

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՆԱՄԱՆՍԱՐԱՆ

Լուսինե Ալոյան

Պարույր-կծիկ անցումը ԴՆԹ-ի մոլեկուլում

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԼՈՒՍԻՆԵ ԱԼՈՅԱՆ

ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՈՒՄԸ ԴՆԹ-Ի
ՄՈԼԵԿՈՒԼՈՒՄ

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ

ԵՐԵՎԱՆ

ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿԶՈՒԹՅՈՒՆ

2024

ՀՏԴ 577.323.7(075.8)

ԳՄԴ 28.071.0գ73

Ա 327

Հրատարակության և երաշխավորել
ԵՊՀ գիտական խորհուրդը:

Գրախոսներ՝ տեխ.գ. դոկտոր, պրոֆեսոր՝ Հ. Ռ. Դրմեյան
ֆ.մ.գ. դոկտոր, պրոֆեսոր՝ Յու. Ս. Բաբայան
ֆ.մ.գ.թ., դոցենտ՝ Գ. Վ. Անանյան

Լ.Ռ. Ալոյան

Ա 327 Պարույր-կծիկ անցումը ԴՆԹ-ի մոլեկուլում: Ուսումնամեթո-
դական ձեռնարկ/Ալոյան Լ.Ռ.: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2024, 50 էջ:

Սույն ձեռնարկը բուհական ծրագրով նախատեսված «Մակրոմոլեկուլ-
ների հետազոտման մեթոդները» դասընթացի մի մասն է, որտեղ հիմնակա-
նում շարադրված են կենսաաֆիզիկական այն հարցերը, որոնք նախատես-
ված են ԵՊՀ ֆիզիկայի ինստիտուտում այդ առարկայի դասավանդման
ծրագրերով:

Ձեռնարկի գլխավոր նպատակն է ուսանողներին ներկայացնել կյանքի
«կարևորագույն մոլեկուլի»՝ ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցման՝ դենտուրացի-
այի երևույթը և դրա ուսումնասիրման մեթոդներից երկուսը:

Ուսումնական ձեռնարկը նախատեսված է բուհերի ֆիզիկայի, կենսա-
բանության և քիմիայի ֆակուլտետների բակալավրիատի ուսանողների,
ինչպես նաև մագիստրոսների համար: Այն կարող է օգտակար լինել նաև
հարակից բնագավառներում մասնագիտացող ուսանողների և հանրա-
կրթական ու միջին մասնագիտական ուսումնական հաստատություններում
դասավանդողների համար:

ՀՏԴ 577.323.7(075.8)

ԳՄԴ 28.071.0գ73

ISBN 978-5-8084-2663-4

DOI: <https://doi.org/10.46991/YSUPH/9785808426634>

© ԵՊՀ հրատ., 2024

© Ալոյան Լ.Ռ., 2024

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Մեր ժամանակներում «ԴՆԹ» (դեզօքսիռիբոնուկեինաթթու) բառը դարձել է սովորական, առօրյա կիրառելի եզրույթ: ԴՆԹ-ի մոլեկուլի շուրջ տիրում է իսկական իրարանցում: Ներկայումս հազարավոր լաբորատորիաներ, կենսատեխնոլոգիական և դեղագործական ընկերություններ զբաղվում են «ԴՆԹ»-ի արտադրությամբ: Հազարավոր մասնագետներ զբաղվում են գեների մանիպուլյացիաներով և այդ մանիպուլյացիաների արդյունքների գործնական կիրառման նորանոր հնարավորությունների փնտրտուքով: Իսկ այս ամենը սկսվել է մի կարճ, մեկ էջից բաղկացած գրառումից, որը տպագրվել էր «Nature» ամսագրում 1953 թվականի ապրիլի 25-ին՝ հեղինակված Ջեյմս Ուոթսոնի և Ֆրենսիս Բրիքի կողմից: Նրանք առաջինն էին, որ հատեցին վերջնագիծը այս գիտական մրցավազքում, մինչդեռ այլ գիտնականներ նույնպես փորձում էին գտնել ԴՆԹ-ի կառուցվածքի ճիշտ մոդելը: Ֆիզիկոսները սկսել էին ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ուսումնասիրությունը ոչ միայն այն պատճառով, որ հասկանում էին դրա կառուցվածքի բոլոր մանրամասները բացահայտելու կարևորությունը, այլև ԴՆԹ-ի մոլեկուլը ինքնին շատ ուշագրավ էր:

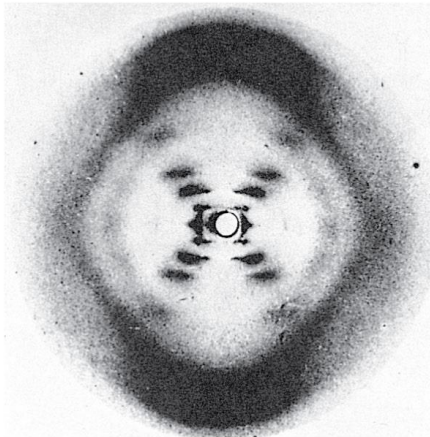
Լաբորատորիայում նոր փորձեր անելու փոխարեն՝ Ուոթսոնը և Բրիքը հիմնականում հավաքեցին, վերլուծեցին և միավորեցին առկա տվյալները: ԴՆԹ-ի կառուցվածքի ամենակարևոր հուշումներից մի քանիսը ստացել էր Ռոզալինդ Ֆրանկլինը՝ կին կենսաքիմիկոս, որն այն ժամանակ աշխատում էր ֆիզիկոս Մորիս Ուիլկինսի լաբորատորիայում:

Ֆրանկլինը մոլեկուլների կառուցվածքի որոշման՝ ռենտգենյան դիֆրակտամետրիայի փորձագետ էր: Ռենտգենյան

դիֆրակտամետրիան (ռենտգենյան կառուցվածքային անալիզ) ռենտգենյան ճառագայթների օգտագործումն է բյուրեղի մոլեկուլային կառուցվածքի բացահայտման նպատակով: Այն հիմնված է ռենտգենյան ալիքի դիֆրակցիայի երևույթի վրա, այն է՝ ռենտգենյան ճառագայթի դիֆրակցիան բյուրեղի ատոմային կառուցվածքի վրա: Եթե մոլեկուլը (օրինակ՝ ԴՆԹ) բյուրեղացվում է և ճառագայթվում է ռենտգենյան ճառագայթներով, ապա ձևավորված դիֆրակցիոն պատկերը կարելի է օգտագործել մոլեկուլի կառուցվածքը բացահայտելու համար:



ա)



բ)

Նկ. 1.

ա) Ռոզալինդա Ֆրանկլին, ԴՆԹ-ի առաջին ռենտգենագրի հեղինակ
 բ) ԴՆԹ-ի կրկնակի պարուրային կառուցվածքը ներկայացնող ռենտգենագիր, որտեղ դիֆրակցիոն պատկերն ունի «X» տառի տեսքը:

Ֆրանկլինի ռենտգենագրերի հիման վրա (նկ. 1) Ուոթսոնն ու Բրիքն առաջարկեցին ԴՆԹ-ի կառուցվածքի հնարավոր մոդելը: Այս աշխատանքի համար 1962 թ. Ջեյմս Ուոթսոնը,

Ֆրենսիս Քրիկը և Մորիս Ուիլկինսը բժշկության բնագավառում արժանացան Նոբելյան մրցանակի:

ԴՆԹ-ի կառուցվածքի բացահայտումը թույլ տվեց հասկանալ ԴՆԹ-ի մի շարք գործառույթների բազմազան ասպեկտներ, որոնցից են. ինչպես է այն պատճենվում և ինչպես է դրանում առկա տեղեկատվությունը օգտագործվում սպիտակուցներ սինթեզելու համար: ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կենդանի համակարգի ժառանգական ինֆորմացիայի կրողն է, պահպանողն ու փոխանցողը: Բանն այն է, որ կենդանի օրգանիզմի ողջ գենետիկական ինֆորմացիան և կենդանի օրգանիզմների կառուցվածքը որոշվում են այս հսկա մոլեկուլի մոնոմերային օղակների հաջորդականությամբ: Ընդհանուր առմամբ, ԴՆԹ մոլեկուլը ֆիզիկական յուրահատուկ համակարգ է, և նրա ֆիզիկական հատկությունների պարզաբանումը թույլ է տալիս հասկանալ կենդանի օրգանիզմում ԴՆԹ-ի կենսաբանական ֆունկցիաները և բացատրել պաթոլոգիական մի շարք պրոցեսների առաջացման մոլեկուլային մեխանիզմները:

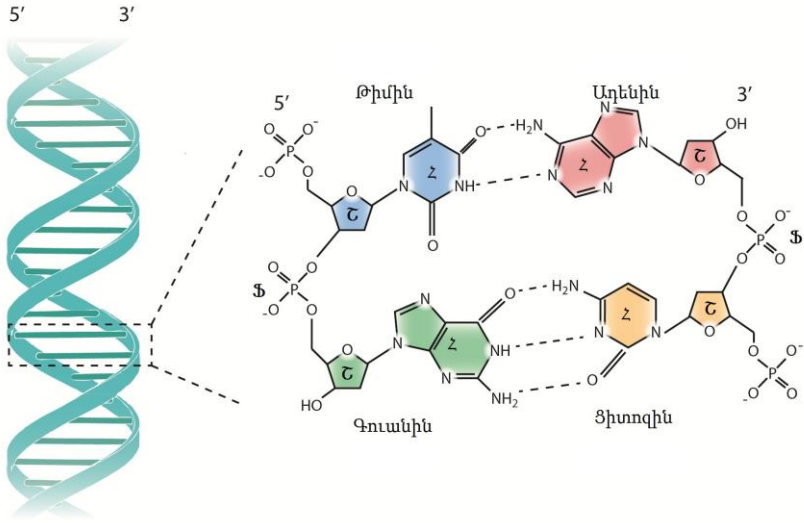
ԳԼՈՒԽ 1. ԴՆԹ-Ի ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔՆ ՈՒ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

1.1. ԴՆԹ-Ի ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ: ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՈՒՄԸ

ԴՆԹ մոլեկուլում ընթացող ֆիզիկական պրոցեսներից առանձնահատուկ տեղ է գրավում համեմատաբար լավ ուսումնասիրված պարույր-կծիկ անցման պրոցեսը, որի մասին սկսեցին խոսել դեռևս 1950-ական թվականների վերջում:

ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցում, դենատուրացիա կամ հալում են անվանում կոմպլեմենտար հիմնային զույգերի միջև գործող ջրածնային կապերի քանդումը, որի դեպքում պահպանվում են շաքարաֆոսֆատային հենքի կովալենտ կապերը:

Նշենք, որ ԴՆԹ-ի հալումը էապես տարբերվում է ֆիզիկայում ընդունված հալման երևույթից: Մինչ այս երևույթի ուսումնասիրումը, նախ անդրադառնանք ԴՆԹ-ի կառուցվածքին, որը սխեմատիկորեն ներկայացված է նկ. 2-ում:



Նկ. 2. ԴՆԹ-ի կառուցվածքը.

ա) նուկլեոտիդային շղթայի հատված, բ) ԴՆԹ-ի մոլեկուլի մոնոմերի սխեմատիկ պատկերումը, որտեղ Ֆ-ն ֆոսֆորային թթվի մնացորդն է, Շ-ն՝ շաքարային օղակը, Հ-ն՝ ազոտական հիմքերից մեկը (թիմին, գուանին, ադենին, ցիտոզին):

ԴՆԹ-ի մոլեկուլը կարելի է համարել ոչ պարբերական միաչափ բյուրեղ, քանի որ ԴՆԹ մոլեկուլի տարրական բջիջը (զույգ ազոտային հիմքերը) փոխազդում է միայն երկու հարևան միավորների հետ: ԴՆԹ-ի մոլեկուլը ոչ պարբերական է, քանի որ յուրաքանչյուր շղթա կազմված է չորս տեսակի տարրական միավորներից՝ նուկլեոտիդներից: ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդները կազմված են ազոտային հիմքից (ադենին, թիմին, գուանին, ցիտոզին), ածխաջրից (դեզօքսիռիբոզ) և ֆոսֆորական թթվի մնացորդից:

Կախված միջավայրի հարաբերական խոնավությունից, իոնական ուժից և նուկլեոտիդների հաջորդականությունից՝

ԴՆԹ մոլեկուլը կարող է գտնվել պարուրային տարբեր պարամետրերով բնութագրվող կրկնակի պարուրային կոնֆորմացիաներում: Ներկայումս փորձնականորեն հայտնաբերված և ուսումնասիրված են ԴՆԹ-ի աջ (A, B, C, և այլն) և ձախ (Z, Z' և այլն) պարուրային ձևերը: Յուրաքանչյուր շղթայի ներսում նուկլեոտիդների միջև գործում են ամուր կովալենտ կապեր, որոնք օժտված են մոտ 60 կկալ/մոլ էներգիայով: Պոլինուկլեոտիդային շղթաները միմյանց միանում են ջրածնային կապերով: Նշենք, որ ԴՆԹ մոլեկուլը *in vivo* պայմաններում գտնվում է B ձևում, որը բնութագրվում է հետևյալ պարամետրերով. մոլեկուլի տրամագիծը $\cong 20\text{\AA}$ ($1\text{\AA} = 10^{-10}\text{մ}$), շղթայի երկայնքով հարևան զույգ հիմքերի հեռավորությունը՝ $3,4\pm 0,2\text{\AA}$, մեկ գալարին համընկնում են $10,4\pm 0,1$ զույգ ազոտային հիմքեր, որոնք, կախված նուկլեոտիդների հաջորդականությունից և միջավայրի հատկություններից, միմյանց նկատմամբ թեքված են $\approx 36\pm 4^{\circ}$ անկյունով: Չույգ հիմքերը դասավորված են համարյա միմյանց զուգահեռ: Ջերմային շարժման հետևանքով հիմքերը ամենաշատը կարող են շեղվել 3° -ով: Գտնվելով պարուրային վիճակում՝ ԴՆԹ-ի զույգ ազոտային հիմքերը որոշակի հավանականությամբ կարող են բացվել ու փակվել: ԴՆԹ-ի B ձևը շատ հաճախ կոչվում է ԴՆԹ-ի նատիվ կառուցվածք: ԴՆԹ-ն նատիվ վիճակում է $pH=8\div 5$ տիրույթում: pH -ի փոքրացումը կամ մեծացումը հանգեցնում է պարուրային կառուցվածքի քանդմանը: ԴՆԹ-ի երկշղթա կառուցվածքի հիմքում ընկած են Չարգաֆի կանոնները, որոնց համաձայն՝ գուանինային հիմքերի քանակը հավասար է ցիտոզինային հիմքերի, իսկ ադենինային հիմքերինը՝ թիմինային հիմքերի քանակին: Ընդ որում՝ ԴՆԹ-ի յուրաքանչյուր պոլինուկլեոտիդային շղթայի կմախք կազմված է

շաքարաֆոսֆատային հենքից, որին կովալենտ կապերով կապված են ազոտային հիմքերը: Վերջիններս ուղղված են դեպի պարույրի առանցքը՝ շաքարաֆոսֆատային կմախքի նկատմամբ կազմելով գրեթե 90° անկյուն: Ազոտային հիմքերը պարույրի ներսում դասավորված են սյունաձև իրար վրա, (A)-ադենինի դիմաց միշտ գտնվում է (T)-թիմինը, (G) -գուանինի դիմաց՝ (C)-ցիտոզինը: Նշենք, որ ադենինի և թիմինի միջև առաջանում է երկու ջրածնային կապ, իսկ գուանինի և ցիտոզինի միջև՝ երեք ջրածնային կապ: ԴՆԹ-ի կրկնակի պարուրային կառուցվածքի կայունացման գործում մեծ դեր են կատարում կոմպլեմենտար զույգ ազոտային հիմքերի միջև առկա ջրածնային կապերը, ներմուլեկուլային և միջմուլեկուլային վանդերվալսյան ուժերը (հիդրոֆոբ և հիդրոֆիլ փոխազդեցության ուժերը): Այսպիսի միաչափ ոչ պարբերական բյուրեղի հատկություններն էապես տարբերվում են ցածրամուլեկուլային նյութերի առաջացրած բյուրեղային կառուցվածքի հատկություններից: Ընդհանուր առմամբ, ԴՆԹ մուլեկուլը յուրահատուկ ֆիզիկական համակարգ է, և նրա ֆիզիկական հատկությունների պարզաբանումը թույլ է տալիս հասկանալ կենդանի օրգանիզմում ԴՆԹ-ի կենսաբանական ֆունկցիաները և բացատրել պայթուղիական մի շարք պրոցեսների առաջացման մուլեկուլային մեխանիզմները: Ֆիզիկական ուսումնասիրությունները կարևոր են նաև ԴՆԹ-ի այնպիսի գենետիկական ֆունկցիաների հասկացման գործում, ինչպիսիք են գենետիկական ինֆորմացիայի պահպանումը, վերարտադրությունն ու իրականացումը:

ԴՆԹ-ի հալումը: Այժմ անդրադառնանք ԴՆԹ-ի պարույրկծիկ անցման երևույթի ուսումնասիրությանը:

Այսպիսի ոչ կովալենտ փոխազդեցություններ կայուն են

միայն չափավոր ջերմաստիճաններում: Օրինակ՝ ԴՆԹ-ն, որը բաղկացած է 100 կրկնվող միավորից (գույգ հիմքերից) բաժանվում է առանձին երկու շղթաների ջերմաստիճանների 69-107 °C տիրույթում՝ կախված նուկլեոտիդային կազմից և միջավայրի բնութագրերից՝ լուծույթի իոնական ուժից և pH-ից:

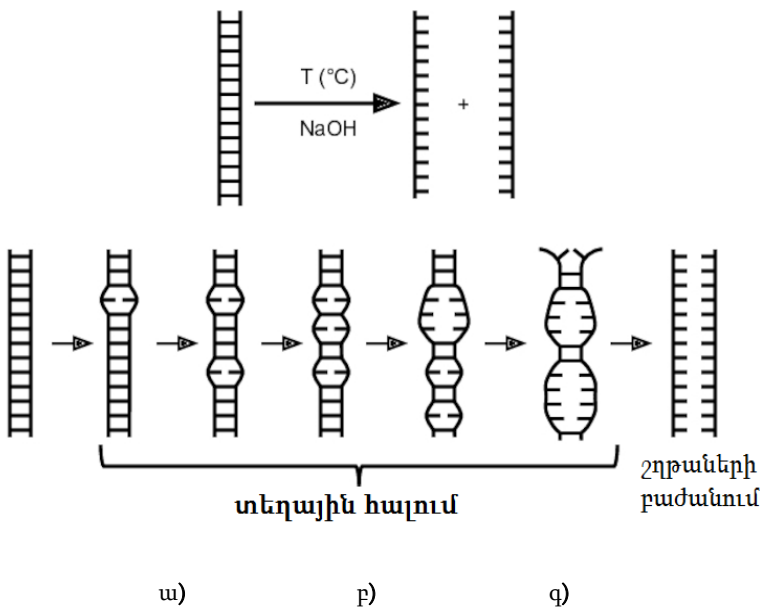
Կրկնակի պարուրային կառուցվածքի խախտում կարող են առաջացնել լուծույթի ջերմաստիճանի բարձրացումը, իոնական ուժի փոփոխությունը, քիմիական նյութերի՝ դենատուրասների ազդեցությունը և մի շարք այլ գործոններ: Եվ այսպես, ԴՆԹ-ի դենատուրացիայի պրոցեսում ազոտային հիմքերի հաջորդականությունը (առաջնային կառուցվածքը) շղթայում չի փոխվում (քիմիական կապերը չեն խզվում), քանդվում են երկու շղթաների միջև գործող ներմուլեկուլային ջրածնային կապերը: ԴՆԹ մոլեկուլի միթելանի շղթաները, որոնք առաջանում են դենատուրացիայի հետևանքով, ճկուն պոլիմերային շղթաներ են: Այդպիսի շղթաները նկարագրվում են ազատ համակցված շղթայի մոդելով: Նրանց ծայրերի միջև եղած հեռավորությունների բաշխումը Գաուսյան է, այդ պատճառով այդպիսի շղթաները կոչվում են գաուսյան կամ վիճակագրական կծիկ: Դենատուրացված կամ կծիկանման վիճակում ԴՆԹ մոլեկուլում հարևան ազոտային հիմքերի հեռավորությունը կազմում է 6,8 Å, որը 2 անգամ ավելի մեծ է, քան կրկնակի պարույր վիճակում:

ԴՆԹ մոլեկուլի հալումը կարելի է ուսումնասիրել ֆիզիկական տարբեր մեթոդներով՝ սպեկտրասկոպական, կալորիմետրական, հիդրոդինամիկական և այլն: Ուսումնասիրության համեմատաբար պարզ մեթոդ է ԴՆԹ մոլեկուլների լուծույթի լույսի կլանման չափումը սպեկտրի ուլտրամանուշակագույն տիրույթում՝ կախված ջերմաստիճանից: Պարույր-

կծիկ անցման հետևանքով առաջացած միթելանի ԴՆԹ-ն ճկուն պոլիմերային շղթա է: Դենատուրացված կամ կծիկանման վիճակում ԴՆԹ մոլեկուլում հարևան ազոտային հիմքերի հեռավորությունը կազմում է 6,8 Å, որը 2 անգամ ավելի մեծ է, քան կրկնակի պարույր վիճակում: Որոշակի պայմաններում ԴՆԹ մոլեկուլի հալումը հակադարձելի է: Ջերմաստիճանի նվազման հետ շղթաների կոմպլեմենտար հիմքերը միանում են ջրածնային կապերով՝ առաջացնելով կրկնակի պարուրային տեղամասեր (ռենատուրացիա): Հետևաբար ընդհանրացնելով շարադրվածը՝ կարելի է պնդել, որ ԴՆԹ մոլեկուլի դենատուրացիան կարգավորված պարույր (բյուրեղային) վիճակից անցում է չկարգավորված կծիկ (հեղուկ) վիճակի:

Պարուրային վիճակում ԴՆԹ-ի մոլեկուլն օժտված է բավականին կոշտ կառուցվածքով: Մակայն կրկնակի պարույրի որոշ ճկունություն, այնուամենայնիվ, պահպանվում է: Երկթելանի ԴՆԹ-ն իրենից ներկայացնում է կծիկ՝ անոմալ մեծ ստատիստիկ սեգմենտով՝ ≈ 300 հիմնային զույգ: Վիճակագրական սեգմենտի այսպիսի արժեքը պայմանավորված է պարույրի անընդհատ ճկունությամբ, այլ ոչ թե պարուրային կառուցվածքի լոկալ՝ տեղային խախտումներով, այսինքն՝ ԴՆԹ-ն որդանման (պերսիստենտային), այլ ոչ թե զիզզազանման շղթա է: Այսպիսով, պարույր-կծիկ անցումը վիճակագրական կծիկի էներգիապես շահավետ բարձր կարգավորված պարուրային, «բյուրեղական» վիճակից դարձելի անցումն է անկարգավորված, «հեղուկ» վիճակին: Ուշագրավ է նաև այն հանգամանքը, որ կծիկանման վիճակում գտնվող շղթայում հիմքերի հաջորդականությունը նույնն է, ինչ- որ պարույրում, քանի որ ԴՆԹ-ի հալման ժամանակ խզվում են միայն թույլ

միջմուլեկուլային ուժերը, իսկ կովալենտ կապերը շաքարաֆոսֆատային շղթաների ներսում մնում են անփոփոխ: Նկար 3-ում ԴՆԹ-ի հալման սխեմատիկ պատկերն է, որտեղ ԴՆԹ-ի բնական (նատիվ) վիճակը պատկերված է ա կետում: Ուղղահայաց գծերը շաքարաֆոսֆատային մնացորդներն են, հորիզոնականները՝ զույգ ազոտային հիմքերը, կապված են ջրածնային կապերով, որոնք, ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց, սկսում են խզվել: Քանի որ ադենին-թիմին զույգերի միջև գործում են երկու ջրածնային կապեր, ուստի նրանց ջերմակայունությունն ավելի փոքր է, քան գուանին-ցիտոզին զույգերինը, որտեղ առկա են երեք ջրածնային կապեր, հետևաբար նախ քանդվում են AT-հարուստ տեղամասերը՝ երկպարույրի վրա առաջացնելով հալված տեղամասեր (նկ. 3բ), այնուհետև ավելի բարձր ջերմաստիճաններում սկսվում են քանդվել GC-հարուստ տեղամասերը, իսկ հալման պրոցեսի վերջում խզվում են ԴՆԹ-ի երկպարույրը կայունացնող բոլոր ջրածնային կապերը և տեղի է ունենում պարույրաձև կառուցվածքի լրիվ քանդում առանձին կծիկների առաջացմամբ (նկ. 3 գ):



Նկ. 3. ԴՆԹ-ի մոլեկուլի հալման սխեմատիկ պատկեր

1.2. ԴՆԹ-Ի ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՆԿԱՐԱԳՐՈՒԹՅՈՒՆԸ (ԻԶԻՆԳԻ ՄՈՂԵԼ)

ԴՆԹ-ի հալման պրոցեսի նկարագրությունը սկսենք հալման պարզագույն մոդելից (Բզինգի մոդել), որը բացատրում է այս պրոցեսի կարևոր հատկությունները: Ենթադրենք, որ AT և GC զույգերի քանդման համար պահանջվում է միևնույն էներգիան (հրականում դա այդպես չէ): Անցումային շրջանում, ինչպես երևում է նկ. 3 բ-ից, ԴՆԹ-ի մոլեկուլը բաղկացած է իրար հաջորդող քանդված և նատիվ տեղամասերից, որոնք պահպանում են առաջնային կառուցվածքը:

Քանդված զույգերի թիվը նշանակենք N_1 -ով, իսկ կապված զույգերի թիվը՝ N_2 : Համապատասխանաբար քանդված զույգերի ազատ էներգիան և կապված զույգերի ազատ էներգիան նշանակենք F_1 և F_2 :

m զույգերից բաղկացած քանդված տեղամասերի առաջացումը պայմանավորված է m հատ ջրածնային կապերի և $m+1$ հատ ազոտական հիմքերի միջև միջմոլեկուլային կապերի խզմամբ: Հալման ընթացքում առաջացած հալված և նատիվ հատվածների նոր սահմանների առկայությունը համակարգի ազատ էներգիայի բանաձևում արտահայտվում է ազատ էներգիայի լրացուցիչ գումարելիով: Այդ էներգիան նշանակենք F -ով, իսկ հալված տեղամասերի թիվը՝ n -ով: Ուստի, հալվող ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ազատ էներգիան կունենա հետևյալ տեսքը՝

$$N_1F_1 + N_2F_2 + nF,$$

որտեղ N_1 , N_2 և n արժեքները սահմանում են որոշակի մակրոսկոպական վիճակ: Տրված N_1 , N_2 և n -ին համապատասխան

միկրովիճակների թիվը հավասար է այն հնարավորությունների թվին, որոնցով N_i տարրերը կարող են տեղակայվել n խմբերում և միաժամանակ N_2 տարրերը n խմբերում, ինչը հավասար է $W=W_1W_2$, որտեղ՝

$$W_1 = \frac{(N_1 - 1)!}{(n - 1)!(N_1 - n)!}$$

$$W_2 = \frac{(N_2 - 1)!}{(n - 1)!(N_2 - n)!} :$$

Նշենք, որ մոնոմերների ընդհանուր քանակը ԴԼԹ-ի մոլեկուլներում՝ $N=N_1 + N_2$, բավականին մեծ է ($N > 10^7$), իսկ $N \rightarrow \infty$ դեպքում, ընդունելով $N-1 \approx N$ W -ի համար, կարելի է գրել.

$$W = \frac{N_1!N_2!}{(n!)^2 (N_2 - n)!(N_1 - n)!} \quad (1)$$

Այսպիսով, մեր համակարգի ազատ էներգիան կունենա հետևյալ տեսքը՝

$$F = N_1F_1 + N_2F_2 + nF - RT \ln W = N_1F_1 + N_2F_2 + nF - RT \ln W :$$

(1) բանաձևից W -ն սկզբում լոգարիթմելով, այնուհետև, կիրառելով Ստիվինգի մոտավորման բանաձևը տվյալ համակարգի ազատ էներգիայի համար, կստանանք հետևյալ արտահայտությունը՝

$$F = N_1F_1 + N_2F_2 + nF - RT [N_1 \ln N_1 - n \ln n - (N_1 - n) \ln (N_1 - n) + N_2 \ln N_2 - n \ln n - (N_2 - n) \ln (N_2 - n)] \quad (2)$$

Հիշեցնենք, որ, ըստ Ստիվինգի մոտարկման բանաձևի, երբ $N \gg 1$ ունենք

$$N! = (N/e)^N \Rightarrow \ln N! \approx N \cdot (\ln N - 1):$$

Այժմ օգտվելով ազատ էներգիայի (2) արտահայտությունից՝ որոշենք հալումը նկարագրող պարամետրը, այսինքն՝ մոնոմերների այն քանակը, որը տվյալ ջերմաստիճանում գտնվում է պարուրային (բյուրեղարին) վիճակում կամ, այսպես կոչված, պարուրականության աստիճանը (θ):

Նշանակելով՝

$$\theta = \frac{N_2}{N} \quad (3)$$

ազատ էներգիայի մինիմումի պայմանից՝ $\left(\frac{\partial F}{\partial n}\right)_{N_1, N_2} = 0$, կստանանք՝

$$\left(\frac{N_1}{n} - 1\right) \left(\frac{N_2}{n} - 1\right) = \frac{1}{\sigma}, \quad (4)$$

որտեղ՝ $\sigma = \exp\{-\frac{F}{RT}\}$, իսկ $\left(\frac{\partial F}{\partial N_1}\right)_n = 0$ պայմանից ստանում ենք

$$\frac{\left(1 - \frac{n}{N_2}\right)}{\left(1 - \frac{n}{N_1}\right)} = S, \quad (5)$$

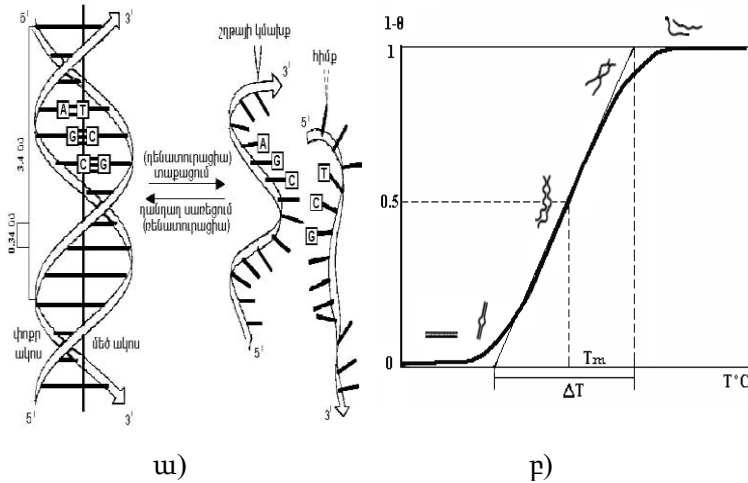
որտեղ կատարել ենք համապատասխան նշանակում՝ $S = \exp\{\frac{F_1 - F_2}{RT}\}$:

Ստացված բանաձևերը տալիս են N_1 , N_2 , և n -ի կախվածությունը S -ից, որը իր հերթին կախված է ջերմաստիճանից:

Միավորելով (4) և (5) բանաձևերը և նկատի ունենալով θ -ի համար (3) նշանակումը՝ ստանում ենք

$$\frac{1-2\theta}{\sqrt{\theta(1-\theta)}} = \frac{1}{\sqrt{\sigma}} \frac{1-S}{\sqrt{S}} : \quad (6)$$

Եթե կառուցենք $1-\theta$ -ի («կծիկ» վիճակում գտնվող տեղամասերի քանակի) կախվածությունը T ջերմաստիճանից, ապա կստանանք նկ. 4-ում պատկերված գրաֆիկը:



Նկ. 4. ԴՆԹ-ի հալման պրոցեսի սխեմատիկ պատկերումը (ա) և տեսական կորը (բ)

Այս սխեմտիկ «S» տեսք ունեցող հալման կորը բնութագրվում է երկու պարամետրերով՝ հալման ջերմաստիճանով - T_m (որի դեպքում ԴՆԹ-ի մոնոմերային միավորների 50 %-ը քանդված են) և հալման ինտերվալ - ΔT , որը որոշվում է (7) բանաձևով՝ ելնելով նկ. 3-ից.

$$\Delta T = \frac{1}{\left(\frac{d\Theta}{dT}\right)_{\max}} : \quad (7)$$

Փորձենք գնահատել այս երկու մեծությունները՝ T_m և ΔT -ն: Նախ որոշենք T_m -ը: Եթե միջհարթությունային և ջրածնային կապերի խզումով պայմանավորված ջերմությունը՝ հալման էնթալպիան, նշանակենք ΔH , իսկ էնտրոպիայի փոփոխությունը՝ ΔS , որը հիմնականում պայմանավորված է պարուրային վիճակից հավված վիճակին նուկլեոտիդային զույգի ազատության աստիճանի մեծացմամբ, ապա կարելի է գրել՝

$$F_1 - F_2 = \Delta H - T\Delta S : \quad (8)$$

Հալման ջերմաստիճանը որոշվում է $\Delta F=0$ պայմանից, որից ստացվում է՝

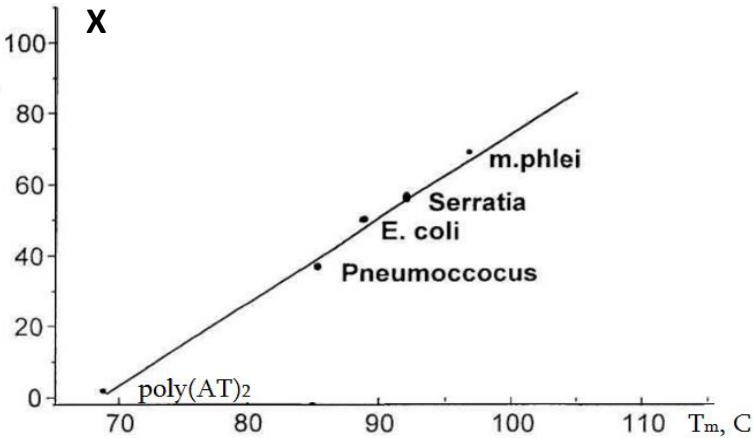
$$T_m = \frac{\Delta H}{\Delta S} : \quad (9)$$

Հաշվի առնելով (7) և (8) բանաձևերը՝ ստանում ենք

$$\Delta T = 4\sqrt{\sigma} \frac{RT_m^2}{\Delta H} : \quad (10)$$

Ինչպես երևում է ստացված բանաձևից, ΔT հալման միջակայքը էականորեն կախված է σ մեծությունից, որը կոչվում է կոոպերատիվության պարամետր: Որքան մեծ է F -ը, այսինքն՝ մեծ է ստեկինգ փոխազդեցությունը, այնքան փոքր է σ մեծությունը և հակառակը: Քանի որ միաշափ համակրգերում առաջին կարգի փուլային անցում տեղի չի ունենում, ապա երբ $\sigma \rightarrow 0$, ΔT չի ձգտում զրոյի: Ի տարբերություն բյուրեղների հալմանը պարույր-կծիկ անցումը առաջին կարգի փուլային անցում չէ:

Այսպիսով, հալման փորձարարական կորը կարելի է բնութագրել երկու պարամետրերով՝ T_m (9) և ΔT (10), որոնք անմիջականորեն բնութագրում են ԴՆԹ-ի ներմուլեկուլային փոփոխությունները: Նշենք, որ այս տեսությունը կիրառելի է հոմոպոլիմերների համար, այսինքն՝ այնպիսի ԴՆԹ-ի, որը բաղկացած է միայն AT- կամ GC- հիմնային գույգերից: Եթե ունենք նման հոմոպոլիմեր, ապա կարող ենք գնահատել ինչպես T_m -ը և ΔT -ն, այնպես էլ ΔH -ն և σ -ն: Համապատասխանաբար AT- պարունակող պոլիմերի դեպքում $T_m = 67^\circ\text{C}$, իսկ GC-ի դեպքում՝ $T_m = 107^\circ\text{C}$, հալման էնթալպիան՝ $\Delta H = 7 \div 9$ կկալ/մոլ, իսկ $\sigma = 10^{-5}$, սրանով է պայմանավորված ΔT -ի շատ փոքր լինելու փաստը (մոտ 0.5°C):



Նկ. 5. Տարբեր ԴՆԹ-ների հալման ջերմաստիճանի կապը GC- պարունակությունից

Բնական ԴՆԹ-ների դեպքում հալման միջակայքը ավելի մեծ է՝ $\Delta T = 3 \div 10^\circ\text{C}$, իսկ հալման ջերմաստիճանն ընկած է 67°C

$< T_m < 107 \text{ }^\circ\text{C}$ տիրույթում: Բնության մեջ հանդիպող ԴՆԹ-ները իրարից շատ են տարբերվում AT- և GC- զույգերի հարաբերական պարունակությամբ: Տարբեր օրգանիզմներից անջատված և նուկլեոտիդների բաղադրությամբ իրարից տարբերվող ԴՆԹ-ների ջերմակայունությունը գծայնորեն աճում է՝ կախված նրանցում GC- զույգերի կոնցենտրացիայից: Այդ կախվածությունը բերված է նկար 5-ում, որտեղ X_{GC} -ն GC- զույգերի հարաբերական կոնցենտրացիան է՝

$$X_{GC} = (G+C)/(A+T+G+C):$$

Ինչպես երևում է բերված գրաֆիկից, T_m -ի կախվածությունը X_{GC} -ից խիստ գծային է և տրվում է հետևյալ բանաձևով.

$$T_m = T_{AT} + X_{GC} (T_{GC} - T_{AT}), \quad (11)$$

որտեղ՝ T_{AT} և T_{GC} – համապատասխանաբար միան AT - և միայն GC - զույգ հիմքերից բաղկացած պոլինուկլեոտիդների հալման ջերմաստիճաններն են:

ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանը զգալիորեն կախված է նաև միջավայրի հատկություններից, որում լուծված են մոլեկուլները: Մասնավորապես, հալման պարամետրերը էապես կախված են լուծույթի իոնական ուժից և pH-ից: Դիտարկենք դրանց ազդեցությունները:

1.3.1. ԼՈՒԾՈՒՅԹԻ ԻՈՆԱԿԱՆ ՈՒԺ:

ԴՐԱ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱԼՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՎՐԱ

Իոնական ուժը լուծույթում իոնների կոնցենտրացիայի չափն է և կարևոր պարամետր է՝ լիցքավորված մոլեկուլների միջև էլեկտրաստատիկ փոխազդեցությունները որոշելու հա-

մար: Այն հաշվարկվում է՝ գումարելով յուրաքանչյուր իոնի կոնցենտրացիայի՝ C_i և լիցքի քառակուսու՝ Z_i^2 , արտադրյալներով.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2$$

Իոնների քանակի ցանկացած փոփոխություն ազդում է լուծույթում լիցքավորված մոլեկուլների միջև էլեկտրաստատիկ փոխազդեցությունների վրա, իսկ քանի որ $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{O}$ -ի մոլեկուլը բացասական լիցքավորված հսկա մակրոմոլեկուլ է, ուստի այդ պարամետրի կարևորությունը առավել քան մեծ է:

Ինչպես գիտենք $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{O}$ -ի ֆոսֆատային խմբերը լիցքավորված են բացասական, որոնց միջև գործում են էլեկտրաստատիկ վանողական ուժեր: $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{O}$ -ի մոլեկուլը ապակայունացնող այդ ուժերը կոմպենսացվում են հարևան շղթաների միջև գործող միջմոլեկուլային ուժերով և ազոտական հիմքերի միջև առկա ջրածնային կապերով: Ֆոսֆատային խմբերի միջև վանողությունը կարելի է փոքրացնել՝ մեծացնելով լուծույթում դրական լիցքավորված իոնների՝ կատիոնների, կոնցենտրացիան: Կատիոնների առկայությունը զգալի փոքրացնում է վանողական ուժերի ազդեցության շառավիղը (տե՛ս Դեբայ-Հյուկկելի տեսությունը [3]): Ուստի բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային խմբերը դրական իոններով բավարար էկրանավորման դեպքում $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{O}$ -ի կրկնակի պարույրը կայունանում է, որը բերում է լուծույթում իոնական ուժի մեծացմանը գույքնթաց հալման ջերմաստիճանի բարձրացմանը: Փորձի միջոցով ստացվել է լուծույթում Na^+ իոնների կոնցենտրացիայից հալման ջերմաստիճանի կախվածության հետևյալ էմպիրիկ բանաձևը, որը ճիշտ է լուծույթի չեզոք pH-ների և Na^+ իոնների

կոնցենտրացիայի $2 \cdot 10^{-2} M < [Na^+] < 1 M$ տիրույթում փոփոխման դեպքում.

$$T_m = 176 - (2.6 - X_{GC})(36 - 7.04 \lg[Na^+]), \quad (12)$$

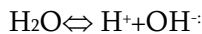
որտեղ T_m -ը հալման ջերմաստիճանն է, X_{GC} -ն՝ GC զույգ հիմքերի հարաբերական կոնցենտրացիան, $[Na^+]$ -ը՝ նատրիումի իոնների կոնցենտրացիան: Na^+ իոնների կոնցենտրացիայի համեմատաբար ավելի փոքր արժեքների դեպքում $10^{-3} M < [Na^+] < 2 \cdot 10^{-2} M$ տիրույթում հալման ջերմաստիճանը որոշվում է հետևյալ էմպիրիկ բանաձևով՝

$$T_m = 82,1 + X_{GC} (40 - 1.4 \lg[Na^+]) + 17.3 \lg[Na^+]: \quad (13)$$

Իոնական ուժը շատ կարևոր է կենսաբանական այնպիսի գործընթացներում, ինչպիսիք են՝ ԴՆԹ-ի հիբրիդացումը և սպիտակուց-ԴՆԹ փոխազդեցությունները: Այն կարող է ազդել ԴՆԹ-ի դուալիզմների կայունության, ԴՆԹ-ի հետ սպիտակուցների միացման և կենսաբանական մոլեկուլների ընդհանուր կառուցվածքի ու ֆունկցիայի վրա:

1.3.2. ԼՈՒԾՈՒՅԹԻ ՔԻ: ԴՐԱ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱԼՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՎՐԱ

Ջրի մոլեկուլների ինքնաբերաբար դիսոցիացիան (իոնացման) հետևանքով մաքուր ջրում առաջանում են ջրածնի իոններ: Այս գործընթացը կոչվում է ջրի **ինքնաիոնացում**.



Ինչպես ցույց է տրված հավասարման մեջ, դիսոցիացումը հավասար քանակով ջրածնի (H^+) իոններ և հիդրօքսիդ (OH^-)

իոններ է առաջացնում: Մաքուր ջրում դիսոցման հետևանքով առաջացած ջրածնի իոնների կոնցենտրացիան հավասար է 1×10^{-7} M (մոլ յուրաքանչյուր լիտրում): Լուծույթները, ըստ ջրածնի իոնների կոնցենտրացիայի, լինում են թթվային և հիմնային: Թթվային լուծույթներն ունեն ավելի բարձր H^+ կոնցենտրացիա քան ջուրը, մինչդեռ հիմնային (ավալիական) լուծույթներն ունեն ավելի ցածր H^+ կոնցենտրացիա: Որպես կանոն՝ լուծույթում ջրածնի իոնների կոնցենտրացիան արտահայտվում է pH-ով: pH-ը հաշվում են լուծույթում որպես ջրածնի իոնների կոնցենտրացիայի բացասական լոգարիթմ.

$$pH = -\lg[H^+]:$$

[H^+]-ը H^+ իոնների կոնցենտրացիան է: Մաքուր ջրի համար ստացվում է՝

$$pH = -\lg[10^{-7}] = 7,$$

որը հայտնի է որպես *չեզոք pH*: Մարդու օրգանիզմում և՛ արյունը, և՛ ցիտոսոլը բջիջների ներսում ունեն չեզոքին մոտ pH արժեքներ:

H^+ -ի կոնցենտրացիան չեզոքից շեղվում է, երբ ջրային լուծույթին թթու կամ հիմք է ավելացվում: *Թթուններն* այն էլեկտրոլիտներն են, որոնց դիսոցումից ստացվում են ջրածնի կատիոններ ու թթվային մնացորդի անիոններ, որոնց հետևանքով մեծանում է լուծույթում ջրածնի իոնների (H^+) կոնցենտրացիան:

Հիմքը, հակառակ դրան, բարձրացնում է pH-ը՝ տրամադրելով հիդրօքսիդ (OH^-):

Լուծույթի pH-ը կարող է զգալիորեն ազդել ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանի՝ T_m -ի վրա: Այս ազդեցությունը հիմնա-

կանում պայմանավորված է pH-ի դերով ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ազոտական հիմքերի և ֆոսֆատային մնացորդի պրոտոնացմամբ (H^+ իոնների ձեռքբերում) կամ դեպրոտոնացմամբ (H^+ իոնների կորուստ):

Թթվային միջավայրում ($pH < 5$) պրոտոնների կոնցենտրացիան լուծույթում բարձր է և ԴՆԹ-ի կրկնակի պարույրը դառնում է ավելի անկայուն, քանի որ պրոտոնների ավելցուկը կարող է խաթարել զույգ հիմքերի միջև ջրածնային կապերը: Արդյունքում Tm-ը զգալիորեն նվազում է:

Բարձր հիմնային միջավայրում ($pH > 9$) հիդրօքսիդ իոնների կոնցենտրացիան բարձր է, դա ևս կարող է խաթարել ԴՆԹ-ում ջրածնային կապերը՝ ԴՆԹ-ի կրկնակի պարույրը դարձնելով ավելի անկայուն: Հետևաբար Tm-ը նվազում է նաև հիմնային միջավայրերում:

ԴՆԹ-ն առավել կայուն է միջավայրի չեզոք pH-ի դեպքում (այն մնում է հաստատուն pH-ի $5 \div 9$ արժեքների դեպքում): pH-ի այս արժեքների դեպքում ջրածնային կապերը ազոտական հիմքերի միջև հնարավորինս կայուն են:

Այսպիսով, ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանը կախված է լուծույթի pH-ից և այն զգալիորեն փոքրանում է pH5-ից փոքր և pH9-ից բարձր արժեքների դեպքում:

Պետք է նշել, որ ԴՆԹ-ի մոլեկուլի ուսումնասիրությունները կատարվում են հիմնականում միջավայրի այնպիսի պայմաններում, որոնք հնարավորինս մոտ են ֆիզիոլոգիական պայմաններին: Իսկ ստանդարտ ասելով՝ պետք է հասկանալ այնպիսի պայմաններ, որոնք համապատասխանում են բջջի ներսի պայմաններին, դրանք են՝ $pH 7$, $[Na^+] = 0.195 M$ (0.9%):

1.4. ԴՆԹ-Ի ՄՈԼԵԿՈՒԼԻ ՀԻՂՐԱՏԱՑԻԱ

ԴՆԹ-ի կենսագործունեության հիմքում ընկած է նրա մոլեկուլի կառուցվածքի փոփոխությունը ներբջջային և արտաբջին ազդակների ազդեցության տակ: Համընդհանուր ճանաչում է ստացել ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կազմակերպման և վարքի «ջրային» կոնցեպցիան: Այս կոնցեպցիայի հիմքում ընկած է հսկայական փորձնական նյութ, ինչի հիման վրա կարելի է պնդել, որ մոլեկուլի հիդրատային թաղանթում հենց ջրի վիճակով է որոշվում ԴՆԹ-ի մոլեկուլի պարուրային կոնֆորմացիաների կայունությունը, ինչպես նաև ԴՆԹ – ջուր համակարգի էլեկտրական, դիէլեկտրիկ և ջերմադինամիկական հատկությունները: ԴՆԹ – ջուր համակարգը պայմանականորեն կարելի է բաժանել երկու տիպի փոխազդեցությունների.

1. փոխազդեցություններ ԴՆԹ-ի մոլեկուլների հիդրատաիոնական թաղանթում, այսինքն՝ ջրի «ազատ» և «կապված» մոլեկուլների միջև,

2. փոխազդեցություններ ԴՆԹ-ի մոլեկուլների հիդրատաիոնական թաղանթի և նուկլեոտիդային կմախքի հետ:

Կենսաբանական համակարգերի գենետիկական ապարատի էֆեկտիվ գործունեությունը հիմնականում պայմանավորված է ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կոնֆորմացիոն հնարավորությունների բազմազանությամբ և առանձնահատկություններով: Կառուցվածքային՝ կոնֆորմացիոն անցումների հնարավորությունը ԴՆԹ-ի շղթայի երկայնքով պայմանավորված է ինչպես միջավայրի պայմաններով (pH, իոնական ուժ, նուկլեոտիդային կազմ, մետաղական իոններ կամ այլ լիզանդներ), այնպես էլ հեռազդեցությամբ և ԴՆԹ-ի մոլեկուլի շուրջն առկա ջրային շերտի կամ թաղանթի՝ հիդրատացման փոփոխություններով:

Ինչպես հայտնի է, ԴՆԹ-ի մոլեկուլը, որը պոլիէլեկտրո-
լիտ է, հիդրատացված է խիստ, բայց անհավասարաչափ: Նրա
շուրջը տարբերում են ջրի մոլեկուլների երկու շերտեր՝
առաջնային և երկրորդային հիդրատային թաղանթներ և
ազատ ջուր: ԴՆԹ-ի հիդրատացման աստիճանը որոշակի
նշանակություն ունի նրա կոնֆորմացիայի համար: Մակրոմո-
լեկուլի հիդրատացիան չափը որոշում են H պարամետրով,
որը ԴՆԹ-ի համար 1 մոլ նուկլեոտիդներին բաժին ընկնող ջրի
մոլերի թիվն է: ԴՆԹ-ի երկրորդային կառուցվածքը սերտորեն
կապված է H պարամետրի հետ, որն իր հերթին անմիջակա-
նորեն կապված է լուծույթում աղի կոնցենտրացիային հակա-
դարձ համեմատական փոխվող ջրի ակտիվության հետ՝ a_w :

Առաջնային հիդրատային թաղանթն իր կառուցվածքով
տարբերվում է սովորական ջրից: Ներքին թաղանթն անթա-
փանց է կատիոնների համար և չի «սառչում», այսինքն՝ սառ-
ցանման կառուցվածքներ չի առաջացնում 0°C-ից ցածր ջեր-
մաստիճաններում: Սառույցի կարգավորված կլաստերային
կառուցվածքը, ըստ երևույթին, շատ կոշտ է և չի կարող ձևա-
վորվել նուկլեինական թթուների նման կոշտ մակերևույթների
շուրջը: Սառույցի կառուցվածքին բնորոշ աղավաղված վեց-
անկյուն օղակների փոխարեն հիդրատային թաղանթը, ըստ
երևույթին, առաջացնում է ավելի քիչ կամ շատ կարգավորված
կառուցվածքներ:

Երկրորդային հիդրատային թաղանթը չի տարբերվում սո-
վորական ջրից ո՛չ ըստ իոնների թափանցելիության, ո՛չ էլ սառ-
ցանման կառուցվածք առաջացնելու հատկությամբ: Մակայն
կառուցվածքային առումով այն, այնուամենայնիվ, տարբերվում
է ԴՆԹ-ի պոլիէլեկտրոլիտ մոլեկուլից հեռու գտնվող ջրից:

ԳԼՈՒԽ 2. ԴՆԹ-Ի ՀԱԼՄԱՆ ՓՈՐՉԱՐԱՐԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Պարույր-կծիկ անցումը կարելի է դիտարկել տարբեր մեթոդներով. օպտիկական (կլանում, օպտիկական ակտիվություն), կալորիմետրիկ, հիդրատինամիկ և այլն: Անդրադառնանք դրանցից մի քանիսին

2.1. ՈՒՆՏՐԱՄԱՆՈՒՇԱԿԱԳՈՒՅՆ ԿԼԱՆՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐԱՍԿՈՊԻԿ ՄԵԹՈԴ

Բավականին մեծ կիրառություն է գտել ուլտրամանուշակագույն (ՈւՄ) տիրույթում ԴՆԹ-ի կլանման կորի չափման մեթոդը՝ $\lambda=260$ նմ ալիքի երկարության դեպքում, որտեղ դիտվում է ԴՆԹ-ի կլանման մաքսիմումը: Համաձայն կլանող միջավայրով անցման ժամանակ զուգահեռ մոնոքրոմատիկ լույսի ինտենսիվության նվազման օրենքի՝ Լամբերտ-Բուգեր-Բեերի օրենքի նմուշի վրա ընկնող I_0 և դուրս եկող I լույսի ինտենսիվությունների միջև կապը որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$I = I_0 e^{-\epsilon cd} :$$

Այստեղ c -ն լուծույթի կոնցենտրացիան է [մոլ կամ մոլ/լ], d -ն կլանող լուծույթի շերտի հաստությունն է կամ օպտիկական ճանապարհը [սմ], ϵ -ը՝ կլանման մոլային գործակիցը [մոլ⁻¹•սմ⁻¹ կամ լ•մոլ⁻¹•սմ⁻¹]:

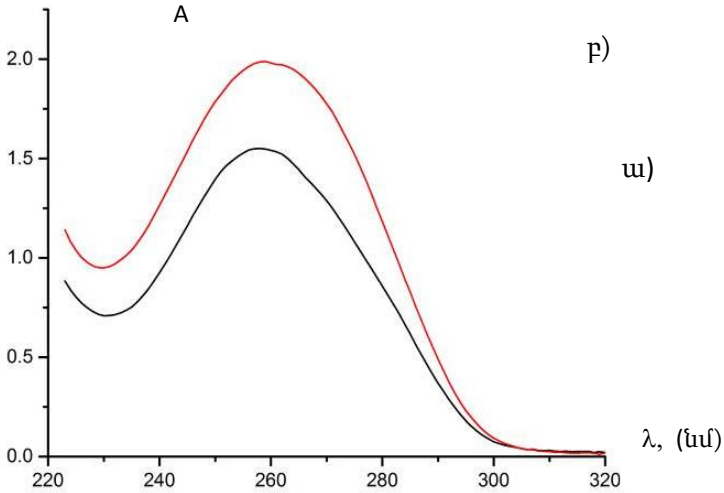
$A = \ln(I_0/I)$ մեծությունը կոչվում է օպտիկական խտություն, որը բնութագրում է կլանման չափը և որոշվում է

$A = \varepsilon cd$ բանաձևով: Այսպիսով, կլանման սպեկտրների միջոցով կարելի է որոշել նուկլեինաթթուների կոնցենտրացիան:

Պետք է նշել, որ օպտիկական խտության գծային կախվածությունը պահպանվում է նուկլեինաթթուների բավականին փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում (նոսր լուծույթներ): Նոսր համարվում են այն լուծույթները, որոնցում նուկլեինաթթուների միջև միջմոլեկուլային փոխազդեցությունները կարելի է անտեսել: Այս դեպքում այդ լուծույթների կլանումը՝ օպտիկական խտության արժեքը, չի գերազանցում երեքը:

ԴՆԹ-ի կլանման էլեկտրոնային սպեկտրը նշված ՈւՄ տիրույթում պայմանավորված է պուրինային և պիրիմիդինային հիմքերի կլանումով: Ազոտական հիմքերի կլանումը պայմանավորված է էլեկտրոնային $\pi \rightarrow \pi^*$ և $n \rightarrow \pi^*$ անցումներով: Գենսապոլիմերների կլանման սպեկտրները կախված են նրանց երկրորդային կառուցվածքից: Պարույր-կծիկ անցման ժամանակ տեղի է ունենում կլանման չափի փոփոխություն և մաքսիմումը ($\lambda = 260$ նմ) աճում է: Այս երևույթը կոչվում է հիպերքրոմ էֆեկտ և այն պայմանավորված է ազոտական հիմքերի միջև ստեկինգ փոխազդեցության վերացմամբ:

Նկար 6-ում ներկայացված են ԴՆԹ-ի կլանման սպեկտրերը պարույր և կծիկ վիճակներում: Ինչպես երևում է նկարից, ԴՆԹ-ի հալումը ուղեկցվում է կլանման սպեկտրի ինտենսիվության աճով (հիպերքրոմային էֆեկտ):



Նկ. 6. ԴՆԹ-ի կլանման կորերը.
 ա) նատիվ վիճակում, բ) դենատուրացված վիճակում

Եթե A_i -ով նշանակենք ԴՆԹ-ի լուծույթի օպտիկական խտությունը տվյալ ջերմաստիճանում, իսկ A_{\min} և A_{\max} - ով համապատասխանաբար օպտիկական խտությունները ամբողջությամբ պարույր և ամբողջությամբ կծիկ վիճակներում, ապա

$$\frac{A_i - A_{\min}}{A_{\max} - A_{\min}} = 1 - \theta, \quad (14)$$

որտեղ θ -ն պարույրականության աստիճանն է, որը ցույց է տալիս այն մոնոմերային միավորների թիվը, որոնք գտնվում են պարույր վիճակում, իսկ $1-\theta$ -ն՝ այն մոնոմերային միավորների թիվը, որոնք գտնվում են կծիկանման վիճակում:

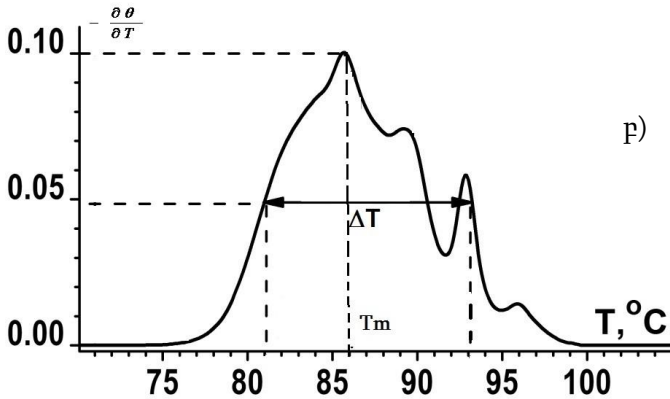
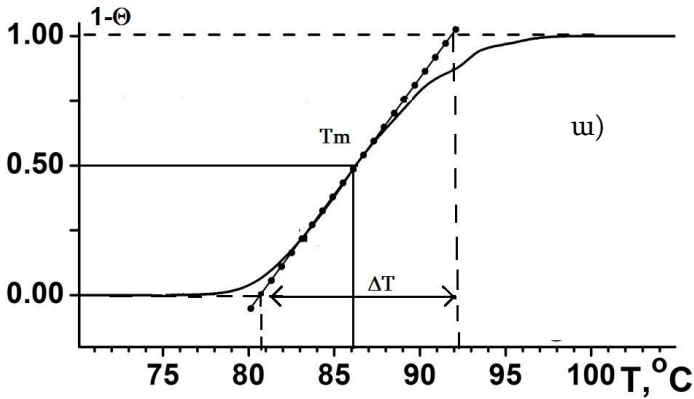
Հալման կորը բնութագրվում է 2 պարամետրով. 1) հալ-

ման ջերմաստիճանով (T_m), որի դեպքում մոնոմերային միավորների կեսը գտնվում է պարուրային վիճակում, իսկ մյուս կեսը՝ կծիկանման և 2) հալման միջակայքով (ΔT): Այդ ջերմաստիճանը համապատասխանում է հալման կորի շրջման կետի ջերմաստիճանին, ինչպես ցույց է տրված նկար 6ա-ում: Հալման միջակայքը որոշվում է այն ջերմաստիճանի տարբերությամբ, որտեղ հալման կորի շրջման կետում տարված շոշափողը հատվում է $\theta = 0$ և $\theta = 1$ ուղիղների հետ՝

$$\Delta T = \left(\frac{\partial \theta}{\partial T} \right)_{T=T_m}^{-1} :$$

Միայն AT- գույգ հիմքերից կազմված poly(dAT)₂ պոլի-նուկլեոտիդի հալման ջերմաստիճանը՝ $T_m = 66$ °C, իսկ միայն GC- գույգ հիմքերից կազմված poly(dGC)₂ պոլի-նուկլեոտիդի հալման ջերմաստիճանը՝ $T_m = 85$ °C: Բնական ԴՆԹ-ների հալման ջերմաստիճանն ընկած է նշված տիրույթում՝ 66 °C $< T_m$ < 85 °C, քանի որ դրանք պարունակում են բոլոր չորս ազոտական հիմքերը, բայց կախված կենդանի օրգանիզմի տեսակից՝ տարբերվում են AT- և GC- պարունակությամբ: Օրինակ՝ մարդու ԴՆԹ-ն բնութագրվում է 81-82 °C հալման ջերմաստիճանով, իսկ E.coli – 90.5 °C:

Անցած դարի 80-ական թվականներին հայտնաբերվել է ԴՆԹ-ի ջերմային հալման հստակ բազմաստիճանությունը, որը հալման կորի վրա դրսևորվում է որպես նուրբ կառուցվածք: Նուրբ կառուցվածքը առավել ակնհայտ երևում է հալման դիֆերենցիալ կորի վրա, այսինքն՝ $\left(-\frac{\partial \theta}{\partial T} \right)$ -ի ջերմաստիճանից կախվածության վրա (նկ. 7բ):



Նկ. 7. Հորթի նշագեղձից անջատված ԴՆԹ-ի հալման կորից (ա) և հալման դիֆերենցիալ կորից (բ) հալման ջերմաստիճանի և հալման ինտերվալի որոշման սխեմատիկ պատկերը

Հալման սովորական կորից հալման դիֆերենցիալ կորի անցնելու անհրաժեշտությունը ունի երկու պատճառ: Նախ՝ ԴՆԹ-ի կառուցվածքային կարգավորման մի շարք առանձնահատկություններ թույլ են դրսևորվում հալման սովորական կորի վրա: Երկրորդ՝ ավելի զգայուն սպեկտրաֆոտոմետրերի

ի հայտ գալը, որոնք հնարավորություն են տալիս օպտիկական խտությունը գրանցել մինչև 10^{-4} օպտիկական միավոր ճշգրտությամբ: Դա հնարավորություն տվեց բացահայտել մի շարք ֆազերի ԴՆԹ-ի նուրբ կառուցվածքը (0,3 - 0,6 °C լայնությամբ գագաթներ), որը պայմանավորված էր 500 զույգ հիմքերից բաղկացած հատվածների (դոմենների) «ամեն ինչ կամ ոչինչ» սկզբունքով՝ կոդպերատիվ հալման պատճառով: Եթե բնական ԴՆԹ-ն պարունակում է $5 \cdot 10^4$ -ից պակաս զույգ ազոտական հիմք (պլազմիդային ԴՆԹ, ֆազերի և վիրուսների ԴՆԹ), ապա այն հնարավոր է անջատել և պահպանել առանց վնասման: Այս դեպքում բոլոր մոլեկուլներն ունեն նույն հաջորդականությունը և նրանք հալվում են նույն ձևով. տվյալ ջերմաստիճանում բոլոր մոլեկուլներում հալված են համարյա նույն տեղամասերը:

Դիֆերենցիալ հալման կորը կարելի է ստանալ նորմավորված ՈւՄ-հալման կորերի թվային դիֆերենցմամբ:

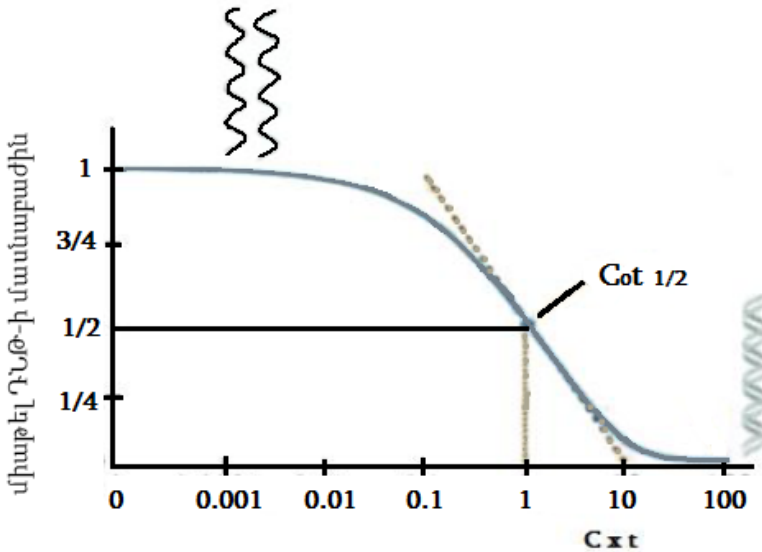
Հալման ընթացքում հիպերքրոմային էֆեկտը քանակապես գնահատվում է հետևյալ բանաձևով.

$$\Delta H = \frac{A_{\max} - A_{\min}}{A_{\min}} 100\% : (15)$$

ԴՆԹ-ի համար $\Delta H=30\% \sim 40\%$:

ԴՆԹ-ի մոլեկուլի հալումը մասնակի շրջելի պրոցես է: Երբ ԴՆԹ-ի տաքացված լուծույթները դանդաղորեն սառչում են, ապա հավանականությունն այն բանի, որ կոմպլեմենտար զույգերը կհանդիպեն և կառաջանան ջրածնային կապեր, բավականին մեծ է: Կծիկի որոշ տեղամասերում վերականգնվում է պարուրային կոնֆորմացիան: Այս գործընթացը կոչվում է ռենատուրացիա, այսպիսով ռենատուրացիան ԴՆԹ-ի կրկնա-

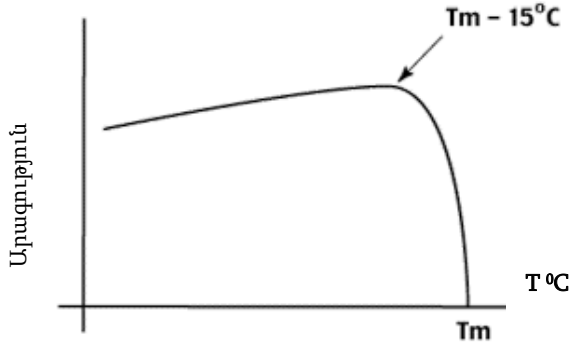
կի շղթայի ձևավորման գործընթացն է դենատուրացված կոմպլեմենտար միաշղթաներից, որոնք ճկուն շղթաներ են: Այն ներառում է ազոտական հիմքերի միջև ջրածնային կապերի վերականգնում կամ ձևավորում: Պետք է նշել, որ ԴՆԹ-ի հալումը կամ բաժանումը երկու առանձին կոմպլեմենտար շղթաների մոնոմոլեկուլային ռեակցիա է և, հետևաբար, երկշղթա ԴՆԹ-ի մոլեկուլների հալման արագությունը կախված չէ ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիայից: Իսկ երկու առանձին շղթաների միավորումը՝ ռենատուրացիան, երկմոլեկուլային ռեակցիա է: Երկու կոմպլեմենտար միաթելերը պետք է հանդիպեն միմյանց, այնուհետև երկու թելերի միջև ձևավորվեն կոմպլեմենտար հիմքերի զույգեր: Եթե ԴՆԹ-ի մոլեկուլը շատ երկար է, ապա վերականգնումը կարող է լիարժեք չլինել: Այս պրոցեսը կախված է ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիայից, ինչպես նաև պրոցեսի տևողությունից: Որքան բարձր է ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիան, այնքան ավելի արագ է տեղի ունենում ռենատուրացիան: Պրոցեսը նկարագրող մեծությունը որոշվում է որպես կոնցենտրացիայի և արագության արտադրյալ՝ $C_0 \times t$: Նկար 8-ում ներկայացված է ԴՆԹ-ի միաթել շղթաների հիբրիդացման կորը:



Նկ. 8. ԴՆԹ-ի հիբրիդացման կոր

Cot (ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիա x ժամանակ) մեծությունը գտնվում է X առանցքի վրա, իսկ միաթել ԴՆԹ-ի մասը՝ Y առանցքի վրա: Կորի սկիզբը, որը գտնվում է Y առանցքի ձախանկյունում, համապատասխանում է հիբրիդացման պրոցեսի սկզբին: X առանցքի վրա 1 կամ 100% արժեքները համապատասխանում են ԴՆԹ-ի լրիվ միաթել վիճակում գտնվելու պայմանին: Ժամանակի ընթացքում ԴՆԹ-ի միաթելերը միավորվում են՝ առաջացնելով երկթել կառուցվածք, և միաթել վիճակում գտնվող ԴՆԹ-ի մասնաբաժինը փոքրանում է: Երբ ամբողջ ԴՆԹ-ն հիբրիդացվում է (ռենատուրացվում է), միաթել ԴՆԹ-ի մասնաբաժինը կամ տոկոսը հավասարվում է 0-ի: Այն կետը որում ռենատուրացված է ԴՆԹ-ի մոլեկուլների կեսը նշանակվում է $Cot_{1/2}$.

Նկար 8-ում ներկայացված կորը ցույց է տալիս, թե ինչպես է հիբրիդացման արագությունը կախված ջերմաստիճանից:



Նկ. 9. Հիբրիդացման արագության կախվածությունը ջերմաստիճանից

ԴՆԹ-ի հալումը և ռենատուրացիան ընկած են ԴՆԹ հիբրիդացման հիմքում: Հիբրիդացումը մեթոդ է, որն օգտագործվում է ԴՆԹ-ի երկու նմուշների փոխադարձ համապատասխանությունը որոշելու և ԴՆԹ-ի տարբեր մոլեկուլներ պարունակող լուծույթում ԴՆԹ-ի անհրաժեշտ մոլեկուլների հայտնաբերման և մեկուսացման համար:

Շատ դեպքերում անհրաժեշտ է լինում առավելագույնին հասցնել հիբրիդացման արագությունը, ինչի համար սովորաբար հիբրիդացումը արվում է 15 °C ջերմաստիճանից ցածր ջերմաստիճաններում: Հիբրիդիզացումն արվում է նաև աղի բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում, որպեսզի նվազագույնի հասցվի շաքարա-ֆոսֆատային կմախքների միջև վանողությունը:

3.2. ԴՆԹ-Ի ՋԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆԱՅԻՆ ՀԱԼՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐԱՅԻՆ ԿՈՐԵՐԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՍՏԱՑՈՒՄԸ

ԴՆԹ-ի ջերմային հալումը, ուսումնասիրվելու է Lambda-800 սպեկտրաֆոտոմետրի օգնությամբ: Ջերմաստիճանը կարգավորվում է PTP-6 Peltie Systems ջերմաստիճանային բլոկի օգնությամբ: Չափումները կատարվելու են 25°C-95°C ջերմաստիճանային տիրույթում, հերմետիկ փակվող քվարցե սրվակի մեջ, որի հաստությունը 1սմ է, իսկ ծավալը՝ 1.2 մլ: Ջերմաստիճանը բարձրացվելու է 0.3-0.5 °C /րոպե հաստատուն արագությամբ:

ԴՆԹ-ի լուծույթի պատրաստումը

Աշխատանքում օգտագործվելու է հորթի նշագեղձից անջատված գերմաքուր ԴՆԹ: Չափումները կատարվելու են 0,1 BPSE բուֆերային լուծույթում (1 BPSE = 6 mM Na₂HPO₄ + 2 mM NaPO₄ + 185 mM NaCl+1mM EDTA), pH = 7.2: Անհրաժեշտության դեպքում լուծույթի pH-ը կարգավորվելու է հետագոտվող լուծույթին թթվի՝ HCl կամ NaOH միկրոքանակների ավելացմամբ:

ԴՆԹ-ի հալման ուսումնասիրումը կլանման սպեկտրակալիայի մեթոդով.

1. Լցնել 1մլ ԴՆԹ-ի լուծույթ սրվակի մեջ և գրանցել օպտիկական խտության արժեքը 260 նմ ալիքի երկարության տակ՝ գծելով լուծույթի կլանման սպեկտրը 220-320նմ տիրույթում 25°C-ում:

2. Ստանալ ԴՆԹ-ի հալման կորը: Ստացված ԴՆԹ-ի հալման կորը բնութագրվում է սիգմոիդալ տեսքով, որի սկզբնա-

կան հատվածը (ցածր ջերմաստիճանային տիրույթ) համապատասխանում է պարույր վիճակին, իսկ բարձր ջերմաստիճանային տիրույթը, երբ օպտիկական խտությունը այլևս չի փոփոխվում՝ կծիկ վիճակին:

3. Ստացված սիգնոդիոլ հալման կորի օգնությամբ որոշել ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանի արժեքը՝ T_m -ը, հալման ինտերվալը՝ ΔT -ն և հիպերքրոմ էֆեկտը՝ ΔH :

4. Հալման պրոցեսի ավարտից հետո կրկին գրանցել լուծույթի կլանման սպեկտրը 220-320 նմ տիրույթում 95 °C-ում: Այնուհետև համեմատել 260 նմ ալիքի երկարության դեպքում օպտիկական խտության արժեքները 25 °C և 95 °C ջերմաստիճաններում և հաշվել ΔH հիպերքրոմ էֆեկտն ըստ (15) բանաձևի:

5. Հաշվել A_{260}/A_{280} և A_{260}/A_{230} արժեքները, որոնք թույլ են տալիս գնահատել ԴՆԹ-ի մաքրությունը՝ ելնելով այն բանից, որ $A_{260}/A_{280} = 1.8 \div 1.9$, իսկ $A_{260}/A_{230} = 2.2 \div 2.4$ արժեքների դեպքում համապատասխանաբար սպիտակուցների և ՌՆԹ-ի պարունակությունը < 1%-ից:

3.3. ԴԻՖԵՐԵՆՑԻԱԼ ՄԿԱՆԱՎՈՐՈՂ ԿԱԼՈՐԻՄԵՏՐԻԿ ՄԵԹՈԴ

Դիֆերենցիալ սկանավորման կալորիմետրիան (Differential Scanning Calorimetry) մակրոմոլեկուլների ջերմադինամիկական հատկությունների որոշման հզոր փորձարարական մեթոդ է: Այն համարվում է ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցումը ուսումնասիրելու լավագույն մեթոդներից մեկը: ԴՆԹ-ի կրկնակի կոմպլեմենտար շղթաների հայտնաբերումից և այն փաստից հետո, որ դրանց տարանջատումը առանցքային գործընթաց է գենետիկական տեղեկատվության բազմապատկման համար, անմիջապես մեծացավ հետաքրքրությունը այս մոլեկուլային կառուցվածքի էներգետիկ կողմի նկատմամբ: Սակայն, արդեն իսկ, առաջին փորձերը ցույց տվեցին, որ երկար և անհամասեռ հաջորդականությամբ բնական ԴՆԹ-ի «բացման-ռեֆոլդինգի» ջերմադինամիկական ուսումնասիրությունը հեռու է պարզ լինելուց, քանի որ շղթաների անջատման պրոցեսը պարզ չէ: Քանի որ անջատված թելերն այլևս լիովին չեն կարող գտնել իրենց ճիշտ տեղավորումը, ապա այդ պրոցեսը նաև անշրջելի է: Ուստի ամբողջ ուշադրությունը կենտրոնացած էր սինթետիկ հոմոպոլինուկլեոտիդների վրա, որոնց շղթաների անջատման և միացման պրոցեսները բավականին պարզ են և շրջելի: Երկար հոմոպոլինուկլեոտիդները կարող են հեշտությամբ սինթեզվել, բայց, ցավոք, դրանք նույնական չեն լինում երկարությամբ և, համապատասխանաբար, ստացված դուպլեքսները 100% պարուրածն չեն: Որոշակի հաջորդականությամբ հետերո-պոլինուկլեոտիդների սինթեզը շատ ավելի թանկ է, հետևաբար դրանք չեն կարող չափազանց եր-

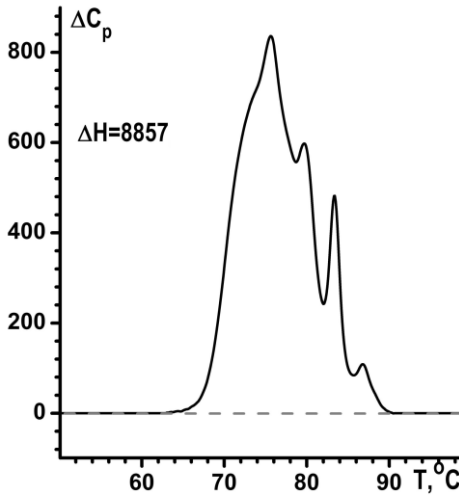
կար լինել: Բացի այդ, թեև դրանք կարող են լինել ճշգրիտ կոմպլեմենտար և նրանց միավորումն ու անջատումը շրջելի պրոցեսներ են, կարճ դուպլեքսների համար եզրային պայմանները (ծայրերի ներդրումն) այլևս աննշան չեն: Այս երկու դեպքերի վերաբերյալ մյուս խնդիրն այն էր, որ տարանջատված շղթաները սովորաբար ամբողջությամբ չեն բացվում, այլ ունենում են որոշակի մնացորդային կառուցվածք, որը պետք է հաշվի առնել երկու լրիվ բացված կոմպլեմենտար թելերից կրկնակի պարույրի ձևավորման ջերմադինամիկան ուսումնասիրելիս:

Գոյություն ունեն տարբեր սկանավորող կալորիմետրեր՝ կախված կիրառություններից և փորձարկվող նմուշներից, բայց դրանք բոլորն ունեն երեք հիմնական բնութագրիչ: Առաջին՝ կալորիմետրերը պետք է կարողանան չափել ջերմաստիճանի փոփոխությունները, պահպանել տաքացման կամ հովացման հաստատուն արագությունը և ճշգրիտ կատարել ջերմաստիճանի չափումները: Երկրորդ՝ գործիքները պետք է ճշգրիտ չափեն նմուշի և համեմատման բջիջների միջև ջերմային հոսքերի տարբերությունը, ինչը կհանգեցնի բազային գծի կայունությանն ու աղմուկի նվազեցմանը: Երրորդ՝ բջիջների պարունակությունը սովորաբար չափվում է ծավալով (հին կալորիմետրներում օգտագործվում էր զանգվածը), ինչը էական նշանակություն ունի վերարտադրելի և ճշգրիտ արժեքներ ստանալու համար:

Դիֆերենցիալ սկանավորող կալորիմետրը (ԴՄԿ) չափում է հետազոտվող կենսաբանական համակարգի մասնակի մոլային ջերմունակության փոփոխությունը հաստատուն ճնշման դեպքում (ΔCp)՝ կախված ջերմաստիճանից:

ԴՆԹ-ի համար ստացված դիֆերենցիալ սկանավորող կա-

լորիմետրիկ կորի օրինակը ներկայացված է նկ. 10-ում:



Նկ. 10. Հորթի նշագեղձից անջատված ԴՆԹ-ի դիֆերենցիալ սկանավորող կալորիմետրիկ կոր: Կորով սահմանափակված մակերեսը հավասար է պարույր-կծիկ անցման էնթալպիային՝ $\Delta H=8857$ կալ/մոլ:

ΔC_p -ի ինտեգրումը ջերմաստիճանների տրված տիրույթում համակարգի էնթալպիան է՝

$$\Delta H_{cal} = \int_{T_1}^{T_2} \Delta C_p dT: \quad (16)$$

Էնտրոպիան որոշվում է $\Delta C_p/T$ -ով՝ կախված T -ից կորի տակ գտնվող մակերեսից՝

$$\Delta S_{cal} = \int_{T_1}^{T_2} \frac{\Delta C_p}{T} dT: \quad (17)$$

Համակարգի Գիբսի ազատ էներգիան (Գիբսի ջերմադինամիկական պոտենցիալ) տվյալ ջերմաստիճանում կարող է որոշվել հետևյալ բանաձևով՝

$$\Delta G_T = \Delta H_{cal} - T \Delta S_{cal} : \quad (18)$$

Այժմ քննարկենք տարբեր ջերմադինամիկական պարամետրերի, փոփոխությունը $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{D}$ -ի մոլեկուլի հալման կամ հիֆրիդացման պրոցեսների օրինակով:

ա. Էնթալպիայի փոփոխություն

Նախ հիշենք, թե ինչ է նշանակում ջերմադինամիկական պարամետրեր կամ պոտենցիալներ: Ջերմադինամիկական պոտենցիալներ են անվանվում վիճակի ֆունկցիաները: Գոյություն ունեն բազմաթիվ ջերմադինամիկական պոտենցիալներ, քանի որ, եթե հայտնի է նրանցից մեկը, ապա նրա կամայական ֆունկցիան ևս վիճակի ֆունկցիա է:

Մոլեկուլային ֆիզիկայի դասընթացից արդեն ծանոթացել ենք մի շարք ջերմադինամիկական պոտենցիալների հետ, որոնք նկարագրում են համակարգի վիճակը: Դրանք են ճնշումը (P), ծավալը (V), ջերմաստիճանը (T), ներքին էներգիան (U), էնթալպիան (H), էնտրոպիան (S) և այլն:

Այսպիսով, էնթալպիան վիճակի ֆունկցիա է, որի աճը քվազիհավասարակշիռ իզոբար պրոցեսներում հավասար է համակարգի կողմից ստացված էներգիային:

$\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{D}$ -ի հալման համատեքստում կոմպլեմենտար ազոտական հիմքերի (ադենին-տիմին կամ գուանին-ցիտոզին) միջև ջրածնային կապերի խզումը պահանջում է էներգիա, ինչը հանգեցնում է էնթալպիայի դրական աճին այս պրոցեսի ընթացքում: Ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգահեռ $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{D}$ -ի լուծույթին փոխանցված ջերմային էներգիան նպաստում է այդ ջրածնային կապերի խզմանը: Հետևաբար դրական ΔH -ն արտացոլում է $\mathcal{F}\mathcal{L}\mathcal{D}$ -ի հալման պրոցեսի էնտրոթերմիկ բնույթը:

բ. Էնտրոպիայի փոփոխություն

Հաշվումները ցույց են տալիս, որ հավասարակշիռ պրոցեսների համար չնայած δQ -ն վիճակի ֆունկցիա չէ, սակայն $\delta Q/T$ հարաբերությունը լրիվ դիֆերենցիալ է, այսինքն՝ վիճակի ֆունկցիա է: Այն վիճակի ֆունկցիան, որի դիֆերենցիալը մեծությունն է կոչվում է էնտրոպիա և նշանակվում է S տառով: Հետևաբար

$$dS = \delta Q/T$$

$$\Delta S = S_2 - S_1,$$

որտեղ S_1 -ը և S_2 -ը համակարգի էնտրոպիայի արժեքներն են, համապատասխանաբար, վերջնական և սկզբնական վիճակներում:

Մյուս կողմից համակարգի էնտրոպիայի ֆիզիկական իմաստը կարելի է մեկնաբանել մոլեկուլային կինետիկ տեսության միջոցով: Ընդհանուր առմամբ էնտրոպիան որոշվում է համակարգ կազմող մասնիկների անկարգավորության աստիճանով: Բոլցմանի կողմից ցույց է տրված, որ էնտրոպիան կապված է ջերմադինամիկական հավանականության (W) հետ հետևյալ բանաձևով՝

$$S = k \ln W, \quad (19)$$

որտեղ k -ն Բոլցմանի հաստատունն է, W -ն՝ համակարգի տվյալ մակրովիճակն իրականացնող միկրովիճակների թիվը, որը կոչվում է ջերմադինամիկական հավանականություն:

ԴՆԹ-ի մոլեկուլի հալման պրոցեսում, երբ շղթաները բաժանվում են, մոլեկուլը կրկնակի պարուրային կարգավորված կառուցվածքից անցնում է երկու առանձին շղթաների՝ ան-

կարգավորված կառուցվածքի: Այս «անկարգավորվածության» մեծացումը հանգեցնում է էնտրոպիայի աճին՝ $\Delta S > 0$:

գ. Գիբսի ազատ էներգիայի փոփոխություն

Պրոցեսների ընթացքում համակարգի Գիբսի ազատ էներգիայի փոփոխությունը պայմանավորված է համակարգի էնթալպիայի և էնտրոպիայի փոփոխություններով: ԴՆԹ-ի հալման պրոցեսում դրական ΔH -ն դրական ներդրում է կատարում ΔG -ում, ինչը ցույց է տալիս, որ գործընթացը «բարենպաստ» չէ: Իսկ ΔS դրական անդամը բացասական ներդրում է ունենում ΔG -ի արժեքի մեջ՝ դարձնելով Գիբսի ազատ էներգիայի փոփոխությունը ջերմաստիճանից կախված:

Ջերմաստիճանի աճին զուգահեռ $T\Delta S$ անդամի բացասական ներդրումը ΔG -ի արժեքի մեջ ավելի էական է դառնում, հատկապես, որ այն համեմատական է ջերմաստիճանին: Հալման ջերմաստիճանում (T_m) Գիբսի ազատ էներգիայի փոփոխությունը դառնում է զրո ($\Delta G = 0$), ինչը ցույց է տալիս ԴՆԹ-ի կրկնակի պարուրային և միաթել ձևերի միջև հավասարակշռությունը: Հալման ջերմաստիճանից ավելի բարձր ջերմաստիճաններում ΔH դրական անդամը սկսում է գերակշռել, և ԴՆԹ-ի հալման գործընթացը դառնում է «բարենպաստ»:

Ամփոփելով վերը ասվածը՝ կարող ենք նշել, որ ԴՆԹ-ի հալման ջերմադինամիկական նուրբ հավասարակշռություն է էնթալպիայի և էնտրոպիայի փոփոխությունների միջև: Դրական ΔH -ն արտացոլում է ջրածնային կապերը խզելու համար անհրաժեշտ էներգիան, իսկ դրական ΔS -ն արտացոլում է ԴՆԹ-ի շղթաների բաժանումով պայմանավորված համակարգում անկարգավորվածության աճը:

2.4. ԴՆԹ-Ի ԿԱԼՈՐԻՄԵՏՐԻԿ ԿՈՐԵՐԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՍՏԱՑՈՒՄԸ

ԴՆԹ-ի ջերմային հալումը ուսումնասիրվում է դիֆերենցիալ սկանավորող միկրոկալորիմետրի օգնությամբ: Չափումները կատարվում են 25°C-110°C ջերմաստիճանային տիրույթում: Ջերմաստիճանը փոփոխվում է 1 °C /րոպե հաստատուն արագությամբ:

Կալորիմետրիկ եղանակով որոշված ջերմադինամիկական պարամետրերը մակրոմոլեկուլի համար ջերմա-ֆիզիկական հատկությունների կարևորագույն բնութագրիչներից են: Այս պարամետրերը ստանալու համար կարևոր է ուշադրություն դարձնել հետևյալ հանգամանքներին.

ա) Ընտրել համապատասխան բուֆերային լուծիչ (pH, իոնական ուժ), որում ուսումնասիրվող ԴՆԹ-ները (սպիտակուցներ, նուկլեինաթթուներ և այլն) չեն միավորվում ուսումնասիրված ջերմաստիճանի ողջ տիրույթում, և լուծույթի pH-ը շատ չի փոխվում տաքացման ժամանակ:

բ) Պատրաստել ուսումնասիրվող նյութերի լուծույթը ընտրված լուծիչում անհրաժեշտ կոնցենտրացիայով և հավասարակշռել լուծիչի դեմ դիալիզի միջոցով: Կոնցենտրացիայի որոշման սխալը չպետք է գերազանցի 3%-ը:

գ) Բոլոր փորձերը պետք է իրականացնել 2 մթնոլորտից ոչ պակաս ճնշման տակ, որպեսզի տաքացման ընթացքում պղպջակների առաջացումը կանխվի:

Փորձի ընթացքը.

1. Լուծիչը լցնել երկու բջիջների մեջ և մի քանի անգամ սկանավորել, մինչև ելակետային գիծը (базовая линия) կայունանա:
2. Կալորիմետրի բջիջներից մեկում լուծիչը փոխարինել ուսումնասիրվող լուծույթով: Պետք է նկատի ունենալ, որ դա արվում է **առանց սկանավորումը դադարեցնելու** հենց այն պահին, երբ բջիջներում ջերմաստիճանը մոտ է սենյակային ջերմաստիճանին: Լուծիչը ուսումնասիրվող լուծույթով փոխարինելիս բջիջը պետք է ոչ թե չորացնել, այլ պարզապես լվանալ ուսումնասիրվող լուծույթով: Բջիջները չորացնելը, կամ դրանք որևէ ագրեսիվ հեղուկով լվանալը, կփոխեն դրանց մակերեսի հատկությունները, և կայուն բազային զծի վերահաստատումը կպահանջի գործիքի բազմաթիվ հետագա սկանավորումներ՝ լուծիչով լցված բջիջներով:
3. Ստացված կալորիմետրիկ հալման կորի օգնությամբ որոշել T_m -ը, հալման ինտերվալը՝ ΔT -ն, հալման էնտալպիա (ΔH) և էնտրոպիան (ΔS) համապատասխանաբար (16) և (17) բանաձևերով:

Գրականության ցանկ

1. Jay A. Glasel, Murray P. Deutscher and Murray P. Deutscher “Introduction to Biophysical Methods for Protein and Nucleic Acid Research” Copyright © 1995 Elsevier Inc.
2. Максим Франк-Каменецкий “Самая главная молекула: от структуры ДНК к биомедицине XXI века” М.: Альпина нонфикшн, 2017
3. А.А. Веденов, А.М. Дыхне, М.Д. Франк-Каменецкий “Переход спираль - клубок в ДНК” Успехи Физических Наук, Том 105, вып. 3, 1971
4. Л.Д. Ландау, “Статистическая физика” м. Наука, 1982 С.100.
5. Peter L. Privalov “Microcalorimetry of Macromolecules” copyright © 2012 by John Wiley & Sons, inc.
6. M.L.M. Anderson “Nucleic Acid Hybridization” 1998 by Garland Science.
7. Ландсберг Г. С. “Оптика” Физматлит, 2021.
8. Marky LA, Breslauer KJ. “Calculating thermodynamic data for transitions of any molecularity from equilibrium melting curves.” Biopolymers. 1987 Sep;26(9):1601-20. doi: 10.1002/bip.360-260911.
9. Dragan, A., Privalov, P. & Crane-Robinson, C. Thermodynamics of DNA: heat capacity changes on duplex unfolding. Eur Biophys J 48, 773–779 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00249-019-01403-1>
10. Paulius Vaitiekunas, Colyn Crane-Robinson, Peter L. Privalov, The energetic basis of the DNA double helix: a combined microcalorimetric approach, *Nucleic Acids Research*, Volume 43, Issue 17, 30 September 2015, Pages 8577–8589, <https://doi.org/10.1093/nar/gkv812>
11. Е. Шредингер, "Что такое жизнь?" АСТ, 2023 г.

РЕЗЮМЕ

ПЕРЕХОД СПИРАЛЬ-КЛУБОК В МОЛЕКУЛЕ ДНК

Алоян Лусине Рафиковна

Данное учебное пособие предназначено для студентов старших курсов бакалавриата и магистратуры Института физики Ереванского государственного университета. Оно посвящено вопросам, связанным с переходом спираль-клубок в молекуле ДНК, а также описанию методов экспериментального исследования этого явления. Пособие также может быть полезно студентам, обучающимся по направлениям биологии и химии.

SUMMARY

Helix-coil Transition in the DNA Molecule

Lusine Rafik Aloyan

This educational manual is intended for senior baccalaureate and master's degree students enrolled in the Institute of Physics at Yerevan State University. Focused on the intricacies of the DNA structure and helix-coil transition, it comprehensively explores theoretical concepts and experimental methodologies. While primarily designed for students in the field of physics, this manual can also be useful to students, who study biology and chemistry.

Բովանդակություն

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ.....	3
ԳԼՈՒԽ 1. ԴՆԹ-Ի ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔՆ ՈՒ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ	6
1.1. ԴՆԹ-Ի ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ:	
ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՅՈՒՄԸ	6
1.2. ԴՆԹ-Ի ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՅՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՆԿԱՐԱԳՐՈՒԹՅՈՒՆԸ (ԻԶԻՆԳԻ ՄՈԴԵԼ).....	14
1.3.1. ԼՈՒԾՈՒՅԹԻ ԻՈՆԱԿԱՆ ՈՒԺ:	
ԴՐԱ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱԼՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՎՐԱ	20
1.3.2. ԼՈՒԾՈՒՅԹԻ PH: ԴՐԱ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱԼՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՎՐԱ.....	22
1.4. ԴՆԹ-Ի ՄՈԼԵԿՈՒԼԻ ՀԻԴՐՍՏԱՑԻԱ.....	25
ԳԼՈՒԽ 2. ԴՆԹ-Ի ՀԱԼՄԱՆ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՄԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ.....	27
2.1. ՈՒԼՏՐԱՄԱՆՈՒՇԱԿԱԳՈՒՅՆ ԿԼԱՆՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐԱՄԿՈՊԻԿ ՄԵԹՈԴ.....	27
3.2. ԴՆԹ-Ի ԶԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆԱՅԻՆ ՀԱԼՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐԱՅԻՆ ԿՈՐԵՐԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՍՏԱՅՈՒՄԸ.....	36
3.3. ԴԻՖԵՐԵՆՑԻԱԼ ՄԿԱՆԱՎՈՐՈՂ ԿԱԼՈՐԻՄԵՏՐԻԿ ՄԵԹՈԴ.....	38
2.4. ԴՆԹ-Ի ԿԱԼՈՐԻՄԵՏՐԻԿ ԿՈՐԵՐԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱՆԱԿԱՆ ՍՏԱՅՈՒՄԸ.....	44
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ.....	46
PEՅՈՒՄԵ	47
SUMMARY	48

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԼՈՒՄԻՆԵ ՌԱՖԻԿԻ ԱԼՈՅԱՆ

**ՊԱՐՈՒՅՐ-ԿԾԻԿ ԱՆՑՈՒՄԸ
ԴԵԹ-Ի ՄՈԼԵԿՈՒԼՈՒՄ**

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ

Հրատ. պատ. խմբագիր՝ Լ. Հովհաննիսյան
Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. սրբագրումը՝ Ա. Գույումջյանի

Հեղինակը հաստատում է, որ ծանոթ է «ԵՊՀ գրահրատարակչական քաղաքականությանը», և գրքում առկա փաստերը, դիրքորոշումները, կարծիքները շարադրված են հեղինակային իրավունքի և էթիկայի միջազգայնորեն ընդունված սկզբունքների պահպանմամբ:

Ստորագրված է տպագրության՝ 15.04.2024:

Չափսը՝ 60x84 ¹/₁₆: Տպ. մամուլը՝ 3.125:

Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1
www.publishing.y su.am

