

УСПЕХИ ФИЗИЧЕСКИХ НАУК

541.6:513.83

**ТОПОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФИЗИКИ ПОЛИМЕРОВ:
ТЕОРИЯ И ЕЕ БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ****М. Д. Франк-Каменецкий, А. В. Вологодский**

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение	641
2. Кольцевые замкнутые ДНК	643
а) Кольцевая форма ДНК и ее биологическая роль (643). б) Суперспирализация и ее влияние на свойства КЗ ДНК (644).	
3. Теория узлов и зацеплений	647
а) Статистический интеграл для замкнутых цепей (647). б) Классификация узлов и зацеплений (648). в) Алгебраические инварианты узлов и зацеплений (651).	
4. Теория полос	655
5. Расчеты методом Монте-Карло	658
а) Методы расчета (658). б) Результаты расчетов (661).	
6. Приложения теории к кольцевым ДНК	664
а) Распределение кольцевых замкнутых ДНК по топологомерам (665). б) Узлы и катенаны (668).	
7. Заключение	670
Цитированная литература	671

1. ВВЕДЕНИЕ

Изучение длинных полимерных молекул выдвинуло целый ряд теоретических проблем, которые уже давно вошли в круг задач статистической физики (см., например, ^{1,2}). Очень плодотворной оказалась аналогия между полимерной цепью и броуновской траекторией. В самом деле, конфигурации, принимаемые простейшей моделью полимерной цепи, в которой удаленные вдоль цепи звенья могут беспрепятственно проходить друг сквозь друга, эквивалентны траекториям случайного блуждания. Такая модель служит отправной точкой статистической физики полимеров (см. ³⁻⁷). Полимерная цепь отличается от броуновской траектории своей телесностью, т. е. тем, что в ней запрещены самопересечения. Это приводит к хорошо известному эффекту разбухания полимерных клубков, теоретическому изучению которого посвящена обширная литература (см. обзоры ⁶⁻⁸ и цитируемые в них работы).

Эффекты совершенно иного рода, также обусловленные телесностью полимерной цепи, должны возникать при рассмотрении статистической физики кольцевых полимеров. В самом деле, конфигурации, которые может принимать кольцевая полимерная цепь или система кольцевых цепей, ограничены лишь топологически эквивалентными состояниями, т. е. теми, которые могут быть получены друг из друга посредством непрерывной деформации без самопересечений. Такого рода топологические ограничения создают совершенно новые проблемы при теоретическом

анализе поведения систем из замкнутых цепей, требующие для своего решения применения специального математического аппарата.

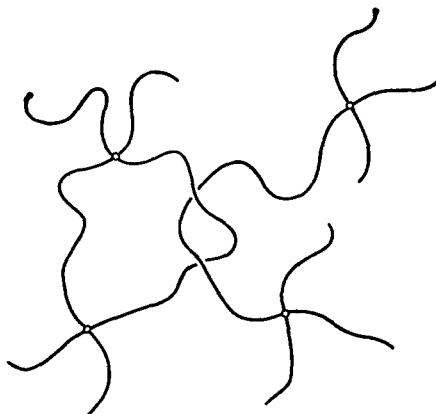


Рис. 1. Топологическая «сшивка» в полимерной сетке. Кружками обозначены обычные, химические сшивки.

В настоящем обзоре будет дан анализ подходов, предложенных с целью преодоления указанных трудностей и позволяющих решать целый ряд задач статистической физики полимерных цепей с учетом топологических ограничений. Интерес к подобного рода задачам обусловлен рядом

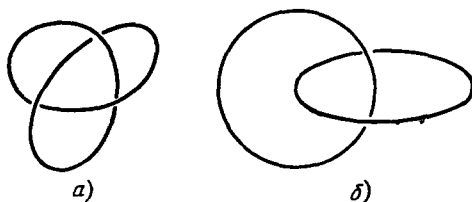


Рис. 2. Примеры топологически нетривиальных структур из кольцевых полимерных цепей: узел (а) и зацепление или катенан (б).

причин. Во-первых, в последние годы все большее внимание привлекает возможное влияние запутывания полимерных цепей на механические и другие свойства полимерных сеток⁹⁻¹² (рис. 1). Во-вторых, определен-

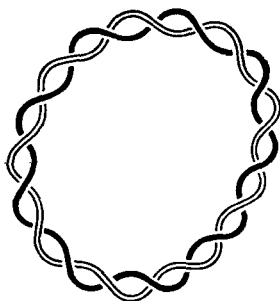


Рис. 3. Схематическое изображение кольцевой замкнутой ДНК.

Каждая из двух комплементарных цепей двойной спирали является замкнутой. В результате цепи оказываются зацепленными. Количественной мерой зацепления служит величина Lk , равная числу раз, которое одна цепь протыкает поверхность, натянутую на другую цепь (для изображенного на рисунке случая $Lk = 9$). В реальных случаях $Lk \gg 10^2$.

ный интерес имеет чисто химическая проблема синтеза полимерных молекул, имеющих форму узла или зацепленных друг за друга полимерных молекул¹³⁻¹⁵ (катенанов) (рис. 2). В-третьих, и это самое важное, в последние годы выяснилось, что кольцевые молекулы играют очень большую

роль в биологии. Именно, оказалось, что практически всегда молекулы ДНК функционируют в клетке в кольцевой замкнутой форме. Иными словами, функционирующая молекула ДНК представляет собой две замкнутые полимерные цепи, к тому же образующие друг с другом зацепление очень высокого порядка (рис. 3). Существование таких структур выдвигает целый ряд интереснейших топологических проблем, от решения которых зависит понимание физических и, в конечном счете, биологических свойств молекул ДНК. Рассмотрению этих проблем будет уделено в данном обзоре значительное внимание.

2. КОЛЬЦЕВЫЕ ЗАМКНУТЫЕ ДНК

а) Кольцевая форма ДНК и ее биологическая роль

Основным стимулом развития теории, изложению которой посвящен данный обзор, было открытие кольцевых ДНК. Напомним, что молекулы ДНК, в которых заключена вся информация о строении живых организмов, состоят из двух полимерных цепей, связанных друг с другом слабыми, нековалентными взаимодействиями. Эти цепи образуют двойную спираль, в которой на виток приходится $\gamma_0 \approx 10$ мономерных звеньев (пар оснований). На рис. 4 приведено изображение объемной модели фрагмента молекулы ДНК. Реальные ДНК содержат от нескольких тысяч до миллиардов мономерных звеньев. Первоначально основное внимание было сосредоточено на изучении свойств линейных молекул ДНК, поскольку именно эту форму ДНК удавалось выделять из клеток и вирусных частиц. Обсуждению физических исследований таких ДНК посвящен ряд обзоров (см., например, ¹⁶⁻¹⁸).

В 1963 г. было неожиданно обнаружено, что в некоторых вирусах ДНК существует в кольцевой замкнутой (КЗ) форме. В этом новом состоянии две одинокочные цепи, из которых состоит ДНК, замкнуты каждая на себя. Схематически КЗ ДНК изображена на рис. 3. Видно, что две комплементарные нити оказываются в КЗ ДНК зацепленными, причем они образуют зацепление высокого порядка (порядка N/γ_0 , где N — число пар в ДНК). Первоначально этому открытию не придавали большого значения, так как считали такую форму ДНК экзотической. Однако с течением времени КЗ форма ДНК обнаруживалась все в большем числе организмов. В настоящее время общепризнано, что именно эта форма ДНК является типичной для простейших, а также для цитоплазматической ДНК животных. Также большинство вирусных ДНК в ходе заражения клеток проходят стадию КЗ формы. Столь широкое распространение такой формы ДНК в природе обусло-

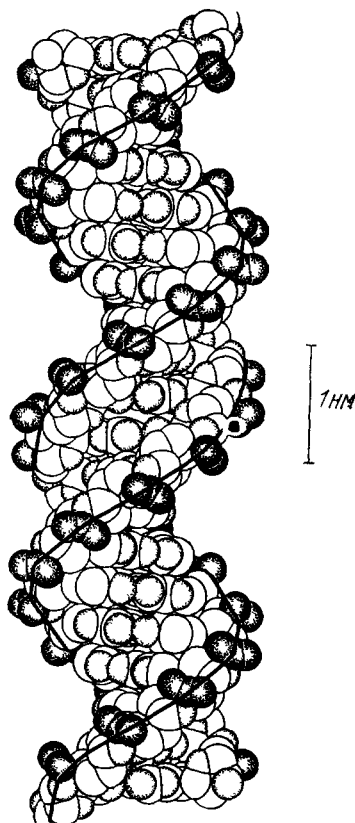


Рис. 4. Пространственная модель участка двойной спирали ДНК. Темные кружки, соединенные (для наглядности) винтовыми линиями, — фосфатные группы. Азотистые основания, в последовательности которых записана генетическая информация, находятся внутри. На виток спирали приходится 10 пар оснований

вило интерес к ее структуре и свойствам, проявляемый в последние годы (см. обзор¹⁹).

Открытие КЗ ДНК привело к постановке принципиально новых проблем, поскольку оказалось, что многие физические свойства КЗ формы радикально отличаются от свойств линейной формы. Отличие в свойствах этих двух форм ДНК вовсе не обусловлено тем, что в одном случае есть концевые эффекты, а в другом их нет. Они затрагивают все участки молекулы и целиком обусловлены топологическими ограничениями, возникающими в КЗ форме ДНК. Топологические ограничения состоят в том, что порядок зацепления двух комплементарных цепей должен быть строго неизменным. Очевидно эти топологические ограничения немедленно снимаются после разрыва хотя бы одной из цепей. Поэтому особые свойства КЗ ДНК исчезают не только при переводе ее в линейную форму, но и при образовании открытой кольцевой формы, т. е. формы, в которой одна из нитей разорвана, а вторая остается замкнутой в кольцо.

б) Суперспирализация и ее влияние на свойства КЗ ДНК

Наличие топологического инварианта у КЗ ДНК приводит к появлению нового физического параметра, характеризующего эту форму и определяющего многие ее свойства. Этот параметр вводится следующим образом. Обозначим через Lk порядок зацепления двух комплементарных цепей. Эта величина представляет собой алгебраическое число пересечений одной цепью поверхности, натянутой на вторую цепь (см. также гл. 4). Числом супервитков КЗ ДНК называется величина

$$\tau = Lk - \frac{N}{\gamma_0}, \quad (1)$$

где N — число пар оснований в ДНК, а γ_0 — число пар оснований, приходящихся на один виток двойной спирали в линейной ДНК, при заданных условиях. Часто используется величина плотности супервитков, определяемая как $\sigma = 10\tau/N$. Во всех случаях, когда $\tau \neq 0$, говорят, что КЗ ДНК суперспирализована. Ясно, что в суперспиральном состоянии двойная спираль в целом оказывается напряженной. Это напряжение может приводить как к изменению фактического числа пар оснований, приходящегося на один виток двойной спирали в КЗ ДНК, так и к регулярному изгибанию оси спирали в пространстве (рис. 5). Последняя возможность и обусловила термин «суперспирализация», так как структуры типа изображенных на рис. 5 часто наблюдаются для КЗ ДНК под электронным микроскопом.

Нативная, выделенная из клеток ДНК оказывается не только кольцевой замкнутой, но и суперспирализованной. Причем суперспирализация всегда имеет один и тот же знак — она отрицательна и составляет величину: $-\sigma = 0,03-0,10$ (см. ¹⁹). Это означает, что КЗ ДНК в клетке несколько раскручена по сравнению с линейной формой двойной спирали в тех же условиях. Долгое время дискутировался вопрос о том, необходима ли отрицательная суперспирализация для нормального функционирования ДНК или она возникает в процессе выделения ДНК. В настоящее время надежно доказано, что отрицательная суперспирализация действительно необходима для нормального функционирования КЗ ДНК в клетке. Так, основной биологический процесс, происходящий с ДНК, ее репликация (т. е. образование двух дочерних молекул), не происходит, если КЗ ДНК не является отрицательно суперспирализованной. Более того, оказалось, что в клетках существует специальный фермент, ДНК-гираза, который

создает в КЗ ДНК отрицательную суперспирализацию. Этот фермент является лишь одним из представителей целого класса ферментов, способных менять топологию ДНК, и получивших общее название топоизомераз (см. также гл. 6).

Напряжения, возникающие в отрицательно суперспирализованной КЗ ДНК, приводят к тому, что в этих ДНК значительно облегчено образование расплетенных участков, т. е. участков, в которых разорваны слабые связи между двумя комплементарными цепями, образующими двойную спираль. В самом деле, в расплетенных участках нити не закручены

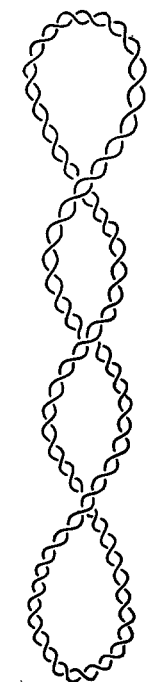


Рис. 5. Суперспиральная КЗ ДНК.

Так выглядит ДНК, аккуратно выделенная из клетки. Суперспирализация всегда отрицательна.

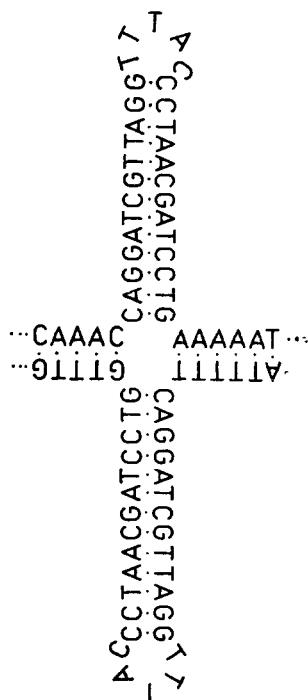


Рис. 6. Крестообразная структура, которая может возникать в КЗ ДНК.

Для образования такого рода структур необходима отрицательная суперспирализация, а также особая последовательность нуклеотидов, обладающая осью симметрии второго порядка.

друг относительно друга (подробнее см. ¹⁶) и поэтому образование раскрытых участков снимает напряжение в остальной части молекулы. Раскрытие доли пар θ в ДНК такой, что $\theta = -(\sigma\gamma_0/10) \approx -\sigma$, полностью снимает напряжение. Однако дальнейшее раскрытие ДНК приводит к тому, что напряжение возникает вновь.

Таким образом, двойная спираль в отрицательно суперспирализованной КЗ форме ДНК существенно ослаблена по сравнению с линейной или кольцевой замкнутой, но не суперспиральной формой. Это проявляется на опыте в том, что отрицательно суперспирализованная КЗ ДНК значительно более, чем другие формы, подвержена модификации многими химическими агентами, в частности мутагенами и канцерогенами, а также обладает повышенным сродством к ряду важных белков, например, таких, как РНК-полимераза, которая осуществляет считывание генетической информации с молекулы ДНК.

Образование расплетенных участков — это не единственный способ снятия напряжения в КЗ ДНК. Отрицательная суперспирализация может быть также снята путем образования крестообразных структур в участках двойной спирали, в которых последовательность оснований обладает осью симметрии второго порядка (рис. 6). Еще один способ — это связывание с ДНК молекул (лигандов), которые уменьшают угол поворота между соседними парами оснований.

Этот эффект используется для измерения величины τ (или σ). Метод основан на том, что по мере снятия напряжений в отрицательно суперспирализованной КЗ ДНК при связывании с ней все большего числа молекул

лиганда, ДНК «расправляется», т. е. ее подвижность уменьшается. Затем, после того как число связанных молекул превысит величину

$$\mu = \frac{360}{\varphi} \tau \quad (2)$$

(φ — изменение угла между соседними парами при вклинивании между ними молекулы лиганда), напряжения в ДНК вновь начнут расти и подвижность будет увеличиваться. В результате кривая зависимости, например, константы седиментации от числа связанных молекул лиганда имеет минимум (рис. 7). Определяя значение μ в минимуме и подставляя в формулу (2), находят τ , если известно значение φ . Для представ-

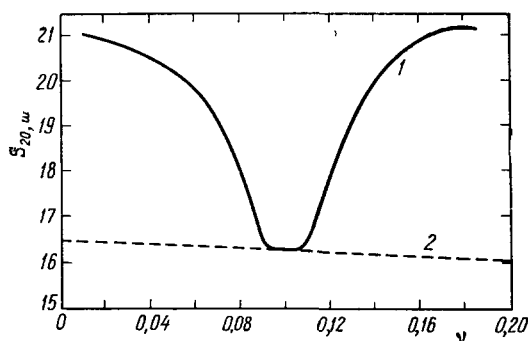


Рис. 7. Зависимость константы седиментации кольцевой ДНК из опухолеродного вируса SV 40 от числа связанных с полимером молекул лиганда (бромистого этидия), приходящегося на одну пару оснований ($v = \mu/N$).

Кривая 1 относится к кольцевой замкнутой форме, кривая 2 — к открытой кольцевой форме (из работы Бауэра и Винограда⁴⁴).

ленных на рис. 7 данных, где в качестве лиганда использовался бромистый этидий, $\varphi = -26^\circ$.

В последние годы получил распространение еще и другой способ определения числа витков суперспирали. Он основан на использовании метода электрофореза в геле. Метод обладает столь высокой разрешающей способностью, что молекулы, отличающиеся по τ на единицу, дают отдельные полосы. Применение метода гель-электрофореза к изучению КЗ ДНК привело к появлению целой серии замечательных экспериментальных работ. Результаты некоторых из этих работ будут приведены и обсуждены, в свете изложенной в данном обзоре теории, в гл. 6.

Разработка очень чувствительных и строго количественных методик изучения КЗ ДНК позволила реализовать уникальные возможности, заложенные в свойствах этой формы ДНК, и привела к тому, что КЗ ДНК стала мощным инструментом изучения свойств двойной спирали ДНК вообще. В этой связи интересно отметить, что когда не так давно возникли сомнения в том, является ли ДНК двойной спиралью, вследствие появления альтернативной модели, эту альтернативную модель удалось определенно отвергнуть именно на основе данных по КЗ ДНК⁴⁵ (см. ²⁰).

Бурное развитие исследований КЗ формы ДНК заставило особенно остро ощутить необходимость в построении адекватной теории, т. е. теории кольцевых полимерных структур с учетом топологических ограничений. За последние десять лет был достигнут значительный прогресс в построении такого рода теории. Мы подробно изложим эти результаты

в гл. 3—5, а в гл. 6 вернемся к рассмотрению кольцевых ДНК и покажем, как результаты теории позволяют интерпретировать экспериментальные данные, относящиеся к этим новым и чрезвычайно интересным объектам живой природы.

3. ТЕОРИЯ УЗЛОВ И ЗАЦЕПЛЕНИЙ

а) Статистический интеграл для замкнутых цепей

При вычислении статистического интеграла для замкнутой цепи или системы замкнутых цепей область интегрирования должна ограничиваться только той частью фазового пространства, которая отвечает топологически эквивалентным состояниям системы. Поэтому необходимо уметь характеризовать топологическое состояние системы, исходя из конфигурации входящих в нее полимерных цепей. Такая характеристика, зависящая только от топологии системы, т. е. остающаяся неизменной при любых деформациях цепей, которые осуществимы без нарушения их целостности, называется топологическим инвариантом. Так, в случае одиночной замкнутой цепи топологический инвариант должен отвечать, прежде всего, на вопрос о том, является ли замкнутая цепь заузленной или нет (рис. 8). В случае системы из двух замкнутых цепей простейший вопрос состоит в том, зацеплены они между собой или нет и т. д.

Поясним сказанное на примере статинтеграла для одиночной замкнутой полимерной молекулы, представляемой моделью свободно-сочлененной цепи из $n - 1$ одинаковых звеньев длины b . Статистический интеграл такой цепи имеет вид

$$Z = \int \prod_{i=1}^n d\mathbf{r}_i \prod_{i=1}^{n-1} \delta(|\mathbf{r}_{i+1} - \mathbf{r}_i| - b) \delta(\mathbf{r}_1) \delta(\mathbf{r}_n) \times \\ \times (4\pi b^2)^{-n} e^{-\beta \Phi} \delta(G_0 - G(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_n)), \quad (3)$$

где $\mathbf{r}_i$ — радиус-вектор, идущий из начала координат в i -ю вершину цепи, Φ — полный внутримолекулярный потенциал. Это выражение совпадает со стандартным выражением для статсуммы незамкнутой цепи, имеющей расстояние между концами $\mathbf{r}$ (см. например, ², гл. 7, § 9) при $\mathbf{r} = 0$, за существенным исключением, состоящем в появлении последней δ -функции. В ней G_0 — некоторое значение топологического инварианта замкнутой цепи, а G символизирует функцию, с помощью которой значение топологического инварианта может быть найдено, исходя из пространственной конфигурации цепи. Появление этой δ -функции выражает явно то обстоятельство, что статистическая физика замкнутых цепей ни в коем случае не может рассматриваться как простой предельный переход от статистической физики линейных цепей к $\mathbf{r} = 0$. Можно сказать, что подобно тому, как физика линейных полимерных цепей определяется

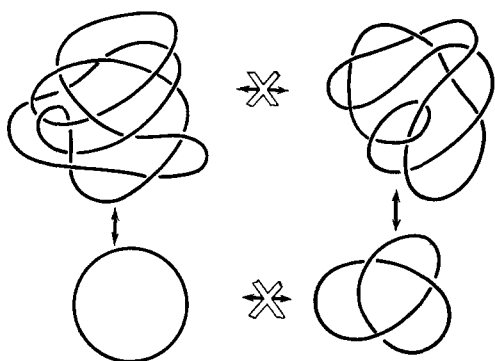


Рис. 8. Примеры топологически эквивалентных и неэквивалентных полимерных цепей.

линейной памятью (см., например, ⁸), обусловленной фиксированной последовательностью звеньев, физика замкнутых цепей определяется дополнительно еще топологической памятью, обусловленной взаимной непроницаемостью звеньев друг для друга.

Самый простой топологический инвариант, позволяющий различать состояния двух замкнутых контуров C_1 и C_2 , представляет собой выражение (интеграл Гаусса; см., например, ²¹, гл. 3, § 15):

$$G(C_1, C_2) = \frac{1}{4\pi} \oint_{C_1} \oint_{C_2} \frac{(d\mathbf{r}_1 \times d\mathbf{r}_2) \cdot \mathbf{r}_{12}}{r_{12}^3}, \quad (4)$$

где $\mathbf{r}_1$ и $\mathbf{r}_2$ — радиус-векторы, пробегающие контуры C_1 и C_2 соответственно, $\mathbf{r}_{12} = \mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2$. Используя теорему Стокса, легко показать, что интеграл (4) равен алгебраическому числу пересечений одним контуром поверхности, натянутой на другой контур. Отсюда сразу следует, что интеграл Гаусса не является полным топологическим инвариантом — существуют примеры зацепленных контуров, для которых $G = 0$, так же как и для незацепленных (см. ниже, рис. 10 и табл. II). Таким образом, интеграл Гаусса является слабым топологическим инвариантом. Еще хуже дело обстоит с узлами — для них вообще не существует интегрального инварианта. Предположение о том, что интеграл (4) при $C_1 = C_2$ может рассматриваться как инвариант узла ¹⁰, оказалось неверным (см. ²²; истинный смысл интеграла Гаусса, взятого по одному контуру, будет подробно рассмотрен ниже, в главе 4).

Итак, вычисление интеграла (3) аналитическими методами невозможно из-за отсутствия аналитического выражения для функции G для узлов. Что касается зацеплений, то для них использование аналитических методов для вычисления статинтеграла при использовании функции G в виде (4) наталкивается на серьезные математические трудности ^{10, 23}. Еще существенней то, что если бы эти трудности и удалось преодолеть, не ясно, насколько можно было бы доверять полученным результатам вследствие недостатков интеграла Гаусса как инварианта зацеплений. Поэтому в работах ^{22, 24} был предложен другой подход, основанный на использовании численных, машинных методов. Привлекательность такого подхода состоит в том, что он позволяет использовать алгебраические инварианты узлов и зацеплений. Построение таких инвариантов явилось одним из замечательных достижений алгебраической топологии. Ниже мы, не вдаваясь в математические подробности, которые содержатся в монографии ²⁵, остановимся на основных идеях, приведших к построению алгебраических инвариантов узлов и зацеплений.

5) К л а с с и ф и к а ц и я у з л о в и з а ц е п л е н и й

Прежде чем перейти к описанию алгебраических инвариантов узлов и зацеплений, остановимся кратко на вопросе о том, какие вообще бывают узлы и зацепления и как их классифицируют. Для этого необходимо условиться о приведении любого узла или зацепления к некоторому стандартному виду. Естественно, что при таком приведении надо следить, чтобы не допускались самопересечения цепей. Такого рода деформация называется в топологии изотопической деформацией. Два узла (или зацепления), которые могут быть переведены друг в друга посредством изотопической деформации, принадлежат к одному изотопическому типу. Стандартным видом узла (зацепления) принято считать такое его изображение, при котором достигается минимальное число пересечений на его проекции

на плоскость. Простейший узел имеет три таких пересечения (см. рис. 2), его называют трилистником.

Узлы бывают простыми и составными. Узел называется составным, если существует неограниченная поверхность, пересекаемая узлом только в двух точках, которая делит его на два узла. На рис. 9 приведена начальная часть таблицы простых узлов. Именно, приведены все узлы с числом

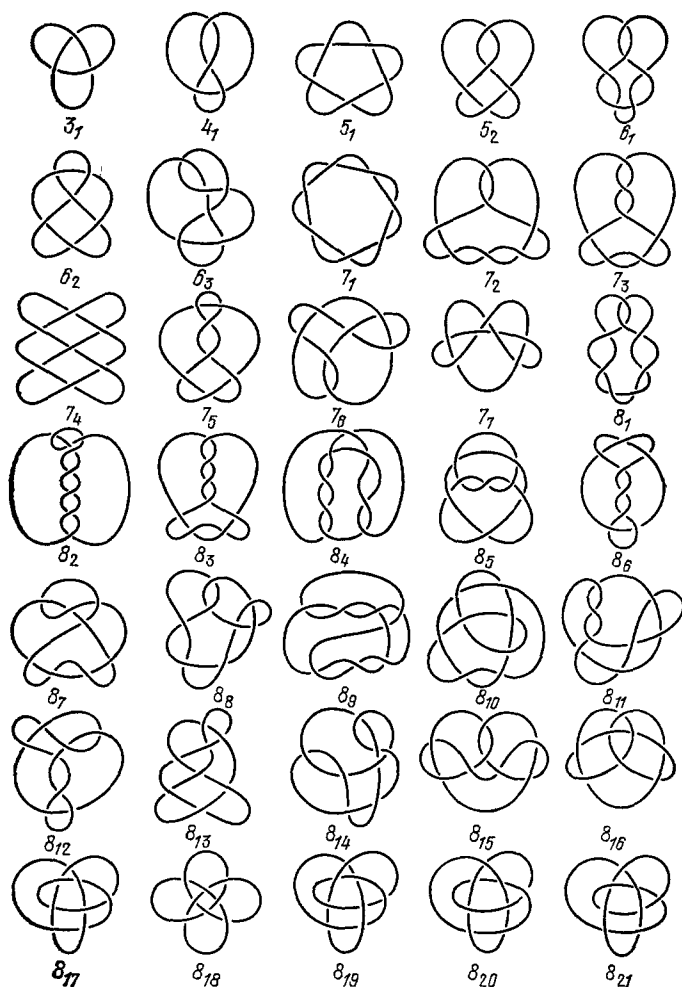


Рис. 9. Таблица простых узлов, имеющих в стандартном виде число пересечений меньше девяти.

пересечений в стандартном виде менее девяти. Узел и его зеркальный образ считаются принадлежащими к одному и тому же типу узла, хотя они могут принадлежать к одному или к разным изотопическим типам. Так, трилистник и его зеркальный образ принадлежат к разным изотопическим типам, а восьмерка (узел 4_1) и его зеркальный образ — к одному изотопическому типу. Таблица узлов является фактически таблицей типов узлов, так как в ней приводится лишь один представитель зеркальных пар. С ростом числа пересечений число типов простых узлов растет чрезвычайно стремительно. Так, в настоящее время построены таблицы всех

типов узлов с числом пересечений меньше десяти ²⁶, с десятью ^{27, 28} и, возможно, не полная таблица узлов с одиннадцатью пересечениями (см. ²⁷). Оказывается, что существует 49 типов узлов с девятью пересечениями, 165 типов узлов с десятью пересечениями и около 552 типов узлов с одиннадцатью пересечениями (изображения всех этих узлов можно найти в цитированных работах).

Любопытно, что эта своеобразная деятельность по составлению полных таблиц узлов, начатая (и очень сильно продвинутая) более ста лет назад

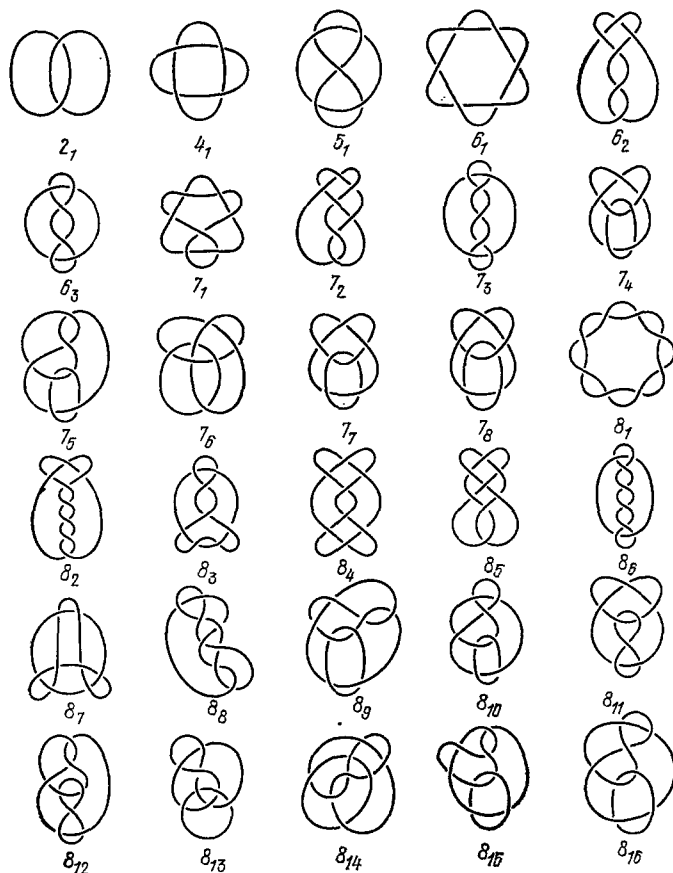


Рис. 10. Таблица простых зацеплений, имеющих в стандартном виде число пересечений меньше девяти.

Тэйтом, Киркманом и Литтлом, после длительного перерыва была продолжена Конвэйем ²⁷ и Перко ²⁸. Отметим, что для рассматриваемых в данном обзоре вопросов такие таблицы очень важны, так как они позволяют проверять эффективность инвариантов узлов.

В отличие от таблицы узлов, таблица зацеплений была впервые составлена совсем недавно ²⁷. Она содержит 275 типов простых зацеплений с числом пересечений меньше одиннадцати и построена по тому же принципу, что и таблица узлов. Начальная часть таблицы типов зацеплений приведена на рис. 10.

в) Алгебраические инварианты узлов и зацеплений

Первым и наиболее существенным шагом в построении инварианта узла является введение понятия группы узла. Группа узла представляет собой частный случай фундаментальной группы (см. ²¹), представление о которой лежит в основе многих разделов алгебраической топологии.

Итак, рассмотрим узел в трехмерном пространстве (рис. 11). Под узлом понимается любая замкнутая кривая, в частности топологически эквивалентная окружности (в этом случае она называется тривиальным узлом). Выбросим из рассматриваемого пространства все точки, принадлежащие узлу. Оставшееся множество точек называется дополнительным пространством узла. Выберем в этом пространстве произвольную точку p . Любую траекторию, полностью принадлежащую дополнительному пространству, и начинающуюся и кончающуюся в точке p будем называть петлей с базисной точкой p . На петле зададим направление обхода. Две петли называются эквивалентными, если они могут быть переведены друг в друга путем непрерывной деформации в дополнительном пространстве узла. Существенно подчеркнуть, что в ходе деформации петель разрешаются их любые самопересечения, однако строго запрещен выход из дополнительного пространства (см. рис. 11). Таким образом, все возможные петли разбиваются на классы эквивалентных петель. Замечательный факт состоит в том, что классы эквивалентных петель образуют группу, которая и называется группой узла. При этом под произведением ab двух петель a и b понимается траектория, последовательно проходящая сначала петлю a , а затем петлю b . Петля a^{-1} , обратная петле a , проходит через те же точки пространства, но в обратном направлении. Единичным элементом группы является класс петель, которые могут быть стянуты в точку p (см. петлю a_0 на рис. 11). Следует подчеркнуть, что группа узла не зависит от выбора базисной точки p . Узлам, принадлежащим одному и тому же типу (и тем более одному и тому же изотопическому типу), соответствуют изоморфные группы.

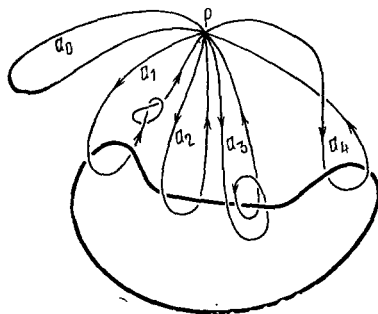


Рис. 11. К понятию группы узла. Петли a_1 и a_2 эквивалентны ($a_1 \approx a_2$), $a_4 \approx a_1^{-1}$, $a_1 a_2 \approx a_3$.

Поясним сказанное на примере тривиального узла, т. е. окружности. Ясно, что в этом случае каждый класс эквивалентных петель однозначно характеризуется числом оборотов, которое делают входящие в него петли вокруг заданной окружности. То есть совокупность этих классов эквивалентна просто совокупности целых чисел. Таким образом, группа тривиального узла изоморфна группе целых чисел. Более того, в теории узлов доказана очень важная теорема: никакой нетривиальный узел не имеет группы, изоморфную группе целых чисел. Отсюда видно, что группа узла является очень мощным топологическим инвариантом. Однако известны примеры узлов разных типов, которые имеют изоморфные группы (рис. 12). Тем не менее группа узла была бы очень хорошим инвариантом, если бы существовал универсальный метод установления изоморфизма двух групп узла. Однако такого метода не существует из-за того, что группа узла всегда состоит из бесконечного числа элементов. Поэтому в теории узлов делается следующий шаг — ищутся инварианты группы

узла, которые неизбежно оказываются более слабыми топологическими инвариантами, но для которых легко решается проблема эквивалентности. Наиболее удобным инвариантом такого рода являются так называемые

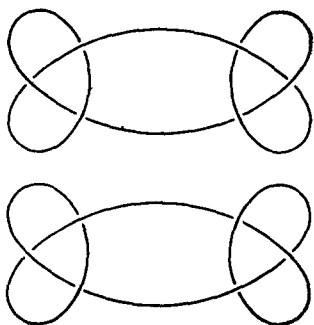


Рис. 12. Пример узлов разных типов, имеющие изоморфные группы.

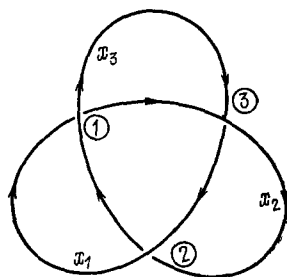


Рис. 13. К вычислению полинома Александера. x_1, x_2, x_3 — образующие, 1, 2 и 3 — точки пересечения на проекции узла.

полиномы Александера. Мы приведем здесь алгоритм вычисления полинома Александера в окончательном виде, удобном для машинных расчетов²².

Прежде всего спроектируем узел на плоскость вдоль произвольно выбранной оси, изображая в точках пересечения разрывы в той части

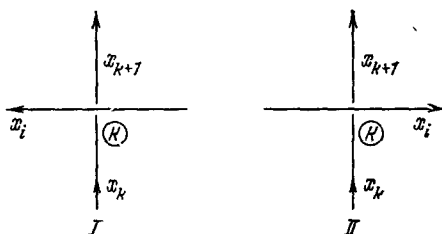


Рис. 14. Два типа пересечений.

контура, которая оказывается ниже (рис. 13). Теперь проекция узла представляет собой совокупность отрезков кривых, которые называются образующими. Зададим произвольно направление обхода образующих и перенумеруем их, выбрав произвольно первую образующую. Пересечение, являющееся границей между k -й и $(k+1)$ -й образующими, назовем k -м пересечением. Пересечения бывают двух типов (рис. 14). Таким

образом, каждое пересечение характеризуется своим номером, типом (I или II) и номером переходящей через него образующей. Теперь узлу можно сопоставить квадратную матрицу Александера, в которой k -я строка отвечает k -му пересечению и состоит из n элементов (n — полное число пересечений на проекции узла). Причем все элементы, кроме a_{kk} , $a_{k,k+1}$ и a_{ki} (i — номер переходящей образующей), равны нулю. Отличные от нуля элементы k -й строки определяются следующим образом:

- 1) при $i = k$ или $i = k + 1$ независимо от типа пересечения

$$a_{kk} = -1, \quad a_{k,k+1} = 1;$$

- 2) при $i \neq k, i \neq k + 1$ для пересечения типа I

$$a_{kk} = 1, \quad a_{k,k+1} = -t, \quad a_{ki} = t - 1$$

и для пересечения типа II

$$a_{kk} = -t, \quad a_{k,k+1} = 1, \quad a_{ki} = t - 1.$$

Эти соотношения справедливы для всех $k = 1, \dots, n$ при условии замены $n + 1 \rightarrow 1$.

Полином Александера $\Delta(t)$, являющийся инвариантом узла, получается из матрицы Александера следующим образом. Вычисляется любой минор $n - 1$ -го порядка (результат не зависит от выбора минора) и умножается на $\pm t^{-m}$ (m — целое число), так чтобы получающийся полином не имел отрицательных степеней и имел положительный свободный член.

Таким образом, вопрос об эквивалентности узлов сводится к вопросу об эквивалентности полиномов конечной степени, что уже не составляет никакой проблемы.

Так, для тривиального узла $\Delta(t) = 1$, для трилистника $\Delta(t) = t^2 - t + 1$ и т. д. В табл. I приведены полиномы Александера для всех

Таблица I

Полиномы Александера узлов, изображенных на рис. 9

Тип узла	$\Delta(t)$	Тип узла	$\Delta(t)$
3 ₁	$t^2 - t + 1$	8 ₅	$t^6 - 3t^5 + 4t^4 - 5t^3 + 4t^2 - 3t + 1$
4 ₁	$t^2 - 3t + 1$	8 ₆	$2t^4 - 6t^3 + 7t^2 - 6t + 2$
5 ₁	$t^4 - t^3 + t^2 - t + 1$	8 ₇	$t^6 - 3t^5 + 5t^4 - 5t^3 + 5t^2 - 3t + 1$
5 ₂	$2t^2 - 3t + 2$	8 ₈	$2t^4 - 6t^3 + 9t^2 - 6t + 2$
6 ₁	$2t^2 - 5t + 2$	8 ₉	$t^6 - 3t^5 + 5t^4 - 7t^3 + 5t^2 - 3t + 1$
6 ₂	$t^4 - 3t^3 + 3t^2 - 3t + 1$	8 ₁₀	$t^6 - 3t^5 + 6t^4 - 7t^3 + 6t^2 - 3t + 1$
6 ₃	$t^4 - 3t^3 + 5t^2 - 3t + 1$	8 ₁₁	$2t^4 - 7t^3 + 9t^2 - 7t + 2$
7 ₁	$t^6 - t^5 + t^4 - t^3 + t^2 - t + 1$	8 ₁₂	$t^4 - 7t^3 + 13t^2 - 7t + 1$
7 ₂	$3t^2 - 5t + 3$	8 ₁₃	$2t^4 - 7t^3 + 11t^2 - 7t + 2$
7 ₃	$2t^4 - 3t^3 + 3t^2 - 3t + 2$	8 ₁₄	$2t^4 - 8t^3 + 11t^2 - 8t + 2$
7 ₄	$4t^2 - 7t + 4$	8 ₁₅	$3t^4 - 8t^3 + 11t^2 - 8t + 3$
7 ₅	$2t^2 - 4t^3 + 5t^2 - 4t + 2$	8 ₁₆	$t^6 - 4t^5 + 8t^4 - 9t^3 + 8t^2 - 4t + 1$
7 ₆	$t^4 - 5t^3 + 7t^2 - 5t + 1$	8 ₁₇	$t^6 - 4t^5 + 8t^4 - 11t^3 + 8t^2 - 4t + 1$
7 ₇	$t^4 - 5t^3 + 9t^2 - 5t + 1$	8 ₁₈	$t^6 - 5t^5 + 10t^4 - 13t^3 + 10t^2 - 5t + 1$
8 ₁	$3t^2 - 7t + 3$	8 ₁₉	$t^6 - t^5 + t^3 - t + 1$
8 ₂	$t^6 - 3t^5 + 3t^4 - 3t^3 + 3t^2 - 3t + 1$	8 ₂₀	$t^4 - 2t^3 + 3t^2 - 2t + 1$
8 ₃	$4t^2 - 9t + 4$	8 ₂₁	$t^4 - 4t^3 + 5t^2 - 4t + 1$
8 ₄	$2t^4 - 5t^3 + 5t^2 - 5t + 2$		

узлов, изображенных на рис. 9. Для более сложных узлов полиномы Александера приведены в работах ²⁶⁻²⁸.

Хотя для всех узлов табл. I полиномы Александера отличны друг от друга, полином Александера не является, конечно, полным инвариантом узла. Так, замена всех пересечений типа I на пересечения типа II и наоборот не меняет полином Александера, но эта операция, очевидно, соответствует зеркальному отражению узла. Таким образом, полином Александера, так же как и группа узла, не позволяет отличить узел и его зеркальное изображение. Легко убедиться в равенстве полиномов Александера и для узлов, изображенных на рис. 12. В самом деле, каждый из этих узлов является составным и состоит из двух трилистников. В то же время полином Александера составного узла равен произведению полиномов Александера образующих его простых узлов. Таким образом, полином Александера для обоих узлов, изображенных на рис. 12, равен просто $(t^2 - t + 1)^2$. Известно много других примеров совпадения полиномов Александера для узлов разных типов.

Тем не менее полином Александера обладает важным достоинством, делающим его очень подходящим для использования в статистической физике кольцевых цепей — простейшие узлы имеют почти уникальные

полиномы Александера. Именно, из 802 узлов с менее чем 12-ю пересечениями только два имеют полином $\Delta(t) = 1$; они изображены на рис. 15.

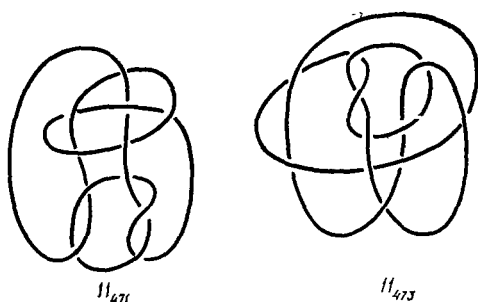


Рис. 15. Нетривиальные узлы, для которых полином Александера $\Delta(t) = 1$.

Узел 11_{473} принадлежит к тому же изотопическому типу, что и узел, приведенный на рис. 6 работы ²².

Полиномы $t^2 - t + 1$ и $t^2 - 3t + 1$ вообще встречаются только по одному разу и отвечают узлам 3_1 и 4_1 соответственно.

Для зацеплений также существует инвариант в виде полинома Александера, но являющегося функцией не одной переменной, а двух (или более по числу рассматриваемых цепей). Алгоритм вычисления полинома Александера $\Delta(s, t)$ для двух цепей аналогичен алгоритму вычисления полинома Александера для узла, но несколько более громоздок. Его можно найти в работе ²⁴. В табл. II

приведены полиномы Александера для зацеплений, изображенных на рис. 10. Для незацепленных контуров $\Delta(s, t) = 0$.

Таблица II

Полиномы Александера $\Delta(s, t)$ и значения инварианта Гаусса (4), $\Delta(1, 1)$, для зацеплений, изображенных на рис. 10

Тип зацепления	$\Delta(s, t)$	$ \Delta(1, 1) $
2_1	1	1
4_1	$s + t$	2
5_1	$(s-1)(t-1)$	0
6_1	$s^2 + t^2 + st$	3
6_2	$st(s+t) - st + s + t$	3
6_3	$2st - (s+t) + 2$	2
7_1	$s^2t^2 - st(s+t) + st - (s+t) + 1$	1
7_2	$st(s+t) - t^2 - s^2 - 3st + s + t$	1
7_3	$2(s-1)(t-1)$	0
7_4	$(s-1)(t-1)(s^2+1)$	0
7_5	$2s^3t - t^3 - s + 2$	2
7_6	$(s+1)^2(s-1)(t-1)$	0
7_7	$s^3 + t$	2
7_8	$(s-1)(t-1)$	0
8_1	$(s+t)(s^2+t^2)$	4
8_2	$st(s+t-1)(st+1) + s + t$	4
8_3	$2s^2t^2 - st(s+t) + 3st - (s+t) + 2$	3
8_4	$s^2t^2(s+t) - 2s^2t^2 + 2st(s+t) - 2st + s + t$	4
8_5	$s^2t^2 - 2st(s+t) + 3st - 2(s+t) + 1$	3
8_6	$2st - 3(s+t) + 2$	2
8_7	$s^2t^2 - 2st(s+t) + s^2 + 3st + t^2 - 2(s+t) + 1$	1
8_8	$s^2t^2 - 2st(s+t) + s^2 + st + t^2 - 2(s+t) + 1$	3
8_9	$s^3 + 2s^2t - 4s^2 - 4st + s + 2t$	2
8_{10}	$(s^3-1)(t-1)$	0
8_{11}	$s^3t - 2s^2(s+t) + 2s(s+t) - 2(s+t) + 1$	2
8_{12}	$(s^3-1)(t-1)$	0
8_{13}	$(s^2+1)(s-1)(t-1)$	0
8_{14}	$s^3t - 4s^2t + 4s^2 + 4st - 4s + 1$	2
8_{15}	$(s-1)(t-1)$	0
8_{16}	$s^3 - 2s(s+t) + t$	2

Примечание. Для незацепленных контуров $\Delta(s, t) = 0$. Вид полинома Александера определен с точностью до замены $s \rightarrow 1/s$ или/и $t \rightarrow 1/t$. Так, полиномы $s^2 + t^2 + st$ и $s^2t^2 + st + 1$ эквиваленты.

Существует очень простая связь между полиномом Александера и интегралом Гаусса (4):

$$|G| = |\Delta(1,1)|. \quad (3)$$

Отсюда видно, что интеграл Гаусса является, вообще говоря, гораздо более слабым инвариантом, чем полином Александера. Особенно существенным недостатком интеграла Гаусса как инварианта зацепления является то, что он обращается в нуль для многих достаточно простых типов зацеплений и тем самым не позволяет отличить их от незацепленных контуров (см. табл. II). В то же время среди 91 типа зацеплений с числом пересечений менее десяти, приведенных в ²⁷, нет ни одного, для которого $\Delta(s, t) = 0$, а $\Delta(s, t) = 1$, только для простейшего зацепления 2_1 . Таким образом, полином Александера является очень хорошим инвариантом узлов и зацеплений, весьма подходящим для его использования в статистической физике замкнутых полимерных цепей.

4. ТЕОРИЯ ПОЛОС

Наряду с привлечением чисто топологических понятий и методов к анализу кольцевых полимерных структур, о которых речь шла в гл. 3, в течение последних десяти лет было уделено значительное внимание использованию нового математического аппарата, возникшего на стыке топологии и дифференциальной геометрии, для рассмотрения специального класса замкнутых полимерных молекул, именно, кольцевых молекул ДНК, о которых было рассказано в гл. 2. Существует широкий интервал внешних условий, в которых можно рассматривать двойную спираль ДНК как гладкую полосу, краями которой являются сахаро-фосфатные остовы двух комплементарных нитей (рис. 4). Кольцевой замкнутой ДНК всегда будет отвечать двусторонняя полоса, так как химическая структура молекулы исключает возможность образования односторонних полос, типа листа Мёбиуса. Таким образом, каждый край полосы образует отдельный замкнутый контур, и эти два контура могут быть незацеплены или образовывать зацепление различных типов. Типы зацеплений, которые при этом могут возникнуть, составляют подкласс всего множества зацеплений, причем для этого подкласса зацеплений интеграл Гаусса (4), как нетрудно убедиться, является полным топологическим инвариантом *). Значение этого интеграла, которое может быть только целочисленным, называется порядком зацепления (linking number) краев полосы и обозначается через Lk . Итак, величина Lk является естественным топологическим инвариантом полосы. Данному значению Lk отвечает множество различных геометрических форм полосы. Задача состоит в нахождении дифференциально-геометрических характеристик полосы, которые связаны с ее топологической характеристикой, т. е. с Lk . Ясно, что одной такой характеристикой является кручение полосы Tw , понятие хорошо известное в дифференциальной геометрии ²⁹ (см. также ниже, формулу (10)). Существуют ситуации, при которых $Lk = Tw$. В частности, это имеет место, если ось полосы целиком лежит на плоскости. С другой стороны, мы можем, по крайней мере частично, реализовать заданную величину Lk не за счет кручения полосы, а задав ось полосы на некотором ее протяжении в виде винтовой линии. Таким образом, в общем случае $Lk \neq Tw$. Этот неожиданный, на первый взгляд, факт связан с тем, что величина Tw является суммой малых поворотов вектора, перпендикулярного оси полосы, измеряемых

*) В данном разделе мы предполагаем, для простоты, что полоса как целое образует тривиальный узел. Это, однако, не ограничивает общности результатов.

в локальной системе координат, которая сама поворачивается при движении вдоль полосы.

В качестве примера, иллюстрирующего сказанное, рассмотрим полосу, которая плотно прилегает к поверхности цилиндра и ось которой описывает винтовую линию (рис. 16). Пусть R — число оборотов, которое делает ось полосы ($R > 0$ для правой спирали и $R < 0$ для левой), p — шаг спирали, а r — радиус цилиндра. В этом случае:

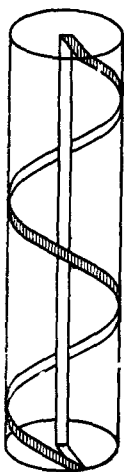


Рис. 16. Полоса, плоско намотанная на поверхность цилиндра ($R = -2$).

$$Lk = R, \quad (6)$$

$$Tw = R \frac{p}{\sqrt{p^2 + 4\pi^2 r^2}}. \quad (7)$$

Итак, кроме кручения полосы, должна существовать еще по крайней мере одна дифференциально-геометрическая характеристика полосы, связанная с ее топологией. Эта характеристика была найдена сравнительно недавно в работах ³⁰⁻³³. Было показано, что всегда

$$Lk = Tw + Wr, \quad (8)$$

где величина Wr , которая была названа райзингом (от английского глагола *writhe*, что значит корчиться или скрючиваться), определяется только расположением в пространстве оси полосы C и выражается в виде интеграла Гаусса (4) при $C_1 = C_2 = C$:

$$Wr = \frac{1}{4\pi} \oint_C \oint_C \frac{(dr_1 \times dr_2) \cdot r_{12}}{r_{12}^3}. \quad (9)$$

Формула (8) была доказана Уайтом ³³ в 1969 г. Поскольку цитировавшиеся работы и, в частности, работа ³³ написаны в расчете на математиков и трудны для понимания читателя, не имеющего специальной подготовки, мы приведем упрощенное доказательство теоремы Уайта, принадлежащее В. В. Аншелевичу.

Пусть $r(t)$, $0 \leq t \leq l$ — дважды дифференцируемая замкнутая кривая без самопересечений, т. е. кривая, для которой $r(l) = r(0)$; $r'(l) = r'(0)$; $r''(l) = r''(0)$. Кроме того, пусть $|r''(t)| < \text{const}$, т. е. кривая имеет ограниченную кривизну *). В качестве параметра t выберем просто расстояние между точками $r(t)$ и $r(0)$ вдоль кривой. Тогда $|r'(t)| = 1$.

Пусть далее $a(t)$ — единичный вектор, нормальный к кривой $r(t)$. Рассмотрим две замкнутые кривые, $r(t)$ и $r(t) + \varepsilon a(t)$. Будем считать параметр ε столь малым, что тип зацепления двух кривых не меняется при дальнейшем уменьшении ε . Такое ε существует, поскольку $|r''(t)| \leq \text{const}$. Тем самым мы сопоставили кривой $r(t)$ некоторую полосу с краями $r(t)$ и $r(t) + \varepsilon a(t)$.

Вычислим предельное значение интеграла Гаусса (4) для этих двух кривых:

$$\frac{1}{4\pi} \int_0^l ds \int_0^l dt \frac{[(r(t) - r(s) - \varepsilon a(s)) \times r'(t)] \cdot (r'(s) + \varepsilon a'(s))}{|r(t) - r(s) - \varepsilon a(s)|^3}$$

при $\varepsilon \rightarrow 0$. Это значение есть, по определению, величина Lk .

Разобьем область интегрирования по t на две части: малую окрестность точки s , т. е. $s - \delta \leq t \leq s + \delta$, и оставшуюся часть отрезка $[0, l]$, где подынтегральная функция не имеет особенностей. В δ -окрестности

*) Все результаты остаются справедливыми и для кусочногладких кривых.

можно считать $\mathbf{r}(t)$ отрезком прямой:

$$\begin{aligned}\mathbf{r}(t) &= \mathbf{r}(s) + \mathbf{r}'(s)(t-s), \\ \mathbf{r}'(t) &= \mathbf{r}'(s).\end{aligned}$$

Тогда интеграл по t в δ -окрестности точки s будет равен:

$$\begin{aligned}-\frac{1}{4\pi} \int_0^l ds (\mathbf{a}(s) \times \mathbf{r}'(s)) \mathbf{a}'(s) \varepsilon^2 \int_{s-\delta}^{s+\delta} \frac{dt}{[(t-s)^2 + \varepsilon^2]^{3/2}} = \\ = \frac{1}{2\pi} \int_0^l (\mathbf{r}'(s) \times \mathbf{a}(s)) \mathbf{a}'(s) ds\end{aligned}$$

с точностью до членов, малых по параметру ε .

Интеграл по оставшейся части отрезка не имеет особенностей и равен с той же точностью:

$$\frac{1}{4\pi} \int_0^l \int_0^l \frac{[(\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(s)) \times \mathbf{r}'(t)] \mathbf{r}'(s)}{|\mathbf{r}(s) - \mathbf{r}(t)|^3} dt ds,$$

причем интегрирование в нем можно распространить на весь отрезок $[0, l]$, поскольку значение этого интеграла в области $s - \delta \leq t \leq s + \delta$ стремится к нулю при $\delta \rightarrow 0$.

Окончательно имеем:

$$Lk = \frac{1}{2\pi} \int_0^l [\mathbf{r}'(s) \times \mathbf{a}(s)] \mathbf{a}'(s) ds + \frac{1}{4\pi} \int_0^l \int_0^l \frac{[(\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(s)) \times \mathbf{r}'(t)] ds dt}{|\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(s)|^3}. \quad (10)$$

Первое слагаемое в этом выражении есть суммарное кручение полосы²⁹. В частном случае, если под $\mathbf{a}(t)$ понимать главную нормаль кривой $\mathbf{r}(t)$, это слагаемое будет представлять собой то, что в дифференциальной геометрии называют кручением кривой. Именно для этого частного случая формула (10) была получена в пионерской работе Калагареану^{30,31}. Уайт³³ доказал, что эта формула справедлива для произвольной полосы. Принципиальным моментом является то обстоятельство, что во второе слагаемое формулы (10) не входит вектор $\mathbf{a}(t)$, т. е. этот член зависит только от формы оси полосы. Он представляет собой новое дифференциально-геометрическое понятие райзинга кривой. Этот термин был введен в 1971 г. Фуллером³⁴, который первый указал на важность приведенных выше математических результатов для теоретического анализа свойств кольцевых ДНК (см. также статью Крика³⁵).

Рассмотрим основные свойства райзинга. Прежде всего, следует подчеркнуть, что в отличие от классического интеграла Гаусса для двух контуров, который может принимать лишь целочисленные значения, райзинг (9) есть, вообще говоря, непрерывная функция формы кривой. Величина Wr терпит разрывы лишь в случае прохождения одного участка кривой через другой, причем величина скачка всегда равна ± 2 . Из формулы (9) очевидно, что величина Wr равна нулю для кривых, обладающих центром или плоскостью симметрии. Можно сказать, что райзинг служит мерой асимметрии кривой в отношении правого и левого, т. е. мерой ее хиральности.

Подобно Wr , величина Tw также является непрерывной функцией, зависящей как от формы кривой, задаваемой осью полосы, так и от того, как полоса «навита» на эту кривую. Таким образом, в правой части формулы (8) стоит сумма двух непрерывных функций, а в левой части стоит

величина топологического инварианта, которая может принимать только целочисленные значения. Указанные свойства величин Wr и Tw хорошо иллюстрируются рассмотренным выше примером полосы, навитой на цилиндр (см. рис. 16). Из формул (6)–(8) следует, что в этом случае

$$Wr = R \left(1 - \frac{p}{\sqrt{p^2 + 4\pi^2 r^2}} \right). \quad (11)$$

Эта же формула может быть получена и непосредственно, путем вычисления интеграла (9). Отметим, что формула (11) является общей для всех полос, оси которых описывают винтовую линию с шагом p , радиусом r и числом оборотов R . Это не относится к формулам (6), (7), справедливым только для строго частного случая полосы, плотно прилегающей к поверхности цилиндра. Той же конфигурации оси полосы, т. е. тому же значению Wr , может соответствовать множество полос, имеющих различные значения Tw и соответственно Lk .

5. РАСЧЕТЫ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

а) Методы расчета

Из приведенного в гл. 3 материала видно, что существуют очень эффективные инварианты узлов и зацеплений. Однако природа этих инвариантов такова, что они не позволяют вычислять статинтегралы типа (3) аналитическими методами. Поэтому естественно обратиться к численным методам расчетов статистических характеристик, т. е. к методам Монте-Карло. В применении к рассматриваемым здесь задачам это означает генерирование случайным образом замкнутых цепей и их классификация согласно топологическим состояниям. Далее можно изучать путем такого машинного эксперимента любые статистические свойства цепей, находящихся в определенном топологическом состоянии.

1) Генерирование замкнутых цепей. Проблема, возникающая при расчетах статистических свойств замкнутых цепей методом Монте Карло, состоит в необходимости генерирования замкнутых цепей с недеформированной функцией распределения. Самым прямым, но абсолютно неприемлемым с практической точки зрения, способом было бы случайное генерирование цепей с нефиксированным расстоянием между концами и отбор из них тех, для которых концы случайно совпали. Неэффективность такого метода очевидна. Поэтому для рассматриваемого круга задач потребовалась разработка специальных алгоритмов, позволяющих генерировать только замкнутые цепи заданной длины. Такие алгоритмы удалось построить только для простейшей модели полимерной цепи, в которой направления соседних сегментов некоррелированы. Эта модель весьма популярна в физике полимеров, поскольку статистические свойства реальных полимерных цепей практически не отличимы, для достаточно длинных цепей, от свойств, предсказываемых этой простой моделью. Связь между реальной и идеализированной полимерной цепью осуществляется выбором соответствующего значения длины сегмента (он называется статистическим или Куновским сегментом, см., например, ³⁻⁵).

Вместо того, чтобы генерировать цепи, в которых вероятность любых направлений для каждого звена одинакова, и затем отбирать из них замкнутые, можно поступить иначе. Можно строить цепь сегмент за сегментом так, чтобы направление данного звена определялось условной вероятностью, вычисленной с учетом того, что на последнем шаге построения цепь должна оказаться замкнутой. Важно подчеркнуть, что такой подход дол-

жен дать тот же статистический ансамбль замкнутых цепей, что и первый, прямой подход.

Вычислим эту условную функцию распределения $P(n-i, \mathbf{r}_i, \delta)$, где i — число уже построенных звеньев, $\mathbf{r}_i$ — радиус-вектор, выходящий из начала цепи и кончающийся в конце i -го звена, δ — направление $i+1$ -го звена. Пусть $P(k, \mathbf{r}_k)$ функция распределения вектора расстояний между концами незамкнутой цепи из k сегментов. Для вычисления функции $P(n-i, \mathbf{r}_i, \delta)$ рассмотрим оставшуюся часть замкнутой цепи, которая состоит из $n-i$ сегментов и соединяет точку с радиус-вектором $\mathbf{r}_i$ и начало цепи. Искомая функция распределения есть отношение числа траекторий, проходящих через точку $\mathbf{r}_i + \delta$, к общему числу траекторий, идущих в точку $\mathbf{r}_i$:

$$P(n-i, \mathbf{r}_i, \delta) = \\ = P(n-i-1, \mathbf{r}_i + \delta) P(1, \delta) \left(\int P(n-i-1, \mathbf{r}_i + \delta) P(1, \delta) d\delta \right)^{-1}.$$

Согласно уравнению Чепмена-Колмогорова

$$\int P(1, \delta) P(n-i-1, \mathbf{r}_i + \delta) d\delta = P(n-i, \mathbf{r}_i).$$

Следовательно, окончательно получаем:

$$P(n-i, \mathbf{r}_i, \delta) = \frac{P(n-i-1, \mathbf{r}_i + \delta) P(1, \delta)}{P(n-i, \mathbf{r}_i)}. \quad (12)$$

Уравнение (12) носит универсальный характер и может использоваться как для решеточных, так и для безрешеточных моделей. Проблема заключается лишь в том, чтобы выражения для $P(k, \mathbf{r}_k)$ оказались достаточно простыми, чтобы получаемая функция $P(n-i, \mathbf{r}_i, \delta)$ была удобна для машинного генерирования замкнутых цепей. Были предложены две модели, удовлетворяющие этому требованию.

В работе ²² была рассмотрена решеточная модель полимерной цепи, состоящей из сегментов одинаковой длины, для случая объемноцентрированной решетки, для которой функция $P(k, \mathbf{r}_k)$ имеет вид

$$P(k, x_1, x_2, x_3) = \frac{1}{8^k} \prod_{j=1}^3 C_k^{(k-x_j)/2}.$$

В этом случае уравнение (12) приводит к выражению

$$P(m, \mathbf{r}, \delta) = \prod_{j=1}^3 \frac{m - \delta_j x_j}{2^m}, \quad \text{где } \delta_j = \pm 1. \quad (13)$$

Решеточная модель обладает тем недостатком, что в ней неизбежны случаи попадания конца сегмента в уже занятый узел решетки. Чтобы избежать таких событий, в работе ²² использовался простой прием, состоящий в том, что при каждом таком событии вся решетка сдвигалась на малый случайный вектор и далее построение цепи шло уже по новой, смежной решетке.

Удобная функция распределения для безрешеточной модели была предложена в работе ³⁶. В ней рассматривалась свободно-сочлененная цепь, состоящая из сегментов неравной длины. Именно, предположено, что проекция длин сегментов δ_j на произвольную ось имеет нормальное распределение:

$$P(1, \delta_j) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} l} e^{-\delta_j^2/2l}.$$

В этом случае функция $P(k, r_k)$ будет иметь следующий вид:

$$P(k, r_k) = \left(\frac{1}{2\pi l^2 k} \right)^{3/2} e^{-r_k^2/2kl^2}. \quad (14)$$

Формула (14) совпадает с известной функцией распределения расстояния между концами для свободно-сочлененной цепи из k одинаковых сегментов длиной l в случае $k \gg 1$. Удобство рассматриваемой модели состоит в том, что для нее выражение (14) является строгим для любых k (включая $k = 1$). Подставив (14) в (12), получаем окончательно:

$$P(m, r, \delta) = \left(\frac{1}{2\pi l^2} \frac{m}{m-1} \right)^{3/2} e^{-(r+m\delta)^2/2l^2 m(m-1)}. \quad (15)$$

Существуют и другие, формально менее строгие, но практически не уступающие приведенным, алгоритмы, позволяющие рассматривать безрешеточные модели замкнутых цепей из сегментов равной длины (см., например, ³⁷).

2) Вычисление полиномов Александра. При выполнении машинных расчетов удобно сравнивать между собой не полиномы Александра $\Delta(t)$, а численные значения этих полиномов для некоторых заранее выбранных значений t . Здесь вновь на помощь приходят таблицы узлов, точнее соответствующие им таблицы полиномов Александра. Анализ этих таблиц показывает, что как правило полиномы Александра являются знакопеременными и вследствие этого величина $\Delta(-1)$ отвечает сумме абсолютных величин

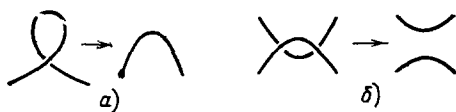


Рис. 17.

коэффициентов полиномов, которая больше 3 для всех полиномов, кроме $\Delta(t) = 1$ и $\Delta(t) = t^2 - t + 1$. Таким образом, для того, чтобы отличить тривиальный узел и трилистник друг от друга и от остальных узлов, практически достаточно вычислить только $\Delta(-1)$, как это было впервые предложено

в работе ²². Если к этому добавить еще значение $\Delta(-2)$, то можно различать все полиномы узлов с числом пересечений меньше 10.

Прежде чем вычислить полином Александра на основе матрицы Александра, очень удобно провести уменьшение ранга матрицы, согласно следующим правилам ³⁶:

а) Если в k -й строке имеется только два отличных от нуля элемента $a_{kk} = -1$ и $a_{k, k+1} = 1$, то следует прибавить столбец k к столбцу $k+1$, после чего вычеркнуть k -й столбец и k -ю строку и перенумеровать заново строки и столбцы.

б) Если в двух соседних строках матрицы с номерами k и $k+1$ элементы, имеющие значение $t-1$, находятся в одном столбце и в $k+1$ -м столбце отсутствуют элементы, равные $t-1$, то следует прибавить k -й столбец к $k+2$ -му, затем вычеркнуть k -ые и $k+1$ -ые строки и столбцы и перенумеровать заново все строки и столбцы.

Эти две операции с матрицей Александра отвечают удалению пересечений, изображенных на рис. 17, а и б соответственно. Они тождественны двум первым операциям с таблицей пересечений узла, предложенным Лебре ³⁷.

Для того, чтобы отличить незацепленные контуры от простейшего зацепления 2_1 и эти две ситуации от всех более сложных зацеплений, достаточно ограничиться вычислением значения полинома Александра $\Delta(-1, -1)$ (см. табл. II).

б) Результаты расчетов

1) Вероятность образования узла. Первый вопрос, возникающий при анализе кольцевых полимерных цепей, состоит в следующем. Пусть кольцевая молекула образуется путем случайного замыкания линейной молекулы, состоящей из n сегментов. Какова вероятность образования заузленной цепи, т. е. нетривиального узла? Этот вопрос был ясно сформулирован Дельбрюком³⁸ и решен впервые в работах^{22,39} методами, изложенными в гл. 3 и в предыдущем параграфе. Аналогичные расчеты были проведены недавно в работах^{36,37}. Все опубликованные данные о зависимости вероятности образования узла от числа сегментов в цепи n , а также результаты наших недавних расчетов, собраны вместе на рис. 18.

Видно, что результаты, полученные разными авторами, очень хорошо согласуются между собой. Это не удивительно, так как несмотря на некоторые отличия в использованных моделях полимера, которыми и обусловлены небольшие различия в результатах, приведенные данные во всех случаях относятся к модели бесконечно тонкой полимерной цепи.

Из рис. 18 видно, что вероятность образования узла имеет явную тенденцию стремиться к единице при $n \rightarrow \infty$, хотя пока удалось провести расчеты только до таких n , при которых P едва превысила 0,5. Продолжению этой зависимости в область больших n препятствует объем памяти и быстродействие ЭВМ. Конечно, существует принципиальное ограничение, связанное с тем, что некоторые нетривиальные узлы имеют тот же полином Александера, что и незаузленная цепь (тривиальный узел). Однако такие узлы составляют настолько ничтожную долю всех узлов (см. гл. 3), что это ограничение станет существенным лишь при таких n , для которых вероятность образования узла станет уже практически равной единице.

В работах^{22, 37, 39} было показано, что вероятность образования узла резко падает с ростом отношения толщины сегмента d к его длине b . Лебре³⁷ обобщил результаты расчетов вероятности образования узла P в виде следующей интерполяционной формулы:

$$P = (-1,97 \cdot 10^{-2} + 2,76 \cdot 10^{-3}n + 5,60 \cdot 10^{-6}n^2 - 2,37 \cdot 10^{-8}n^3) \times \exp(-11,6 d/b), \quad 6 \leq n \leq 150. \quad (16)$$

Вероятность образования узлов для цепей с исключенным объемом может стать настолько малой, что могут возникнуть сомнения, всегда ли вероятность образования узла стремится к единице при $n \rightarrow \infty$. В свое время Хаммерслей⁴⁰ предположил, что с ростом n доля незаузленных замкнутых цепей становится экспоненциально малой даже для цепей с исключенным объемом. Как указали Фриш и Клемпнер⁴¹, этот факт следует из работы Кестена⁴² и одной из теорем теории узлов. Как видно из формулы (16), однако, вероятность образования узла, при фиксированном n , экспоненциально падает с ростом отношения толщины сегмента к его длине.

Резкое уменьшение вероятности образования узлов с ростом толщины цепи, т. е. с увеличением эффекта исключенного объема, наводит на мысль, что эта вероятность будет увеличиваться при введении притяжения между удаленными сегментами цепи, т. е. в случае отрицательного исключенного объема. Для проверки этого предположения мы провели расчеты вероятности образования узла P в зависимости от величины параметра разбухания полимерной цепи α в области $\alpha < 1$.

Величина α определялась как обычно (см., например,^{5, 8}), т. е. $\alpha^2 = \langle S^2 \rangle / \langle S^2 \rangle_0$, где $\langle S^2 \rangle$ — среднеквадратичный радиус инерции рассма-

триваемой цепи, а $\langle S^2 \rangle_0$ — то же для θ -точки, т. е. для бесконечно тонкой цепи без взаимодействия между сегментами. Использовался модельный потенциал вида $U = -U_0 \exp(-\kappa r^2)$, где под r понимается расстояние между любыми парами вершин свободно-сочлененной цепи. Расчеты были проведены для двух фиксированных значений κ (0,2 и 0,5), причем каждый раз величина α варьировалась путем изменения параметра U_0 . Результаты не зависят от параметра κ . Более того, потенциал совсем другого вида привел к совершенно тем же результатам. Таким образом, вероят-

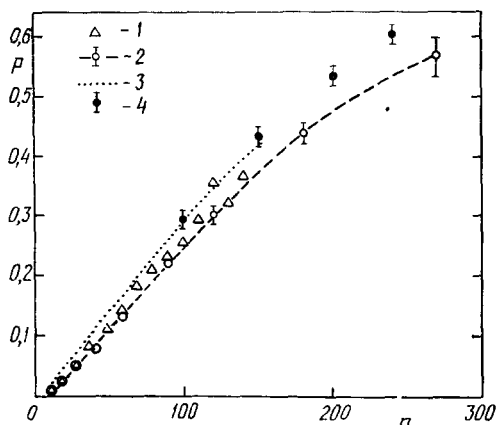


Рис. 18. Зависимость вероятности образования нетривиального узла P при случайном замыкании полимерной цепи, от числа сегментов в ней.

1 — данные работ ^{22, 39}, 2 — данные ³⁶, 3 — данные ³⁷, 4 — последние данные авторов.

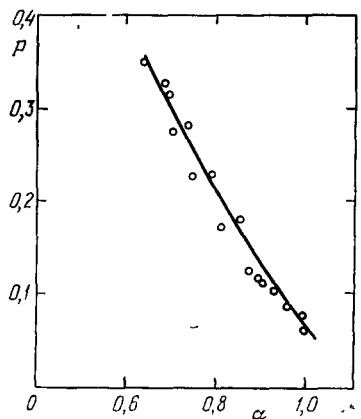


Рис. 19. Зависимость вероятности образования узла от параметра разбухания полимера α в области $\alpha < 1$, т. е. при наличии притяжения между сегментами.

Расчеты проводились для цепи, состоящей из 30 сегментов.

ность образования узла можно считать однозначной функцией параметра разбухания α , вне зависимости от конкретного вида потенциала взаимодействия между сегментами. Рис. 19 демонстрирует очень резкую зависимость вероятности образования узла от α . В область меньших значений α пройти не удалось, так как расчеты требуют слишком большого машинного времени.

В работах ^{22, 39} приведены также данные о вероятности образования узлов различных типов для модели бесконечно тонкой цепи без взаимодействия. Обсуждение результатов расчетов вероятности образования узлов в связи с различными проблемами было дано в работах ^{22, 39}. С тех пор появились чрезвычайно интересные экспериментальные данные, которые будут обсуждены нами ниже, в гл. 6.

2) Топологические взаимодействия полимерных цепей. Подобно тому, как первым вопросом статистической механики узлов является рассмотренный выше вопрос о вероятности образования узла при случайном замыкании одиночной цепи, первым вопросом, связанным с поведением двух цепей, является вопрос о вероятности образования зацепленного (или незацепленного) состояния при случайном замыкании двух цепей с заданным расстоянием между их центрами масс (R). Результаты такого рода расчетов для модели бесконечно тонкой цепи (т. е. в θ -точке), выполненные в работах ^{24, 39}, пред-

ставлены на рис. 20. Оказалось, что результаты расчетов очень хорошо удовлетворяют интерполяционной формуле

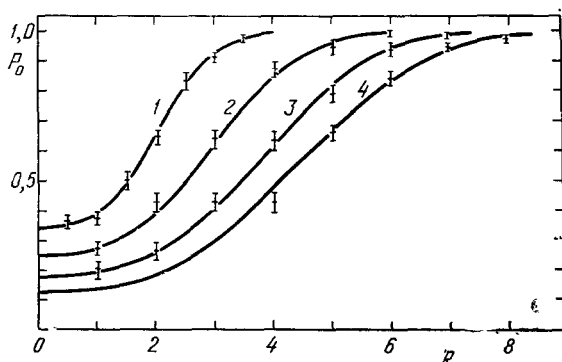
$$P_0 = 1 - A_0 \exp(-\alpha_0 R^3), \quad (17)$$

где A_0 и α_0 зависят от числа сегментов в цепях (см. ^{24, 39}).

Формула (17) показывает, что число состояний системы из двух незацепленных колец является резкой функцией расстояния между ними.

Рис. 20. Зависимость вероятности образования незацепленного состояния двух полимерных цепей от расстояния R между их центрами масс.

Различные кривые отвечают различным значениям числа сегментов в каждой из цепей n (обе цепи предполагаются состоящими из одинакового числа сегментов): 1 — 20, 2 — 40, 3 — 60 и 4 — 80. Данные работы ²⁴.



Это означает, что газ (раствор) незацепленных бесконечно тонких кольцевых полимерных цепей не будет идеальным. В нем возникнет отталкивание между цепями энтропийной природы. Второй вириальный коэффициент для газа (раствора) таких цепей будет иметь простой вид (см. ^{24, 39}):

$$B = \frac{2}{3} \pi \frac{A_0}{\alpha_0}. \quad (18)$$

Анализ результатов машинных расчетов показывает, что получаемые значения B весьма близки к величине, отвечающей сферическим непроницаемым друг для друга частицам, имеющим радиус, равный среднеквадратичному радиусу инерции замкнутой полимерной цепи. Таким образом, идеальные замкнутые цепи должны испытывать взаимное отталкивание, которое целиком обусловлено топологическими ограничениями.

С другой стороны, величина B позволяет вычислить концентрацию зацепленных молекул (катенатов) c_k , получаемых при случайном замыкании линейных полимеров, имеющих концентрацию c :

$$c_k = c^2 B. \quad (19)$$

3) Распределение замкнутых цепей по величине райзинга. Кроме чисто топологических характеристик, очень важную роль в описании кольцевых ДНК играет дифференциально-геометрическая величина, о которой речь шла в гл. 4, величина райзинга Wr . Задача о вычислении распределения замкнутых цепей по значению райзинга была впервые поставлена Бэнхамом ⁴³ и решена в работе ⁴⁴. При этом было рассмотрено распределение по райзингу цепей, принадлежащих к заданному топологическому типу.

На рис. 21 приведены результаты расчетов дисперсии райзинга для незаузеленных цепей (тривиальных узлов), взятые из работы ⁴⁴. В точности такие же результаты были получены Лебре ³⁷. Расчеты выполнялись методом Монте-Карло для безрешеточных моделей свободно-сочлененной бесконечно тонкой полимерной цепи. Для этого случая двойной интеграл

(9) может быть преобразован в двойную сумму по сегментам, поскольку этот интеграл для двух произвольно ориентированных прямолинейных отрезков вычисляется аналитически. Лебре³⁷ использовал иное, но совершенно эквивалентное определение райзинга.

Результаты расчетов показали, что величина Wr для незаузленных замкнутых цепей (тривиальных узлов) имеет нормальное распределение с максимумом в нуле и с дисперсией, почти линейно зависящей от числа сегментов в цепи (см. рис. 21). Для

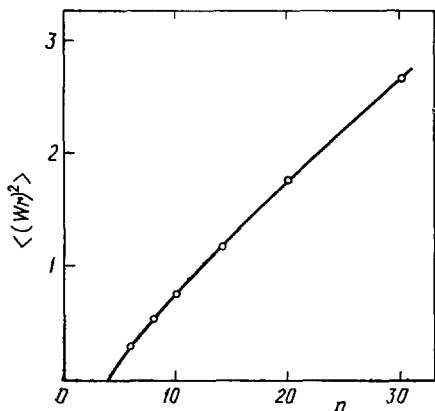


Рис. 21. Зависимость дисперсии райзинга от числа сегментов в замкнутой незаузленной (полимерной) цепи.

узленных цепей, получаемых при случайном замыкании, еще очень мала, величину $\langle (Wr)^2 \rangle$ нельзя вычислить, не исключив из рассмотрения заузленные цепи⁴⁴. Это связано с тем, что незеркальные узлы дают непропорционально большой вклад в дисперсию райзинга из-за бимодальности их распределения.

6. ПРИЛОЖЕНИЯ ТЕОРИИ К КОЛЬЦЕВЫМ ДНК

Топологические проблемы в полимерах начали обсуждаться в связи с попытками химического синтеза узлов и катенанов¹³. Затем была осознана важность топологии в полимерных сетках⁹⁻¹². Эти два направления подробно рассмотрены в обзоре Фриша и Клемпнера⁴¹. Со времени появления этого обзора экспериментальная ситуация в этих областях мало изменилась. Так, несмотря на упорную многолетнюю работу по химическому синтезу узлов, его так и не удалось до сих пор осуществить. Однако за эти годы произошло бурное развитие приложений топологии в совершенно новой области — в области кольцевых ДНК. В обзоре⁴¹ этот вопрос был затронут очень бегло, лишь в связи с обнаружением зацепленных колец ДНК (катенанов). В настоящее время именно в области изучения кольцевых замкнутых (КЗ) ДНК топологические идеи и методы находят самое широкое применение.

Начало применению топологических идей к изучению свойств КЗ ДНК было положено Фуллером³⁴ в 1971 г., когда он применил к анализу свойств этих молекул результаты теории полос. Согласно этой теории (см. гл. 4), наряду с топологической характеристикой полосы, ее порядком зацепления Lk , важную роль играют еще две дифференциально-геометрические характеристики, кручение полосы Tw и райзинг Wr , причем все три характеристики связаны между собой условием (8).

Для случая трилистника получается бимодальное распределение, являющееся суммой двух нормальных распределений, каждое из которых отвечает двум зеркально изомерным формам трилистника (см. 37). Центры этих распределений расположены в точках $Wr \approx \pm 3$. Для узла 4_1 центр распределения расположен в нуле, что естественно, так как этот узел изотопически эквивалентен своему зеркальному отображению. Для узлов 5_1 и 5_2 вновь получаются бимодальные распределения, причем максимумы разнесены на величину 126, и 9,4 соответственно³⁷.

Важно подчеркнуть, что даже для сравнительно небольшого числа сегментов в цепи, когда доля за-

Напомним, что КЗ ДНК принято характеризовать не суммарной величиной Lk , а числом избыточных витков (числом супервитков τ), определяемым с помощью формулы (1). Подчеркнем, что величина N/γ_0 в формуле (1) строго фиксирована при заданных внешних условиях. Однако при изменении внешних условий (температуры, состава растворителя и т. д.) величина γ_0 меняется и поэтому число супервитков τ , в отличие от Lk , является топологическим инвариантом ДНК лишь при фиксированных внешних условиях.

Истинная величина кручения полосы Tw , т. е. осевой закрутки КЗ ДНК, может, вообще говоря, быть какой угодно в зависимости от величины Wr , так как единственным условием для полосы является условие (8). Так, мы можем потребовать, чтобы $Tw = N/\gamma_0$. Тогда, согласно (8), $Wr = \tau$. Напротив, можно сделать так, чтобы $Wr = 0$ и вся суперспирализация реализовалась в форме осевой закрутки. В этом случае $Tw = Lk = \tau + (N/\gamma_0)$, и среднее число пар оснований, приходящееся на виток двойной спирали, будет равно

$$\gamma = \frac{N}{Tw} = \frac{1}{(1/\gamma_0) + (\tau/N)}.$$

Реальная ситуация, т. е. то, какая доля супервитков реализуется, в среднем, в виде осевой закрутки, а какая в виде райзинга, т. е. изгиба оси двойной спирали, определяется соотношением коэффициентов жесткости двойной спирали на кручение и на изгиб оси. Ими же определяется амплитуда тепловых флуктуаций величин Wr и Tw около их равновесных значений.

Непосредственно на опыте может быть измерена только величина τ . Существующие в настоящее время методы основаны на том, что каждому значению τ соответствует свое среднее значение райзинга и, следовательно, свое значение подвижности КЗ ДНК (см. гл. 2). В настоящей главе будут изложены результаты работ, касающихся кольцевой ДНК, в которых существенным образом использовалась теория, изложенная в предыдущих главах. При сопоставлении теории с опытом следует помнить, что ДНК представляет собой очень жесткий полимер, для которого отношение толщины сегмента к его длине порядка 10^{-2} . Кроме того, в обычно исследуемой области ионных условий и длин ДНК взаимодействием между удаленными вдоль цепи сегментами в ДНК (объемными эффектами) можно пренебречь. Поэтому к ДНК применимы те результаты гл. 5, которые относятся к модели бесконечно тонкой цепи без взаимодействия между сегментами.

а) Распределение КЗ ДНК по топоизомерам

До сих пор мы обсуждали конформационные перестройки КЗ ДНК, в которой Lk является строгим инвариантом, т. е. обе нити ДНК остаются непрерывными. Очень важную информацию об энергетических и конформационных характеристиках КЗ ДНК дали опыты, в которых величина Lk могла изменяться, и изучалось равновесное распределение КЗ молекул по величине Lk . Наиболее удобным способом изменения Lk является использование особых ферментов, получивших название топоизомераз.

В работах, о которых идет речь ^{45, 46}, использовались топоизомеразы типа I, которые изменяют топологическое состояние КЗ ДНК путем разрыва и воссоединения только одной из нитей двойной спирали. Такие ферменты приводят к релаксации распределения молекул по величине Lk к его равновесной форме. Для анализа распределения молекул КЗ ДНК по величине Lk в этих работах был применен очень чувствительный метод.

гель-электрофореза. С помощью этого метода удастся разделять молекулы КЗ ДНК, отличающиеся по Lk на единицу. Пример получающегося распределения материала после электрофореза в геле приведен на рис. 22. Естественно, что максимуму равновесного распределения всегда отвечает

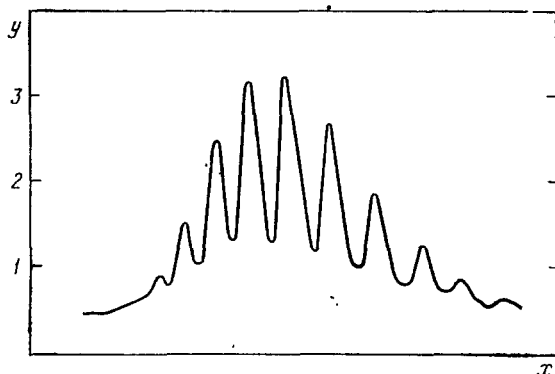


Рис. 22. Равновесное распределение КЗ ДНК по топоизомерам.

КЗ ДНК вируса SV 40 была подвергнута действию топоизомеразы типа I и полученный препарат подвергнут электрофорезу в геле. По оси абсцисс — координата вдоль геля x ; по оси ординат — соответствующее количество ДНК (y в усл. ед.). Соседние пики отвечают топоизомерам, отличающимся по величине τ на единицу.

$\tau = 0$. Заметим, что хотя величина τ может принимать лишь дискретные значения, отличающиеся не менее чем на единицу, она не обязана быть целочисленной. Поэтому, как правило, молекул с $\tau = 0$ в препарате не оказывается. Ясно также, что молекулы с близким по абсолютной величине значением τ должны быть близки по подвижности и близко располагаться в геле. Распределение типа приведенного на рис. 22, в котором молекулы с положительными и отрицательными τ разнесены, получают, когда электрофорез проводят в условиях, отличных от условий, в которых проводилась реакция с топоизомеразой. Изменение условий означает, что вместо γ_0 в формулу (1) следует подставлять некоторую другую величину γ'_0 без изменения Lk . Это значит, что все распределение сместится на величину $\delta\tau = N[(1/\gamma_0) - (1/\gamma'_0)]$ и молекулы, которые в исходном распределении имели значение τ , будут в новом распределении иметь значения $\tau' = \tau + \delta\tau$ и для достаточно большого $\delta\tau$ все топоизомеры хорошо разделяются.

Эксперименты показали, что получаемое распределение всегда является нормальным. Дисперсия этого нормального распределения $\langle \tau^2 \rangle = \langle (\Delta Lk)^2 \rangle$, измеренная для различных ДНК, приведена на рис. 23. Для числа пар $N \geq 3000$ результаты экспериментов удовлетворяют следующей феноменологической формуле:

$$P(\tau) \propto \exp\left(-1000 \frac{\tau^2}{N}\right). \quad (20)$$

Из рис. 23 видно, что результаты, полученные разными авторами, которые использовали совершенно различные ферментативные системы,

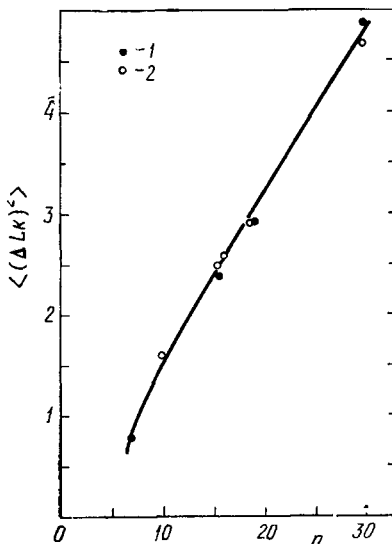


Рис. 23. Зависимость дисперсии распределения по порядку зацепления нитей ДНК, $\langle (\Delta Lk)^2 \rangle$, от числа сегментов в цепи ДНК. Длина сегмента принята равной 115 нм, т. е. 338 пар. 1 — данные работы ⁴⁵, 2 — данные ^{46, 47}.

ложатся на одну кривую. Уже этот факт убеждает в том, что полученные в работах ⁴⁵⁻⁴⁷ распределения молекул по Lk действительно являются равновесными. В каждой из этих работ приведены другие весьма убедительные доказательства равновесности наблюдаемых распределений.

Эти эксперименты сыграли очень важную роль в изучении физических свойств КЗ ДНК. Они позволили найти зависимость свободной энергии КЗ ДНК от числа витков суперспирали:

$$F = 1000RT \frac{\tau^2}{N}. \quad (21)$$

Кроме того, эти данные вместе с теоретическими результатами, приведенными в гл. 5, дали возможность впервые получить надежную оценку жесткости двойной спирали на кручение (торсионной жесткости) и найти какая доля суперспирализации τ реализуется в виде изменения в осевой закрутке ΔTw , а какая в виде райзинга Wr . Это было сделано в работе ⁴⁴, к изложению результатов которой мы приступаем.

Равновесные флуктуации в величине $\tau = \Delta Lk$ складываются из флуктуаций в осевой закрутке двойной спирали ΔTw и в величине райзинга Wr . В условиях многократных разрывов и воссоединений одной из нитей ДНК, т. е. в присутствии топоизомераз, ΔTw и Wr являются независимыми случайными величинами, а результирующая величина ΔLk равна их сумме (ср. с формулой (8)):

$$\Delta Lk = \Delta Tw + Wr. \quad (22)$$

Ясно, что средние величины $\langle \Delta Tw \rangle = \langle Wr \rangle = \langle \Delta Lk \rangle = 0$. Однако величины $\langle (\Delta Tw)^2 \rangle$ и $\langle (Wr)^2 \rangle$ отличны от нуля и вследствие независимости случайных величин ΔTw и Wr

$$\langle (\Delta Lk)^2 \rangle = \langle (\Delta Tw)^2 \rangle + \langle (Wr)^2 \rangle. \quad (23)$$

Величина $\langle (\Delta Lk)^2 \rangle$ известна из опыта (см. рис. 23), величина $\langle (Wr)^2 \rangle$ получена расчетным путем (см. рис. 21). Поэтому формула (23) дает возможность найти величину $\langle (\Delta Tw)^2 \rangle$ как функцию длины ДНК.

Результаты приведены на рис. 24. С другой стороны, величина $\langle (\Delta Tw)^2 \rangle$ однозначно связана с значением торсионной жесткости двойной спирали. В самом деле, пусть отклонение угла между соседними парами оснований ДНК на величину $\Delta\phi$ приводит к увеличению свободной энергии на величину

$$f = \frac{1}{2} g (\Delta\phi)^2, \quad (24)$$

где g — торсионная жесткость.

При независимости флуктуаций соседних углов $\Delta\phi$

$$\langle (\Delta Tw)^2 \rangle = N \langle (\Delta\phi)^2 \rangle = N \frac{RT}{g}. \quad (25)$$

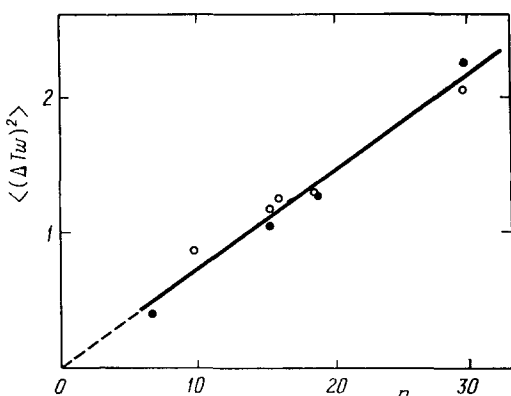


Рис. 24. Зависимость дисперсии в осевой закрутке ДНК, $\langle (\Delta Tw)^2 \rangle$, от числа сегментов в молекуле ⁴⁴.

Точки получены путем вычитания из экспериментальных значений $\langle (\Delta Lk)^2 \rangle$, приведенных на рис. 23, расчетных значений $\langle (Wr)^2 \rangle$, приведенных на рис. 21.

В полном соответствии с формулой (25), найденная величина $\langle(\Delta Tw)^2\rangle$ оказалась строго пропорциональной N (см. рис. 24). Наклон прямой позволил определить величину g , которая оказалась равной:

$$g = 0,036 RT. \quad (26)$$

Такое значение торсионной жесткости ДНК отвечает среднеквадратичной амплитуде тепловых флуктуаций в значении угла ϕ между соседними парами оснований, равной 5° . Таким образом, анализ экспериментальных данных по кольцевым ДНК с использованием результатов, изложенных в теоретической части данного обзора, позволил оценить одну из фундаментальных характеристик двойной спирали. Следует отметить, что предпринимались и другие попытки оценить торсионную жесткость ДНК, исходя из совершенно иных экспериментальных данных (см. ⁴⁸⁻⁵¹). Все эти попытки, однако, привели к существенно менее определенным оценкам. Лишь недавно была получена достаточно аккуратная оценка величины торсионной жесткости ДНК, исходя из данных по кинетике деполяризации флуоресценции красителя, связанного с ДНК ⁵². Эти данные подтвердили приведенные выше результаты работы ⁴⁴.

Приведенные результаты существенным образом опираются на знание другой важнейшей характеристики двойной спирали — ее изгибной жесткости. Жесткость ДНК на изгиб принято характеризовать величиной персистентной длины a или, что эквивалентно, величиной статистического сегмента $b = 2a$. Работы последнего десятилетия дали надежную оценку величины $b = 115 \pm 10$ нм (см. ⁵³⁻⁵⁶). В самое последнее время было показано, что эта величина остается постоянной в широкой области изменения внешних условий ^{57, 58} (ионного состава растворителя и др.). В работе ⁴⁴, результаты которой были изложены выше, предполагалось, что $b = 115$ нм вне зависимости от ионных условий, в которых проводилась обработка ДНК топоизомеразами. С другой стороны, Лебре ³⁷, хотя он и получил правильные результаты по дисперсии райзинга (см. гл. 5), не смог получить конкретной оценки торсионной жесткости, поскольку он опирался на данные Харрингтона ⁵⁹, свидетельствовавшие об очень сильной зависимости персистентной длины ДНК от ионных условий. Полная несостоятельность выводов Харрингтона ясно показана в работах ^{57, 58}.

Из сопоставления рис. 23 и 24 сразу видно, что при всех длинах кольцевых ДНК величина $\langle Wr^2 \rangle$ составляет почти ровно половину от величины $\langle(\Delta Lk)^2\rangle$. Это немедленно приводит к выводу о том, что в КЗ ДНК половина супервитков τ должна быть реализована в виде райзинга, а половина — в виде изменения в осевой закрутке.

в) Узлы и катенаны

Выше мы рассмотрели те свойства КЗ ДНК, которые определяются ее двунитчатостью. Топологической характеристикой в этом случае является величина Lk . В данном разделе мы остановимся на тех вопросах, при анализе которых двойную спираль ДНК можно рассматривать как единую полимерную цепь. Различные топологические состояния, в которых могут находиться замкнутые полимерные цепи, т. е. узлы и зацепления, были подробно описаны в теоретической части данного обзора.

Как математические объекты узлы и зацепления изучаются уже более ста лет. Вопрос о возможности существования таких топологических состояний у молекул был поднят сравнительно недавно (см. обзор ⁴¹). Особый интерес он приобрел после открытия кольцевых ДНК. Вскоре после открытия одиночных кольцевых молекул ДНК, в некоторых клетках были обнаружены катенаны ^{60, 61}, т. е. зацепления, и даже целые

сети из зацепленных кольцевых ДНК (см. обзор ⁶²). Катенаны часто получаются при репликации ДНК *in vitro* (см. ⁶³ и цитированные в ней работы), а также при замыкании в кольцо линейных ДНК, имеющих «липкие концы» при достаточной концентрации ⁶⁴. Возник вопрос о механизме репликации катенанов и сетей. В самом деле, весьма нелегко представить себе, как такого рода образования могут удваиваться при делении клетки.

Расчеты вероятности образования узлов при замыкании полимерной цепи, результаты которых приведены в гл. 5, поставили вопрос о возможности существования заузленных ДНК. Так, согласно этим результатам, равновесная доля заузленных ДНК должна быть заметной для кольцевых ДНК, содержащих более 10^4 пар оснований (30 сегментов). В большинстве случаев молекулы ДНК имеют даже большую длину, и было высказано предположение о существовании в клетке специальных механизмов, препятствующих образованию заузленных ДНК ³⁹. В самом деле, при репликации заузленной цепи дочерние нити не могут разойтись, т. е. репликация заузленных ДНК связана с серьезными проблемами.

Хотя теория предсказывала возможность образования заузленных молекул, по крайней мере *in vitro*, долгое время их не удавалось обнаружить. Связано это было с тем, что для коротких ДНК ($N < 10^4$), для которых можно ожидать заметного отличия в физических свойствах (например, подвижности) заузленных молекул от незаузленных, очень мала вероятность образования узлов. С другой стороны, для длинных молекул ($N > 10^4$), для которых эта вероятность значительна, ожидаемые изменения физических свойств очень малы. Впервые заузленные молекулы были обнаружены в препаратах однонитевых кольцевых ДНК после их обработки в некоторых специальных условиях топоизомеразой типа I ⁶⁵. Это был первый случай обнаружения заузленных полимерных цепей.

Однако наиболее интригующей продолжала оставаться проблема обнаружения узлов в нормальных, двунитевых ДНК. Узлы из таких ДНК были получены совсем недавно ⁶⁶. Оказалось, что существует особый подкласс топоизомераз, т. е. ферментов, способных менять Lk в КЗ ДНК, названных топоизомеразой типа II, и способных «развязывать» и «завязывать» узлы в КЗ ДНК. Кроме того, эти ферменты катализируют образование катенанов из пары или большего числа молекул КЗ ДНК ^{67, 68}, причем образуются целые сети, подобные тем, которые наблюдаются *in vivo* у кинетопластов ⁶². В отличие от топоизомераз типа I, топоизомеразы типа II рвут, а затем сшивают сразу обе нити молекул ДНК. Было показано, что через образующуюся в промежуточном состоянии «щель» между возникшими в результате разрыва концами фермент «протаскивает» сегмент этой же молекулы или другой молекулы, находящейся поблизости (рис. 25). Такая операция с отдельной КЗ ДНК отвечает изменению райзинга на ± 2 (см. гл. 4), но, очевидно, не меняет величину Tw . Следовательно, $\Delta Lk = \pm 2$, т. е. топоизомеразы типа II могут менять величину Lk лишь на четное число. В самом деле, опыт показывает, что топоизомер-

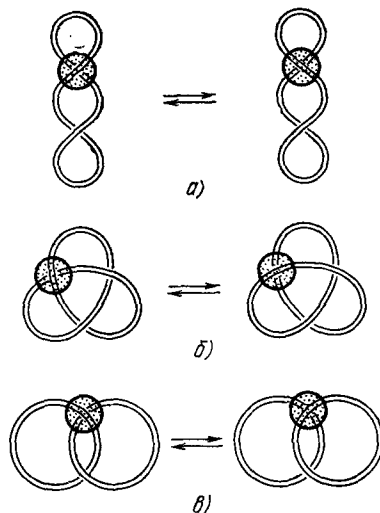


Рис. 25. Три «топологических реакции», катализируемых топоизомеразой типа II.

а) изменение числа витков суперспирали ($\Delta t = \pm 2$); б) развязывание и завязывание узлов; в) расщепление и образование катенанов.

разы типа II, в отличие от топоизомераз типа I, всегда меняют Lk только на четное число ⁶⁶, ⁶⁹. Таким образом, топоизомеразы типа II катализируют процесс взаимного проникновения друг сквозь друга сегментов двойной спирали. Следовательно, эти топоизомеразы должны приводить к установлению полного топологического равновесия, т. е. к такому распределению молекул по топологическим состояниям, которое соответствовало бы свободно проницаемым нитям.

Как отмечалось выше, для надежного доказательства обнаружения заузленных молекул эти молекулы не должны быть очень длинными, но тогда равновесная доля узлов, согласно расчетам, должна быть малой. Лю с соавторами ⁶⁶ удалось преодолеть это противоречие, используя топоизомеразу II в очень больших концентрациях, в которых она существенно меняла макромолекулярные свойства самой ДНК. Кроме того, к ферменту не добавляли АТФ, который необходим для его нормальной работы. Именно в этих экстремальных условиях даже в коротких ДНК с $N = 4,5 \cdot 10^3$ обнаруживалась значительная доля заузленных молекул. Их удалось первоначально зарегистрировать по появлению новых полос на геле-электрофореграмме, отвечающих большей подвижности. Изучение свойств этих фракций разными методами, включая электронную микроскопию, позволило однозначно доказать, что они отвечают узлам разных типов. Если теперь к очищенному препарату заузленных молекул добавить топоизомеразу II в нормальном количестве и АТФ, то происходит быстрое «развязывание» узлов, т. е. система быстро релаксирует к равновесному для чистых молекул ДНК состоянию, в котором, согласно расчетам, узлов при данной длине практически быть не должно. Что касается причин, по которым фермент в высокой концентрации резко смещает равновесие в сторону образования узлов, то в свете приведенных в гл. 5 результатов наиболее вероятное объяснение состоит в том, что белок в большой концентрации приводит к уменьшению размеров полимерного клубка ДНК вследствие изменения характера взаимодействия удаленных вдоль цепи сегментов. Как видно из рис. 19, даже небольшое уменьшение размеров полимерного клубка резко увеличивает равновесную долю узлов. Другое, приведенное в работе ⁶⁶, объяснение влияния белка за счет изменения размера сегмента представляется менее правдоподобным. Заузленные молекулы ДНК (а также катенаны) были получены также весьма изощренным способом — путем использования специальных клеточных экстрактов, вызывающих рекомбинацию, и приготовления методами геной инженерии специальных «химерных» ДНК ⁷⁰.

Итак, экспериментально показана возможность образования узлов *in vitro*. Более того, обнаружен класс ферментов, которые могут «завязывать» и «развязывать» узлы в клетке. Теперь, после открытия топоизомераз типа II, существование и репликация заузленных ДНК не кажутся столь невероятными. В самом деле, эти топоизомеразы, в принципе, устраняют все топологические проблемы, которые могут при этом возникать. Поэтому становится вполне возможным допустить существование заузленных ДНК *in vivo*. Пока они еще не обнаружены, но появление работ ⁶⁶, ⁷⁰ позволяет надеяться, что в ближайшее время будет выяснен вопрос о существовании заузленных молекул ДНК в живой клетке.

7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изложенный материал показывает, что теория кольцевых полимерных структур имеет специфический хорошо разработанный аппарат, опирающийся на результаты алгебраической топологии и современной дифференциальной геометрии. Особый интерес к этой теории вызван тем, что она

нашла в последние годы применение при изучении свойств кольцевых молекул ДНК, наиболее популярных объектов современной молекулярной биологии. Молекула ДНК оказалась весьма благодарным объектом приложения теории еще и потому, что вследствие очень большой жесткости цепи ДНК ее свойства описываются простыми моделями, для которых могут быть получены точные результаты. Эти результаты могут количественно сопоставляться с экспериментом.

Следует подчеркнуть, что рассмотренные в обзоре проблемы, связанные со свойствами кольцевых замкнутых ДНК, относятся к случаю малых значений суперспирализации. В этой области получены наиболее надежные результаты. В то же время существенный интерес для приложений представляет рассмотрение произвольных значений плотности супервитков КЗ ДНК. При этом возникает целый ряд новых вопросов, которые пока недостаточно изучены. Так, имеется ряд попыток ответить на вопрос о пространственной конфигурации цепи КЗ ДНК в суперспиральном состоянии⁷¹⁻⁷³. Однако авторы этих работ ограничились чисто механической задачей, рассматривая ДНК как упругий стержень бесконечно малой толщины и без учета теплового движения. Есть веские основания подозревать, что как конечность толщины цепи (см.³⁴), так и статистические свойства цепи существенно сказываются на конфигурации КЗ ДНК.

Другая, еще более важная проблема, относящаяся к КЗ ДНК с достаточно большой отрицательной суперспирализацией, связана с тем, что возникающие в такой ДНК напряжения могут приводить к существенным конформационным перестройкам, о которых упоминалось в гл. 2. Анализ такого рода конформационных изменений тесно связан с теорией перехода спираль—клубок в ДНК (см. обзор¹⁶), и в последние годы был сделан ряд попыток построить теорию конформационных изменений в КЗ ДНК с учетом топологических ограничений⁷⁴⁻⁷⁷. Одним из наиболее интересных выводов теории было предсказание об очень резком увеличении вероятности образования крестообразных структур, типа изображенной на рис. 6, с ростом суперспирализации⁷⁵. Совсем недавно образование такого рода структур в суперспиральных ДНК было убедительно продемонстрировано в изящных экспериментах Лилли⁷⁸ и Панайотатос и Веллс⁷⁹.

Открытия последнего времени, о которых было рассказано в гл. 6, значительно расширили экспериментальные возможности направленного изменения топологического состояния молекул ДНК. Это несомненно приведет в ближайшие годы к появлению новых интересных данных о физических свойствах КЗ ДНК в заузленных и зацепленных состояниях.

Институт молекулярной генетики
АН СССР

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ландау Л., Лифшиц Е. Статистическая физика — М.; Л.: Гостехиздат, 1951.
2. Исихара А. Статистическая физика — М.: Мир, 1973.
3. Волькенштейн М. В. Конфигурационная статистика полимерных цепей — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959.
4. Флори П. Статистическая механика цепных молекул — М.: Мир, 1971.
5. Yamakawa H. Modern Theory of Polymer Solutions — N. Y.: Harper and Row, 1971.
6. Freed K. F. — Adv. Chem. Phys., 1972, v. 22, p. 1.
7. Yamakawa H. — Ann. Rev. Phys. Chem., 1974, v. 25, p. 179.
8. Лифшиц И. М., Гроссберг А. Ю., Хохлов А. Р. — УФН, 1979, т. 127, с. 353.

9. Edwards S. F.— Proc. Phys. Soc., 1967, v. 91, p. 513.
10. Edwards S. F.— J. Phys. Ser. A, 1968, v. 1, p. 15.
11. Iwata K.— J. Chem. Phys., 1980, v. 73, p. 562.
12. Elyashevich A. M.— Polymer, 1979, v. 20, p. 1382.
13. Frisch H. L., Wasserman E.— J. Am. Chem. Soc., 1961, v. 83, p. 3789.
14. Шилл Г. Катенаны, ротаксаны и узлы.— М.: Мир, 1973.
15. Воескманн J., Schill G.— Tetrahedron, 1974, v. 30, p. 1945.
16. Веденов А. А., Дыхно А. М., Франк-Каменецкий М. Д.— УФН, 1971, т. 105, с. 479.
17. Лазуркин Ю. С.— Молек. биол., 1977, т. 11, с. 1311.
18. Франк-Каменецкий М. Д.— В кн. Молекулярная биология.— М.: ВИНТИ, 1979.— Т. 15, с. 42.— (Сер. «Итоги науки и техники»).
19. Bauer W.— Ann. Rev. Biophys. and Bioeng., 1978, v. 7, p. 287.
20. Crick F. H. C., Wang J. C., Bauer W. R.— J. Mol. Biol., 1979, v. 129, p. 449.
21. Дубровин Б. А., Новиков С. П., Фоменко А. Т. Современная геометрия.— М.: Наука, 1979.
22. Вологодский А. В., Лукашин А. В., Франк-Каменецкий М. Д., Аншелевич В. В.— ЖЭТФ, 1974, т. 66, с. 2153.
23. Bregeton M. G., Shah S.— J. Phys. Ser. A, 1980, v. 13, p. 2751.
24. Вологодский А. В., Лукашин А. В., Франк-Каменецкий М. Д.— ЖЭТФ, 1974, т. 67, с. 1876.
25. Кроуэлл Р., Фокс Р. Введение в теорию узлов.— М.: Мир, 1967.
26. Reidemeister K. Knotentheorie Ergebnisse der Mathematik.— Berlin: Springer-Verlag, 1932.
27. Conway J. H.— In: Computational Problems in Abstract Algebra, Oxford: Pergamon Press, 1970.— P. 329.
28. Perkó K. A.— Proc. Amer. Math. Soc., 1974, v. 45, p. 262.
29. Бляшке В. Введение в дифференциальную геометрию.— М.: Гостехиздат, 1957.
30. Calagareanu G.— Rev. Math. Pur. et Appl., 1959, t. 4, p. 5.
31. Calagareanu G.— Czech. Math. J., 1961, v. 11, p. 588.
32. Pohl W. F.— Am. J. Math., 1968, v. 90, p. 1321.
33. White J. H.— Ibid., 1969, v. 91, p. 693.
34. Fuller F. B.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1971, v. 68, p. 815.
35. Crick F. H. C.— Ibid., 1976, v. 73, p. 2639.
36. Des Cloizeaux J., Mehta M. L.— J. de Phys., 1979, t. 40, p. 665.
37. Le Bret M.— Biopolymers, 1980, v. 19, p. 619.
38. Delbrück M.— In: Mathematical Problems in the Biological Sciences.— Amer. Math. Soc., 1962.— P. 55.
39. Frank-Kamenetskii M. D., Lukashin A. V., Vologodskii A. V.— Nature, 1975, v. 258, p. 398.
40. Hammersley J.— J. R. Stat. Soc. Ser. B, 1964, v. 26, p. 387.
41. Frisch H. L., Klemperer D.— Adv. Macromol. Chem., 1970, v. 2, p. 149.
42. Kesten H.— J. Math. Phys., 1963, v. 4, p. 960.
43. Benham C. J.— J. Mol. Biol., 1978, v. 123, p. 361.
44. Vologodskii A. V., Anshelevich V. V., Lukashin A. V., Frank-Kamenetskii M. D.— Nature, 1979, v. 280, p. 294.
45. Depew R. E., Wang J. C.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1975, v. 72, p. 4275.
46. Pulleyblank D. E., Shure M., Tang D., Vinograd J., Vosberg H.— P.— Ibid., p. 4280.
47. Shure M., Pulleyblank D. E., Vinograd J.— Nucl. Acids Res., 1977, v. 4, p. 1185.
48. Le Bret M.— Biopolymers, 1978, v. 7, p. 1939.
49. Barkley M. D., Zimm B. H.— J. Chem. Phys., 1979, v. 70, p. 2991.
50. Allison S. A., Schurr J. M.— Chem. Phys., 1979, v. 41, p. 35.
51. Belintsev B. N., Gagua A. B., Nedospasov S. A.— Nucl. Acids Res., 1979, v. 6, p. 983.
52. Millar D. P., Robbins R. J., Zewail A. H.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 77, p. 5593.
53. Record M. T., Woodbury C. P., Inman R. B.— Biopolymers, 1975, v. 14, p. 393.
54. Kovacic R. T., van Holde K. E.— Biochemistry, 1977, v. 16, p. 1490.
55. Oberthür R. C.— Macromol. Chem., 1978, v. 179, p. 2693.
56. Harpst J. A.— Biophys. Chem., 1980, v. 11, p. 295.
57. Odijk T.— Biopolymers, 1979, v. 18, p. 3111.
58. Слоницкий С. В., Фрисман Э. В.— Молек. биол., 1980, т. 14, с. 496.
59. Harrington R. E.— Biopolymers, 1978, v. 17, p. 919.
60. Hudson B., Vinograd J.— Nature, 1967, v. 216, p. 647.

61. Clayton D. A., Vinograd J.— *Nature*, 1967, v. 216, p. 652.
62. Borst P., Hoeijmakers J. H. J.— *Plasmid*, 1979, v. 2, p. 20.
63. Sakakibara Y., Suzuki K., Tomizawa J.— *J. Mol. Biol.*, 1976, v. 108, p. 569.
64. Wang J. C., Schwartz H.— *Biopolymers*, 1967, v. 5, p. 953.
65. Liu L., Depew R. E., Wang J. C.— *J. Mol. Biol.*, 1976, v. 106, p. 439.
66. Liu L. F., Liu C. C., Alberts B. M.— *Cell*, 1980, v. 19, p. 697.
67. Kreuzer K. N., Cozzarelli N. R.— *Cell*, 1980, v. 20, p. 245.
68. Baldi M. I., Bernardetti P., Mattoccia E., Tocchini-Valentini G. P.— *Ibid.*, p. 461.
69. Brown P. O., Cozzarelli N. R.— *Science*, 1979, v. 206, p. 1081.
70. Mizuuchi K., Fisher L. M., O'Dea M. H., Gellert M.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1980, v. 77, p. 1847.
71. Benham C. J.— *Ibid.*, 1977, v. 74, p. 2397.
72. Benham C. J.— *Biopolymers*, 1979, v. 18, p. 609.
73. Le Bret M.— *Biopolymers*, 1979, v. 18, p. 1709.
74. Laiken N.— *Biopolymers*, 1973, v. 12, p. 11.
75. Vologodskii A. V., Lukashin A. V., Anshelevich A. V., Frank-Kamenetskii M. D.— *Nucl. Acids Res.*, 1979, v. 6, p. 967.
76. Anshelevich V. V., Vologodskii A. V., Lukashin A. V., Frank-Kamenetskii M. D.— *Biopolymers*, 1979, v. 18, p. 2733.
77. Benham C. J.— *J. Chem. Phys.*, 1980, v. 72, p. 3633.
78. Lilley D. M.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1980, v. 77, p. 6468.
79. Panayotatos N., Wells R. D.— *Nature*, 1981, v. 289, p. 466.