 3, 4, а  $\mu_1, \mu_2, \mu_3, \mu_4$  — химические потенциалы соответствующих состояний. Статистическая сумма рассматриваемого ансамбля согласно общим правилам, должна иметь вид:

$$Z = \sum_{N_1=0}^{\infty} \sum_{N_2=0}^{\infty} \sum_{N_3=0}^{\infty} \sum_{N_4=0}^{\infty} \sum_j \exp \frac{1}{T} (\mu_1 N_1 + \mu_2 N_2 + \mu_3 N_3 + \mu_4 N_4 - E_{j, N_1, N_2, N_3, N_4}). \quad (2)$$

Здесь при помощи индекса  $j$  перенумерованы все состояния с данными  $N_1, N_2, N_3, N_4$ , а  $E_j$  — свободная энергия состояний, т. е. энергия состояния минус  $T \ln g_j$ , где  $g_j$  — статистический вес. Более строгое выяснение смыс-

ла  $E$  можно найти в [11]. Поскольку в системе происходят реакции  $1 \rightleftharpoons 2$ ;  $3 \rightleftharpoons 4$ , то  $\mu_1 = \mu_2$ ;  $\mu_3 = \mu_4$ . Выражение (2) преобразуем следующим образом. Просуммируем сначала по всем состояниям с заданным  $N = N_1 + N_2 + N_3 + N_4$ , а потом уже по всем  $N$ . При этом сумму с заданным  $N$  представим в виде суммы по всем состояниям цепочки, состоящей из  $N$  звеньев, каждое звено которой может находиться в четырех состояниях. Кроме того, запишем  $E_j$  через символы Кронекера, как это обычно делается в матричном методе модели Изинга (см. [4]). Учитывая все сказанное, имеем:

$$\begin{aligned} Z = & \sum_{N_1=0}^{\infty} \sum_{N_2=0}^{\infty} \sum_{N_3=0}^{\infty} \sum_{N_4=0}^{\infty} e^{\frac{\mu_1}{T}(N_1+N_2+N_3+N_4)} \sum_j \exp \frac{1}{T} \{(\mu_3 - \mu_1)(N_3 + N_4) - \\ & - E_{j_{N_1 N_2 N_3 N_4}}\} = \sum_{N=0}^{\infty} e^{\frac{\mu_1}{T}N} \sum_{k_1=1}^4 \dots \sum_{k_N=1}^4 \exp \frac{1}{T} \sum_{i=1}^N \{(\mu_3 - \mu_1)(\delta_{k_i 3} + \delta_{k_i 4}) + \\ & + F_1(\delta_{k_i 2} + \delta_{k_i 4}) + \Delta \delta_{k_i 4} - F_2(\delta_{k_i 2} + \delta_{k_i 4})(\delta_{k_{i+1} 1} + \delta_{k_{i+1} 3})\} = \\ & = \sum_{N=0}^{\infty} \alpha^N \sum_{k_1=1}^4 \dots \sum_{k_N=1}^4 \prod_{i=1}^N G_{k_i k_{i+1}} \end{aligned} \quad (3)$$

Здесь  $F_1$  — разность свободных энергий пары в разорванном и связанном состояниях, если за ней идет связанная пара;  $F_1 + \Delta$  — то же для пары со скрепкой;  $F_2$  — величина, вычитаемая из  $F_1$ , если за связанный парой идет разорванная;  $\delta$  — символ Кронекера.  $G_{k_i k_{i+1}}$  — элементы матрицы:

$$G = \begin{vmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ \sigma s & s & \sigma s & s \\ a & a & a & a \\ a \sigma s & a p s & a p \sigma s & a p s \end{vmatrix}, \quad (4)$$

причем  $a = e^{\mu_1/T}$ ;  $\sigma = e^{(μ_3 - μ_1)/T}$ ;  $s = e^{F_1/T}$ ;  $p = e^{\Delta/T}$ ;  $\sigma = e^{-F_2/T}$ . Если, как это обычно делается в модели Изинга, наложить в пренебрежении концевыми эффектами циклические граничные условия, т. е. принять  $k_1 = k_N$ , то легко видеть, что в выражении (3) под знаком суммы по  $N$  появится след матрицы  $G^N$ . Учтя, кроме того, что след матрицы инвариантен относительно ее преобразований и равен сумме характеристических чисел матрицы, и удерживая только наибольшее характеристическое число  $\lambda$ , получим для  $Z$  весьма простое выражение:

$$Z = \sum_{N=0}^{\infty} \alpha^N s p G^N = \sum_{N=0}^{\infty} (\alpha \lambda)^N = \frac{1}{1 - \alpha \lambda}. \quad (5)$$

С точностью до членов первого порядка по  $a$  имеем:

$$\lambda = \lambda_0 + Aa, \quad (6)$$

где

$$\lambda_0 = \frac{1+s}{2} + \sqrt{\frac{(1-s)^2}{4} + \sigma s} \quad (7)$$

больший характеристический корень матрицы, появляющейся при решении задачи для чистой ДНК [5, 6, 10];

$$A = \frac{1}{2} \left\{ 1 + ps + \frac{s(p+1)(\sigma-1) + \frac{1}{2}(1+s)(1+ps)}{\sqrt{(1-s)^2/4 + \sigma s}} \right\}. \quad (8)$$

Степень полимеризации, которую мы, чтобы не путать с текущим именем  $N$ , временно обозначим через  $\bar{N}$ , равна:

$$\bar{N} = \left( \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln \alpha} \right)_{a,s} = \frac{\alpha \lambda}{1 - \alpha \lambda}, \quad (9)$$

откуда  $\alpha \lambda = 1 - (1 / \bar{N})$ , т. е.  $\alpha \lambda < 1$ , что обеспечивает сходимость ряда в (5). Кроме того, так как  $\alpha \lambda$  очень близко к единице, то члены с малым  $N$  дают малый вклад в сумму (5) и, значит, пренебрежение меньшим собственным числом матрицы (4) является законным.

Среднее число связанных пар:

$$\bar{N}_{cb} = \left( \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} \right)_{a,a} = \frac{\alpha s}{1 - \alpha \lambda} \left( \frac{\partial \lambda}{\partial s} \right)_a = N \frac{s}{\lambda} \left( \frac{\partial \lambda}{\partial s} \right)_a. \quad (10)$$

Здесь учтена формула (9), и степень полимеризации вновь обозначена просто через  $N$ . Для того чтобы найти  $\bar{N}_{cb}$ , нужно  $a$  выразить через величину, остающуюся постоянной в течение денатурации. Таковой чаще всего является полное число скрепок в системе. В случае pH, однако, сохраняется концентрация свободных ионов водорода в растворе, т. е. величина pH.

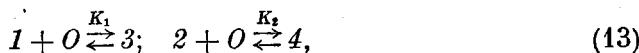
Если известна зависимость  $\bar{N}_{cb}(T)$ , то температура плавления находится из условия:

$$\bar{N}_{cb}(T_m) = \frac{N}{2}, \quad (11)$$

а ширина интервала перехода:

$$\Delta T = \frac{N}{\left| \frac{\partial \bar{N}_{cb}}{\partial T} \right|_{T=T_m}}. \quad (12)$$

Пусть  $D$  — полная концентрация скрепок в растворе (как свободных, так и связанных с ДНК),  $P$  — концентрация нуклеотидов, входящих в состав ДНК. В растворе устанавливается равновесие между свободными и связанными с ДНК скрепками. Если через  $O$  обозначить свободные скрепки (см. рис. 2), через  $K_1$  константу связывания скрепок с денатурированными участками ДНК, а через  $K_2$  константу связывания со спирализованными участками: то протекающие в рассматриваемой системе реакции запишутся в виде:



причем

$$\frac{n_3}{n_1 n_0} = K_1; \quad \frac{n_4}{n_2 n_0} = K_2, \quad (14)$$

где  $n_i$  — концентрация  $i$ -й компоненты в растворе.

Из формулы (3) следует:

$$\bar{N}_3 + \bar{N}_4 = \left( \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln a} \right)_{a,s} = N \frac{a}{\lambda} \left( \frac{\partial \lambda}{\partial a} \right)_s. \quad (15)$$

Формулу (15) можно переписать так, чтобы вместо количества скрепок в определенном состоянии, находящихся на одной молекуле ДНК, стояла концентрация этих скрепок в растворе:

$$n_3 + n_4 = \frac{P}{2} \frac{a}{\lambda} \left( \frac{\partial \lambda}{\partial a} \right)_s. \quad (16)$$

Здесь множитель  $1/2$  в правой части возник вследствие того, что  $P$  — концентрация нуклеотидов, а  $N$  — число пар нуклеотидов. Сохраняющаяся в течение денатурации величина  $D$ , через которую мы хотим выразить  $a$ , равна, учитывая (14):

$$D = n_0 + n_3 + n_4 = n_0(1 + K_1 n_1 + K_2 n_2). \quad (17)$$

Подставляя  $n_3$  и  $n_4$  из (14) в (16), исключая  $n_0$  из полученной при этом формулы и из (17), находим:

$$\frac{2D}{P} \frac{K_1 n_1 + K_2 n_2}{1 + K_1 n_1 + K_2 n_2} = \frac{a}{\lambda} \left( \frac{\partial \lambda}{\partial a} \right)_s. \quad (18)$$

С точностью до членов первого порядка по  $a$  правая часть формулы (18) равна, учитывая (6),  $A(a/\lambda_0)$ . Поэтому имеем:

$$a = \frac{\lambda_0}{A} c^*, \quad (19)$$

где

$$c^* = \frac{2D}{P} \frac{K_1 n_1 + K_2 n_2}{1 + K_1 n_1 + K_2 n_2}. \quad (20)$$

В формулу (20) вместо  $n_1$  и  $n_2$  следует подставить их выражения с точностью до членов нулевого порядка по  $a$ :

$$n_2 = \frac{P}{2} \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s}; \quad n_1 = \frac{P}{2} \left( 1 - \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s} \right). \quad (21)$$

Теперь мы можем исключить  $a$  из выражения для  $\bar{N}_{cb}$ . Именно, подставляем (6) в (10), разлагаем полученное выражение до первого порядка по  $a$  и подставляем затем  $a$  из (19)\*:

$$\bar{N}_{cb} = N \left\{ \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s} + c^* \left( \frac{s}{A} \frac{\partial A}{\partial s} - \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s} \right) \right\}. \quad (22)$$

В отсутствие скрепок ( $D = 0; a = 0$ ) равенство (11) выполняется при  $s = 1$  [5]. Мы рассматриваем задачу, считая малой концентрацию скрепок, связанных с ДНК, т. е. в приближении малых  $a$  (см. (15), (16)). В этом случае равенство (11) будет выполняться при  $s$  близком к единице. Поэтому для нахождения температуры и ширины интервала плавления ДНК в присутствии скрепок достаточно разложить в правой части формулы (22) первое слагаемое до второго порядка по  $\epsilon = s - 1$ , а второе слагаемое до первого порядка. Имеем:

$$\begin{aligned} \bar{N}_{cb} = & \frac{N}{2} \left\{ 1 + \frac{\epsilon}{2V_\sigma} - \frac{\epsilon^2}{4V_\sigma} + \frac{2D}{P} \left[ \frac{p-1}{p+1} \frac{1}{V_\sigma} \frac{PK_1 + PK_2}{4 + PK_1 + PK_2} + \right. \right. \\ & \left. \left. + \frac{\epsilon}{\sigma} \left( 2 \frac{p-1}{p+1} \frac{PK_2 - PK_1}{(4 + PK_1 + PK_2)^2} - \frac{1}{2} \left( \frac{p-1}{p+1} \right)^2 \frac{PK_1 + PK_2}{4 + PK_1 + PK_2} \right) \right] \right\}. \end{aligned} \quad (23)$$

Приравняв это выражение  $N/2$ , находим  $\epsilon_0$  — отклонение  $s$  от единицы, вызванное скрепками. Далее, так как в выражении для  $s$  (см. (4))  $F_1 = U - TS$ , то  $\delta T_m = -(T_0^2/U)\epsilon_0$ , откуда находим изменение температуры плавления, вызванное скрепками ( $T_0$  — температура плавления чистой ДНК). Ширину интервала плавления находим по формуле (см. (12)):

$$\Delta T = \frac{N}{\left| \frac{\partial \bar{N}_{cb}}{\partial \epsilon} \frac{\partial \epsilon}{\partial T} \right|_{T=T_m}}. \quad (24)$$

\* Формула (22) совпадает с формулой для  $\bar{N}_{cb}$ , полученной в [10], только теперь вместо постоянной  $c$  стоит величина  $c^*$ , зависящая от  $s$ .

Окончательно для изменения температуры и ширины интервала плавления получаем \*:

$$\delta T_m = 2 \frac{p-1}{p+1} \frac{PK_1 + PK_2}{4 + PK_1 + PK_2} \frac{T_0^2}{U} \frac{2D}{P} \quad (25)$$

$$\delta\Delta T = \left\{ 4 \left( \frac{p-1}{p+1} \right)^2 \frac{PK_1 + PK_2}{4 + PK_1 + PK_2} + 16 \frac{p-1}{p+1} \frac{PK_1 - PK_2}{(4 + PK_1 + PK_2)^2} - \right. \\ \left. - 8 \sqrt{\sigma} \frac{p-1}{p+1} \frac{PK_1 + PK_2}{4 + PK_1 + PK_2} \right\} \frac{T_0^2}{U} \frac{2D}{P}. \quad (26)$$

При выводе формул (25), (26) многократно использовалось не только неравенство  $|\varepsilon| \ll 1$ , но и более жесткое условие  $|\varepsilon| \ll \sqrt{\sigma}$ . Если бы это условие не предполагалось выполненным, то нельзя было бы разлагать все выражения просто по степеням  $\varepsilon$ , а нужно было бы учитывать, в какой степени входит  $\sqrt{\sigma}$ .

Так как  $|\varepsilon_0| = |\delta T_m| (U / T_0^2)$ , а  $\sqrt{\sigma} \sim \Delta T (U / T_0^2)$  (см. (1)), то получаем следующее условие применимости формул (25), (26):

$$|\delta T_m| \ll \Delta T. \quad (27)$$

Формулы (25), (26) решают поставленную задачу, однако в такой общей форме они громоздки и содержат слишком много параметров. Поэтому целесообразно проводить опыты в условиях, допускающих упрощение этих формул.

Весьма простой и в то же время наиболее интересный вид формулы (25), (26) принимают в случае, когда:

$$PK_1 \text{ или } PK_2 \gg 4. \quad (28)$$

В этом случае имеем:

$$\delta T_m = 2 \frac{p-1}{p+1} \frac{T_0^2}{U} \frac{2D}{P} \quad (29)$$

$$\delta\Delta T = \left[ 4 \left( \frac{p-1}{p+1} \right)^2 - 8 \sqrt{\sigma} \frac{p-1}{p+1} \right] \frac{T_0^2}{U} \frac{2D}{P}. \quad (30)$$

При выполнении неравенства:

$$2 \sqrt{\sigma} \ll \left| \frac{p-1}{p+1} \right| \quad (31)$$

или в ином виде:

$$U \frac{\Delta T}{T_0^2} \left| \frac{\delta T_m}{\delta\Delta T} \right| \ll 1 \quad (32)$$

Формула (30) еще упрощается:

$$\delta\Delta T = 4 \left( \frac{p-1}{p+1} \right)^2 \frac{T_0^2}{U} \frac{2D}{P}. \quad (33)$$

Выполнение неравенства (28) означает, что скрепки удерживаются на ДНК в течение почти всей денатурации. Как было показано [10], к формулам (29), (30) приводит рассмотрение модели неподвижных скрепок, расположенных на равных расстояниях друг от друга на молекуле ДНК.

Характерной особенностью формулы (33) является то, что в нее не входит фактор кооперативности  $\sigma$ . Отсутствие  $\sigma$  в формуле (33) дает возможность ширине интервала плавления сильно меняться с увеличением концентрации скрепок. Это изменение может даже превышать изменение температуры плавления (29).

\*  $\delta T_m = T_m(D) - T_0$ ;  $\delta\Delta T = \Delta T(D) - \Delta T(0)$ .

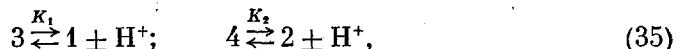
Развитая теория применима, строго говоря, только к однородным по составу молекулам. Естественные же молекулы ДНК состоят из двух сортов пар оснований (А—Т- и Г—Ц-пар), причем, как правило, количество тех и других близко друг к другу. Если бы А—Т- и Г—Ц-пары строго чередовались и не было бы последовательностей, состоящих из большого числа идущих подряд одинаковых пар, то рассмотрение было бы полностью справедливо, а под  $U$  нужно было бы понимать среднюю энергию разрыва пары оснований:

$$U = U_{\text{AT}}(1 + \alpha) + U_{\text{GC}}\alpha, \quad (34)$$

где  $\alpha$  — доля Г—Ц-пар. В действительности, однако, в естественных ДНК имеются сгустки тех и других пар. Как указал Гейдушек [13], учет таких сгустков существенен для понимания формы кривых плавления ДНК. Причем они влияют на ход кривых плавления на загибах при доле разорванных пар, близкой к нулю и к ста процентам. Однако очень сомнительно, чтобы такие неоднородности оказывали заметное влияние на ход кривой плавления в окрестности температуры плавления, а именно эта область кривой существенна для рассматриваемой задачи. Следовательно, вероятнее всего, неоднородности в распределении пар оснований не оказывают существенного влияния на рассматриваемые здесь эффекты.

Заметим, что формулы (29), (30) могут быть применены для вычисления зависимости температуры и ширины интервала плавления от доли Г—Ц-пар в ДНК, когда содержание Г—Ц мало или, наоборот, когда мало А—Т-пар. При малом количестве Г—Ц:  $2D/P = \alpha$ ;  $U = U_{\text{AT}}$ ;  $\Delta = U_{\text{GC}} - U_{\text{AT}}$ .

Как известно [9], при отличных от нейтрального значениях рН происходит ионизация оснований, в результате чего уменьшается энергия связи между основаниями в паре. Можно рассматривать ионизованную пару, как пару со скрепкой (точнее с распоркой), для которой  $\Delta < 0$  и  $p < 1$ . В опытах с рН в раствор вводится специальный буфер, поддерживающий постоянную концентрацию свободных ионов водорода. Поэтому, в отличие от ранее рассмотренного в этой статье случая, постоянной при денатурации является не полная концентрация скрепок, а концентрация свободных скрепок в растворе (т. е. рН). Пусть  $K_1$  — константа ионизации денатурированных участков, а  $K_2$  — нативных. Аналогично уравнениям (13), пишем:



$$\frac{n_3}{n_1} = 10^{\pm(pK_1 - pH)} \equiv x_1; \quad \frac{n_4}{n_2} = 10^{\pm(pK_2 - pH)} \equiv x_2, \quad (36)$$

где плюс относится к кислым, а минус — к основным рН. Подставляя  $n_3$  и  $n_4$  из (36) в (16), а затем  $n_1$  и  $n_2$  из (21), получим:

$$x_1 \left( 1 - \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s} \right) + x_2 \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s} = a \frac{A}{\lambda_0}. \quad (37)$$

Сравнивая (37) с (19), видим, что в данном случае

$$c^* = x_1 \left( 1 - \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s} \right) + x_2 \frac{s}{\lambda_0} \frac{\partial \lambda_0}{\partial s}. \quad (38)$$

Подставляя (38) в (22) и разлагая получившееся при этом выражение по  $\varepsilon$ , получим окончательно:

$$\delta T_m = \frac{p-1}{p+1} \frac{T_0^2}{U} (x_1 + x_2); \quad (39)$$

$$\delta \Delta T = \left\{ 4 \frac{p-1}{(p+1)^2} (px_1 - x_2) - 4V \sqrt{\frac{p-1}{p+1}} (x_1 + x_2) \right\} \frac{T_0^2}{U}. \quad (40)$$

В действительности ([9])  $x_2 \ll x_1$ . Кроме того, при значениях рН, мало отличающихся от нейтрального, ширина интервала плавления не зависит

от  $pH$  [14], поэтому  $p$  нужно положить близким нулю. Тогда получим  $\delta T_m \approx -(T_0^2/U)x_1$ ;  $\Delta T \approx 0$ . Эта формула для  $\delta T_m$  совпадает с той, в которую переходит при малых  $x_1$  выражение, полученное в работах [8, 9] и применявшееся в [9, 14] для нахождения  $U$  из экспериментальных данных. Следует отметить, однако, что неоднородность состава ДНК может играть здесь существенную роль, так как А—Т и Г—Ц-пары имеют сильно отличающиеся  $pK$  [9].

Рассмотрим теперь, как должны вести себя параметры денатурации для некоторых скрепок, количественные опыты с которыми в нужных условиях еще не проводились.

**Митомицин.** Митомицин производит химическую спивку комплементарных оснований [15]. Поэтому для него  $p = \infty$  и  $\delta T_m = 2(T_0^2/U)c$ ;  $\Delta T = 4(T_0^2/U)c$ , где  $c$  — концентрация митомицина на ДНК. Таким образом, ширина интервала плавления должна меняться в два раза быстрее с увеличением концентрации этого антибиотика, чем температура плавления.

**Формальдегид.** Формальдегид [16] связывается с денатурированной структурой ДНК. Следовательно, для него  $K_2 \approx 0$ ;  $p$  близко нулю и, кроме того, всегда, по-видимому,  $pK_1 \ll 1$ . В этом случае, как легко видеть, формулы (25), (26) становятся аналогичными тем, которые получаются для  $pH$ :  $\delta T_m \approx (T_0^2/U)K_1D$ ;  $\Delta T \approx 0$ . Следует отметить, что такая ситуация будет только в том случае, если при каждой температуре достигается равновесие. Так как скорости как прямой, так и обратной реакций для формальдегида весьма малы [16], то это трудно достижимое условие.

Автор выражает глубокую признательность А. А. Веденову и Ю. С. Лазуркину за руководство работой.

#### Выводы

Рассмотрено изменение температуры и ширины интервала плавления ДНК в зависимости от концентрации скрепок. Выводятся формулы для различных частных случаев, когда скрепками являются: молекулы красителя, ионизованные основания, Г—Ц-пары и т. д.

Поступила в редакцию  
10 VII 1964

#### ЛИТЕРАТУРА

- Л. Ландау, Е. Лифшиц, Статистическая физика, ГИТТЛ, М.—Л., 1951.
- E. Ising, Z. Phys., **31**, 253, 1925.
- Н. А. Крамерс, G. H. Wannier, Phys. Rev., **60**, 252, 263, 1941.
- М. В. Волькенштейн, Биофизика, **6**, 257, 1961.
- B. H. Zimm, J. K. Bragg, J. Chem. Phys., **31**, 526, 1959.
- J. Applequist, J. Chem. Phys., **38**, 934, 1963.
- G. Felsenfeld, G. Sandeen, P. H. von Hippel, Proc. Nat. Acad. Sci., **50**, 644, 1963.
- L. Peller, J. Phys. Chem., **63**, 1199, 1959.
- Т. М. Бирштейн, Биофизика, **7**, 513, 1962.
- М. Д. Франк-Каменецкий, Докл. АН СССР, **157**, 187, 1964.
- S. Lifson, A. Roig, J. Chem. Phys., **34**, 1963, 1961.
- В. И. Пермогоров, Ю. С. Лазуркин, Биофизика, **10**, 17, 1965.
- E. P. Geiduschek, J. Mol. Biol., **4**, 467, 1962.
- Б. Н. Сухоруков, Ю. Ш. Мошковский, Т. М. Бирштейн, В. Н. Лысов, Биофизика, **8**, 294, 1963.
- V. N. Iuег, W. Szymbalski, Proc. Nat. Acad. Sci., **50**, 355, 1963.
- L. Grossman, S. Levine, W. Allison, J. Mol. Biol., **3**, 47, 1961.

#### THEORY OF THE HELIX—COIL TRANSITION OF DESOXYRIBONUCLEIC ACID WITH ADDITIONAL INTERCHAIN BONDS

*M. D. Frank-Kamenetskii*

Summary

The changes in the temperature and width of the melting region of DNA depending on the concentration of pinders («clips») has been considered. Formulas have been derived for the particular cases when the clips are dye molecules, ionized bases, G—C pairs, etc.