

Проведенные измерения позволяют рассчитать вклады C_i в полную теплоемкость C_p отдельных фрагментов, составляющих молекулы ПАК и ПАИ. При этом во всех случаях должно быть выполнено условие

$$C_p = \sum_i n_i C_i \quad (n_i - \text{число фрагментов типа } i).$$

Значения инкрементов теплоемкости C_i для отдельных фрагментов исследованных полимеров приведены в табл. 3. С помощью этих инкрементов, а также данных, содержащихся в работе [2], можно прогнозировать величины мольной теплоемкости C_p для намеченных к синтезу новых полимеров со структурой, включающей соответствующие фрагменты цепи в различных комбинациях.

Следует отметить, что принцип аддитивности вкладов отдельных атомов, групп атомов или атомных связей нашел применение также в работах [7, 8] при исследовании температур переходов (температура стеклования и температура плавления) различных полимеров, в том числе полиамидов и полиимидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киппер А. И., Котельников Г. В., Эскин В. Е. Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 5, с. 1173.
2. Эскин В. Е., Киппер А. И. Высокомолек. соед. Б, 1977, т. 19, № 12, с. 883.
3. Котон М. М., Кудрявцев В. П., Склизкова В. П., Бессонов М. И., Смирнова В. Е., Беленький Б. Г., Колегов В. И. Ж. прикл. химии, 1976, т. 49, № 2, с. 387.
4. Эскин В. Е., Барановская И. А., Котон М. М., Кудрявцев В. В., Склизкова В. П. Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 10, с. 2362.
5. Birshtein T. M., Zubkov V. A., Milevskaya I. S., Eskin V. E., Baranovskaya I. A., Koton M. M., Kudryavtzev V. V., Sklizkova V. P. Europ. Polymer J., 1977, v. 13, № 5, p. 375.
6. Eskin V. E., Baranovskaya I. A., Koton M. M., Kudryavtzev V. V., Sklizkova V. P. Z. Polymerforsch., 1977, B, 28, № 11/12, S. 617.
7. Виноградова С. В., Слонимский Г. А., Выгодский Я. С., Аскадский А. А., Мжельский А. И., Чурочкина Н. А., Коршак В. В. Высокомолек. соед. А, 1969, т. 11, № 12, с. 2725.
8. Кузнецов Н. П. Дис. на соискание уч. ст. канд. физ.-мат. наук. Л.: ИВС АН СССР, 1979.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
3.II.1981

УДК 541.64:532.72

ПОВЕДЕНИЕ РАЗБАВЛЕННЫХ РАСТВОРОВ ДНК В ТУРБУЛЕНТНОМ РЕЖИМЕ ТЕЧЕНИЯ

Несын Г. В., Шаховская Л. И., Шибаев В. П.

Изучение эффекта снижения гидродинамического сопротивления растворов полимеров (эффект Томса) — один из интересных аспектов реологии разбавленных растворов полимеров. Хотя это явление широко применяется на практике, теоретическая интерпретация его до сих пор отсутствует. В последнее время усилия многих авторов направлены на изучение взаимосвязи молекулярных параметров макромолекул с их способностью снижать гидродинамическое сопротивление растворов в турбулентном режиме течения. Большое внимание уделяется исследованию влияния конформации макромолекул на турбулентное течение растворов. Было установлено, что для синтетических полиэлектролитов наиболее благоприятной конформацией, способствующей снижению гидродинамического сопротивления, является развернутая конформация набухшего полигона. Есть такие данные, позволяющие говорить о существенной роли упорядоченной

вторичной структуры макромолекул в растворе [1, 2]. Так, в работе [2] было показано, что изотактический полиметилметакрилат, имеющий в растворе спиральную конформацию [3], — более эффективный агент снижения гидродинамического сопротивления, чем его атактический аналог. Однако данные относительно влияния степени спиральности макромолекул ДНК на ее способность снижать гидродинамическое сопротивление являются противоречивыми. Так, например, авторы работы [1] наблюдали резкое падение гидродинамического сопротивления растворов дезоксирибонуклеиновой кислоты в тех областях pH, где происходит ее денатурация. В то же время в работе [4] описан факт незначительного увеличения гидродинамического сопротивления раствора ДНК, прогретого при 90°, по сравнению с раствором, не подвергнутым термообработке.

В настоящей работе на примере тепловой денатурации изучено влияние конформационного перехода спираль — клубок ДНК на способность ее макромолекул снижать гидродинамическое сопротивление. Представлены результаты по изучению поведения водно-этанольных растворов ДНК в турбулентном режиме течения при концентрациях этанола, близких к порогу осаждения ДНК.

В экспериментах использовали ДНК из селезенки крупного рогатого скота. Молекулярная масса, определенная вискозиметрически, составляла $3 \cdot 10^6$. Относительную вязкость растворов измеряли на вискозиметре Оствальда. Величину снижения гидродинамического сопротивления Г (в процентах) определяли на капиллярном турбулентном реометре и рассчитывали по формуле

$$\Gamma = 100 \left(1 - \frac{\tau_1}{\tau_2} \right),$$

где τ_1 — время истечения под давлением фиксированного объема раствора; τ_2 — время истечения фиксированного объема растворителя при том же давлении.

Значение числа Рейнольдса было строго постоянным и составляло для водных систем 15 000, для водно-этанольных — 7000. Измерения величины Г, а также оптической плотности растворов ДНК, подвергнутых термообработке, проводили при 25°. Чтобы исключить обратимые эффекты денатурации при охлаждении, использовали метод формальдегидной фиксации [5].

К прогретому в течение 20 мин при определенной температуре раствору ДНК в 0,1 н. NaCl добавляли подогретый до этой же температуры раствор формальдегида так, чтобы концентрация формальдегида в смеси составляла 3%, а концентрация соли осталась постоянной. Полученный раствор быстро охлаждали на ледяной бане до комнатной температуры. Формальдегид, быстро реагируя с амино- и иминогруппами оснований, полностью подавляет ренатурацию ДНК, фиксируя конформацию при данной температуре [6].

Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрически.

Спирто-водно-солевые растворы ДНК получали смешением водно-солевого раствора ДНК и спирта, содержащих одинаковое количество ионов Na^+ . Спирт добавляли по каплям при постоянном перемешивании; его концентрацию контролировали по плотности раствора. Следует отметить, что при добавлении больших количеств этанола ($>50\%$) мы наблюдали частичное выпадение высокомолекулярных фракций ДНК в осадок. Чтобы концентрация и молекулярная масса ДНК во всех водно-этанольных растворах были постоянными, сначала готовили раствор с наибольшим содержанием этанола, его фильтровали и определяли концентрацию ДНК, а затем равные объемы исходного раствора разбавляли фиксированными объемами смесей вода — этанол.

На рис. 1 представлен график зависимости относительного поглощения растворов ДНК при 260 нм от температуры (кривая 1). Поглощение с длиной волны 250 нм обусловлено входящими в состав ДНК основаниями. Для нативной формы ДНК это поглощение намного ниже, чем в эквимольном растворе свободных оснований, поскольку параллельная укладка оснований в стопку существенно его ослабляет. Переход спираль — клубок частично возмещает это уменьшение поглощения, поскольку основания при этом уже лишены строго параллельной укладки. Таким образом, плавление ДНК сопровождается возрастанием поглощения раствора [7]. Это обстоятельство используется для качественной оценки глубины перехода спираль — клубок. Как видно из рисунка, плавление ДНК сопровождается

резким уменьшением величины Γ (кривая 2). Другими словами, спиральная конформация ДНК является гораздо более предпочтительной для снижения гидродинамического сопротивления. Эти результаты согласуются с данными работы [1]. Что же касается незначительного изменения турбулентного сопротивления раствора ДНК, прогретого при 90° (по сравнению с раствором, не подвергнутым термообработке), которое наблюдали авторы работы [4], то им, вероятно, не удалось избежать частичной денатурации ДНК при охлаждении раствора.

Не следует игнорировать значительное изменение жесткости цепи ДНК в процессе денатурации. Известно, что денатурированная однокепочная ДНК имеет гораздо большую гибкость, чем двухцепочная ДНК в-native форме. Однако, поскольку попытки установить корреляцию между жесткостью цепи и способностью синтетических полимеров снижать турбулентное сопротивление к успеху пока не привели, мы склонны связывать падение величины снижения гидродинамического сопротивления растворов с уменьшением степени спиральности макромолекулы ДНК.

Была обнаружена также высокая устойчивость к деградации растворов ДНК. Раствор, подвергнутый десятикратному истечению через капилляр в турбулентном режиме течения, обладал почти таким же гидродинамическим сопротивлением, как и не подвергнутый деградации. На рис. 2 представлена зависимость величины Γ от количества испытаний. Высокую стабильность растворов ДНК можно объяснить тем, что вследствие высокоупорядоченной и динамичной вторичной структуры ДНК сдвиговые напряжения распределяются равномерно вдоль всей цепи макромолекулы в процесс турбулентного течения раствора.

На рис. 3 представлены результаты по исследованию водно-этанольных растворов ДНК. Кривая 1 заимствована из работы Фрисман и сотр. [8]. По оси ординат отложено отношение динамооптической постоянной $[n]$

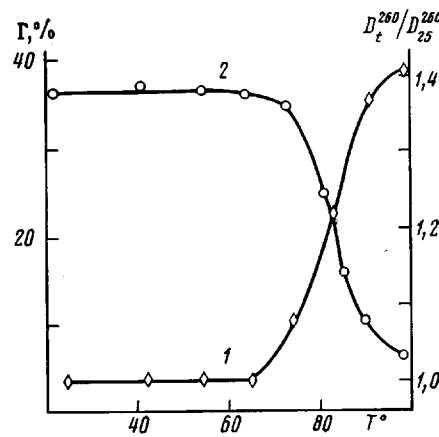


Рис. 1. Зависимость относительного поглощения (1) и величины Γ (2) растворов ДНК в 0,1 н. NaCl от температуры; 2 – концентрация ДНК 0,03%

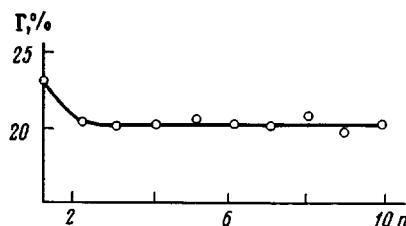


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость величины Γ 0,02%-ного раствора ДНК в 0,1 н. NaCl от количества испытаний n

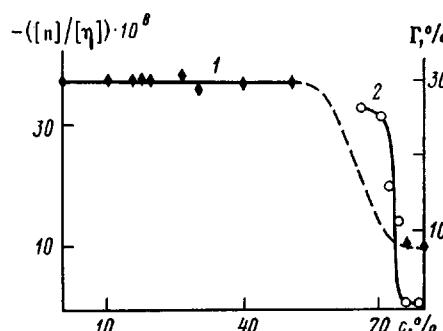


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость величины отношения $[n]/[\eta]$ (1) и Γ (2) от концентрации этанола в системе ДНК – вода – этанол; 2 – концентрация ДНК 0,05%; концентрация NaCl $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л

к характеристической вязкости $[\eta]$. Величина $[n]$ рассчитывается из данных по двойному лучепреломлению в потоке. Наблюдаемое изменение отношения $[n]/[\eta]$ при концентрации этанола 75 и 80% свидетельствует, как считают авторы, о конформационном переходе во вторичной структуре молекулы ДНК.

Есть также данные, показывающие, что при концентрациях этанола, близких к порогу полного осаждения ДНК (70–80%), макромолекулы ее претерпевают кооперативный переход из спиральной конформации *B*-формы (нативное состояние) в спиральную конформацию *A*-формы, где под влиянием среды ослаблены гидрофобные стэкинг-взаимодействия [9]. Конформации *A*- и *B*-форм отличаются степенью закрученности двойной спирали ДНК.

В этом же интервале концентраций этанола (70–75%) мы наблюдали резкое уменьшение величины Γ (кривая 2). Однако принимая во внимание тот факт, что в этом случае деспирализации макромолекул ДНК не происходит, мы полагаем, что причиной падения эффекта является не собственно конформационный переход, а сопровождающая его агрегация макромолекул. В пользу такого предположения говорят следующие факты. Во-первых, установлено, что агрегация макромолекул отрицательно сказывается на эффекте Томса [10]. Во-вторых, *B*→*A*-переход наблюдается только в таких смесях вода — неэлектролит, где добавление последнего вызывает осаждение ДНК (вода — этанол, вода — диоксан, вода — этанол — изопропанол и др.) [11]. В системе вода — метанол *B*→*A*-переход не наблюдается (метанол не осаждает ДНК), так что вполне вероятно, что агрегация макромолекул ДНК является необходимым условием *B*→*A*-перехода. В-третьих, падение величины Γ в этом случае является обратимым.

Таким образом, в работе показано, что спиральная конформация ДНК в растворе является наиболее предпочтительной для снижения гидродинамического сопротивления растворов. Явление агрегации макромолекул в растворе может иметь решающее значение для проявления эффекта Томса. Предположение о преимуществе спиральной конформации делалось и ранее авторами работы [12], однако оно не подкреплялось убедительным экспериментальным материалом. Эксперименты с изотактическим ПММА и ДНК делают, на наш взгляд, это предположение более аргументированным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hand I. H., Williams M. C. Nature, 1970, v. 227, p. 136.
2. Шаховская Л. П., Несын Г. В., Воронин Н. И. Высокомолек. соединения А, 1980, т. 22, № 5, с. 989.
3. Kusanagi Hiroshi, Tadonogo Hiroguki, Chatani Yozo. Macromolecules, 1976, v. 9, p. 531.
4. Hoyt J. W. Nature, 1966, v. 211, p. 170.
5. Кушнер В. П., Захарова Н. В. Молек. биол., 1969, т. 3, с. 384.
6. Малинина Л. В., Косаганов Ю. Н., Лазуркин Ю. С. Молек. биол., 1976, т. 10, № 6, с. 1349.
7. Дэвидсон Дж. Биохимия нуклеиновых кислот. М.: Мир, 1976, с. 155.
8. Фрисман Э. В., Веселков А. Н., Слоницкий С. В., Воробьев В. Н. Докл. АН ССРР, 1974, т. 214, № 2, с. 468.
9. Иванов В. П., Минченкова Л. Е. и др. Тез. докл. IV Международного биофизического конгресса. М.: 1972, т. 2, с. 197.
10. Parker C. A., Joyce T. A. J. Appl. Polymer Sci., 1974, v. 18, p. 155.
11. Маленков Г. Г., Миносян Е. А. Молек. биол., 1977, т. 11, № 2, с. 352.
12. Ляшев К. Ф., Федоркин И. М., Дерягин Б. В. Инженерно-физический ж., 1974, т. 27, № 5, с. 860.

Томский политехнический институт
им. С. М. Кирова
Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
15.II.1981