

О ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ДВУХЦЕПОЧЕЧНЫХ МОЛЕКУЛ ДНК В ХОЛЕСТЕРИЧЕСКОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ФАЗЕ И ЧАСТИЦАХ ДИСПЕРСИИ ЭТОЙ ФАЗЫ

© 2015 г. Ю.М. Евдокимов, С.Г. Скуридин, В.И. Салянов, В.В. Волков*,
Л.А. Дадинова*, О.Н. Компанец**, Е.И. Кац***

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32;

**Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, 119333, Москва, Ленинский просп., 59;*

***Институт спектроскопии РАН, 142190, Троицк, Москва, ул. Физическая, 5;*

****Институт теоретической физики им. Л.Д. Ландау РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 2*

E-mail: yevdokim@eimb.ru

Поступила в редакцию 15.07.15 г.

Предпринята попытка обобщить хорошо известные литературные данные о структуре холестерической фазы, образуемой молекулами двухцепочечных ДНК, а также экспериментальные результаты авторов, характеризующие упаковку этих молекул в частицах холестерической жидкокристаллической дисперсии. Сопоставление всех данных позволяет высказать предположение о высокой вероятности существования как «ближнего» позиционного, так и «дальнего» ориентационного порядка в расположении двухцепочечных молекул ДНК как жидкокристаллической фазы, так и частицах дисперсий этой фазы, сформированных при определенных условиях. Возникновение ориентационного порядка, т.е. поворот «квазинематических» слоев из двухцепочечных молекул ДНК на небольшой угол, определяет формирование пространственно закрученной (холестерической) структуры с характерными для нее физико-химическими свойствами.

Ключевые слова: модельные спиральные структуры и их сечение, срезы хромосом динофлагеллят, сколы (срезы) холестерической жидкокристаллической фазы ДНК, частицы дисперсии холестерической жидкокристаллической фазы ДНК.

Известно, что молекулы низкомолекулярных соединений могут при определенных условиях образовывать целый ряд классических жидкокристаллических структур (фаз) [1–4]. Вопрос о конкретных способах упорядочения этих молекул в разных фазах изучен в большом числе теоретических и экспериментальных работ [5–7].

Ситуация становится не такой определенной в случае молекул полимеров [8–10], для которых уже предсказывается появление неклассической, так называемой «решетчатой» структуры [11,12].

Ситуация становится еще более неопределенной в случае молекул биополимеров, в частности, в случае двухцепочечных молекул нуклеиновых кислот [13–15].

Это обусловлено целым рядом факторов и, в частности, очень высокой молекулярной массой (~ $1 \cdot 10^6$ Да), а следовательно, весьма низкой скоростью диффузии этих молекул и специфическими особенностями их вторичной структуры, определяющими не только стремление соседних молекул к латеральному взаимодействию, но и поворот при их сближении. Известно при этом, что при увеличении концентрации молекул двухцепочечных нуклеиновых кислот в водно-солевом растворе эти молекулы спонтанно переходят из изотропного в компактное (конденсированное) состояние [16]. Этому состоянию соответствует, как правило, гексагональная упаковка [17–19], обеспечивающая высокую плотность упаковки соседних молекул («ближний» порядок в расположении центров масс молекул, детектируемый при помощи метода малоуглового рассеяния рентгеновских лучей).

Гексагональная упаковка может быть представлена в виде структуры, показанной на

Сокращения: ХЖКД – холестерическая жидкокристаллическая дисперсия, ПЭГ – полиэтиленгликоль.

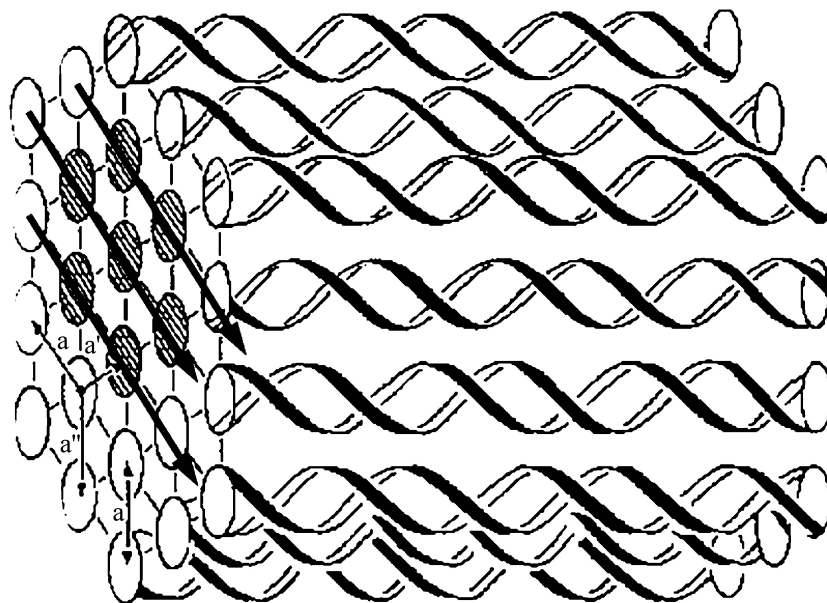


Рис. 1. Схематическое изображение пространственной организации двухцепочечных молекул ДНК в гексагональной фазе. Молекулы двухцепочечной ДНК располагаются параллельно друг другу, образуя в перпендикулярной им плоскости гексагональную решетку (см. заштрихованные торцы молекул ДНК). При таком способе упаковки в составе фазы можно выделить «слои» из соседних молекул ДНК (толстые стрелки). Толщина слоя (d) равна $a\sqrt{3}/2$ (где a – расстояние между осями соседних молекул ДНК).

рис. 1. Нетрудно заметить, что при гексагональной упаковке молекулы ДНК упорядочены в одном направлении. Показанная структура не является кристаллической, т.е. не имеет дальнего позиционного порядка. Даже имея в виду такую плотную упаковку, авторы ряда работ [9,14,19,20] допускают возможность существования слоев (выделены стрелками на рис. 1). Молекулы двухцепочечных нуклеиновых кислот лежат в плоскости этих слоев, толщина которых приблизительно равна расстоянию между молекулами. В условиях, при которых между молекулами ДНК сохраняется прослойка из молекул воды, молекулы ДНК способны диффундировать относительно друг друга. Кроме того, каждая молекула ДНК может свободно вращаться вокруг своей длинной оси, вследствие чего соседние «слои» из молекул двухцепочечных нуклеиновых кислот могут поворачиваться на небольшой угол относительно друг друга без нарушения общего характера пространственной упаковки. Угол между стоями не детектируется при помощи метода малоуглового рентгеновского рассеяния. Нужно, конечно, иметь в виду, что наличие у молекул двухцепочечных нуклеиновых кислот нескольких уровней хиральности (спиральная структура молекул ДНК, спиральное расположение противоионов вблизи этих молекул, асимметрия С-атомов сахарных остатков) предопределяет стремление молекул двухцепочечных нуклеиновых

кислот к образованию пространственно закрученной (холестерической) фазы [16]. Вопрос о том, каким образом молекулы двухцепочечных нуклеиновых кислот расположены в этой фазе, является предметом дискуссий [13,19,21,22].

Дело в том, что если в случае низкомолекулярных соединений ответ на вопрос об организации молекул в холестерической фазе достаточно хорошо обоснован [1–4], то в случае молекул двухцепочечных нуклеиновых кислот однозначный ответ на такой вопрос является дискуссионным.

Цель настоящей работы состоит в том, чтобы, во-первых, обобщить известные литературные данные о структуре холестерической фазы, образуемой молекулами двухцепочечных нуклеиновых кислот, и, во-вторых, добавить к ним собственные экспериментальные результаты об упаковке этих молекул в частицах холестерической жидкокристаллической дисперсии (ХЖКД). Собранные нами данные свидетельствуют в пользу возможности существования «квазинематических» слоев из ориентационно упорядоченных соседних молекул ДНК в структуре как жидкокристаллических фаз, так и частиц дисперсий этой фазы, причем поворот ориентации молекул в этих слоях на небольшой угол обеспечивает формирование пространственно закрученной (холестерической) структуры с характерными для этой структуры физико-химическими свойствами.



Рис. 2. Вид модельной, слоевой, спирально закрученной структуры из склеенных между собой деревянных палочек. Слой образуют 10 палочек. Каждый последующий слой повернут вправо по отношению к предыдущему на 9° , в результате чего 10-й слой оказывается повернутым относительно 1-го на 90° . Условно выделена вертикальная ось вращения слоев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку наибольший интерес для нас представляет структура холестерической фазы, образованной молекулами двухцепочечных ДНК, мы сопоставим результаты разных авторов, которые были получены при помощи метода сечения спиральных структур, предложенного в работе [23].

При этом мы использовали следующие подходы для получения ответа на поставленный выше вопрос:

- физическое моделирование;
- компьютерное моделирование;
- «биологическая подсказка» – сечение хромосом простейших (динофлагеллят);
- сечение (скол) холестерической жидкокристаллической фазы ДНК;
- сопоставление разных моделей – однозначный ответ в пользу реальности существования «квазинематических» слоев из молекул ДНК;
- свойства частиц ХЖКД ДНК как подтверждение вывода об упаковке молекул ДНК в «квазинематических» слоях, что приводит к «ближнему» позиционному порядку и «дальнему» ориентационному порядку молекул.

Физическое моделирование. На рис. 2 показана модель – спиральная структура из скле-

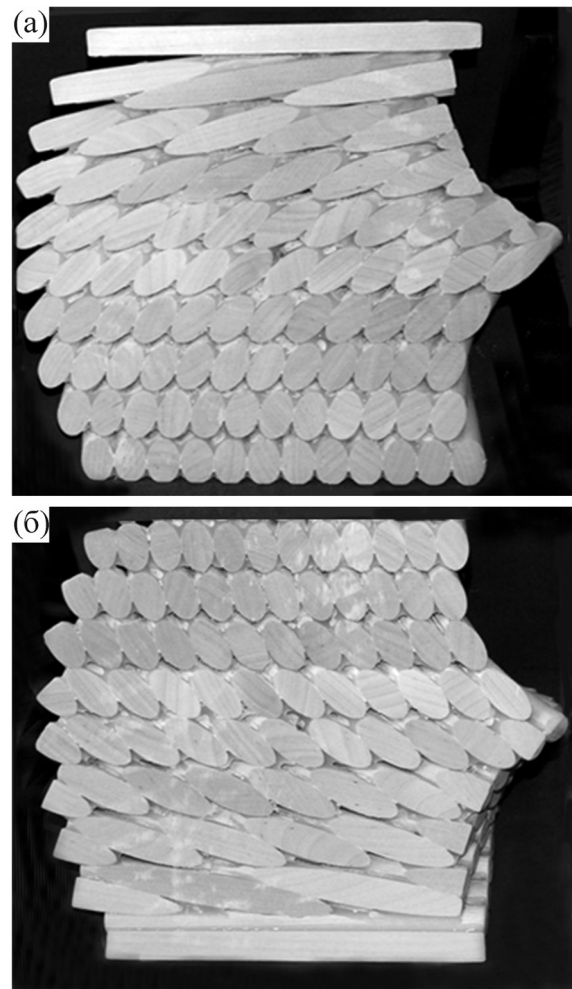


Рис. 3. Фронтальный вид сверху на срезы (нижняя (а) и верхняя (б) часть (половина)) модельной структуры (рис. 2), полученные после ее сечения под углом 45° к вертикальной оси. На срезах видна система из равноудаленных повторяющихся дуг («арок»), образованных косыми срезами палочек в плоскости сечения.

енных деревянных палочек. Каждый слой состоит из 10 палочек, каждый последующий слой повернут *вправо* на 9° , так что суммарная структура из 10 слоев описывает $1/4$ шага спиральной структуры. Эта структура была физически рассечена под углом 45° по отношению к вертикальной оси (рис. 3). В результате такого сечения получают два фрагмента – нижний (рис. 3а, т.е. тот, который остается на столе) и верхний (рис. 3б, т.е. тот, который был отделен). Нетрудно видеть, что на обоих фрагментах отчетливо просматриваются дугообразные структуры. Объединение нижнего и верхнего фрагментов (рис. 3) еще более отчетливо указывает на сохранение спиральной структуры даже в том случае, если спиральная структура будет состоять из 20 слоев (повернутых на

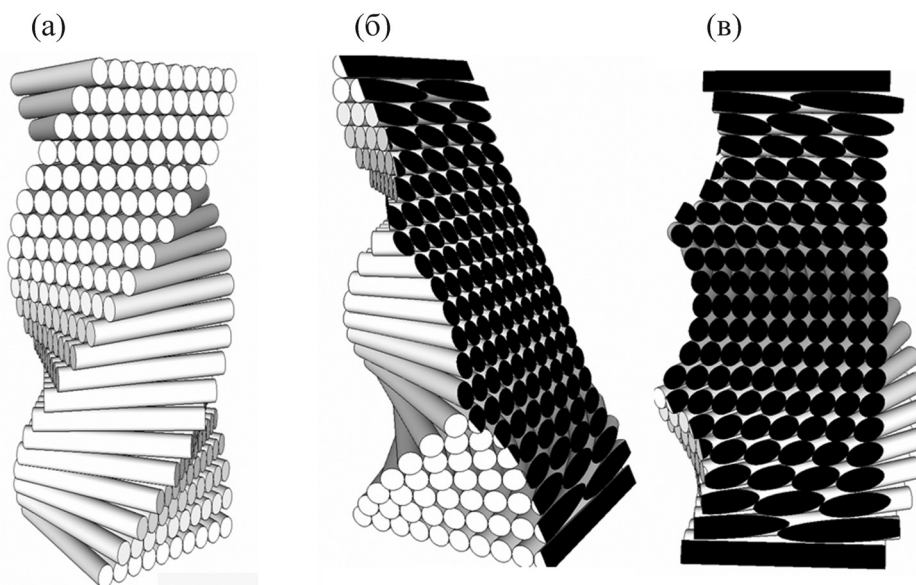


Рис. 4. Изображения, полученные при помощи компьютерного моделирования спирально закрученной структуры, состоящей из 20 слоев палочек. (а) – Вид модельной, спирально закрученной структуры (угол спиральной закрутки – 9° ; верхний слой повернут относительно нижнего слоя на 180°). (б) – Вид пласта модельной спирально закрученной структуры (а), полученный после ее сечения под углом к вертикальной оси. (в) – Фронтальный вид на срез, полученный после сечения модельной спирально закрученной структуры под углом к вертикальной оси. На изображениях (б) и (в) видна система, состоящая из равноудаленных повторяющихся дуг («арок»), образованных срезами палочек в плоскости сечения.

180°), причем расстояние между концами самой большой дуги соответствует $1/2$ шага спиральной структуры.

Таким образом, физическое моделирование демонстрирует нам, что сечение (под углом к вертикальной оси спирали) спиральной структуры из жестко фиксированных в слое палочек с последующим поворотом соседних слоев сопровождается появлением на срезе дугообразных структур. (Другие варианты сечения не приводят к появлению подобных дугообразных структур.) Разумеется, надо помнить, что молекулы не являются неподвижными деревянными палочками. Они непрерывно двигаются под действием тепловых и квантовых флуктуаций. Однако обсуждаемая выше механическая модель полезна как иллюстрация «дальнего» ориентационного и «ближнего» позиционного порядка в упаковке молекул.

Компьютерное моделирование. Моделирование спиральных структур и обработку 3D-моделей производили при помощи разработанной корпорацией Google программы SketchUp Make.

На рис. 4а представлена компьютерная модель спиральной структуры из 20 слоев, каждый слой которой состоит из 10 палочек, повернутых *влево*, на рис. 4б – вид пласта этой структуры, полученный после ее сечения под углом

к вертикальной оси, а на рис. 4в – фронтальный вид на срез. В этом случае на срезе (рис. 4в) отчетливо просматриваются дугообразные структуры.

На рис. 5 сопоставлен вид сечений спиральной структуры из 20 палочек, наблюдаемых при физическом (рис. 5а; закрутка слоев *вправо*) и компьютерном моделировании (рис. 5б; закрутка слоев *влево*). Нетрудно видеть близкое соответствие вида обоих сечений, несмотря на закрутку слоев из палочек в разные стороны.

Увеличение числа слоев спиральной структуры до 40 (рис. 6а), т.е. вплоть до создания структуры с характерным шагом спиральной структуры (поворот слоев *вправо*), не приводит к изменению общего вида сечения (рис. 6б) – дугообразные структуры сохраняются. Однако в случае искусственного разупорядочения палочек в слоях модельной конструкции (рис. 7а) дугообразные элементы, хотя и наблюдаются частично, но они «зашумлены» наличием в срезе каждого слоя элементами (эллипсами) разной степени вытянутости, а также наличием элементов одинаковой степени вытянутости в соседних и близлежащих к ним слоях (т.е. их перепутанностью) (рис. 7б).

Следовательно, компьютерное моделирование показывает, что лишь при ориентационно упорядоченном расположении соседних палочек

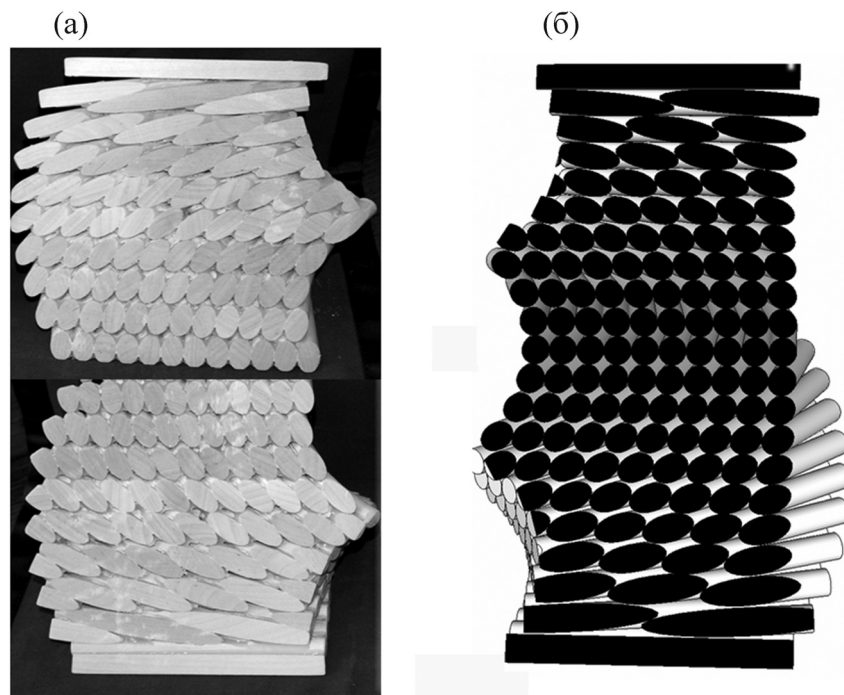


Рис. 5. Фронтальный вид на срезы, полученные после сечения модельной, спирально закрученной структуры под углом к ее вертикальной оси: (а) – физическая модель из склеенных палочек; (б) – компьютерная модель.

в слоях и повороте этих слоев друг относительно друга сечение образующейся спиральной

структуры приводит к появлению разрезов, на которых присутствуют дугообразные элементы. (Подчеркнем, что речь идет о слоях в смысле «дальнего» порядка в ориентации палочек.)

Таким образом, результаты физического и компьютерного моделирования спиральной

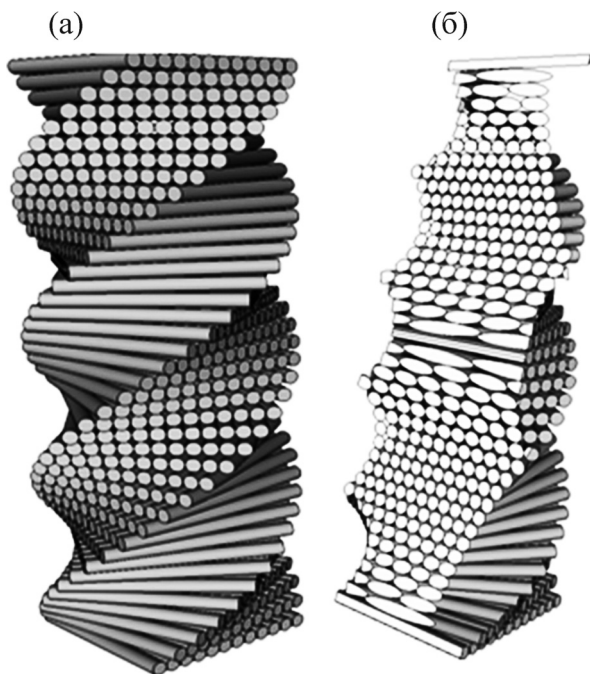


Рис. 6. Вид модельной, спирально закрученной структуры, содержащей в своем составе 40 слоев из палочек, до (а) и после ее сечения под углом к вертикальной оси (б). На рис. (б), несмотря на увеличение числа слоев, видна система из равноудаленных повторяющихся дуг («арок»), образованных срезами палочек в плоскости сечения.

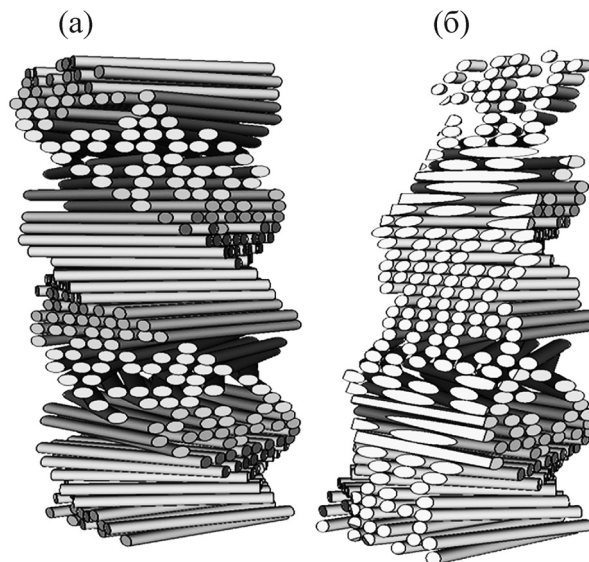


Рис. 7. Вид дефектной модельной, спирально закрученной структуры, содержащей в своем составе 40 слоев, до (а) и после ее сечения под углом к вертикальной оси (б). На срезе дефектной структуры (б) система из равноудаленных повторяющихся дуг («арок») практически отсутствует.

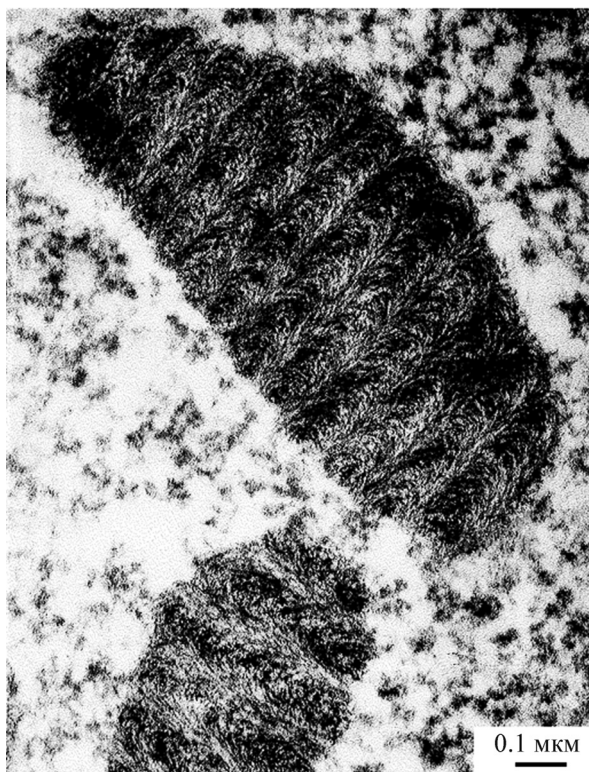


Рис. 8. Электронная микрофотография сечения хромосомы динофлагелляты *Amphidinium elegans*. Для контрастирования препарат прокрашен ацетатом уранила натрия и ацетатом уранила свинца. На микрофотографии видна система из равноудаленных, повторяющихся дуг («арок»), образованных срезами фрагментов молекулы ДНК в плоскости сечения.



Рис. 9. Электронная микрофотография сечения хромосомы динофлагелляты *Cryptocodinium cohnii*. На микрофотографии видна система из равноудаленных повторяющихся дуг («арок»), образованных срезами фрагментов молекулы ДНК в плоскости сечения.

структуры, состоящей из палочек, жестко фиксированных в слое, с поворотом соседних слоев на определенный угол, показывают, что сечение такой структуры под определенным углом к вертикальной оси спирали приводит к появлению на срезе дугообразных структур.

Очевидно, что проведенное физическое и компьютерное моделирование носит лишь иллюстративный характер и не учитывает свойства самих палочек как элементов спиральной структуры. Эти результаты можно рассматривать как указание на возможность существования дугообразных структур при сечении объектов, характеризующихся спиральной укладкой палочек, в качестве которых могут выступать молекулы полимеров.

«Биологическая подсказка» – сечение хромосом простейших. Известно, что хромосомы простейших (в частности, динофлагеллят) состоят из двухцепочечной молекулы ДНК, связанной с очень небольшим количеством белка [24]. Считается, что такие хромосомы представляют собой плотноупакованные цилиндриче-

ские структуры. Эти структуры состоят из слоев, которые перпендикулярны оси спиральной структуры и образованы фрагментами молекулы ДНК. Слои повернуты друг относительно друга на небольшой угол. Впервые сечение хромосом динофлагелляты *Amphidinium elegans*, зафиксированных в полимерном геле, было осуществлено авторами работы [23].

На рис. 8 представлен вид сечения хромосомы *Amphidinium elegans* под углом к оси спиральной структуры. Впоследствии интенсивные исследования в этом направлении проведены и проанализированы в работах разных авторов [17,22,25–28], использовавших разные приемы фиксации хромосом. На рис. 9 показан вид сечения хромосомы другого биологического объекта – динофлагелляты *Cryptocodinium cohnii* [27]. Сопоставление рис. 8 и 9 показывает, что при сечении хромосом разных видов динофлагеллят под определенным углом к оси спиральной структуры наблюдаются дугообразные структуры. Более того, на рис. 10 представлена теоретическая модель хромосомы этих микроорганизмов, предложенная в работе [29],

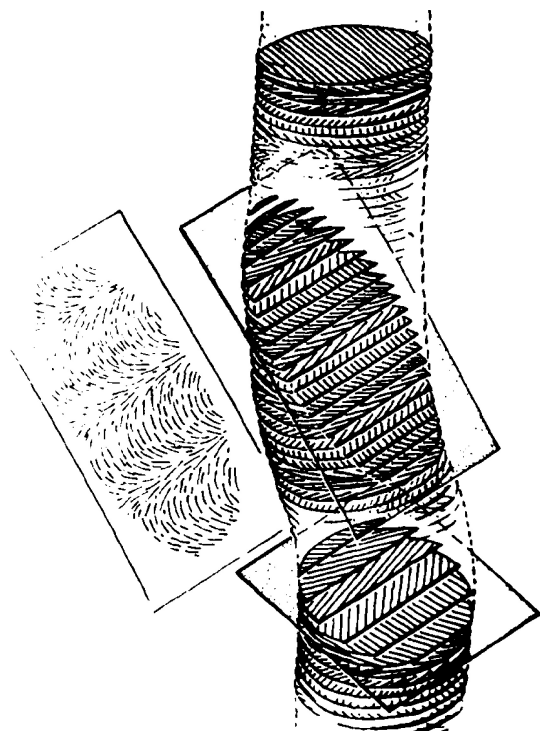


Рис. 10. Схематическое изображение структурной организации хромосомы динофлагеллят, предложенное И. Булиганом, и виды срезов, которые должны наблюдаться при ее сечении под разными углами. Фрагменты двухцепочечной ДНК, складываясь практически параллельно друг другу, образуют диски (слои). Каждый последующий слой повернут по отношению к предыдущему на небольшой угол. В результате такого способа организации формируется спирально закрученная (холестерическая) структура хромосомы.

и виды ее сечений, тщательно проанализированные в работах [22,30]. Исходя из этой модели, можно утверждать, что только при организации хромосомы в виде слоев из фрагментов молекулы ДНК, поворачивающихся в пространстве на определенный угол, можно наблюдать на определенных срезах этих хромосом дугообразные структуры [31].

Таким образом, если принять, что организация хромосом динофлагеллят соответствует организации рассмотренных выше спиральных структур из слоев жестких палочек, то можно утверждать, что при сечении хромосом должны наблюдаться срезы с дугообразными структурами, соответствующие тем, которые были отмечены при физическом и компьютерном моделировании.

Сечение холестерической жидкокристаллической фазы двухцепочечных ДНК. Практически одновременно с работами по сечению хромосом жгутиконосцев (динофлагеллят) были начаты работы по сечению холестерической жидкок-

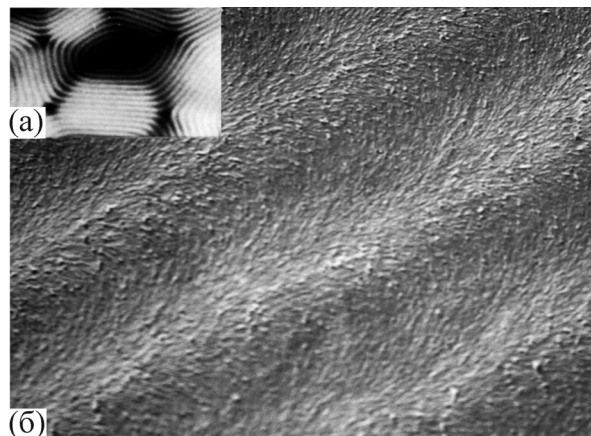


Рис. 11. (а) – Наблюдаемая при помощи поляризационного микроскопа текстура «отпечатков пальцев», характерная для холестерической жидкокристаллической фазы ДНК. (б) – Электронная микрофотография среза (скола) холестерической жидкокристаллической фазы ДНК. В связи с тем, что срез (скол) холестерической жидкокристаллической фазы ДНК выполнен под углом к оси холестерика, на микрофотографии видна система равноудаленных повторяющихся дуг («арок»), отражающая наличие пространственной спиральной закрутки.

ристаллической фазы, образованной при комнатной температуре в результате достижения определенной концентрации молекул ДНК (молекулярная масса $> 1 \cdot 10^6$ Да) в водно-солевых растворах. Факт формирования этой фазы подтверждают при помощи регистрации текстуры «отпечатков пальцев» (рис. 11а) и определения расстояния между молекулами ДНК при помощи рассеяния рентгеновых лучей под малыми углами. Следует отметить также, что тонкие слои холестерической жидкокристаллической фазы двухцепочечных ДНК характеризуются аномальной оптической активностью, проявляемой в спектре кругового дихроизма в виде интенсивной отрицательной полосы, расположенной в области поглощения азотистых оснований ДНК [16].

Исходную холестерическую фазу ДНК очень быстро (секунды!) «замораживают» за счет погружения в жидкий азот и проводят сечение замороженной фазы под разными углами (точнее проводят скалывание замороженной фазы под разными углами). Полученные сколы (срезы) оттеняют контрастирующими агентами и изучают при помощи электронного микроскопа.

На рис. 11б и 12 приведены виды сечений (сколов) холестерических фаз ДНК, полученные в работах разных авторов [15,31,32]. Нетрудно видеть, что при сечении холестерической жидкокристаллической фазы ДНК наблюдаются ду-

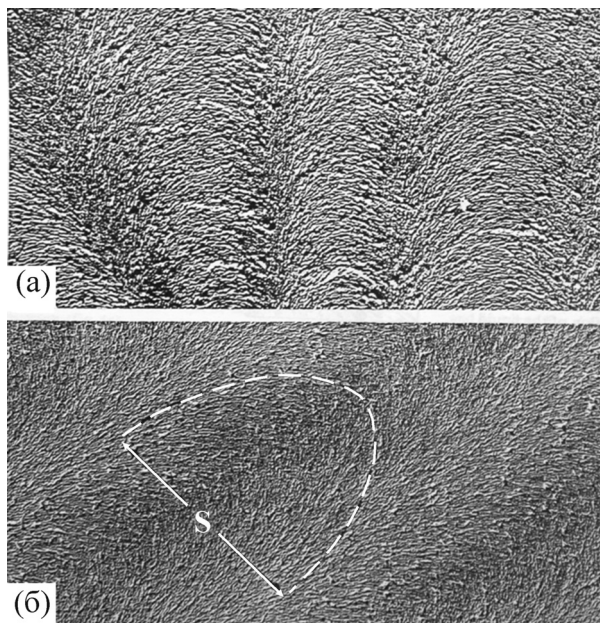


Рис. 12. Электронные микрофотографии срезов (сколов) холестерической жидкокристаллической фазы двухцепочечной ДНК. На верхней микрофотографии (а) видна система из равноудаленных повторяющихся дуг («арок»). (б) – Максимальное расстояние (S) между концами дуг («арок») соответствует повороту слоя, образованного молекулами ДНК, на 180° ($S = P/2$, где P – шаг спиральной структуры холестерика).

гообразные структуры (рис. 11б и 12а), причем расстояние между концами максимальной дуги (рис. 12б) соответствует половине шага спиральной структуры исходного холестерика ДНК, оцениваемого на основании текстуры «отпечатков пальцев».

Таким образом, виды сечений холестерической жидкокристаллической фазы ДНК свидетельствуют о том, что при определенном угле сечения на срезах наблюдаются дугообразные структуры. Эти структуры возникают только при организации холестерической жидкокристаллической фазы в виде спиральной структуры из ориентационно упорядоченных слоев, содержащих молекулы двухцепочечных ДНК.

Сопоставление разных моделей. Если принять, что все приведенные выше данные (моделирование и эксперименты разных авторов) отражают физическую реальность, то сопоставление этих результатов позволяет сделать однозначный вывод: жесткие молекулы двухцепочечных ДНК при определенной концентрации этих молекул в водно-солевых растворах и комнатной температуре конденсируются и упаковываются в «квазинематические» ориентационно упорядоченные слои, которые могут пово-

рачиваться на небольшой угол друг относительно друга. В результате поворота слоев возникает пространственно закрученная (холестерическая) структура (фаза) ДНК.

Упаковка молекул ДНК в частицах жидкокристаллической дисперсии. Очевидно, что переход от холестерической жидкокристаллической фазы к частицам дисперсии этой фазы, позволяет поставить вопрос о том, каким образом упакованы молекулы двухцепочечных ДНК в частицах дисперсии.

Известно, что при комнатной температуре дисперсия двухцепочечных ДНК (молекулярная масса ДНК $< 1 \cdot 10^6$ Да) формируется в результате фазового исключения (конденсации) этих молекул (отрицательные заряды фосфатных групп которых нейтрализованы противоионами) из водно-полимерных растворов, в частности растворов полиэтиленгликоля (ПЭГ, рис. 13). Теоретическая оценка размера частиц дисперсии ДНК, основанная на результатах, полученных при помощи разных методов (низкоскоростное центрифугирование, рассеяние УФ-излучения, динамическое светорассеяние), показывает, что при использованной молекулярной массе ДНК средний диаметр частиц дисперсии близок 500 нм и в составе одной частицы содержится около 10^4 молекул ДНК [16].

Конденсации молекул ДНК наблюдается в тех случаях, когда концентрация ПЭГ в растворе, используемом для фазового исключения, превышает «критическое» значение ($C_{ПЭГ}^{кр}$) [16]. Нарушение «критических» условий формирования частиц дисперсии, в частности, понижение концентрации ПЭГ ниже «критической», приводит к распаду частиц и к переходу молекул ДНК в изотропное состояние.

Частицы дисперсии, образующиеся при фазовом исключении линейных двухцепочечных ДНК, обладают несколькими особенностями. Во-первых, полимер (ПЭГ) не входит в состав образующихся частиц дисперсии; во-вторых, для частиц дисперсии характерно как сохранение химической реакционной способности структурных элементов (азотистых оснований и т.д.) ДНК, высокая (в пределах от 160 до 400 мг/мл!) локальная концентрация ДНК, так и «ближний» порядок в расположении соседних молекул ДНК в частицах дисперсии. Расстояние между соседними молекулами ДНК в частицах можно регулировать в пределах 2,5–5,0 нм, меняя концентрацию ПЭГ в растворе, используемом при конденсации ДНК.

После формирования частиц дисперсии в результате фазового исключения молекул ДНК свойства этих частиц определяются, главным

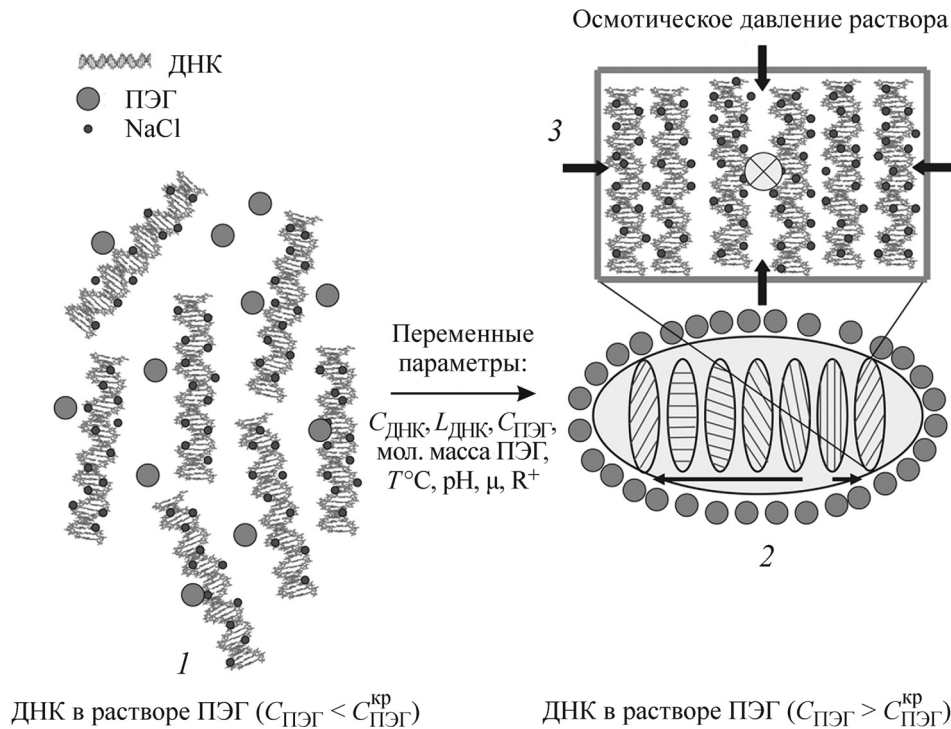


Рис. 13. Принципиальная схема формирования частиц жидкокристаллической дисперсии ДНК в результате фазового исключения жестких двухцепочечных молекул ДНК из водно-солевого полимерсодержащего раствора. В результате смешивания водно-солевых растворов ДНК (1) и ПЭГ молекулы ДНК конденсируются и образуют частицы дисперсии (2). В частицах дисперсии соседние молекулы ДНК плотно упакованы (3). При этом подвижность соседних молекул ДНК придает частице свойства жидкости, а их упорядоченное расположение – свойства кристалла, т.е. для частиц характерна жидкокристаллическая упаковка. Частица дисперсии формируется и существует только при определенном осмотическом давлении раствора; ее нельзя «взять в руки».

образом, осмотическим давлением раствора ПЭГ. Это означает, что пространственная структура частиц дисперсии в ПЭГ-содержащих растворах является «замороженной», хотя некоторые диффузионные степени свободы молекул ДНК сохраняются, определяя «жидкостной» характер их упаковки.

При высокой концентрации ПЭГ ($C_{\text{ПЭГ}} \sim 240\text{--}300$ мг/мл) плотность упаковки молекул ДНК в частицах дисперсии соответствует их упаковке в гексагональной жидкокристаллической фазе [33], которая не имеет аномальной оптической активности.

Указанный выше размер частиц дисперсии ДНК является результатом тонкого баланса между суммарной свободной энергией частиц и их поверхностной свободной энергией [34].

Конкуренция между суммарной свободной энергией частицы дисперсии (которая стремится увеличить размер частицы) и ее поверхностной свободной энергией (которая зависит от поверхностного натяжения между холестерической фазой и изотропной фазой и которая стремится уменьшить поверхность между ДНК-богатой фазой и окружающим изотропным рас-

твором [35]) означает, что существует критический размер частицы дисперсии, ниже которого частицы дисперсии ДНК являются нестабильными или просто не образуются. Это утверждение соответствует как результатам анализа кинетики формирования частиц дисперсии ДНК, так и результатам, характеризующим зависимость эффективности образования частиц от разных факторов. Согласно теоретическим оценкам средний размер частиц дисперсии зависит как от концентрации и молекулярной массы ДНК, так и концентрации ПЭГ, использованных при фазовом исключении [16].

При увеличении температуры ПЭГ-содержащего раствора, в котором находятся сформированные частицы дисперсии ($C_{\text{ПЭГ}} = 170$ мг/мл), при температуре порядка 95°C калориметрически регистрируется тепловой эффект, соответствующий «денатурации» ДНК. Однако при охлаждении раствора до комнатной температуры исходные свойства частиц дисперсии полностью восстанавливаются [36].

Таким образом, после формирования частиц дисперсии в результате фазового исключения молекул ДНК осмотическое давление раствора

ПЭГ, определяемое его концентрацией в растворе, контролирует характер упаковки соседних, линейных, жестких, двухцепочечных молекул ДНК в частицах дисперсии [33].

Постоянство осмотического давления раствора определяет постоянство пространственной структуры частиц дисперсии, а следовательно, фиксированное расстояние между соседними линейными молекулами ДНК в частицах дисперсии.

При использованной схеме формирования дисперсии ДНК, включающей стадию смешивания растворов ДНК и ПЭГ, плотность упаковки молекул ДНК в частицах дисперсии определяется за счет латерального взаимодействия между соседними молекулами «в момент их сближения», зависящего, в свою очередь, от осмотического давления раствора ПЭГ [16]. При этом за ориентационный порядок молекул ДНК отвечает анизотропный вклад в суммарную энергию взаимодействия молекул нуклеиновых кислот, обусловленный их анизотропными свойствами [37–41]. При определенных условиях анизотропный вклад в суммарную энергию взаимодействия молекул ДНК может приводить к тому, что даже при наличии латерального взаимодействия между соседними молекулами будет реализоваться спиральная пространственная закрутка соседних молекул ДНК, упакованных в частицах дисперсии. Возникающая спиральная структура является «окрашенной», поскольку в составе молекул ДНК присутствуют хромофоры (азотистые основания, поглощающие УФ-излучение). Теории [42–44], учитывающие возникновение «дальнего» (ориентационного) порядка в расположении хромофоров в результате формирования слоев из хромофоров и спиральную закрутку этих слоев, предсказывают появление аномальной полосы в спектре кругового дихроизма таких спиральных структур. В частности, теоретически показано, что в случае спиральной структуры, образованной слоями из молекул ДНК, аномальная полоса должна появляться в УФ-области.

Следует отметить, что если характер упаковки молекул двухцепочечных ДНК в жидкокристаллических фазах может быть установлен в результате анализа текстур этих фаз, то для ответа на вопрос о том, как упакованы молекулы ДНК в частицах дисперсий, необходимо проведение дополнительных исследований. Это связано с тем, что возможность существования «размерного» эффекта может приводить к заметным отличиям в способах упаковки молекул в частицах дисперсий от способов их упаковки в фазах. Особенно заметным это различие может стать в случае формиро-

вания жидкокристаллических дисперсий, и вопрос о способе упаковки молекул в этом случае требует специальной проверки. Поэтому в случае молекул ДНК, образующих дисперсии при их фазовом исключении из водно-полимерных растворов, частицы которых имеют макроскопические размеры, необходимо экспериментально определить способ упаковки молекул ДНК в частицах дисперсии. В этой связи большое значение приобретают методы, позволяющие ответить на поставленный выше вопрос. Среди этих методов большое значение приобретают два метода – кругового дихроизма и малоуглового рентгеновского рассеяния. Первый метод чувствителен к ориентационному порядку молекул, а второй – к позиционному порядку, т.е. к распределению электронной плотности.

Представленные выше экспериментальные данные позволяют зафиксировать ряд важных особенностей. Во-первых, можно отметить, что при высокой концентрации ПЭГ ($C_{\text{ПЭГ}} > 200$ мг/мл) в водно-солевых растворах для частиц дисперсии ДНК, формирующихся при комнатной температуре в результате фазового исключения, характерны пики на кривых малоуглового рассеяния рентгеновых лучей в пределах от 3,0 до 2,5 нм [16], что соответствует плотной упаковке соседних молекул ДНК, которая в принципе может быть гексагональной (рис. 1). Во-вторых, при концентрации ПЭГ в пределах от 110 до 180 мг/мл для частиц дисперсии ДНК характерны малоугловые рефлексы на рентгенограммах в пределах от ~ 5,0 до 3,0 нм и аномальная полоса в спектре кругового дихроизма, указывающая на существование «дальнего» ориентационного порядка в расположении хромофоров ДНК, который определяет появление аномальной оптической активности у частиц дисперсий ДНК [44].

Таким образом, осмотическое давление растворов ПЭГ выступает в качестве важного фактора, регулирующего способ упаковки молекул ДНК в частицах дисперсии.

Перечисленные особенности позволяют реализовать ряд экспериментов для выяснения способа упаковки молекул ДНК в частицах дисперсии.

На рис. 14 сопоставлены спектры кругового дихроизма для частиц дисперсий ДНК, сформированных при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ и $C_{\text{ПЭГ}} = 170$ мг/мл (кривые 1 и 3 соответственно), а в таблице приведены рентгенографические параметры фаз, сформированных из частиц этих дисперсий, определенные на основании данных малоуглового рентгеновского рассеяния. Видно, что при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл частицы дисперсии не обладают аномальной оптической активностью

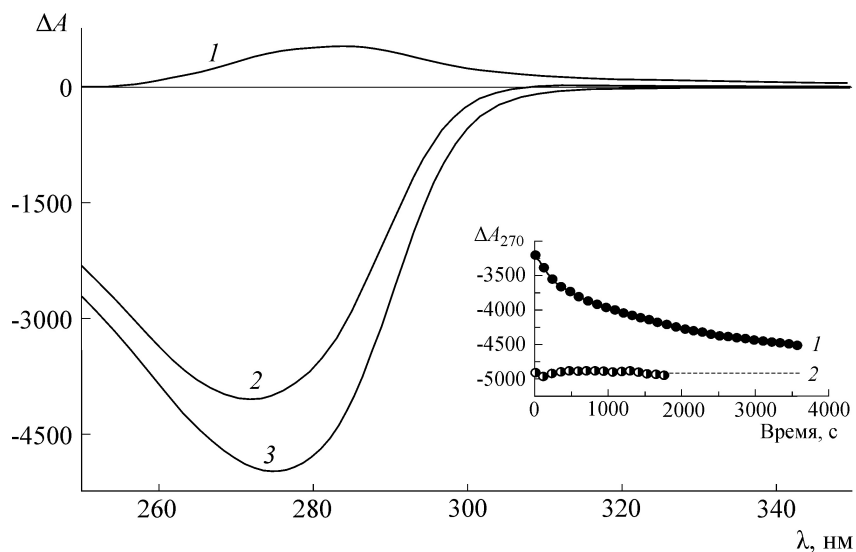


Рис. 14. Спектры КД дисперсий ДНК, сформированных в ПЭГ-содержащих водно-солевых растворах при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ и 170 мг/мл (кривая 1 и кривая 3 соответственно). Кривая 2 – спектр кругового дихроизма дисперсии ДНК, сформированной при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл, после быстрого понижения концентрации ПЭГ от 300 до 170 мг/мл. На врезке: кривая 1 – временная зависимость, характеризующая изменение амплитуды полосы в спектре кругового дихроизма ($\lambda = 270$ нм) дисперсии ДНК, сформированной при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл, после быстрого понижения концентрации ПЭГ от 300 до 170 мг/мл. Кривая 2 (контроль) – оптический сигнал, генерируемый в спектре кругового дихроизма ($\lambda = 270$ нм) дисперсией ДНК, сформированной при $C_{\text{ПЭГ}} = 170$ мг/мл. Условия: $C_{\text{ДНК}} = 11,9$ мкг/мл, $0,3$ М NaCl + $0,002$ М Na^+ -фосфатный буфер; $\Delta A_{270} \cdot 10^{-6}$ опт. ед.; $l = 1$ см.

(рис. 14, кривая 1), а расстояние между соседними молекулами ДНК (\bar{d}) в этом случае соответствует расстоянию, характерному для гексагональной упаковки (таблица). Этот результат показывает, что при высоком осмотическом давлении анизотропное взаимодействие между соседними молекулами ДНК не влияет на латеральное взаимодействие между молекулами нуклеиновых кислот, сближающимися в результате их фазового исключения. Из таблицы вид-

но также, что фазы, полученные в результате низкоскоростного центрифугирования, из частиц дисперсий ДНК, сформированных при разных концентрациях ПЭГ, отличаются по всем приведенным параметрам.

Понижение концентрации ПЭГ от 300 до 170 мг/мл, приводит к увеличению малоуглового рентгеновского рефлекса от 2,6 до 3,4 нм и к возникновению аномальной оптической активности (рис 14, кривая 2). Процесс развития

Структурные характеристики фаз, сформированных из частиц дисперсий ДНК, образованных при разных концентрациях ПЭГ

Образец фазы ДНК	$s_{\text{max}}, \text{нм}^{-1}$ ($\pm 0,1 \text{нм}^{-1}$)	$\bar{d}, \text{нм}$ ($\pm 0,1 \text{нм}$)	$L, \text{нм}$ ($\pm 3,0 \text{нм}$)	$\Delta\bar{d}$ ($\pm 0,01$)	$S, \text{отн. ед.}$
1	1,8	3,4	19	0,13	0,0215
2	2,4	2,6	62	0,07	0,0040

Примечание. s_{max} – волновой вектор ($s_{\text{max}} = 4\pi\sin\theta/\lambda$; 2θ – угол рассеяния, λ – длина волны излучения, равная $0,1542$ нм); $\bar{d} = 2\pi/s$ – межплоскостное расстояние (период структуры); $L = \frac{\lambda}{\beta_s \cos\theta}$ – размер кристаллитов (β_s – полная ширина на полувысоте максимума интенсивности рассеяния (в радианах), наблюдаемого на угле рассеяния 2θ , соответствующего волновому вектору s); $\Delta\bar{d} = 1/\pi \sqrt{\frac{\beta_s \bar{d}}{\lambda}}$ – степень разупорядоченности в полимерной системе; S – площадь под пиком на кривой малоуглового рассеяния. Образец № 1 – фаза, полученная в результате низкоскоростного центрифугирования частиц дисперсии ДНК, сформированной в водно-солевом растворе при $C_{\text{ПЭГ}} = 170$ мг/мл. Образец № 2 – фаза, полученная в результате низкоскоростного центрифугирования частиц дисперсии ДНК, сформированной в водно-солевом растворе при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл.

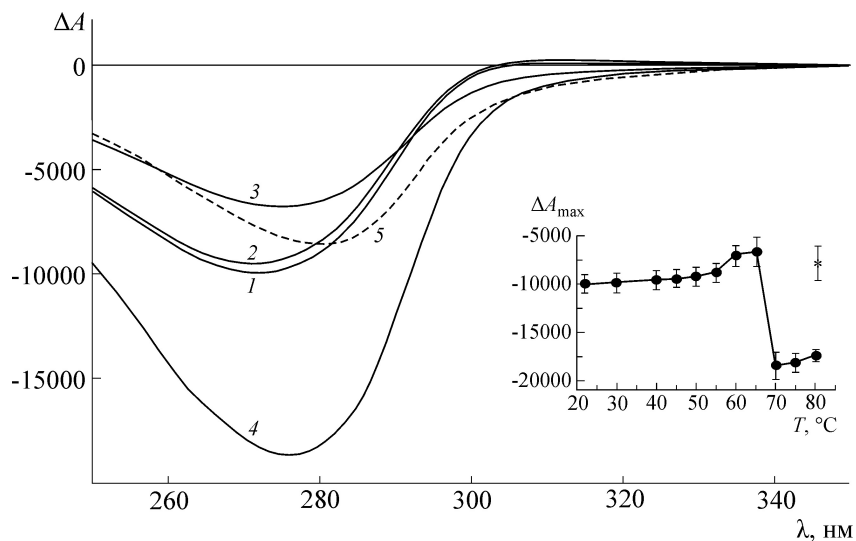


Рис. 15. Спектры кругового дихроизма дисперсии ДНК, сформированной при $C_{\text{ПЭГ}} = 170$ мг/мл с последующим повышением концентрации ПЭГ до 300 мг/мл, зарегистрированные при разной температуре: 1 – 22°C, 2 – 45°C, 3 – 65°C, 4 – 70°C. 5 – Спектр дисперсии ДНК, зарегистрированный после охлаждения полученного раствора от 80 до 22°C. На врезке: зависимость максимальной амплитуды полосы в спектре кругового дихроизма дисперсии ДНК от температуры. * – Амплитуда полосы в спектре дисперсии ДНК после охлаждения раствора от 80 до 22°C. Условия: $C_{\text{ДНК}} = 19,86$ мкг/мл; 0,3 М NaCl + 0,002 М Na⁺-фосфатный буфер; $\Delta A_{270} \cdot 10^{-6}$ опт. ед.; $l = 1$ см.

аномальной оптической активности длится ~60 мин (см. врезку на рис. 14, кривая 1).

Можно предположить, что уменьшение концентрации ПЭГ от 300 до 170 мг/мл сопровождается такими изменениями физико-химических свойств раствора (его диэлектрических свойств и осмотического давления), при которых расстояние между молекулами ДНК в частицах дисперсии увеличивается, и в этих условиях начинает проявляться вклад анизотропного взаимодействия в общую энергию взаимодействия между молекулами ДНК в частицах дисперсии. Сказанное может в принципе означать, что изменение свойств раствора ПЭГ индуцирует появление «дальнего» (ориентационного) порядка в расположении хромофоров (азотистых оснований) соседних молекул ДНК, упакованных в частицах дисперсии, наличие которого приводит к появлению аномальной оптической активности.

С учетом этого предположения, частицы дисперсии ДНК были сформированы первоначально в растворе ПЭГ ($C_{\text{ПЭГ}} = 170$ мг/мл), а затем концентрация ПЭГ была быстро повышена до 300 мг/мл. На рис. 15 показано, что при такой постановке опыта исходная аномальная оптическая активность не меняется (по крайней мере, в течение нескольких суток), тогда как малоугловой рефлекс на рентгенограмме смещается от 3,4 до 2,6 нм. Такое смещение свидетельствует о более плотной упаковке мо-

лекул ДНК в частицах дисперсии. Если бы, в соответствии с высказанным выше предположением, появление аномальной оптической активности у частиц дисперсии ДНК было связано только с появлением ориентационного порядка в расположении азотистых оснований, то следовало бы ожидать, что при увеличении концентрации ПЭГ от 170 до 300 мг/мл, т.е. при изменении свойств этого раствора, аномальная оптическая активность частиц дисперсии должна была бы не только уменьшиться, но и соответствовать оптической активности частиц дисперсии ДНК с гексагональной упаковкой этих молекул. Однако такой эффект не наблюдается. Поэтому нужно признать, что возникновение аномальной оптической активности у частиц дисперсии ДНК связано с совсем другой причиной, а именно с ориентационно упорядоченным расположением молекул ДНК (в составе которых присутствуют азотистые основания) в слоях [44] и спиральной закруткой этих слоев из молекул ДНК. Отсюда следует, что при комнатной температуре, при увеличении концентрации ПЭГ от 170 до 300 мг/мл, сохранение аномальной оптической активности в растворе ПЭГ ($C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл) отражает факт «замораживания» спиральной структуры, которая была характерна для раствора ПЭГ с концентрацией 170 мг/мл, в растворе с высоким осмотическим давлением. Возникает «напряженная» ситуация, а именно, с одной стороны,

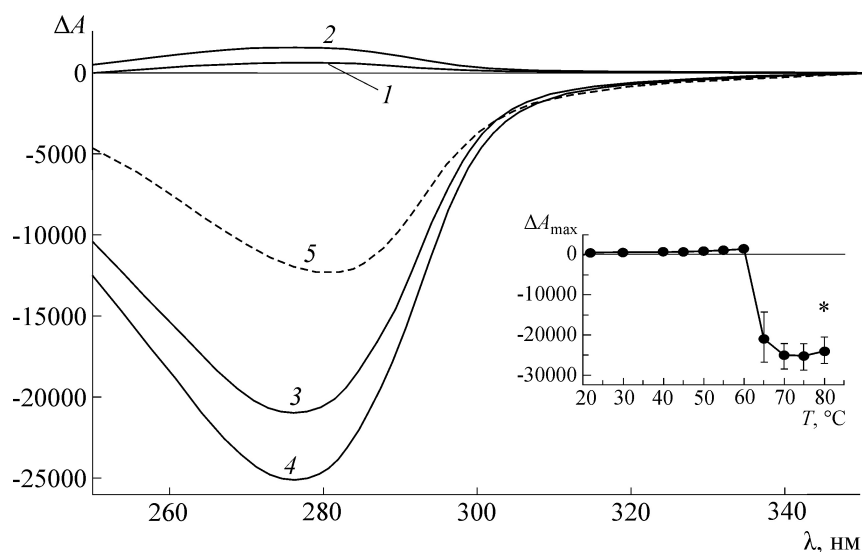


Рис. 16. Спектры кругового дихроизма дисперсии ДНК, сформированной при $C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл, зарегистрированные при разной температуре. 1 – 22°C, 2 – 60°C, 3 – 65°C, 4 – 75°C. 5 – Спектр КД дисперсии ДНК, зарегистрированный после охлаждения образца от 80 до 22°C. На врезке: зависимость максимальной амплитуды полосы в спектре кругового дихроизма дисперсии ДНК от температуры. * – Амплитуда полосы в спектре дисперсии ДНК после охлаждения раствора от 80 до 22°C. Условия: $C_{\text{ДНК}} = 30$ мкг/мл; 0,3 М NaCl + 0,002 М Na⁺-фосфатный буфер; $\Delta A_{270} \cdot 10^{-6}$ опт. ед.; $l = 1$ см.

молекулы ДНК в растворе с высокой концентрацией ПЭГ стремятся к гексагональной упаковке (см. выше), с другой стороны – этого не происходит при комнатной температуре в силу «замораживания» спиральной структуры в частицах дисперсии за счет высокого осмотического давления.

Выход из этой ситуации можно наблюдать при увеличении температуры полученного ПЭГ-содержащего раствора. На рис. 15 показаны спектры кругового дихроизма дисперсии ДНК при разной температуре, а на врезке приведена зависимость амплитуды полосы в спектре от температуры. Видно, что увеличение температуры ПЭГ-содержащего раствора сопровождается рядом эффектов (см. врезку на рис. 15): во-первых, амплитуда аномальной полосы практически не меняется в температурном ряду от 22 до 55°C, во-вторых, амплитуда незначительно уменьшается в области температур 55–65°C, наконец, амплитуда аномальной полосы резко увеличивается в узком температурном ряду 65–70°C. (Следует отметить, что эти оптические эффекты наблюдаются при температурах, существенно более низких, чем температура, соответствующая тепловой денатурации ДНК [36].) Поскольку при увеличении температуры ПЭГ-содержащего раствора его физико-химические свойства меняются незначительно [45], а разделение цепей молекул ДНК в частицах дисперсии невозможно по стереическим соображениям, резкое увеличение амплитуды

аномальной полосы в спектре кругового дихроизма позволяет предположить, что при достижении определенной температуры происходит изменение пространственной упаковки молекул двухцепочечной ДНК в частицах дисперсии [46]. Достигнутая таким способом в указанных условиях (т.е. в растворе ПЭГ с концентрацией 300 мг/мл) амплитуда аномальной полосы в спектре кругового дихроизма заметно превышает амплитуду, характерную для раствора ПЭГ с концентрацией 170 мг/мл (см. кривые 4 и 1 на рис. 15). Эта амплитуда остается практически неизменной в температурном ряду от 70 до 80°C. При охлаждении раствора амплитуда аномальной полосы уменьшается, но она не возвращается к нулевому значению, характерному для исходной гексагональной упаковки ДНК в частицах дисперсии (рис. 15, кривая 5). Отметим, что такое гистерезисное поведение типично для фазовых превращений первого рода.

На рис. 16 в качестве контроля показано температурное изменение спектров кругового дихроизма для дисперсии, сформированной в растворе ПЭГ с концентрацией 300 мг/мл, а на врезке приведена зависимость амплитуды аномальной полосы от температуры. Видно, что при высокой концентрации ПЭГ в растворе, использованном при смешивании с водно-солевым раствором ДНК, частицы дисперсии хотя и образуются, однако их аномальная оптическая активность практически не регистрируется

(рис. 16, кривая 1). Увеличение температуры ПЭГ-содержащего раствора сопровождается рядом эффектов: во-первых, амплитуда меняется крайне незначительно в температурном ряду от 22 до 60°C, и, во-вторых, она резко увеличивается в узком температурном интервале от 60 до 70°C и остается неизменной при высокой температуре раствора (70–80°C). (Рост амплитуды аномальной полосы в спектре кругового дихроизма в температурном интервале 60–70°C имеет характер фазового перехода.)

Следует отметить, что при увеличении температуры ПЭГ-содержащего раствора ($C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл) максимум дифракционного пика на кривой малоуглового рассеяния фазы, полученной из частиц этой дисперсии, увеличивается не более чем на 0,2–0,3 нм [47].

На рис. 16 показано, что, несмотря на гексагональную упаковку молекул ДНК в частицах дисперсии, сформированной при концентрации ПЭГ 300 мг/мл, можно за счет увеличения температуры раствора индуцировать изменение их пространственной структуры таким образом, что возникают частицы, имеющие высокую аномальную оптическую активность. Эта температурно-индуцированная аномальная оптическая активность остается практически неизменной (рис. 16, кривая 5) и при охлаждении раствора не возвращается к значениям, характерным для исходной гексагональной упаковки молекул ДНК в частицах дисперсии (рис. 16, кривая 1).

Следовательно, при использованной нами схеме конденсации молекул ДНК, основанной на фазовом исключении этих молекул из полимерсодержащего раствора (комнатная температура, высокое осмотическое давление раствора ($C_{\text{ПЭГ}} = 300$ мг/мл)), анизотропия молекул ДНК не вносит существенного вклада в общую энергию взаимодействия между молекулами, и в указанных условиях молекулы ДНК упорядочиваются с образованием гексагональной структуры. Однако при увеличении температуры раствора, когда подвижность молекул ДНК увеличивается, их анизотропия приводит к тому, что становится возможным поворот соседних слоев из молекул ДНК.

Резкий рост аномальной оптической активности у частиц дисперсии ДНК при увеличении температуры, носящий характер фазового перехода, является однозначным доказательством изменения пространственной структуры частиц дисперсии ДНК. Такое изменение может быть связано с тем, что если в исходной гексагональной упаковке действительно существуют ориентационно упорядоченные слои из молекул ДНК, то эти слои поворачиваются друг относительно друга при увеличении температуры и

формируют спиральную структуру. Возникшая спиральная структура поддерживается и существует при высокой температуре раствора. Уменьшение температуры до комнатной, хотя и приводит к уменьшению аномальной оптической активности, но при высоком осмотическом давлении структура не может сбросить приобретенную спиральную закрутку (остается «замороженной»). При этом величина аномальной оптической активности у «замороженных» частиц дисперсии ДНК, сформированной при концентрации ПЭГ 300 мг/мл, свидетельствует о том, что угол закрутки слоев из молекул ДНК может существенно превышать 1° [44].

Таким образом, сопоставление результатов, характеризующих пространственные свойства спиральных структур разного происхождения, с данными по упаковке молекул ДНК в частицах жидкокристаллической дисперсии позволяет утверждать следующее: фазовое исключение жестких, линейных, двухцепочечных молекул ДНК в полимерсодержащем растворе приводит к их упаковке в «квазинематические» слои, характеризующиеся «ближним» позиционным порядком в расположении этих молекул. Слои могут существовать даже при гексагональной упаковке молекул ДНК. В определенных условиях (осмотическое давление раствора и его температура) слои могут поворачиваться на небольшой угол друг относительно друга, что приводит к «дальному» ориентационному упорядочению молекул ДНК и формированию пространственно закрученной структуры у частиц дисперсий ДНК.

В принципе пространственно закрученная структура частиц дисперсии ДНК имеет оптические свойства, характерные для рассмотренных выше холестерических жидкокристаллических фаз ДНК. Это дает нам основание использовать для их обозначения термин «холестерическая жидкокристаллическая дисперсия» ДНК [16].

ВЫВОДЫ

Обобщены известные литературные данные о структуре холестерической фазы, образуемой молекулами двухцепочечной ДНК, и к ним добавлены экспериментальные результаты авторов, характеризующие упаковку этих молекул в частицах ХЖКД. Сопоставление этих данных можно рассматривать как свидетельство в пользу возможности существования ориентационно упорядоченных «квазинематических» слоев молекул ДНК в структуре как жидкокристаллических фаз, так и частиц дисперсий этой фазы, причем поворот этих слоев на небольшой угол

обеспечивает формирование пространственно закрученной (холестерической) структуры с характерными для этой структуры физико-химическими свойствами.

Участие Е.И. Каца в данной работе поддержано Российским научным фондом (грант 14-12-00475).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. Saure, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **7** (2), 97 (1968).
2. П. де Жен, *Физика жидких кристаллов* (Мир, М., 1977).
3. С. Чандрасекар, *Жидкие кристаллы* (Мир, М., 1980).
4. А. С. Сонин, *Введение в физику жидких кристаллов* (Наука, М., 1983).
5. А. П. Капустин, *Экспериментальные исследования жидких кристаллов* (Наука, М., 1978).
6. С. А. Пикин, *Структурные превращения в жидких кристаллах* (Наука, М., 1981).
7. В. А. Беляков и А. С. Сонин, *Оптика холестерических жидких кристаллов* (Наука, М., 1982).
8. *Жидкокристаллический порядок в полимерах*, под ред. А. Блюмштейна (Наука, М., 1981).
9. С. П. Папков и В. Г. Куличихин, *Жидкокристаллическое состояние полимеров* (Химия, М., 1977).
10. Г. Браун и Дж. Уолкен, *Жидкие кристаллы и биологические структуры* (Мир, М., 1982).
11. Y. Bouligand and V. Norris, *Biochimie* **83** (2), 187 (2001).
12. F. Livolant, *J. Mol. Biol.* **218** (1), 165 (1991).
13. R. L. Rill, T. E. Strzelecka, M. W. Davidson, and D. H. van Winkle, *Physica A* **176** (1), 87 (1991).
14. F. Livolant and A. Leforestier, *Prog. Polym. Sci.* **21** (6) 1115 (1996).
15. F. Livolant, *Physica A* **176** (1), 117 (1991).
16. Ю. М. Евдокимов, В. И. Салянов, С. В. Семенов и С. Г. Скуридин, *Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК* (Радиотехника, М., 2008).
17. Y. Bouligand, in: *Solid State Physics Supplement 14*, Ed by L. Liebert (Academic Press, New-York, 1978), pp. 259–294.
18. F. Livolant, A. M. Levelut, J. Doucet, and J. P. Benoit, *Nature* **339** (6227), 724 (1989).
19. F. Livolant, *J. Mol. Biol.* **218** (1), 165 (1991).
20. R. D. Kamien and J. V. Selinger, *J. Phys.: Condens. Matter* **13**, R1 (2001).
21. E. Senechal, G. Maret, and K. Dransfeld, *Int. J. Biol. Macromol.* **2** (4), 256 (1980).
22. A. Gautier, L. Michel-Salamin, E. Tosi-Couture, et al., *J. Ultrastr. Mol. Str. Res.* **97** (1–3), 10 (1986).
23. G. Haller de, E. Kellenberger, and G. Rouiller, *J. Microsc. (Paris)* **3**, 627 (1964).
24. E. Kellenberger and B. Arnold-Schulz-Gahmen, *FEMS Microbiol. Lett.* **100** (1–3), 361 (1992).
25. L. Michel-Salamin, A. Gautier, M.-O. Soyer-Gobillard, et al., *Electron. Microsc.* **3**, 1803 (1984).
26. E. Kellenberger, E. Carlemalm, J. Sechaud, et al., in: *Bacterial Chromatin*, ed by Gualerzi C. O. and Pon C. L. (Springer, Berlin – Heidelberg, 1986), pp. 11–25.
27. E. Kellenberger, *Biophys. Chem.* **29** (1–2), 51 (1988).
28. M. H. Chow, K. T. H. Yan, M. J. Bennett, and J. T. Y. Wong, *Eukaryot. Cell* **9** (10), 1577 (2010).
29. Y. Bouligand, M.-O. Soyer, and S. Puisseux-Dao, *Chromosoma (Berl.)* **24** (3), 251 (1968).
30. F. Livolant and Y. Bouligand, *Chromosoma* **68** (1), 21 (1978).
31. R. L. Rill, F. Livolant, H. C. Aldrich, and M. W. Davidson, *Chromosoma* **98** (4), 280 (1989).
32. A. Leforestier and F. Livolant, *Biol. Cell.* **71** (1–2), 115 (1991).
33. C. B. Stanley, H. Hong, and H. H. Strey, *Biophys. J.* **89** (4), 2552 (2005).
34. A. Goldar, H. Thomson, and J. M. Seddon, *J. Phys.: Condens. Matter* **20** (3), 035102(1–9) (2008).
35. J. Ubbink and T. Odijk, *Biophys. J.* **68** (1), 54 (1995).
36. D. Grasso, S. Fasone, C. La Rosa, and V. Salyanov, *Liq. Crystals* **9** (2), 299 (1991).
37. A. R. Harris, R. D. Kamien, and T. C. Lubensky, *Rev. Mod. Phys.* **71** (5), 1745 (1999).
38. S. A. Issaenko and A. R. Harris, *Phys. Rev. E* **61** (3), 2777 (2000).
39. A. A. Kornyshev, S. Leikin, and S. V. Malinin, *Eur. Phys. J. E* **7**, 83 (2002).
40. A. G. Cherstvy, *J. Phys. Chem. B* **112** (40), 12585 (2008).
41. T. Bellini, R. Cerbino, and G. Zanchetta, *Top. Curr. Chem.* **318**, 225 (2011).
42. V. A. Belyakov, V. P. Orlov, S. V. Semenov, et al., *Liq. Crystals* **20** (6), 777 (1996).
43. Yu. M. Yevdokimov, V. I. Salyanov, S. G. Skuridin, et al., *The CD spectra of double-stranded DNA liquid crystalline dispersions* (Nova Science Publishers, N.Y., 2011).
44. С. В. Семенов и Ю. М. Евдокимов, *Биофизика* **60** (2), 242 (2015).
45. О. Н. Дымент, К. С. Казанский и А. М. Мирошников, *Гликоли и другие производные окисей этилена и пропилена* (Химия, М., 1976).
46. M. Leonard, H. Hong, N. Easwar, and H. H. Strey, *Polymer* **42** (13), 5823 (2001).
47. Yu. M. Yevdokimov, S. G. Skuridin, and V. I. Salyanov, *Liq. Crystals* **3** (11), 1443 (1988).

About the Spatial Organization of Double-stranded DNA Molecules in the Cholesteric Liquid-crystalline Phase and Dispersion Particles of this Phase

Yu.M. Yevdokimov*, S.G. Skuridin*, V.I. Salyanov*, V.V. Volkov**, L.A. Dadinova**, O.N. Kompanets***, and E.I. Kats****

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia;

**Shubnikov Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 59, Moscow, 119333 Russia;

***Institute of Spectroscopy, Russian Academy of Sciences, ul. Fizicheskaya 5, Troitsk, Moscow, 142190 Russia;

****Landau Institute for Theoretical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina. 2, Moscow, 119334 Russia

The answer to a question on the organization of molecules in a cholesteric phase is well enough proved in case of low molecular mass compounds. However, in case of double-stranded nucleic acids molecules the unequivocal answer to such question is a subject of discussions. In this work an attempt to generalize the well-known literary data on the structure of the cholesteric phase formed by double-stranded DNA molecules was undertaken. Besides the experimental results of authors describing the packing of these molecules in the cholesteric liquid-crystalline dispersion particles are added to these data. Comparison of the results obtained offers the possibility to come out with an assumption of high probability of the existence of both the short-range positional and long-range orientational order in arrangement of double-stranded DNA molecules in a liquid-crystalline phase, and in the particles of dispersions of this phase generated under certain conditions. The occurrence of the orientational order, i.e. rotation of 'quasinematic' layers of double-stranded DNA molecules by a small angle, defines the formation of spatially twisted (cholesteric) structure with characteristic for it physical and chemical properties.

Key words: helically twisted structures modelling and their cross section, sections of Dinoflagellate chromosomes, slices of DNA cholesteric liquid-crystalline phase, particles of DNA cholesteric liquid-crystalline phase