

577.323

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНАЯ МОДЕЛЬ ДНК

М. Д. Франк-Каменецкий, В. В. Аншелевич, А. В. Лукашин

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение. Основная модель теории полиэлектролитов типа ДНК	595
2. Уравнение Пуассона — Больцмана	598
3. Приближение Дебая — Хюккеля и теория конденсации противоионов	600
4. Строгие методы рассмотрения основной модели	602
5. Современный статус теории конденсации	606
6. Приложение теории к анализу конформационных переходов в ДНК	608
6.1. Электростатическая свободная энергия	608
6.2. Переход спираль — клубок в ДНК	609
6.3. Полиэлектролитная теория В — Z-перехода	612
7. Заключение	616
Список литературы	616

1. ВВЕДЕНИЕ. ОСНОВНАЯ МОДЕЛЬ ТЕОРИИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ ТИПА ДНК

Многие полимеры диссоциируют в растворе на заряженный полион и малые мобильные ионы (протоны, гидрокислы, ионы металлов и т. д.). Кроме того, в растворе, вообще говоря, могут присутствовать и другие малые ионы обоих знаков. Такую систему, содержащую полионы и малые ионы, называют раствором полиэлектролита. Наличие дальнодействующего электростатического потенциала приводит к существенным различиям как в экспериментальном поведении, так и в теоретическом описании полиэлектролитов от обычных, незаряженных полимеров. Развитие теории полиэлектролитов в последние годы стимулируется тем, что молекула ДНК представляет собой пример сильно заряженного полиона, в котором на каждое мономерное звено (пару нуклеотидов) приходится два заряда электрона.

Всплеск интереса к вопросу об электростатических эффектах в ДНК вызвало открытие совершенно новой структуры двойной спирали, так называемой *Z*-формы. В отличие от стандартной правоспиральной *B*-формы ДНК, *Z*-форма представляет собой левую спираль (рис. 1). Имеется еще целый ряд принципиальных отличий в структуре *B*- и *Z*-форм¹. Легче всего в *Z*-форму переходят последовательности, в которых регулярно чередуются гуанин и цитозин под *GC* под *GC*:

..... GCGCGCGCGC

Впервые необычный структурный переход в таком полимере, происходящий при повышении ионной силы, был обнаружен методом кругового диэлектрического дихроизма Полом и Йовином². После того, как А. Рич с сотрудниками определили строение Z-формы методом рентгеноструктурного анализа³, многочисленными методами (ЯМР, комбинационное рассеяние и т. д.) было показано, что наблюдавшийся в² переход действительно отвечал переходу B — Z. В настоящее время B — Z-переход в ДНК детально исследован с помощью различных экспериментальных подходов (см. обзоры^{1, 4}). При этом был выяснен очень

интересный факт. Оказалось, что химическая модификация чередующегося GC полимера, состоящая в замене цитозина на метилцитозин (это соединение принято обозначать *полид* Gm^5C *полид* Gm^5C) приводит к резкому снижению

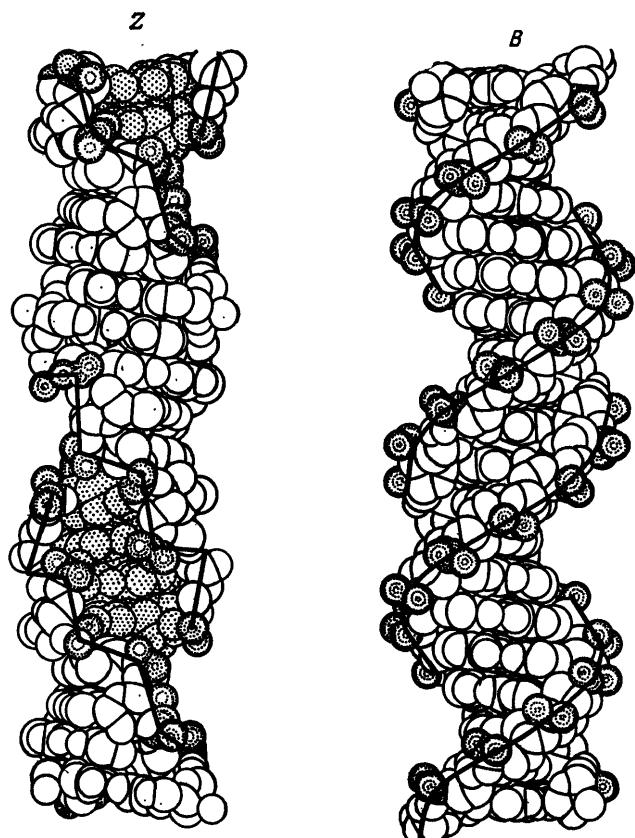


Рис. 1. Левоспиральная Z-форма (слева) и правоспиральная B-форма (справа), изображенные по данным рентгеноструктурного анализа.

Сплошными линиями показан ход сахаро-фосфатной цепи. На каждую фосфатную группу приходится один заряд электрона. Шаг спиралей Z-формы 4,46 нм, число пар азотистых оснований на виток спирали 12,0. Для B-формы эти величины равны 3,40 нм и 10,0

ионной силы, при которой происходит B — Z-переход⁵. Более того, недавно было обнаружено, что такой полимер переходит в Z-форму не только при повышении, но и при понижении ионной силы⁶⁻⁸ (рис. 2). Эти данные делают

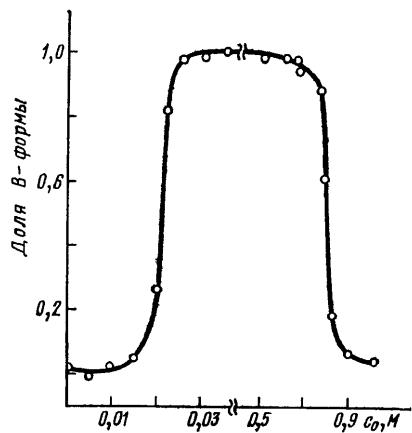


Рис. 2. Зависимость от концентрации соли (c_0) относительной доли ДНК в B-форме для полид Gm^5C , измеренная по спектрам кругового дихроизма⁶.

При низкой ионной силе ($c_0 < 0,01$ М) ДНК находится в Z-форме. По мере увеличения c_0 происходит переход сначала в B-форму (Z — B), а затем, при $c_0 \approx 0,8$ М, опять в Z-форму (B — Z). В работах^{7,8}, опубликованных позднее, переход Z — B наблюдался при более низких ионных силах (~0,002 М)

разработку полиэлектролитной теории конформационных переходов в ДНК особенно актуальной.

Электростатические эффекты играют существенную роль и в других структурных переходах, наблюдаемых в ДНК, наиболее известным и изученным

среди которых является переход спираль — клубок. Как подробно изложено в обзорах⁹⁻¹¹, температура плавления ДНК линейно зависит от логарифма концентрации соли в растворе, и это простое соотношение давно уже является вызовом для теоретиков. Электростатические взаимодействия играют также очень большую роль в релаксационных процессах, наблюдавшихся при переходе спираль — клубок, которые в последние годы привлекают к себе особое внимание¹⁰⁻¹².

При теоретическом рассмотрении электростатических эффектов в ДНК наибольшую популярность приобрела простая модель (рис. 3), согласно которой ДНК представляет собой бесконечно длинный равномерно отрицательно заряженный цилиндр радиуса a с поверхностной плотностью заряда $-es$, где e — заряд протона. Считается, что цилиндр помещен в бесконечную среду с постоянной диэлектрической проницаемостью $D \approx 80$ (водная среда). В объеме находятся также мобильные ионы, моделируемые непроницаемыми сферическими частицами конечного диаметра, d , с зарядами ne ($n = \pm 1$). Объемные концентрации мобильных ионов на бесконечности одинаковы и равны c_0 (раствор одновалентной соли типа NaCl).

Искомые характеристики этой электростатической системы — равновесный электростатический потенциал $u(r)$ и равновесные концентрации положительно и отрицательно заряженных частиц, $c^+(r)$ и $c^-(r)$, зависящие в силу цилиндрической симметрии только от расстояния r до оси цилиндра, связаны между собой уравнением Пуассона

$$u''(r) + r^{-1}u'(r) = -4\pi l_B (c^+(r) - c^-(r)), \quad (1)$$

где штрих означает дифференцирование по радиальной координате r , $l_B = e^2/DkT$ — длина Бъеррума (для водной среды при комнатных температурах $l_B = 0,7$ нм). Входящий в (1) безразмерный потенциал $u(r)$ определяется через обычный электростатический потенциал $U(r)$ соотношением $u(r) = eU(r)/kT$. Границные условия для уравнения (1) имеют вид

$$u'(a) = \frac{2q}{a}, \quad u(R) = 0; \quad (2)$$

здесь R — точка, бесконечно удаленная от оси цилиндра; граничное условие в этой точке формально обеспечивает макроскопическую электронейтральность системы. Важнейшим параметром теории полиэлектролитов является величина q — безразмерная линейная плотность отрицательных зарядов на цилиндре:

$$q = 2\pi a l_B s = \frac{l_B}{b}, \quad (3)$$

где b — длина отрезка цилиндра, на поверхности которого сосредоточен заряд $-e$. При вычислении q для конкретной структуры ДНК (см. рис. 1) под величиной b подразумевается среднее расстояние вдоль оси ДНК между двумя элементарными зарядами. Например, для В-формы расстояние вдоль оси спирали между парами нуклеотидов $2b = 0,34$ нм и $q = 4,2$. Для Z-формы $2b = 0,37$ нм и $q = 3,9$.

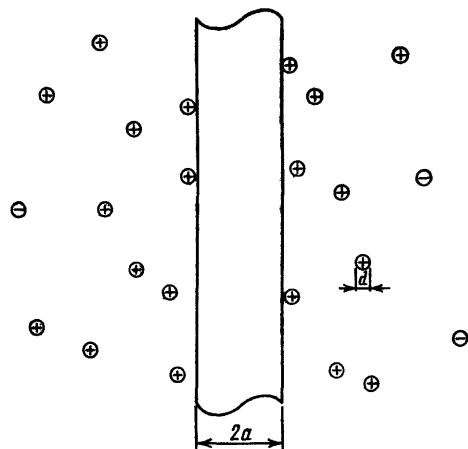


Рис. 3. Основная модель теории полиэлектролитов

Это и есть максимально упрощенная основная модель теории полиэлектролитов. Зная функции $u(r)$ и $c^n(r)$, мы можем далее рассчитать электростатический вклад в различного рода термодинамические характеристики ДНК.

Другие модели состоят в том или ином усложнении основной модели. Так, естественно рассматривать изгибы цилиндра, что позволяет вычислить электростатический вклад в персистентную длину. Учет взаимодействия между разными цилиндрами необходим при анализе объемных эффектов и при рассмотрении концентрированных растворов полиэлектролитов. Можно идти по пути детализации в смысле учета дискретности распределения зарядов на полионе, учета молекулярной структуры растворителя и т. д. Однако все эти усложняющие факторы имеют смысл рассматривать лишь после того, как найден достаточно адекватный способ решения основной задачи.

В настоящем обзоре главное внимание мы сосредоточим на проблеме корректного рассмотрения основной модели теории полиэлектролитов, а также на результатах приложения теории к описанию двух типов конформационных переходов в ДНК — перехода спираль — клубок и В — Z-перехода. Мы также рассмотрим вопрос о применимости основной модели к анализу конкретных ситуаций.

2. УРАВНЕНИЕ ПУАССОНА—БОЛЬЦМАНА

Соотношение (1) дает связь между тремя подлежащими определению функциями: $u(r)$, $c^+(r)$ и $c^-(r)$. Функцию концентрации частиц $c^n(r)$ можно представить в виде

$$c^n(r) = c_0 \exp [-(f_r^n - f_R^n)], \quad (4)$$

где разность $f_r^n - f_R^n$ представляет собой свободную энергию (в единицах kT), необходимую для перемещения частицы диаметра d с зарядом ne из бесконечно удаленной точки R в точку r . Основная проблема вычисления функций $u(r)$ и $c^n(r)$ состоит в том, что свободная энергия f_r^n не выражается в рамках основной модели только через $u(r)$ и первые корреляционные функции $c^n(r)$. Последовательное нахождение искомых характеристик $u(r)$ и $c^n(r)$ сводится к решению цепочки зацепляющихся уравнений, эквивалентных иерархии уравнений Боголюбова — Борна — Грина — Киркуда — Ивона (ББГКИ) (см., например, ^{13,14}). Корректное обрезание этой системы уравнений неизбежно требует введения в основную модель дополнительных малых параметров.

Решение исходной задачи значительно упрощается, если перейти от дискретного описания мобильных ионов к модели непрерывной заряженной среды. А именно, устремим диаметры мобильных ионов и их заряды к нулю, а число ионов каждого сорта к бесконечности таким образом, чтобы плотность зарядов в каждой точке оставалась фиксированной. Эта процедура, в частности, приводит к тому, что свободную энергию f_r^n можно заменить на энергию частицы сорта n , находящейся в среднем электростатическом потенциале $u(r)$. Тогда $c^n(r) = c_0 \exp(-nu(r))$, и из уравнений (1)–(4) имеем

$$u''(r) + r^{-1}u'(r) = \kappa^2 \operatorname{sh} u(r), \quad (5a)$$

$$u'(a) = 2qa^{-1}, \quad u(R) = 0, \quad (5b)$$

где

$$\kappa^{-1} = r_D = (8\pi l_B c_0)^{-1/2} \quad (6)$$

— дебаевский радиус.

Выражение (5) представляет собой хорошо известное уравнение Пуассона — Больцмана (ПБ) для случая цилиндрической симметрии (см., например, ¹⁵). Для основной модели уравнение ПБ соответствует приближению самосогласованного поля, а для модели непрерывной заряженной среды это

уравнение является строгим. Явное аналитическое решение нелинейного уравнения (5) при произвольных значениях параметров q , a и c_0 не известно, Недавно Раманатан¹⁶ получил значение потенциала на поверхности цилиндра $u(a)$, используя асимптотику по малому параметру xa , т. е. для предельно низких ионных сил

$$u(a) = 2q \ln(xa), \quad q < 1, \quad (7a)$$

$$u(a) = 2 \ln(xa) - \ln[4(q-1)^2], \quad q > 1. \quad (7b)$$

Сопоставление выражений (7) с точными значениями $u(a)$, полученными на основе численного решения уравнения (5), показывает, что для $q < 1$ и $q > 2$ формулы (7a) и (7b) являются практически строгими уже при $c_0 < 0,01$ М ($xa < 0,3$), а при $c_0 \sim 0,1$ М отличие не превышает 5%.

Уравнение (5) описывает случай так называемого избытка соли. Можно также рассмотреть ситуацию, когда поддерживающий электролит в растворе отсутствует (бесконечное разбавление по соли). Заметим, что уравнение (5) не может быть использовано для корректного описания этого предельного перехода, так как для его вывода условие избытка соли принципиально. Концентрация мобильных ионов (ионная сила) может быть сколь угодно мала, но их полное число в объеме должно быть много больше числа зарядов на полионе. В рамках тех же предположений, в которых выводится уравнение (5), корректный способ перехода к случаю предельного разбавления был предложен Качальским с сотрудниками (см. сборник¹⁷ и цитируемые в нем работы). Ими была рассмотрена модель ячеек, когда в цилиндрическом кольце конечного радиуса R_0 , окружающем полион, находятся ионы только одного знака (противоионы), нейтрализующие заряд на полионе. Уравнение ПБ в этом случае имеет вид

$$u''(r) + r^{-1}u'(r) = -\frac{p^2}{2} e^{-u(r)}. \quad (8)$$

Заметим, что уравнениями такого же типа описываются процессы диффузии и теплопередачи в цилиндрически симметричных случаях¹⁸.

Для полиэлектролитной задачи параметр p в уравнении (8) однозначно связан с внешним радиусом R_0 : $p^2 = 8\pi l_B c^+ (R_0)$. Границные условия для модели ячеек записываются следующим образом:

$$u'(a) = \frac{2q}{a}, \quad u'(R_0) = 0, \quad u(R_0) = 0. \quad (9)$$

Привлекательность данной модели состоит в том, что, в отличие от (5), решение нелинейного уравнения (8) можно получить в явном виде^{19,20} (см. также недавнюю работу²¹) для произвольных значений параметров задачи

$$u(r) = \ln \left[\left(\frac{p}{2|z|} \right)^2 r^2 \cos^2 \left(z \ln \frac{r}{R_M} \right) \right]; \quad (10)$$

здесь z и R_M — константы интегрирования, причем z^2 — величина действительная, а $R_M > 0$. Границные условия (9) дают систему уравнений для нахождения величин z и R_M через параметры p и q :

$$1 - z \operatorname{tg} \left(z \ln \frac{a}{R_M} \right) = q, \quad (11a)$$

$$1 - z \operatorname{tg} \left(z \ln \frac{R_0}{R_M} \right) = 0, \quad (11b)$$

$$p^2 R_0^2 = 4(1 + z^2). \quad (11c)$$

Начиная с 50-х годов уравнение ПБ широко использовалось для анализа полиэлектролитных свойств полимерных цепей^{15-17, 19-49}. Вместе с тем, практически до самого последнего времени полного доверия к результатам, полученным с помощью уравнения ПБ, не было, так как его вывод основан

на методе самосогласованного поля. Известно много примеров, когда использование этого метода приводит к ошибочным результатам. Что касается теории полиэлектролитов, то и здесь адекватность метода самосогласованного поля была далеко не ясна.

3. ПРИБЛИЖЕНИЕ ДЕБАЯ — ХЮККЕЛЯ И ТЕОРИЯ КОНДЕНСАЦИИ ПРОТИВОИОНОВ

Значительное упрощение ситуации имеет место в случае, когда в любой точке r выполняется условие

$$|u(r)| \ll 1. \quad (12)$$

Тогда уравнение (5) линеаризуется и переходит в известное уравнение Дебая — Хюккеля (ДХ):

$$u''(r) + r^{-1}u'(r) = \kappa^2 u(r), \quad (13a)$$

$$u'(a) = \frac{2q}{a}, \quad u(R) = 0. \quad (13b)$$

Линеаризованное уравнение (13) является строгим не только для модели непрерывной заряженной среды, но и для основной модели в целом, так как при выполнении условия (12) метод самосогласованного поля становится строгим. Решение уравнения (13) имеет вид (см., например,⁵⁰⁾

$$u(r) = -2q(\kappa a K_1(\kappa a))^{-1} K_0(\kappa r). \quad (14)$$

В этом равенстве $K_m(x)$ — модифицированная функция Бесселя.

Уравнение ДХ очень широко и плодотворно используется в теории простых, неполимерных электролитов. Оно приводит к хорошо известному эффекту дебаевской экранировки кулоновского потенциала — эффекту, значение которого выходит далеко за рамки теории электролитов. В теории полиэлектролитов уравнение ДХ, также широко используется. Например, в тех случаях, когда заряды редко расположены на полиионе, уравнение ДХ применимо непосредственно. По этому вопросу имеется довольно обширная литература (из недавних работ см., например,^{51, 52)}).

Нас в данном обзоре интересует случай сильно заряженных полиэлектролитов, для которого уравнение ДХ заведомо не справедливо вблизи полииона. Вместе с тем, при достаточном удалении от полииона условие (12) становится справедливым, и появляется соблазн использовать в этой области уравнение ДХ. Однако для нахождения потенциала вдали от сильно заряженного полииона, исходя из уравнения ДХ, необходимо знать граничные условия на границе той области, где уравнение ДХ применимо. Поэтому до тех пор, пока истинный вид указанных граничных условий не найден, подход, основанный на использовании уравнения ДХ, не конструктивен для нахождения потенциала $u(r)$ даже вдали от полииона, так как дает его значение с точностью до неизвестного постоянного множителя.

Красивый способ обойти эту трудность был предложен Мэннингом⁵³. Идея теории Мэннинга состоит в том, чтобы использовать внутренне непротиворечивое уравнение ДХ, а граничные условия получать исходя из представления о конденсации противоионов на полиионе. Представление о конденсации является наиболее яркой физической идеей во всей теории полиэлектролитов. Эта идея восходит к Онзагеру (см. ⁵³), который рассуждал следующим образом.

Рассмотрим отрицательно заряженный полиион в виде бесконечно тонкой прямолинейной нити с линейной плотностью заряда $-e/b$, а мобильные ионы будем считать точечными зарядами. Пусть r — расстояние от нити до ближайшего противоиона. Для достаточно малых r электростатическая энергия

этого противоиона определяется неэкранированным кулоновским потенциалом нити:

$$u(r) = 2q \ln r. \quad (15)$$

Вклад в полный статинтеграл от конфигураций, в которых ближайший противоион находится на расстоянии от нити $r \leq r_0$, а все остальные мобильные ионы на расстояниях, больших r_0 , с точностью до конечного множителя можно записать в виде

$$Z = \int_0^{r_0} e^{-u(r)} r dr = \int_0^{r_0} r^{1-2q} dr. \quad (16)$$

Мы видим, что при $q \geq 1$ статинтеграл расходится на нижнем пределе. Из этого факта Онзагер, а вслед за ним и Мэннинг, сделали вывод, что при линейной плотности заряда на полиионе такой, что $q > 1$, противоионы должны «конденсироваться» на полиионе, уменьшая, тем самым, его плотность заряда до критической величины, отвечающей $q = 1$.

Исходя из этих соображений, Мэннинг предложил следующую процедуру для расчета потенциала вокруг полииона. Потенциал рассчитывается на основе уравнения ДХ с граничным условием на поверхности полииона

$$u'(a) = \frac{2q^*}{a}, \quad (17a)$$

$$q^* = q, \quad q < 1; \quad q^* = 1, \quad q \geq 1. \quad (17b)$$

Таким образом, в теории Мэннинга проблема граничного условия решается вне зависимости от того, насколько велика исходная плотность заряда полииона. Случай $q < 1$, когда теория Мэннинга сводится к традиционной теории ДХ, отвечает случаю слабо заряженного полииона, а ситуация $q > 1$ — случаю сильно заряженного полииона. В формальном отношении эти две ситуации в теории Мэннинга друг от друга не отличаются.

Привлекательной стороной теории Мэннинга является ее физическая прозрачность и возможность получения простых явных выражений, так как используется линейное уравнение для потенциала. Эти факторы обусловили в свое время широкую популярность этой теории при рассмотрении разнообразных физико-химических свойств растворов полиэлектролитов^{53–70}. Было получено много экспериментальных подтверждений теории (см., например, обзоры^{63,64}). При этом успех теории приписывался заложенной в ее основу идеи о конденсации противоионов. Постепенно складывалось представление, что все выводы теории Мэннинга — это следствие идеи о конденсации. Более того, саму теорию называли «теорией конденсации». Исподволь росло убеждение в том, что представление о конденсации, которое было введено в теорию на основе приведенных выше формальных математических рассуждений, соответствует физической реальности. Иными словами, противоионы, окружающие полиион, распадаются на две фазы: одни «осаждаются» на поверхность полииона, другие образуют вокруг него диффузное облако.

Итак, к началу 80-х годов в теории сильно заряженных полиэлектролитов сложилась следующая ситуация (см. обзор³⁶). Имелись два независимых подхода — один, использующий уравнение ПБ^{15–17, 19–49}, другой, сводящий задачу к уравнению ДХ с помощью представления о конденсации^{53–70}. Поскольку каждый из этих подходов опирался на постулат, взятый *ad hoc*, единственным выходом из этого положения было построение более строгой теории.

4. СТРОГИЕ МЕТОДЫ РАССМОТРЕНИЯ ОСНОВНОЙ МОДЕЛИ

Наиболее прямым подходом, с помощью которого можно попытаться найти точные значения потенциала и плотности мобильных ионов для основной модели, является метод Монте-Карло, точнее его вариант, известный как метод Метрополиса^{71,72}. Этим методом выполнен ряд работ^{73–76}, и результаты прямого моделирования сопоставлены с решением уравнения ПБ как для модели ячеек^{73,74}, так и для случая избытка соли^{75,76}. Общий вывод, следующий из этих работ, достаточно обнадеживающий: отличия между результатами, полученными с помощью метода Монте-Карло и уравнения ПБ, невелики. Даже для такой чувствительной характеристики, как плотность противоионов вблизи поверхности полиона, расхождение в худших случаях не превышает 10%.

Вместе с тем, к результатам, полученным для данной задачи методом Монте-Карло, пока следует относится с известной долей осторожности, в особенности, когда речь идет о случае избытка соли^{75,76}. Практически скорость сходимости метода Метрополиса для данной задачи такова, что реальное число ионов, участвующих в процессе, не может превышать нескольких сотен. С другой стороны, дальнодействующий характер электростатического потенциала, который в таком подходе учитывается без экранировки, приводит к тому, что объем «ячейки» метода Монте-Карло должен быть весьма большим. В особенности это относится к размеру цилиндрической «ячейки» по аксиальному направлению⁷⁵. Поэтому число частиц, которое следует учитывать при корректном решении задачи, значительно превышает современные возможности вычислительной техники, что вынуждает использовать приближенные, недостаточно обоснованные методы решения этой проблемы^{75,76}.

Параллельно с расчетами методом Монте-Карло появились теоретические работы общего характера, результаты которых, на наш взгляд, перекрывают результаты работ, выполненных методом Монте-Карло для основной модели теории полиэлектролитов.

Первой работой, в которой рассматривался вопрос о статистико-механическом обосновании уравнения ПБ, была статья Фиксмана⁷⁷. Фиксман разработал метод учета корреляционных поправок к уравнению ПБ и для некоторой частной модели численно оценил ожидаемое отклонение от результатов, даваемых уравнением ПБ. Конкретно, ошибка в значении электростатического потенциала, определяемого на основе уравнения ПБ, может составлять, согласно Фиксману⁷⁷, величину порядка 20% при ионных силах $c_0 \leq 0,1$ М. Следует подчеркнуть, что хотя вопрос о том, насколько общий характер носят оценки, сделанные Фиксманом, оставался неясным, эта работа внесла перелом в ход дискуссии об уравнении ПБ и подходе Мэннинга (см. обзор³⁶) и послужила толчком к широкому использованию уравнения ПБ в дальнейшем.

Строгий анализ этой проблемы для случая предельно малых ионных сил был дан Раманатаном и Вудбери⁷⁸. Ими был использован подход, основанный на рассмотрении цепочки зацепляющихся уравнений ББГКИ. Для основной модели теории полиэлектролитов корректный способ обрезания данной цепочки можно реализовать, оставляя лидирующие члены разложения по дополнительным малым параметрам, возникающим из-за малости ионных сил: $\kappa a \ll 1$, $\kappa d \ll 1$, $\kappa l_B \ll 1$. Основной результат работы⁷⁸ состоял в том, что для данного предельного случая уравнение ПБ является строгим. Вместе с тем вопрос об адекватности уравнения ПБ при конечных ионных силах оставался открытым. Задачу для конечных ионных сил, также основываясь на анализе цепочки зацепляющихся уравнений для корреляционных функций, рассматривали Баке и Росски⁷⁹. Однако их анализ нельзя признать убедительным, так как он опирался на методику расцепления уравнений хотя и стандартную (гиперцепное приближение), но для данной задачи совершенно необоснованную.

В работе⁸⁰ нами было проведено статистико-механическое рассмотрение основной модели теории полиэлектролитов для конечных ионных сил, которое позволило обойти проблему нахождения «точного» решения цепочки зацепляющихся уравнений. А именно, были найдены замкнутые и поддающиеся эффективному решению уравнения для функций $u_{\max}(r)$ и $u_{\min}(r)$ таких, что искомый равновесный электростатический потенциал $u(r)$, удовлетворяющий соотношениям (1)–(4), лежит между ними:

$$u_{\min}(r) \leq u(r) \leq u_{\max}(r), \quad (18)$$

причем, как показал анализ, основанный на численном решении указанных уравнений, «щель» $u_{\max}(r) - u_{\min}(r)$ достаточно мала практически во всей представляющей интерес области значений параметров a, q, d, c_0 . Здесь мы лишь поясним основную идею метода и приведем окончательные результаты.

Вернемся к исходным соотношениям (1)–(4) и представим свободную энергию, требуемую для перемещения частицы диаметра d с зарядом ne из бесконечно удаленной точки R в точку r , в виде

$$f_r^n - f_R^n = (f_r^0 - f_R^0) + (f_r^n - f_r^0) - (f_R^n - f_R^0); \quad (19)$$

здесь $f_r^0 - f_R^0$ — свободная энергия, требуемая для образования свободной от ионов сферической полости диаметра d с центром в точке r , отсчитываемая от свободной энергии образования такой же полости в бесконечно удаленной точке R . Обозначим через P_r — вероятность того, что центры ни одной из частиц не лежат внутри сферической полости радиуса d с центром в точке r . Тогда

$$f_r^0 - f_R^0 = -(\ln P_r - \ln P_R). \quad (20)$$

В свою очередь, разность $f_r^n - f_r^0$ представляет собой свободную энергию, необходимую для изменения заряда, находящегося в сферической полости, от нуля до ne . Для ее вычисления удобно использовать стандартную технику вариации заряда. Зафиксируем центр пробной частицы диаметра d с зарядом nte ($0 \leq t \leq 1$) в точке r и обозначим через $u(r|r, nt)$ равновесный потенциал в точке r , создаваемый всеми подвижными частицами и полионом. Тогда

$$f_r^n - f_r^0 = n \int_0^1 u(r|r, nt) dt. \quad (21)$$

Итак, для функции $c^n(r)$ имеем

$$c^n(r) = c_0 \frac{P_r}{P_R} \exp \left\{ -n \int_0^1 [u(r|r, nt) - u(R|R, nt)] dt \right\}. \quad (22)$$

Обратим внимание на тот факт, что равновесный потенциал $u(r|r, nt)$ вычисляется при условии, что в точке r фиксирована пробная частица. Ее наличие изменяет статистические веса конфигураций подвижных ионов и, в общем случае, потенциал $u(r|r, nt)$ отличен от $u(r)$. Эти величины равны друг другу только в приближении непрерывно заряженной среды. Продолжая рассуждать аналогичным образом, можно убедиться в том, что для нахождения потенциалов $u(r|r, nt)$ требуется провести вариацию зарядов уже двух пробных частиц и т. д. Поэтому, как уже отмечалось выше, последовательное нахождение искомых характеристик $u(r)$ и $c^n(r)$ сводится к решению бесконечной цепочки зацепляющихся уравнений, эквивалентной уравнениям ББГКИ. Однако здесь возможен другой путь.

Рассмотрим более подробно, в чем состоит отличие между потенциалами $u(r|r, nt)$ и $u(r)$. Заметим, прежде всего, что помещение пробной частицы диаметра d с зарядом nte в точку r сопровождается вытеснением из соответ-

ствующей сферической области заряда $E(r, c)$, величина которого легко вычисляется по заданной равновесной плотности заряда $ec(r)$, где $c(r) = c^+(r) - c^-(r)$, в окрестности точки r . После помещения пробной частицы в точку r равновесная плотность заряда должна измениться таким образом, чтобы произошла экранировка заряда $nte - E(r, c)$, помещенного в точку r . Обозначим через $I(r, nt)$ вклад в электростатический потенциал $u(r | r, nt)$ в точке r за счет этой дополнительной экранировки. Тогда потенциал $u(r | r, nt)$ можно записать в виде

$$u(r | r, nt) = u(r) - v(r, c) + I(r, nt), \quad (23)$$

где $v(r, c)$ — вклад в электростатический потенциал $u(r)$ за счет частиц, находившихся в сферической области вокруг точки r до помещения туда пробной частицы. Так же, как и заряд $E(r, c)$, эта величина полностью определяется равновесной плотностью заряда $ee(r)$ в окрестности точки r .

Основная проблема состоит в нахождении функции дополнительной экранировки $I(r, nt)$. Строгое вычисление этой характеристики наталкивается, разумеется, на те же трудности, что и решение исходной задачи, однако для нее можно получить верхнюю и нижнюю оценки. Действительно, нам известен суммарный заряд, осуществляющий дополнительную экранировку — он равен экранируемому заряду, взятыму с обратным знаком. Максимально возможная экранировка достигается, если поместить весь экранирующий заряд на минимально возможное расстояние (d) от экранируемого. Минимально возможная экранировка — это удаление экранирующего заряда от экранируемого на бесконечное расстояние. Такого рода анализ функции экранировки позволяет дать строгие верхние и нижние оценки для интегралов от разности потенциалов $u(r | r, nt) - u(R | R, nt)$, входящих в выражения для функций концентрации частиц $c''(r)$. Получение верхней и нижней оценок для отношения P_r/P_R не представляет труда.

Следствием указанных оценок являются неравенства для функций концентрации $c''(r)$, которые, в свою очередь, служат основой для вывода замкнутых уравнений для потенциалов $u_{\min}(r)$ и $u_{\max}(r)$, удовлетворяющих неравенствам (18). Эти уравнения имеют следующий вид:

$$u_m''(r) + r^{-1}u_m'(r) = -4\pi l_B(c_m^+(r) - c_m^-(r)), \quad (24a)$$

$$u_m'(a) = \frac{2q}{a}, \quad (24b)$$

$$u_m(R) = (-1)^m \left(\frac{l_B}{4d} - \ln \left(1 - \frac{8\pi d^3 c_0}{3} \right)^{1/2} \right), \quad (24c)$$

$$c_m^+(r) = c_0 G_m^+(r, c_m^+, c_m^-) \exp(-u_m(r) - L_m^+(r, c_m^+, c_m^-)), \quad (24d)$$

$$c_m^-(r) = c_0 G_m^-(r, c_m^+, c_m^-) \exp(+u_m(r) + L_m^-(r, c_m^+, c_m^-)). \quad (24e)$$

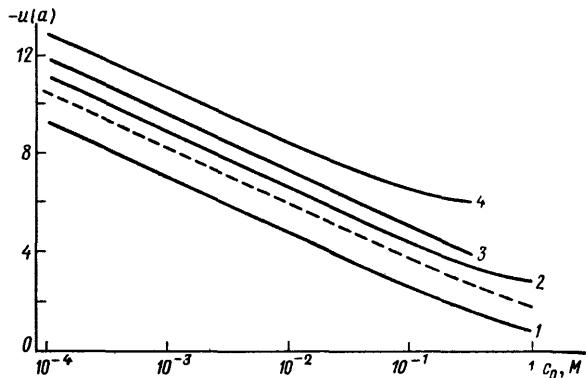
В этих выражениях нижний индекс m имеет следующий смысл: $m = \min$, если вычисляется $u_{\min}(r)$ и $m = \max$ в противоположном случае. В граничном условии (24b) $m = 1$ для $u_{\min}(R)$ и $m = 2$ для $u_{\max}(R)$. Функции $G_m(r)$, $L_m(r)$ являются одновременно функционалами от концентраций частиц $c_m^n(r)$ и выражаются через них явным образом (см. ⁸⁰). Помимо различия в граничных условиях (24b), системы уравнений с \min и \max отличаются друг от друга конкретным видом упомянутых функционалов. В целом, соотношения (24) представляют собой замкнутую систему нелинейных интегро-дифференциальных уравнений относительно трех неизвестных функций $u_m(r)$, $c_m^+(r)$ и $c_m^-(r)$. Специфика этих уравнений позволяет предложить для их численного решения эффективную процедуру ⁸⁰, которая реализуется на миникомпьютере примерно с той же скоростью, что и решение уравнения ПБ(5).

В работе ⁸⁰ дано строгое доказательство того, что функции $u_{\min}(r)$ и $u_{\max}(r)$, являющиеся решениями систем уравнений (24), удовлетворяют

неравенствам (18). Единственным принципиальным ограничением подхода, использованного в⁸⁰, является требование отсутствия в системе ближнего (и тем более дальнего) порядка в расположении мобильных ионов («газовое»

Рис. 4. Зависимость максимальных и минимальных величин электростатического потенциала на поверхности полииона от ионной силы раствора для двух значений диаметров мобильных ионов.

Сплошные кривые: 1 — $u_{\max}(r)$ ($d = 0,2 \text{ нм}$), 2 — $u_{\min}(r)$ ($d = 0,2 \text{ нм}$), 3 — $u_{\max}(r)$ ($d = 0,8 \text{ нм}$), 4 — $u_{\min}(r)$ ($d = 0,8 \text{ нм}$); штриховая — результат решения уравнения ПБ. Значения остальных параметров: $l_b = 0,7 \text{ нм}$, $q = 4,2$, $a = 1,0 \text{ нм}$



приближение). Формальное выражение этого факта состоит в том, что отсутствие ближнего порядка необходимо для проведения однозначных оценок функции экранировки $I(r, nt)$ и доказательства неравенств (18). Газовое приближение справедливо для концентрации мобильных частиц ниже некоторой критической величины c_{cr} . Значение c_{cr} зависит от диаметра мобильных ионов, температуры и других параметров системы. В работе⁸⁰ была получена грубая, заведомо заниженная оценка:

$$c_{\text{cr}} = \left(\frac{4\pi d^3}{3} + 2\pi d^2 l_b \right)^{-1}. \quad (25)$$

На рис. 4 и 5 в качестве примера приведены значения потенциалов $u_{\min}(r)$ и $u_{\max}(r)$ на поверхности полииона ($r = a$), полученные в результате численного решения систем уравнений (24), для двух значений диаметров мобильных частиц $d = 0,8 \text{ нм}$ и $d = 0,2 \text{ нм}$, типичных для случаев гидратированных и негидратированных ионов. Радиус полииона $a = 1 \text{ нм}$, что соответствует случаю ДНК в В-форме. Результаты сопоставлены с решением, даваемым уравнением ПБ, в широкой области значений параметров c_0 и q . Эти данные показывают, что «щель» между предельными значениями $u_{\max}(r)$ и $u_{\min}(r)$ достаточно мала для надежной оценки истинного значения потенциала $u(r)$. Совершенно аналогичные результаты имеют место для потенциалов на любом расстоянии от полииона.

Наши данные находятся в полном соответствии с оценками Фиксмана⁷⁷, результатами работы Раманатана и Вудбери⁷⁸, а также с выводами, следующими из работ, выполненных методом Монте-Карло⁷³⁻⁷⁶, и устанавливают область применимости уравнения ПБ при конечных значениях ионных сил. В контексте данного обзора можно заключить, что подход, основанный на

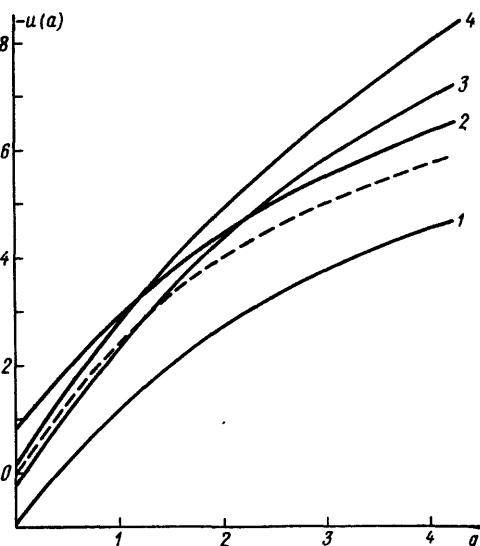


Рис. 5. Зависимость максимальных и минимальных величин электростатического потенциала на поверхности полииона от линейной плотности заряда на полионе q . Сплошные кривые занумерованы так же, как и на рис. 4; штриховая — решение уравнения ПБ. Все кривые получены для $c_0 = 0,01 \text{ М}$

уравнении ПБ, вполне адекватен рассматриваемой задаче, особенно при малых значениях диаметров мобильных ионов.

Итак, основным результатом теоретических работ общего характера, выполненных в последнее время, является уяснение того факта, что, в отличие от многих других случаев использования метода самосогласованного поля, для основной модели теории полиэлектролитов уравнение ПБ является весьма хорошим приближением. Следовательно, основой теоретического рассмотрения полиэлектролитов вновь становится уравнение ПБ, теперь уже с полным основанием и четко определенной областью применимости.

5. СОВРЕМЕННЫЙ СТАТУС ТЕОРИИ КОНДЕНСАЦИИ

В ходе «реабилитации» уравнения ПБ были заново осмыслены старые результаты, полученные еще в 50-х годах Качальским с сотрудниками¹⁷, а также получены новые результаты, выявившие, в частности, причины успеха теории конденсации Мэннинга^{16, 21, 77, 78, 81, 82}. В свете уравнения ПБ эти успехи кажутся, на первый взгляд, удивительными, так как уравнение ПБ не предсказывает существования фазового разделения противоионов для конечного радиуса полииона. Действительно, сам вид уравнения ПБ исключает для данного случая возможность существования решений с особенностями (такое решение возникает лишь в пределе бесконечно тонкой нити⁸¹). В этой связи следует вспомнить, что идея о конденсации появилась именно при рассмотрении бесконечно тонкой заряженной нити. Возникает подозрение, что это явление вообще есть артефакт данной модели и исчезает при любых конечных радиусах полииона. Остановимся на этом принципиальном вопросе более подробно.

Прежде всего, рассмотрим случай предельного разбавления по соли, когда в растворе фактически присутствуют только противоионы. Этот случай важен с идейной стороны, так как он позволяет, как впервые показали Зимм и Лебрэ⁸², понять истинный смысл явления «конденсации» для полииона конечного радиуса.

Следуя работе⁸², обратимся к решению уравнения ПБ для модели ячеек (10), (11) и заметим, что для интересующего нас случая $q > 1$ константа интегрирования R_M имеет ясный физический смысл. Обозначим через $W(r)$ число противоионов, находящихся в цилиндрическом слое высоты l_b с внешним радиусом $r < R_0$. Для $W(r)$ из (10), (11) имеем

$$W(r) = \frac{p^2}{4} \int_a^r e^{-u(r)} r dr = z \operatorname{tg} \left(z \ln \frac{r}{R_M} \right) + q - 1. \quad (26)$$

Отсюда следует, что число противоионов, находящихся внутри цилиндрического слоя с внешним радиусом R_M , равно

$$W_M = q - 1. \quad (27)$$

Это как раз то количество противоионов, которое, согласно теории Мэннинга, должно «осаждаться» на поверхность полииона (иными словами, находится в прилегающем к полииону цилиндрическом слое, толщиной порядка радиуса полииона).

Заметим теперь, что для любого W из интервала $0 < W < q$ внешний радиус цилиндрического слоя, внутри которого находится данное число противоионов W , определяется равенством

$$r(W) = R_M \exp \left(z^{-1} \operatorname{arctg} \frac{W - W_M}{z} \right). \quad (28)$$

Перейдем далее к пределу $p \rightarrow 0$ ($R_0 \rightarrow \infty$). При этом предельном переводе асимптотический вид функции (28) различается в случаях $W < W_M$, $W = W_M$ и $W > W_M$:

$$\lim_{p \rightarrow 0} r(W) = a \exp \left[\frac{W}{W_M(W_M - W)} \right], \quad W < W_M, \quad (29)$$

$$\lim_{p \rightarrow 0} r(W_M) = \lim_{p \rightarrow 0} R_M = \left(\frac{2a}{p} \right)^{1/2} \exp \frac{W_M - 1}{2W_M}, \quad (30)$$

$$\lim_{p \rightarrow 0} r(W) = \frac{2}{p} \exp \left(1 - \frac{1}{W - W_M} \right), \quad W > W_M. \quad (31)$$

Согласно теории Мэннинга радиус R_M , ограничивающий цилиндрический слой, внутри которого находятся противоионы, компенсирующие заряд на полиионе до $q = 1$, не зависит от p и составляет величину порядка радиуса полииона a . Но на самом деле, как следует из (30), величина R_M при бесконечном разбавлении стремится к бесконечности как $(a/p)^{1/2} = (aR_0)^{1/2}$. Мы видим, что модель двух фаз является несостоительной, и представление о конденсации противоионов в том смысле, как оно трактуется Мэннингом, неверно.

Однако Зимм и Лебра показали⁸², что в некотором смысле можно говорить если не о конденсации, то об «удержании» противоионов полиионом. Этот эффект удержания становится особенно прозрачным, если сравнить между собой в пределе бесконечного разбавления поведение противоионов вокруг заряженных тел трех типов — плоскости, цилиндра и сферы. В первом случае, как хорошо известно, все противоионы сконденсируются на плоскости и возникнет двойной электрический слой. В случае сферы, напротив, все противоионы уйдут на бесконечность, т. е. сфера не способна удержать вокруг себя облако противоионов. То же будут в случае слабо заряженного цилиндра ($q < 1$). В случае же сильно заряженного цилиндра ($q > 1$) часть ионов уйдет на бесконечность, а остальные образуют вокруг цилиндра диффузное облако, так что концентрация противоионов будет плавно спадать по мере удаления от цилиндра. Предельный вид функции распределения противоионов при $q > 1$ дает формула (29). Интересно, однако, что полное число удерживаемых ионов в точности равно числу «сконденсированных» ионов в теории Мэннинга (см. (26), (27)).

Подчеркнем еще раз, что рассмотренный эффект удержания противоионов носит существенно иной характер, чем явление конденсации по Мэннингу, так как не существует конечного радиуса, внутри которого эти удерживаемые ионы были бы заключены.

Анализ, данный в работе⁸², относится к случаю предельного разбавления. Для того чтобы исследовать распределение противоионов вблизи полииона для случая избытка соли, который описывается уравнением (5), необходимо обратиться к численным расчетам. Это было сделано в работе Герона и Вейсбуха³², где вопрос о существовании эффекта конденсации противоионов был подвергнут тщательному анализу. В целом, переход к конечным концентрациям не меняет результатов. В частности, при малых ионных силах ($\kappa \rightarrow 0$) для величины R_M была численно получена асимптотика вида $R_M \sim \sim (a/\kappa)^{1/2}$. Таким образом, в контексте проблемы конденсации не существует никакого принципиального различия в характере распределения противоионов вокруг полииона в случае предельного разбавления по соли и в случае конечных ионных сил.

Итак, работы последних лет поставили теорию полиэлектролитов на надежный теоретический фундамент. Выяснилось, что из двух существовавших ранее теоретических подходов (уравнение ПБ и теория Мэннинга) предпочтение следует отдать уравнению ПБ, которое имеет достаточно широкую область применимости. Что касается теории Мэннинга, то с позиций сегодняшнего дня она выглядит не как альтернатива уравнению ПБ, а как достаточно

грубая аппроксимация той картины, которая следует из уравнения ПБ. Использование этой аппроксимации может приводить к особенно существенным ошибкам при расчетах тех характеристик, для которых важную роль играет распределение ионов вблизи полииона.

6. ПРИЛОЖЕНИЕ ТЕОРИИ К АНАЛИЗУ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ В ДНК

6.1. Электростатическая свободная энергия

В течение 70-х годов в теории полиэлектролитов почти безраздельно господствовала теория конденсации Мэннинга. В этот период было выполнено большое число теоретических и экспериментальных работ, проникнутых представлениями этой теории. Многие из них стали классическими и даже вошли в монографии, учебники и курсы лекций. В особенности это относится к работам по ДНК. Теперь, после того, как выяснилось, что теория Мэннинга является лишь грубой аппроксимацией более строгих подходов, основанных на уравнении ПБ и еще более общих теориях, рассмотренных выше, стала очевидной необходимость пересмотра всех теоретических результатов, полученных в рамках теории Мэннинга для случая сильно заряженных полиэлектролитов.

Из сделанного выше анализа статуса теории Мэннинга в рамках современных представлений следует, что те выводы теории, которые касаются поведения свободных ионов на значительном (практически бесконечном) удалении от полииона, по-видимому, остаются в силе, хотя, насколько нам известно, во всей полноте этот вопрос еще не рассматривался. С другой стороны, все без исключения выводы теории Мэннинга, для которых существенно поведение потенциала и/или плотности ионов вблизи полииона, должны быть поставлены под сомнение и подвергнуты пересмотру. Сюда, например, относится вопрос об электростатическом вкладе в жесткость полимерной цепи. Эта проблема подробно проанализирована на основе уравнения ПБ в работах^{38,39} (анализ экспериментальной ситуации см. в работе⁸³). Рассмотрение данного вопроса, однако, выходит за рамки темы настоящего обзора, так как связано с отходом от основной модели цилиндра и требует учета изгибов или изломов.

Мы здесь остановимся подробно на анализе другого очень важного аспекта теории полиэлектролитов, касающегося роли электростатических взаимодействий в конформационных изменениях молекулы ДНК.

В рамках основной модели теории полиэлектролитов конформация ДНК характеризуется двумя параметрами: радиусом цилиндра, моделирующего полион, a и его линейной плотностью заряда q . Для нахождения относительной стабильности двух конформаций необходимо рассчитать разность их свободных энергий. Полную свободную энергию системы, состоящей из полииона с заданными параметрами a и q , и мобильных ионов, для которых задана объемная концентрация частиц каждого сорта на бесконечности (ионная сила), c_0 , можно представить в виде

$$F = F^0 + F^{\text{el}}, \quad (32)$$

где F^0 — свободная энергия системы при $q = 0$, а F^{el} — электростатическая часть свободной энергии. Поскольку свободная энергия линейно растет с ростом длины цилиндра, то естественно рассматривать удельную свободную энергию. В приложении к ДНК это удобно делать в расчете на пару нуклеотидов, т. е. на ту длину цилиндра, на которой сосредоточен заряд $-2e$.

Величина F^{el} равна работе, требуемой для изменения заряда на цилиндре от нуля до величины, отвечающей заданной линейной плотности заряда q .

Используя стандартную технику вариации заряда, имеем

$$F^{\text{el}}(a, q, c_0) = -2kT \int_0^1 u(a, tq, c_0) dt; \quad (33)$$

здесь k — постоянная Больцмана, $u(a, tq, c_0)$ — безразмерный электростатический потенциал на поверхности полииона, имеющего линейную плотность заряда tq , при заданной ионной силе c_0 . Эта величина не может быть правильно вычислена в рамках теории конденсации. Как показывают результаты, представленные в разделе 4 (см. ⁷³⁻⁸⁰), надежной основой количественного рассмотрения данной задачи может служить уравнение ПБ (5). В особенности это справедливо, когда речь идет не об абсолютных значениях потенциалов на поверхности полииона, а об их зависимости от ионной силы и от заряда на полионе (см. рис. 4 и 5). Именно этому подходу к анализу зависимости конформационных изменений в ДНК от ионной силы мы и будем следовать далее.

6.2. Переход спираль — клубок в ДНК

Роль электростатических взаимодействий в плавлении двойной спирали ДНК рассматривалась в очень многих работах (см., например, ^{23-25, 84}), но наибольшую популярность, как и в других случаях, снискал подход Мэннинга, изложение которого вошло, в частности, в фундаментальное пособие Кантора и Шиммела ⁸⁵. Здесь мы дадим анализ этого вопроса на основе использования уравнения ПБ. При теоретическом рассмотрении зависимости от ионной силы термодинамических характеристик перехода спираль — клубок традиционно, начиная еще с работы Котина ²⁸, обе конформации ДНК, спиральная и расплавленная, моделируются бесконечно длинными, равномерно заряженными цилиндрами, параметры которых не изменяются при изменении ионной силы раствора. Мы также будем следовать этой модели, хотя ее адекватность при описании однонитевой ДНК не вполне очевидна (см. ниже).

Исходным соотношением для расчета зависимости температуры плавления ДНК T_m от ионной силы c_0 является равенство свободных энергий расплавленного (С) и спирального (Н) состояний в расчете на пару нуклеотидов:

$$F_{\text{HC}} = F_{\text{HC}}^0 + F_{\text{HC}}^{\text{el}} = 0, \quad (34)$$

где $F_{\text{HC}}^0 = F_{\text{C}}^0 - F_{\text{H}}^0$ — разность неэлектростатических частей свободных энергий,

$$F_{\text{HC}}^{\text{el}} = F^{\text{el}}(a_{\text{C}}, q_{\text{C}}, c_0) - F^{\text{el}}(a_{\text{H}}, q_{\text{H}}, c_0), \quad (35)$$

причем F^{el} определяется интегралом (33). Величины $a_{\text{C}}, q_{\text{C}}$ и $a_{\text{H}}, q_{\text{H}}$ — параметры цилиндров, моделирующих ДНК в однонитевой и двунитевой конформации. Равенство (34) удобно переписать следующим образом:

$$F_{\text{HC}} = U_{\text{HC}}^* - TS_{\text{HC}}^* + \Delta F_{\text{HC}}^{\text{el}} = 0, \quad (36)$$

где U_{HC}^* и S_{HC}^* соответственно энталпия и энтропия перехода при некотором стандартном значении ионной силы $c_0 = c_0^*$, а $F_{\text{HC}}^{\text{el}}$ — изменение свободной энергии перехода, связанное с отличием величины c_0 от c_0^* . Мы приняли в качестве стандартного значения $c_0^* = 0,1 \text{ M}$, для которого $U_{\text{HC}}^* = 8500 \text{ кал/моль}$, $S_{\text{HC}}^* = 23,7 \text{ кал/моль}\cdot\text{град}$ ⁸⁶⁻⁸⁸ (для данной задачи гетерогенность в стабильности пар оснований можно пренебречь). Наши расчеты показали, что величина $\Delta F_{\text{HC}}^{\text{el}}$ практически при любых разумных значениях структурных параметров в интервале температур от 290 до 370 К с хорошей точностью

аппроксимируется линейной функцией от температуры. Представляя ее в виде

$$\Delta F_{\text{HC}}^{\text{el}} = F_{\text{HC}}^{\text{el}}(c_0) - F_{\text{HC}}^{\text{el}}(c_0^*) = \Delta U_{\text{HC}}^{\text{el}} - T \Delta S_{\text{HC}}^{\text{el}}, \quad (37)$$

где $\Delta U_{\text{HC}}^{\text{el}}$ и $\Delta S_{\text{HC}}^{\text{el}}$ — изменение электростатических частей соответствующих величин при изменении ионной силы, для температуры плавления из (36) имеем

$$T_m = \frac{U_{\text{HC}}^* + \Delta U_{\text{HC}}^{\text{el}}}{S_{\text{HC}}^* + \Delta S_{\text{HC}}^{\text{el}}}. \quad (38)$$

Итак, схема расчета температуры плавления выглядела следующим образом. Значения параметров a_{H} и q_{H} были фиксированы и соответствовали данным рентгеноструктурного анализа для В-формы ДНК: $a_{\text{H}} = 1,0$ нм, $q_{\text{H}} = 4,2$. Для однонитевой ДНК радиус моделирующего ее цилиндра a_{c} является подгоночным параметром. Величина q_{c} точно не известна, но лежит

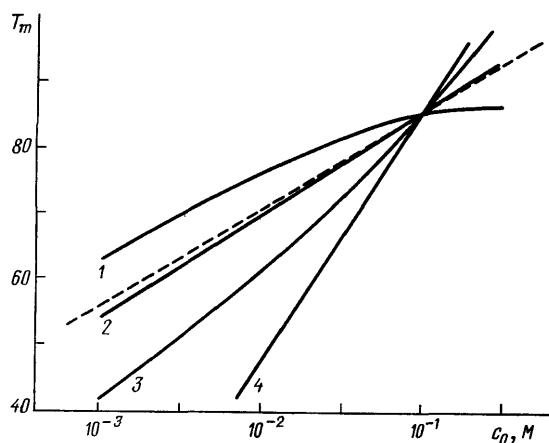


Рис. 6. Зависимость температуры плавления ДНК T_m от ионной силы раствора c_0 для четырех вариантов выбора параметров однонитевой ДНК.

Номера вариантов указаны цифрами около сплошных кривых и соответствуют следующим значениям параметров: 1 — $q_{\text{C}} = 2,1$, $a_{\text{C}} = 0,25$ нм; 2 — $q_{\text{C}} = 2,1$, $a_{\text{C}} = 0,50$ нм; 3 — $q_{\text{C}} = 2,1$, $a_{\text{C}} = 1,00$ нм; 4 — $q_{\text{C}} = 1,1$, $a_{\text{C}} = 0,50$ нм; штриховая кривая — зависимость, даваемая формулой (39), аппроксимирующей экспериментальные данные

в интервале от 1,05 (полностью вытянутая цепь) до 2,1 (однонитевая ДНК имеет ту же длину, что и двунитевая). Задаваясь некоторыми значениями этих двух параметров, для ряда значений ионных сил из интервала $-3,0 \leq \lg c_0 \leq -0,5$ на основе решения уравнения ПБ (5) по формулам (33), (35) рассчитывалась зависимость изменения электростатического вклада в свободную энергию $\Delta F_{\text{HC}}^{\text{el}}$ от температуры (температурный фактор входит в задачу только через длину Бъеррума $l_{\text{B}} = e^2/DkT$). Температурную зависимость диэлектрической проницаемости воды в интересующем нас интервале можно аппроксимировать степенной функцией $D(T) = D(T_0) (T_0/T)^{1,4}$ (см. ^{69, 89, 90}), где $T_0 = 293$ К. Далее определялись $\Delta U_{\text{HC}}^{\text{el}}$ и $\Delta S_{\text{HC}}^{\text{el}}$ (37) для данной ионной силы, после чего по формуле (38) находилась температура плавления.

На рис. 6 представлены рассчитанные указанным выше способом зависимости температуры плавления ДНК от ионной силы раствора для четырех вариантов выбора параметров однонитевой ДНК, которые сопоставлены с экспериментальными данными для температуры плавления ДНК, имеющей одинаковое содержание AT- и GC-пар. Экспериментальные данные для этого случая с хорошей точностью аппроксимируются формулой ⁹¹

$$T_m = 100,3 + 14,8 \lg c_0, \quad (39)$$

где температура измеряется в градусах Цельсия, а ионная сила в единицах моль/литр.

Мы видим, что теоретическая зависимость T_m от логарифма ионной силы вовсе не обязательно должна быть линейной во всем рассматриваемом интервале ионных сил. Вместе с тем, имеется вполне определенная пара разум-

ных значений подгоночных параметров a_C и q_C , для которых эта зависимость практически линейна и имеет наклон, очень близкий к экспериментальному.

Итак, теория, основанная на уравнении ПБ, позволяет удовлетворительным образом описать экспериментально наблюдаемую зависимость стабильности двойной спирали ДНК от ионной силы.

Уместно сопоставить проведенный выше анализ с тем, как рассматривается тот же вопрос в рамках теории Мэннинга. Прежде всего, эта теория может претендовать на нахождение искомой зависимости только для случая предельно малых ионных сил. Но даже для этого предельного случая рассмотрение в рамках теории конденсации сопряжено с рядом допущений. В самом деле, Мэннинг разбивает разность свободных энергий F_{HC}^{el} на два вклада: от энтропии смешения противоионов, освобождающихся из-за уменьшения линейной плотности заряда при денатурации, с ионами, находившимися в свободной фазе, и от изменения электростатической свободной энергии, вычисляемой, исходя из уравнения ДХ (подробное изложение процедуры расчета величины F_{HC}^{el} в рамках теории конденсации Мэннинга можно найти в⁸⁵). Результирующее выражение имеет вид

$$\Delta F_{HC}^{el} = kT (q_C^{-1} - q_H^{-1}) (\ln c_0 - \ln c_0^*) \quad (40)$$

Эта формула приводит к линейной зависимости T_m от логарифма ионной силы, наклон которой практически совпадает с полученным нами выше асимптотическим значением наклона при $c_0 < 0,01$ М. Однако учтенные Мэннингом члены представляют собой лишь часть общего изменения свободной энергии. В рамках теории конденсации имеется еще член, который отвечает электростатической свободной энергии связи сконденсированных ионов с полиэлектролитом. Как следует из соображений, приводящих к идею о конденсации, эта свободная энергия бесконечно велика. В величину F_{HC}^{el} должна входить разность таких бесконечно больших величин. Если эта разность равна нулю или не зависит от ионной силы, то она не дает вклада в выражение (40). Однако ни то, ни другое Мэннингом доказано не было.

Рассмотренный пример ярко демонстрирует преимущества подхода, основанного на уравнении ПБ. Этот подход позволяет корректно учесть все вклады в электростатическую свободную энергию и полностью свободен от внутренних противоречий, возникающих в рамках теории конденсации, как только речь заходит о вычислении свободной энергии полиэлектролита.

Вместе с тем, нельзя забывать, что в основе использованного для данной задачи подхода лежат серьезные допущения. Прежде всего это замена реальной структуры полиэлектролита непрерывно заряженным цилиндром и, кроме того, предположение о независимости геометрических параметров макромолекулы от ионной силы. Для двунитевой ДНК эта модель представляется вполне приемлемой. Действительно, персистентная длина ДНК, т. е. характерный размер, на котором макромолекула может считаться прямолинейной, даже при высоких ионных силах составляет величину порядка 50 нм⁹², что значительно превосходит другие характерные размеры системы (радиус полиэлектролита, дебаевский радиус, расстояние между зарядами на ДНК и т. д.). В то же время, как показал теоретический анализ, предпринятый в работах^{43,74}, замена дискретной конфигурации зарядов на полиэлектролите непрерывно заряженным цилиндром не меняет заметным образом среднее значение потенциала и распределения противоионов вблизи него. Нет также прямых указаний на значительное изменение расстояния между заряженными группами в ДНК при изменении ионной силы.

Совершенно иначе обстоит дело с однонитевой ДНК. Очевидно, что эта конформация обладает гораздо большей структурной лабильностью, и обоснование адекватности модели цилиндра в этом случае, по сути дела, отсутствует.

6.3. П о л и э л е к т р о л и т н а я т е о р и я B — Z - п е р е х о д а ^{9,3}

Индуцируемый изменением ионной силы переход между обычной право-спиральной B-формой и левоспиральной Z-конформацией (см. рис. 1) является одним из наиболее ярких эффектов, связанных с электростатическими взаимодействиями в ДНК. Использование для описания этого явления основной модели теории полиэлектролитов вполне оправдано, поскольку и та, и другая форма имеют достаточно большую персистентную длину ¹ и могут быть аппроксимированы бесконечно длинными непрерывно заряженными цилиндрами ^{43,74}.

Так же, как и в случае перехода спираль — клубок, для анализа зависимости B — Z-равновесия необходимо вычислять разность электростатических свободных энергий:

$$F_{BZ}^{el} = F^{el}(a_z, q_z, c_0) - F^{el}(a_B, q_B, c_0), \quad (41)$$

где свободные энергии F^{el} определяются формулами (5), (33). Подчеркнем тот факт, что, в отличие от перехода спираль — клубок, в данной задаче все параметры теории известны из данных рентгеноструктурного анализа ¹: $q_B = 4,2$; $a_B = 1,0$ нм; $q_z = 3,9$; $a_z = 0,9$ нм.

Прежде чем представить результаты строгих расчетов величины F_{BZ}^{el} , мы изложим простую качественную теорию B — Z-перехода, основанную на использовании уравнения ДХ. Хотя, как уже неоднократно отмечалось, теория ДХ не дает правильного количественного описания электростатических взаимодействий в ДНК, ее использование полезно, так как простые явные выражения приближения ДХ помогают понять результаты строгих численных расчетов. Итак, будем основываться на дебаевских формулах (13), (14) и рассмотрим отдельно два предельных случая: $r_D \gg a$ и $r_D \ll a$.

В первом случае (низкие ионные силы) асимптотика функций Бесселя (14) по параметру $xa \ll 1$ дает

$$u(a) = 2q \ln \frac{a}{r_D}. \quad (42)$$

Подставляя (42) в (33), имеем

$$F^{el} = -2kTq \ln \frac{a}{r_D}. \quad (43)$$

Оставляя в этом выражении только зависящее от ионной силы слагаемое, получаем

$$F_{BZ}^{el} = kT(q_B - q_z) \ln c_0. \quad (44)$$

Таким образом, простая теория предсказывает, что при низких ионных силах величина F_{BZ}^{el} , а с нею и относительная стабильность B-формы, должна расти с ростом ионной силы, так как $q_B > q_z$. Заметим, что теория конденсации Мэннинга приводит к такому же выводу. Здесь результирующее выражение имеет вид (ср. с (40))

$$F_{BZ}^{el} = kT(q_z^{-1} - q_B^{-1}) \ln c_0. \quad (45)$$

Вместе с тем, весь экспериментальный материал по переходу B — Z в регулярно чередующихся GC-последовательностях ДНК (см. обзор ¹) свидетельствовал о том, что повышение ионной силы стабилизирует Z-форму. Эта дало основание Вехе и Фельзенфельду ⁵ высказать сомнение в применимости основной модели теории полиэлектролитов описанию B — Z-перехода.

Рассмотрим другой предельный случай. При высоких ионных силах ($r_D \ll a$) асимптотика функций Бесселя (14) по параметру $xa \gg 1$ дает

$$u(a) = -\frac{2r_D q}{a}. \quad (46)$$

Этот же результат можно получить более наглядным образом. Поскольку в данном предельном случае характерный радиус электростатических взаимодействий много меньше радиуса кривизны заряженной поверхности, то задача становится эквивалентной задаче о заряженной плоскости, для которой уравнение ДХ имеет вид

$$u''(x) = r_D^{-2} u(x), \quad (47a)$$

$$u'(0) = 4\pi l_B s, \quad (47b)$$

где x — расстояние до плоскости, $-es$ — поверхностная плотность заряда. Из (47) имеем

$$u(0) = -4\pi r_D l_B s, \quad (48)$$

что в точности соответствует формуле (46), поскольку отношение q/a пропорционально поверхностной плотности s (см. (3)). Из (46) и (33) имеем

$$F_{BZ}^{\text{el}} = 0,6kT \left(\frac{q_Z}{a_Z} - \frac{q_B}{a_B} \right) c_0^{-1/2}. \quad (49)$$

Из (49) следует, что при высоких ионных силах разность свободных энергий F_{BZ}^{el} продолжает расти с увеличением концентрации соли, как и в области низких ионных сил, если не только линейная, но и поверхностная плотность заряда выше в В-форме. Однако в противном случае, т. е. при выполнении неравенства

$$\frac{q_Z}{q_B} > \frac{a_Z}{a_B}, \quad (50)$$

величина F_{BZ}^{el} в области высоких ионных сил с увеличением концентрации соли падает. Геометрические параметры В- и Z-форм удовлетворяют послед-

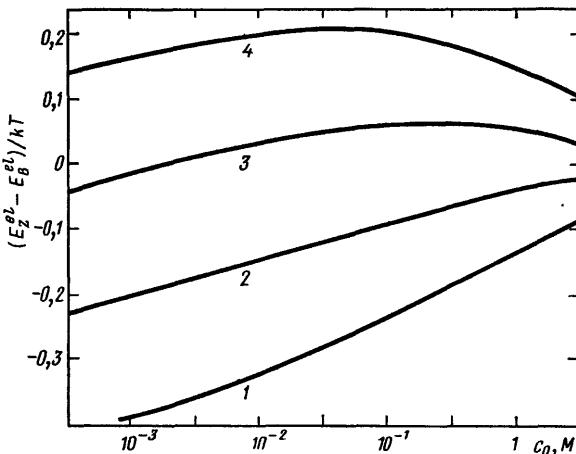


Рис. 7. Зависимость разности электростатических свободных энергий Z- и B-форм ДНК от ионной силы, рассчитанная на основе уравнений (5), (33), (41).

Значения параметров: $q_B = 4,2$, $q_Z = -3,9$; $a_B = 1,0$ нм; они взяты из данных рентгеноструктурного анализа ¹. Кривые соответствуют разным значениям параметра a_Z (нм) 1,00 (1), 0,95 (2), 0,90 (3) и 0,85 (4). Данным рентгеноструктурного анализа ¹ отвечает кривая 3. Согласно условию (50) максимум должен появляться при $a_Z < 0,93$ нм

нему неравенству (поверхностная плотность заряда выше в Z-форме). Следовательно, простая теория предсказывает, что величина F_{BZ}^{el} , а с нею и стабильность В-формы по отношению к Z-форме должна достигать максимума в области ионных сил, где $r_D \sim a$, т. е. при $c_0 \sim 0,1$ М.

Результаты строгих расчетов величины F_{BZ}^{el} как функции ионной силы представлены на рис. 7. В полном соответствии с простой теорией F_{BZ}^{el} монотонно растет во всей области ионных сил при выполнении неравенства

$q_Z/q_B < a_Z/a_B$ (кривые 1 и 2) и обнаруживает максимум, как только становится справедливым условие (50) (кривые 3 и 4). Положение максимума также находится в согласии с грубой оценкой, сделанной выше.

Итак, теория полиэлектролитов предсказывает немонотонный характер зависимости относительной стабильности В- и Z-форм ДНК от концентрации соли. Этот вывод существенным образом опирается на конкретные численные значения геометрических параметров этих структур, которые мы брали из данных рентгеноструктурного анализа. Возникает естественный вопрос, насколько сильно эти параметры меняются при изменении условий и, в частности, отличается ли структура ДНК в растворе от структуры в кристалле или волокне? Имеющиеся на этот счет данные свидетельствуют, что предположение о неизменности параметров выглядит достаточно реалистичным. Действительно, чрезвычайно точные измерения числа пар на виток спирали В-формы ДНК в растворе^{94,95} дают число 10,5, что близко к величине 10,0, которое следует из рентгеновских данных. Аналогичная ситуация имеет место и для Z-формы ДНК⁹⁶⁻⁹⁸.

Обсудим теперь в свете изложенных выше представлений имеющийся по В — Z-переходу экспериментальный материал.

Впервые Z-форма ДНК была зарегистрирована для чередующихся GC полимеров при аномально больших ионных силах (порядка 2,5 M)². Как только трехмерная структура Z-формы была расшифрована³, выяснилось, что в этой конформации заряженные фосфатные группы разных цепей сближены друг с другом по сравнению с В-формой (см. рис. 1). Расстояние между ближайшими фосфатами разных цепей в Z-форме составляет 0,8 нм против 1,2 нм в В-форме^{1,3}. Уменьшение электростатического отталкивания между фосфатами за счет экранировки противоионами при увеличении концентрации соли долгое время считалось главной причиной повышения относительной стабильности Z-формы при росте ионной силы (см. обзор¹). Однако дальнодействующий характер электростатического взаимодействия и специфические полиэлектролитные свойства рассматриваемой системы (концентрация противоионов вблизи полииона слабо зависит от ионной силы раствора^{16,21,32}) позволяют сомневаться в обоснованности такого объяснения. Причина перехода ДНК в Z-форму при увеличении ионной силы, которую можно предложить, исходя из представленных выше результатов, состоит в следующем. В—Z-переход сопровождается увеличением длины полимера и уменьшением его эффективного радиуса, но относительное уменьшение радиуса превосходит относительное увеличение длины и, в результате, поверхностная плотность заряда в Z-форме становится больше, чем в В-форме, хотя для линейных плотностей заряда имеется обратное соответствие. Большая поверхностная плотность заряда у Z-формы и определяет рост ее относительной стабильности при увеличении ионной силы в области высоких концентраций соли.

Принципиальным выводом, вытекающим из полиэлектролитной теории В—Z-перехода, является существование максимума относительной стабильности В-формы в районе физиологических ионных сил ($c_0 \sim 0,1$ M). В эксперименте обычно измеряется точка перехода В—Z по ионной силе, которая определяется равенством полных свободных энергий конформации $F_{BZ}^{el} + F_{BZ}^0 = 0$. Если производить варьирование неэлектростатического вклада в свободную энергию путем изменения какого-либо экспериментального параметра (скажем концентрации неэлектролита), то наша теория предсказывает наличие критической точки для В—Z-равновесия. При благоприятном значении величины F_{BZ}^0 можно наблюдать два перехода по мере увеличения концентрации соли: в области низких ионных сил — переход Z — В, а в области высоких — переход В — Z (в целом — переход Z — В — Z).

На величину F_{BZ}^0 может оказывать влияние химическая модификация азотистых оснований, связывание полимера с различного рода лигандами, изменение состава растворителя и т. д. Сама возможность существования

Z-формы в низкосолевых условиях после появления работы Бехе и Фельзенфельда⁵ сомнений не вызывала (см. также⁹⁹⁻¹⁰²). Однако для того, чтобы убедиться в чисто электростатической природе этого эффекта, необходимо было зарегистрировать Z — В — Z-переход, варьируя только ионную силу. Наиболее удобным объектом для проведения такого эксперимента является полидGm⁵C · полидGm⁵C, у которого вследствие химической модификации цитозина величина F_{BZ}^0 гораздо меньше, чем у обычного полидGC · полидGC, и оба перехода находятся в области ионных сил, доступной для эксперимента (полидGm⁵C · полидGm⁵C). На рисунке изображены три полидGm⁵C × X (рис. 2). Появившаяся совсем недавно критика этих работ¹⁰³ не кажется нам убедительной.

Для количественного сопоставления теории с опытом нужно получить экспериментально всю кривую зависимости F_{BZ}^{el} от ионной силы. Для этого

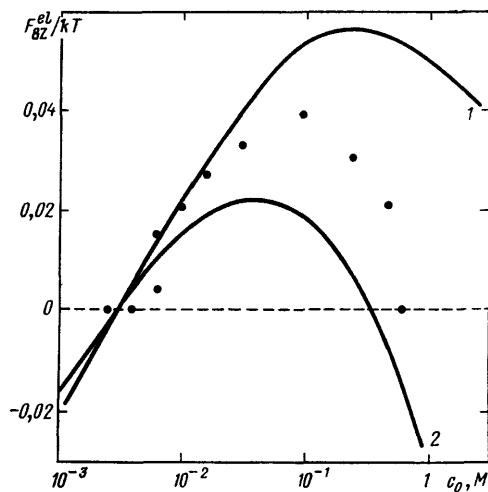


Рис. 8. Зависимость разности свободных энергий Z- и B-форм, отсчитываемая от значений этой величины при $c_0 = 0,0025$ M, от ионной силы.

Кружки — экспериментальные данные В. И. Иванова и Э. И. Минят. Сплошные кривые — результаты расчетов на основе уравнений (5), (33), (41). Значения параметров теории: $q_B = -4,2$, $q_Z = 3,9$, $a_B = 1,00$ нм. Для кривой 1 $a_Z = 0,90$ нм, для кривой 2 $a_Z = 0,85$ нм

необходимо варьировать величину F_{BZ}^0 , меняя, например, свойства растворителя, и находить точки перехода Z — В и В — Z по ионной силе. Такого рода измерения, проведенные недавно В. И. Ивановым и Э. И. Минят, находятся в хорошем согласии с теорией (рис. 8).

В заключение этого раздела заметим, что наше рассмотрение проблемы B — Z-равновесия в ДНК существенным образом опиралось на использование основной модели теории полиэлектролитов. Как показывают многочисленные исследования, обсуждавшиеся в предыдущих разделах, эта модель достаточно надежно описывает электростатические свойства двусpirальных ДНК при низких и промежуточных ионных силах, до концентрации соли порядка 1 M. По мере увеличения концентрации соли отклонения от этой модели будут проявляться все сильнее. Перестает работать «газовое» приближение (см. раздел 4), концентрация мобильных ионов вокруг полииона становится столь высокой, что они могут образовывать нечто вроде «жидкой» или даже «кристаллической» фазы. О том, как и при каких условиях это происходит, можно лишь гадать, поскольку методы надежного теоретического описания такой ситуации пока отсутствуют. По-видимому, одновременно начинают играть важную роль такие факторы, как микроструктура растворителя, дискретность распределения зарядов на полиионе, детали поверхности полииона, неэлектростатические взаимодействия мобильных ионов друг с другом и с полиионом и т. д. Поэтому нам кажется неубедительными попытки рассмотрения, скажем, B — Z-равновесия, в которых часть этих факторов учитывается максимально строго, а другая произвольным образом игнорируется¹⁰⁴⁻¹⁰⁷.

7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре мы рассмотрели теоретические основы и практические приложения полиэлектролитной модели ДНК. В рамках этой модели молекула ДНК считается цилиндром с зарядом, равномерно размазанным по его поверхности, который погружен в непрерывную диэлектрическую среду. Альтернативой такому модельному подходу является рассмотрение системы ДНК + малые ионы + вода во всей ее сложности методами Монте-Карло или молекулярной динамики^{108–112}. Такой подход требует мощных компьютеров (недавно появилась работа, в которой использовался суперкомпьютер CRAY¹¹²). Разумеется, он весьма перспективен для исследования тонких структурных особенностей ДНК и окружающего ее растворителя при фиксированных условиях. Однако вряд ли такая программа имеет реальную перспективу для расчета свободной энергии системы, а именно эта величина необходима при анализе конформационных переходов. Это обстоятельство особенно ярко иллюстрируется приведенными в настоящем обзоре данными по В – Z-переходу. В самом деле, как видно из рис. 7 и 8, электростатические эффекты, существенным образом влияющие на В – Z-равновесие, составляют, в расчете на пару оснований ДНК, величину порядка сотых долей kT . Ясно, что никакой расчет из первых принципов столь сложной системы не может и никогда не сможет гарантировать такую точность. С другой стороны, модельный подход обладает тем неоспоримым преимуществом, что его результаты имеют ясную интерпретацию и их качественная надежность может быть подтверждена простыми физическими соображениями. Именно это и было продемонстрировано выше для случая В – Z-перехода.

Институт молекулярной генетики
АН СССР

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rich A., Nordheim A., Wang A. H.-J.//Ann. Rev. Biochem. 1984. V. 53. P. 791.
- Pohl F. M., Jovin T. M.//J. Mol. Biol. 1972. V. 67. P. 375.
- Wang A. H.-J., Quigley G. J., Kolpak F. J., Crawford J. L., van Boom J. H., van der Marel G., Rich A.//Nature. 1979. V. 282. P. 680.
- Jovin T. M., MacIntosh L., van de Sande H., Soumpasis D. M.//Ann. Rev. Phys. Chem. 1986 (in press).
- Behe M., Felsenfeld G.//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1981. V. 78. P. 1619.
- Lattha P. K., Brachmachari S. K.//FEBS Lett. 1985. V. 182. P. 315.
- Feuerstein B. G., Marton L. J., Keniry M. A., Wade D. L., Shaffer R. H.//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. P. 4133.
- Kriegel W. C., Prairie M. D.//Biopolymers. 1985. V. 24. P. 905.
- Веденов А. А., Дыхне А. М., Франк-Каменецкий М. Д.//УФН. 1971. Т. 105. С. 479.
- Wada A., Yabuki S., Husimi Y.//CRC Crit. Rev. Biochem. 1980. V. 9. P. 87.
- Wartell R. M., Benight A. S.//Phys. Rept. 1985. V. 126. P. 67.
- Anschelevich V. V., Vologodskii A. V., Lukashin A. V., Frank-Kamenetskii M. D.//Biopolymers. 1984. V. 23. P. 39.
- Хилл Т. Статистическая механика.— М.: ИЛ, 1960.
- Ramanathan G. V., Woodbury C. P.//J. Chem. Phys. 1982. V. 77. P. 4120.
- Rice S. A., Nagasawa M. Polyelectrolyte Solutions.— New York: Academic Press, 1977.
- Ramanathan G. V.//J. Chem. Phys. 1983. V. 78. P. 3223.
- Biophysics and Other Topics: Selected Papers by A. Katzir-Katchalsky.— New York; Academic Press, 1976.
- Франк-Каменецкий Д. А. Диффузия и теплопередача в химической кинетике.— М.: Наука, 1967.
- Fuoss R. M., Katchalsky A., Lifson S.//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1951. V. 37. P. 579.
- Alfrey T., Berg P. W., Mogaawez H.//J. Polym. Sci. 1951. V. 7. P. 543.
- LeBret M., Zimm B.//Biopolymers. 1984. V. 23. P. 287.

22. Kotin L., Nagasawa M.//J. Chem. Phys. 1962. V. 36. P. 873.
23. Kotin L.//J. Mol. Biol. 1963. V. 7. P. 309.
24. Mac Gillivray A. D., MacMullen A. I.//J. Theor. Biol. 1966. V. 12. P. 75.
25. Mac Gillivray A. D., MacMullen A. I.//Ibidem. P. 260.
26. Mac Gillivray A. D.//J. Chem. Phys. 1972. V. 56. P. 80.
27. Mac Gillivray A. D.//Ibidem. V. 57. P. 4071.
28. Stigter D.//J. Colloid and Interface Sci. 1975. V. 53. P. 296.
29. Shellman J. A., Stigter D.//Biopolymers. 1977. V. 16. P. 1415.
30. Stigter D.//Ibidem. P. 1435.
31. Gueron M., Weisbuch G.//J. Phys. Chem. 1979. V. 83. P. 1991.
32. Gueron M., Weisbuch G.//Biopolymers. 1980. V. 19. P. 353.
33. Anderson C. F., Record M. T.//Biophys. Chem. 1980. V. 11. P. 353.
34. Weisbuch G., Gueron M.//J. Phys. Chem. 1981. V. 85. P. 517.
35. Klein B. K., Anderson C. F., Record M. T.//Biopolymers. 1981. V. 20. P. 2263.
36. Anderson C. F., Record M. T.//Ann. Rev. Phys. Chem. 1982. V. 33. P. 191.
37. Granot J., Kearns D. R.//Biopolymers. 1982. V. 21. P. 219.
38. Le Bret M.//J. Chem. Phys. 1982. V. 76. P. 6243.
39. Fixman M.//Ibidem. P. 6346.
40. Russel W. B.//J. Polym. Sci. 1982. V. 20. P. 1233.
41. Granot J.//Biopolymers. 1983. V. 22. P. 1831.
42. Delville A., Laszlo P.//Biophys. Chem. 1983. V. 17. P. 119.
43. Klein B. J., Pack G. R.//Biopolymers. 1983. V. 22. P. 2331.
44. Pack G. R.//Intern. J. Quant. Chem.: Quant. Biol. Symp. 1983. V. 10. P. 61.
45. Odijk T.//Chem. Phys. Lett. 1983. V. 100. P. 145.
46. Bratko D., Dolar D.//J. Chem. Phys. 1984. V. 80. P. 5782.
47. Belloni L., Drifford M., Turq P.//Chem. Phys. 1984. V. 83. P. 147.
48. Lampert M. A., Martinelli R.//Ibidem. V. 88. P. 399.
49. Pack G. R., Prasad C. V.//Intern. J. Quant. Chem.: Quant. Biol. Symp. 1984. V. 11. P. 287.
50. Тэнфорд Ч. Физическая химия полимеров.— М.: Химия, 1965.
51. Khokhlov A. R., Kachaturian K. A.//Polymer. 1982. V. 23. P. 1742.
52. Kholodenko A. R., Freed K. F.//J. Chem. Phys. 1983. V. 78. P. 7412.
53. Manning G. S.//Ibidem. 1969. V. 51. P. 924.
54. Manning G. S.//Ibidem. P. 3249.
55. Manning G. S.//Biopolymers. 1972. V. 11. P. 937.
56. Manning G. S.//Ibidem. P. 951.
57. Manning G. S.//Ann. Rev. Phys. Chem. 1972. V. 23. P. 117.
58. Kwak J. C. T., O'Brien M. C., MacLean D. A.//J. Phys. Chem. 1975. V. 79. P. 2381.
59. Manning G. S.//Biophys. Chem. 1977. V. 7. P. 95.
60. Ise N., Okubo T.//Macromolecules. 1978. V. 11. P. 439.
61. Kowblansky M., Tomasula M., Ander P.//J. Phys. Chem. 1978. V. 82. P. 1491.
62. Joshi Y. M., Kwak J. C. T.//J. Phys. Chem. 1979. V. 83. P. 4978.
63. Record M. T., Anderson C. F., Lohman T. M.//Quart. Rev. Biophys. 1978. V. 11. P. 103.
64. Manning G. S.//Ibidem. P. 179.
65. Trifiletti R., Ander P.//Macromolecules. 1979. V. 12. P. 1197.
66. Manning G. S.//Acc. Chem. Res. 1979. V. 12. P. 443.
67. Wilson R. W., Bloomfield V. A.//Biochemistry. 1979. V. 18. P. 2192.
68. Manning G. S.//J. Phys. Chem. 1984. V. 88. P. 6654.
69. Paoletti S., Smidsrod O., Grasdalen H.//Biopolymers. 1984. V. 23. P. 1771.
70. Satoh M., Komiyama J., Iijima T.//Macromolecules. 1985. V. 18. P. 1195.
71. Metropolis N., Rosenbluth A. W., Rosenbluth M. N., Teller A. H., Teller E.//J. Chem. Phys. 1953. V. 21. P. 1087.
72. Методы Монте-Карло в статистической физике.— М.: Мир, 1982.
73. Bratko D., Vlachy V.//Chem. Phys. Lett. 1982. V. 90. P. 434.
74. Le Bret M., Zimm B.//Biopolymers. 1984. V. 23. P. 271.
75. Murthy C. S., Bacquet R. J., Rossky P. J.//J. Phys. Chem. 1985. V. 89. P. 701.
76. Mills P., Anderson C. F., Record M. T.//Ibidem. P. 3984.
77. Fixman M.//J. Chem. Phys. 1979. V. 70. P. 4995.
78. Ramanathan G. V., Woodbury C. P.//Ibidem. 1982. V. 77. P. 4133.
79. Bacquet R. J., Rossky P. J.//J. Phys. Chem. 1984. V. 88. P. 2660.
80. Anshelevich V. V., Lukashin A. V., Frank-Kamenetskii M. D.//Chem. Phys. 1984. V. 91. P. 225.
81. Lampert M. A.//Biopolymers. 1982. V. 21. P. 159.
82. Zimm B., Le Bret M.//J. Biomol. Struct. Dyn. 1983. V. 1. P. 461.

83. Tricot M.//*Macromolecules*. 1984. V. 17. P. 1698.
84. DeLisi C., Crothers D. M.//*Biopolymers*. 1971. V. 10. P. 2323.
85. Кантор Ч., Шиммел П. *Биофизическая химия*.—М.: Мир, 1984.—Гл. 22.
86. Privalov P. L., Ptitsyn O. B., Birgshtein T. M.//*Biopolymers*. 1969. V. 8. P. 559.
87. Gruenwedel D. W.//*Biochem. and Biophys. Acta*. 1974. V. 340. P. 16.
88. Монаселидзе Д. Р., Мгладзе Г. Н.//*Биофизика*. 1977. Т. 22. С. 950.
89. Фрелих Г. *Теория диэлектриков*.—М.: ИЛ, 1960.
90. Eisenberg D., Kazmann W. *The Structure and Properties of Water*.—Oxford: Clarendon Press, 1964.
91. Frank-Kamenetskii M. D.//*Biopolymers*. 1971. V. 10. P. 2623.
92. Hagerman P. J.//*Biopolymers*. 1981. V. 20. P. 1503.
93. Frank-Kamenetskii M. D., Lukashin A. V., Anshelevich V. V.//*J. Biomol. Struct. Dyn.* 1985. V. 3. P. 35.
94. Peck L. J., Wang J. C.//*Nature*. 1981. V. 292. P. 375.
95. Horowitz D. S., Wang J. C.//*J. Mol. Biol.* 1984. V. 173. P. 75.
96. Wang J. C., Peck L. J., Becherer K.//*Cold Spring Harb. Simp. Quant. Biol.* 1983. V. 47. P. 85.
97. Peck L. J., Wang J. C.//*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1983. V. 80. P. 6206.
98. Panyutin I., Lyamichev V., Mirkin S.//*J. Biomol. Struct. Dyn.* 1985. V. 2. P. 1221.
99. Malfoy B., Hartmann B., Leng M.//*Nucl. Acids Res.* 1981. V. 9. P. 5659.
100. Chen H. H., Behe M. J., Rau D. C.//*Nucl. Acids Res.* 1984. V. 12. P. 2381.
101. Thomas T. J., Bloomfield V. A.//*Biochemistry*. 1985. V. 24. P. 713.
102. Behe M. J., Felsenfeld G., Szu S. C., Cnarney E.//*Biopolymers*. 1985. V. 24. P. 289.
103. Woisard A., Guschelbauer W., Fazakerley G. V.//*Nucl. Acids Res.* 1986. V. 14. P. 3515.
104. Pack G. R.//*Intern. J. Quant. Chem.: Quant. Biol. Symp.* 1982. V. 9. P. 81.
105. Soumpasis D. M.//*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984. V. 81. P. 5116.
106. Matthew J. B., Richards F. M.//*Biopolymers*. 1984. V. 23. P. 2743.
107. Pack G. R., Klein B. J.//*Ibidem*. P. 2801.
108. Clementi E.//*Structure and Dynamics: Nucleic Acids and Proteins*/Eds E. Clementi, R. H. Sarma.—New York: Adenine Press, 1983.—P. 321.
109. Olatunji O. L., Premilat S.//*Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1985. V. 126. P. 247.
110. Finney J. L., Goodfellow J. M., Howell P. L., Vovelle F.//*J. Biomol. Struct. Dyn.* 1985. V. 3. P. 599.
111. Singh U. C., Weiner S. J., Kollman P. A.//*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1985. V. 82. P. 755.
112. Seibel G. L., Singh U. C., Kollman P. A.//*Ibidem*. P. 6537.