

# DNA 的力学问题\*

索 瑾 樊学军 杨桂通

太原工业大学应用力学研究所, 太原 030024

**摘 要** 介绍了目前采用连续介质力学的方法研究脱氧核糖核酸 (DNA) 方面的进展, 包括 DNA 之所以吸引连续介质力学工作者的兴趣所在; 他们应用的研究手段和一些主要的研究成果. 重点放在 DNA 的实验力学的物理、化学基础, 实验的原理和方法. 对目前讨论得较多的 DNA 的超绕构形也作了介绍.

**关键词** DNA, 构形, 连续介质力学, 超绕, 实验

## 1 引 言

近几十年来, 边缘科学在细胞学、免疫学、遗传学、生理学、生物化学和生物物理等领域都取得了迅猛的进展. 现代数学、物理学、化学、力学等方面的新概念和新技术大量渗入到生物科学中来, 使研究的领域达到了生物大分子的水平. 生物力学作为一门边缘学科, 不仅仅是生物学与力学的简单叠加, 它是多种学科互相渗透的产物. 目前生物力学的研究, 同样深入到了细胞和分子水平. 从连续介质力学的角度研究 DNA 的问题也是从此开始.

1886 年孟德尔发现遗传定律以来, 各种学科的学者就都密切关注着遗传学的研究成果. 1900 年光学显微镜可以观察到细胞核的分裂, 细胞核中染色体的神奇行为引起了科学家们的浓厚兴趣. 1953 年, X 射线衍射技术在生物学上的应用, 导致了 DNA 分子双螺旋结构的发现<sup>[1]</sup>. 随后, 电子显微镜和扫描隧道显微镜 (STM) 使人们可以观察到 DNA 的各种构像<sup>[2,3]</sup>. 同时各种物理学、力学上的测试技术——光学的、光电的、电磁的、机械的等开始不断地丰富着人们对 DNA 的空间结构和行为的了解.

对 DNA 独特的结构, 量子力学正从考虑每个原子相互结合的水平向上计算, 力图给出完整的 DNA 构像. DNA 由几十万到几百万个原子组成, 目前的计算机还远不能完成量子力学要求的计算量. 同时, 正由于 DNA 是如此大的一个分子, 我们完全有理由把它看成一个由连续介质组成的结构, 从宏观角度研究它. 这就向经典力学展示了一连串可能解决的问题<sup>[4~8]</sup>: DNA 的各种开环、闭环、超绕、扭曲和包装均有 DNA 内部应力作用的表现, 这些力是如何形成的? 如何自我控制? 已经观察到 DNA 复制和转录能力与 DNA 分子局部的弹性力学性质有密切关系, 这种力学关系的细节是怎样的? DNA 分子展开后应该是很长的分子链, 但它确挤压存在于核小体内, 长度压缩了 10000 倍以上而遗传信息不变. 如此大的扭曲、折叠倍数, DNA

\* 山西省体育运动委员会科研基金资助项目

收稿日期: 1996-08-17, 修回日期: 1997-10-05

力学性质是怎样的呢？经典力学该如何描述 DNA？DNA 的变形满足弹性力学吗？若满足，如此的大变形一定伴随着大的能量变化，对 DNA 的性质有什么影响？

现在要回答所有这些问题还为时尚早。目前，基于弹性力学模型，从连续介质力学的角度作 DNA 的力学参数测量是各种方法的主要内容。

## 2 DNA 的结构<sup>[9,10]</sup>

细胞中遗传物质的主要载体是染色体。而染色体是由 DNA (desoxyribonucleic acid) 和蛋白质组成的。其中 DNA 是遗传信息的携带者。DNA 是两条各由四种脱氧核苷酸连接而成的长链化合物，每个脱氧核苷酸是由一分子磷酸、一分子脱氧核糖和一分子含氮的碱基组成的。DNA 中的碱基有四种，腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G)、胞嘧啶 (C) 和胸腺嘧啶 (T)。DNA 分子具有特殊的空间结构，每个 DNA 都是由两条很长的、围绕一个共同主轴盘转的螺旋状脱氧核苷酸链组成 (如图 1 所示)，双螺旋的两链方向相反。每股长链由脱氧核糖和磷酸组成骨架结构，排列在外侧；两条长链之间具有横档，由一对碱基组成，每对碱基相互对应，通过氢键联合起来，形成碱基对，从而将两股链结合在一起。腺嘌呤 (A) 总是与胸腺嘧啶 (T) 配对，鸟嘌呤 (G) 总是与胞嘧啶 (C) 配对。因此，双螺旋的一条链为另一条的互补链。遗传信息就寓于沿链精确排列的碱基顺序中。一般而言，DNA 是由数以万计的碱基对组成的很长的双螺旋分子。例如，人体中的 DNA 可长达  $1 \sim 2\text{m}$ ，而细胞核直径不到  $10\ \mu\text{m}$ 。

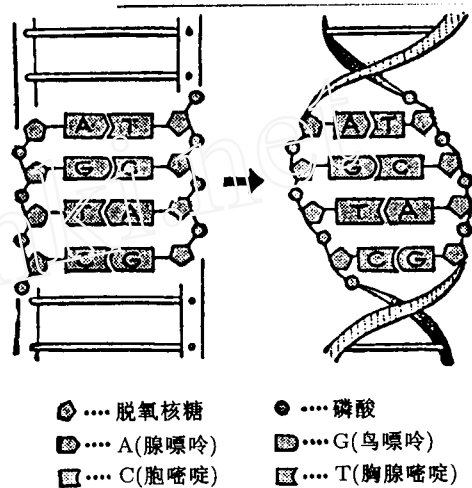


图 1 DNA 分子的结构模式图  
(左) 平面结构 (右) 空间结构

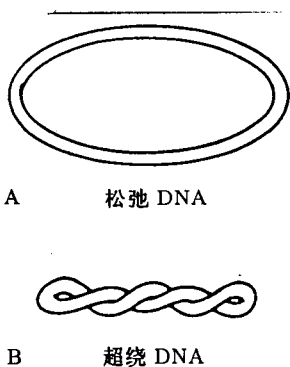


图 2 超绕 DNA 示意图

大多数 DNA 分子都是环状的。“环状”是指 DNA 链的连续性而非其几何形状。也有一些 DNA 分子是线形的。环状 DNA 双螺旋的主轴本身也会再卷曲成一种超缠绕 (supercoiling) 状态 (简称“超绕”)，如图 2 所示。超绕将极长的 DNA 包装在极小的核内，形成了一种非常紧密的状态。

由于两个原因，超绕可能在生物学上有其重要性。超绕 DNA 在形状上比松弛的更紧密。因此超绕可能对 DNA 的包装有作用；超绕可影响双螺旋的解链程度从而导致它与其它分子间相互作用的改变。特别是负向超绕会导致双螺旋的解链。超绕的 DNA 由于变形将储存能量。

描述闭合环状 DNA 的一个重要参数是它的联接数  $Lk$  (linking number)。联接数的定义是一股围绕另一股所绕的圈数，它必须是一个整数，具有拓扑不变性。但扭曲数  $Tw$  (twisting number)

和超绕数  $Wr$  (writhing number) 在 DNA 的变形过程中可以变化, 它们之间存在以下关系

$$Lk = Wr + Tw \quad (2.1)$$

### 3 DNA 实验力学方法

目前, 把 DNA 看成由连续弹性材料组成的沿其主轴方向的棒状结构后, 关于 DNA 力学性质的实验研究主要是借助于 DNA 的已知物理性质, 通过测量 DNA 受力的大小和在这一力作用下产生的变形得到 DNA 的基本力学参数<sup>[4]</sup>. 例如, 抗弯曲弹力常数  $A$ ,  $A = E'I$ ,  $E'$  是弹性模量,  $I$  是转动惯量; 抗扭转弹力常数  $C$ ,  $C = G'J$ ,  $G'$  是剪切弹性模量,  $J$  是极转动惯量; 比值  $A/C$ ; 弹性系数  $K'$ ,  $K' = \text{力} / \text{变形}$ , 等.

对 DNA 的加力方法比较多, 电场力、离心力、粘性力, 最新的方法还有让 DNA 抓住一个微小的磁粒子后, 对 DNA 施加磁力<sup>[11]</sup>.

对 DNA 的变形测量要困难得多、达到希望的精度也更难. DNA 分子是如此之小, 它的直径只有  $20\text{\AA}$ 、螺距  $34\text{\AA}$ <sup>[9]</sup>, 这一尺度比可见光波长小, 因而光学显微镜无法直接观察到它们. 但是, 间接地利用各种光学方法, 又是最方便有效的测量 DNA 结构和尺度的方法.

下面对目前已有的各种 DNA 实验研究<sup>[3,11~13]</sup> 中涉及到的基础力学方法作一简单介绍.

#### 3.1 光吸收方法 (light absorbing)

A.C. 斯皮林<sup>[14]</sup> 详细描述了这一方法. 已知 DNA 分子对光的吸收具有强烈的各向异性, 例如, 把 DNA 分子沿一个方向拉展成定向薄膜, 或借助于电场使溶液中的 DNA 主轴有一定取向时, DNA 即表现出强烈的负号二色性. 因此研究 DNA 对光的吸收程度, 可以作为判定 DNA 主轴取向程度的标志. 理论分析表明, DNA 分子中的碱基为生色团, 它在  $260\text{nm}$  波段有最大紫外光吸收. 当碱基平面同光波的电向量一致时, 对平面偏振紫外光有最大的吸收.

由图 1 可见, DNA 的碱基平面基本上垂直于 DNA 的主轴线, 因此, 当偏振光波的电向量与 DNA 分子的主轴的方向垂直时, 其光吸收最强. DNA 在溶液中可能是无规线团的形式, 它的碱基平面也是杂乱无章的. 但给 DNA 溶液施加外电场  $E$  时, DNA 主轴将沿电场取向. 已知 DNA 在溶液中呈感应偶极矩<sup>[14]</sup>, 量值为

$$\mu = qd \quad (3.1)$$

式中:  $q$  是电荷;  $d$  是 DNA 长度.

Vanholde<sup>[15]</sup> 给出下式描述溶液中光吸收系数  $\epsilon$  与偶极矩  $\mu$  的关系

$$\epsilon = \epsilon_{\max} \frac{\int_0^\pi \cos^2 \theta \exp(\mu E \cos \theta / \kappa T) \sin \theta d\theta}{\int_0^\pi \exp(\mu E \cos \theta / \kappa T) \sin \theta d\theta} \approx \frac{\epsilon_{\max}}{3} \left[ 1 + \frac{2}{15} \left( \frac{E\mu}{\kappa T} \right)^2 \right] \quad (3.2)$$

式中:  $E$  是外电场强度,  $\theta$  是偶极矩与场的方向间的夹角,  $\kappa$  是玻尔兹曼常数,  $T$  为温度.

由上式可知: 把 DNA 看成一个个悬浮在溶液中, 长度为  $d$  的弹性小棒, 保持实验条件不变, 在电场强度  $E$  变动的情况下, 可以从光吸收  $\epsilon$  反映出的 DNA 长度  $\mu(d)$  的变化上, 得到力与长度及面积之间的关系. 这一方法得到的弹性系数是大量 DNA 的统计值或统计关系, 必须通过反算才能得到单个 DNA 的量值<sup>[11,16]</sup>.

本方法的操作是在紫外分光光度计下实现的, 如图 3 示.

关于 DNA 光吸收技术的最新发展是对 DNA 溶液施加脉冲电场或正交电场。DNA 的主

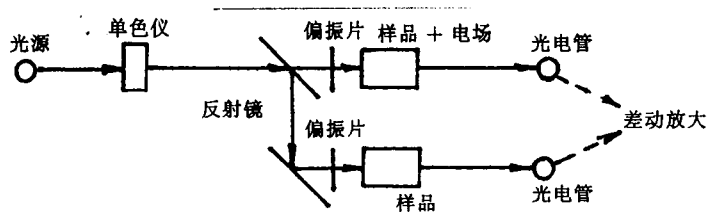


图 3 光吸收方法

轴在阶跃脉冲电场作用下，由取向无序变到取向有序，或者在相反的过程中由取向有序变到无序，都要经历一个弛豫过程，其弛豫时间与 DNA 的转动惯量有关。同样在外加交变电场作用下，DNA 要作摆动运动，其摆幅及摆动运动与外场之间的相移也与 DNA 的转动惯量有关。若把 DNA 看成可伸长的棒状结构，则其转动惯量与 DNA 长度的立方成正比。因此，这一技术对测 DNA 的长度非常敏感，可以精确地推算出 DNA 的长度变化。实际 DNA 还受到溶液的布朗热运动影响，这里所谓取向有序，取向无序及摆幅，长度变化等都是在统计意义下说的，是用统计分布状态来表示的，其变化也是指统计分布状态的变化。以上现象也称为“旋转扩散”。这些技术的细节请见文献 [17~19]。

### 3.2 粘性方法 (viscometry)

DNA 在溶液中运动时要受到溶剂的粘性阻力。流体力学实验证明：对雷诺数很小的运动，粘性阻力与运动物体的形状有很大的关系。DNA 在溶液中的运动满足这一关系。设溶液中 DNA 分子受到一外力  $F$  的作用。此力可能是电场力或离心力。由于加速过程很短 ( $10^{-9}$ s)，DNA 可以看成是在力平衡下作匀速运动，因此有下式

$$F = fv \quad (3.3)$$

式中： $f$  是与分子大小和形状密切相关的摩擦系数； $v$  是分子速度。流体力学已经得出了  $f$  与形状的关系如下 [15]：对球体来说

$$f = 6\pi\eta R \quad (3.4)$$

式中： $R$  为球半径， $\eta$  为溶剂的粘性系数；

对长圆形椭球

$$f = 6\pi\mu R_p \frac{(1 - b^2/a^2)^{1/2}}{(b/a)^{2/3} \ln((1 + (1 - b^2/a^2)^{1/2})/(b/a))} \quad (3.5)$$

式中： $a, b$  为长、短轴， $R_p$  为等体积球的半径， $R_p = (a^2b)^{1/3}$

对长棒

$$f = 6\pi\eta R_r \frac{(a/b)^{2/3}}{(3/2)^{1/3} (2 \ln 2(a/b) - 0.11)} \quad (3.6)$$

式中： $a$  为棒长的一半， $b$  为半径， $R_r$  为等体积球的半径， $R_r = (3b^2a/2)^{1/3}$ 。

由此可知，当知道外力  $F$  和能够测到 DNA 的运动速度  $v$  时，可算得系数  $f = \frac{F}{v}$ ；进一步假设 DNA 的形状是棒状，则由上表可从  $f$  推算出 DNA 的形变参数  $a/b$  的值。由此得到力  $F$  与形变之间的关系。

使用超速离心机, 可以给 DNA 一个离心力. 如图 4 示, 对已知分子量的 DNA 施加的离心力为

$$F = \omega^2 r(m - m_0) \quad (3.7)$$

式中:  $m$  是 DNA 的质量,  $m_0$  是同体积的溶液的质量.

如图 4, 将 DNA 染色或使用暗线照相光学系统, 可以方便地测出 DNA 界面在溶剂中运动过的距离  $s$ , 除以离心作用时间  $t$ , 即得到了速度  $v$  [20].

电泳法是生物实验中大量使用的方法 [12,13], 电泳法的基础是基于线状 DNA 分子在溶液中能形成两端带电荷的离子, 加入外电场后 DNA 将沿电场方向运动的原理. DNA 受到的电场力为

$$F = Eq \quad (3.8)$$

式中:  $E$  是电场强度,  $q$  是 DNA 所带电荷.

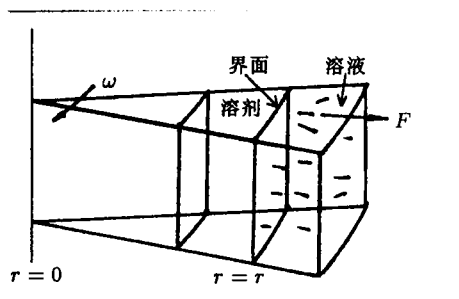


图 4 DNA 受离心力作用示意

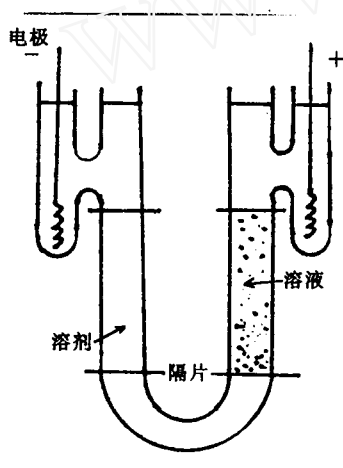


图 5 电泳装置图

图 5 为一典型电泳装置图.

为了产生电泳, 使一个恒定电流通过管子. 直接由装置的尺寸和电压计算电场强度  $E$  是不实际的. 考虑管子中任意处的一截面为  $a$ , 厚度为  $dx$  的体积元, 若此体积的电位差为  $dV$ , 则

$$dV = -idR \quad (3.9)$$

式中:  $i$  是电流,  $dR$  是体积元电阻, 负号相当于约定电流流向电位较低处. 因为  $dR = dx/ka$ , 这里  $k$  是溶液电导率, 电场强度  $E$  等于电位梯度  $-dV/dx$ , 所以

$$E = -dV/dx = i/ka \quad (3.10)$$

知道截面积  $a$  和电导率  $k$  后, 通过测定电流  $i$  即得到电场  $E$ .

如图 5 示, U 形管一侧装入溶液 (其中 DNA 染色, 呈浅色)、另一侧装入溶剂 (无色), 移走隔片的同时通电开始电泳, 使用暗线照相技术, 通过高度精确测定界面的运动, 可以准确地确定 DNA 的运动速度  $V$  [13].

### 3.3 光的散射 (light scattering)

光波是一按正弦规律变化的电磁场, 当它沿某一方向照射在溶质分子上时, 会使分子内的电子发生正弦振荡, 这一振荡又会产生向非入射方向的能量发射. 这就是散射的物理学基础.

图 6 给出光散射光度计的简图.

当溶质是有一定结构的大分子, 尺度又比光波大时, 溶质分子不能再被看作一个点散射.

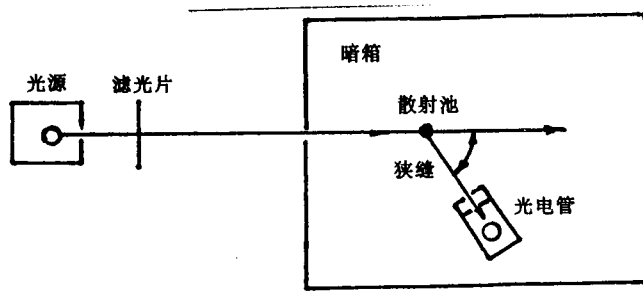


图 6 光散射光度计简图

设分子里的各散射点的中心相对固定，线状 DNA 即是如此，则总散射光是这些散射点的散射光相互干涉作用的结果 [21]。

设  $P(\theta)$  是 DNA 在  $\theta$  角上的散射强度与具有同样分子量的点散射强度之比，可以得下式

$$P(\theta) = \frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{\sin(hR_{ij})}{hR_{ij}} \quad (3.11)$$

式中： $N$  是分子内散射中心点数， $R_{ij}$  是任一中心对  $i$  和  $j$  之间的距离， $h = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}$ ， $\lambda$  是光波长。

上式允许我们从光散射角确定分子的大小。已知分子的回转半径  $R_G$  可以表示为

$$R_G = \frac{1}{2N^2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N R_{ij}^2 \quad (3.12)$$

则简化 (3.11) 式，得

$$P(\theta) = 1 - \frac{16\pi^2 R_G^2}{3\lambda^2} \sin^2 \frac{\theta}{2} + \dots \quad (3.13)$$

在上式中，测得了  $P(\theta)$  和  $\theta$  的值即可算出  $R_G$  的值，而  $R_{ij}$  和  $R_G$  正是反映分子结构与尺度的参数 [22]。

表 1 列出了一些  $R_G$  与结构和尺度的关系。

表 1

球	长圆椭球	极长棒	无规线团
$\sqrt{3/5}R$	$\sqrt{2 + r^{-2}/5}a$	$L/\sqrt{12}$	$(h)^{1/2}/\sqrt{6}$
$R =$ 球的半径	轴为 $2a, r2a$	$L =$ 棒长	$h =$ 均方端间距

### 3.4 圆二色性和旋光 (dichroism and birefringence)

光可用它的电场和磁场的振幅和方向来表征。若对着偏振光来的方向看，电矢量在垂直于光线运动方向的平面内旋转称为圆偏振光。按旋转方向的不同，有右旋圆偏振光和左旋圆偏振光之分。如果让偏振光通过吸收此波长的物质溶液，就会发现吸光度依赖于光的左右旋。此即物质的圆二色性，圆二色性实际也是光吸收的一种 [18]。

如果任意波长的平面偏振光通过一种旋光性物质，偏振平面将旋转，如图 7。人们发现光旋转的角度依赖于物质的结构、液层厚度及浓度。旋光实际上是光的折射现象，也称圆双折射。

圆二色性和旋光是研究分子螺旋结构的有力工具。目前，主要有两种使用二色性和旋光对 DNA 结构的研究方法：瞬时电场双折射 (TEB)<sup>[18]</sup> 和瞬时电场二色性 (TED)<sup>[19]</sup>。这些方法都是给 DNA 溶液加脉冲电场。将 DNA 看成棒状结构，如前述在电场作用下 DNA 分子主轴要取向，电场消失 DNA 分子又要变成杂乱无章。这一回变有个程度和时间上的问题，表现为光学各向异性变为各向同性的时间滞后，如前述 (3.1)，它和 DNA 的长度有紧密的联系。Frederieq 和 Houssier<sup>[13]</sup> 详细地描述了 TEB 法和 TED 法的操作过程和设备。文献 [19] 给出最新的 TEB 和 TED 法的结果。

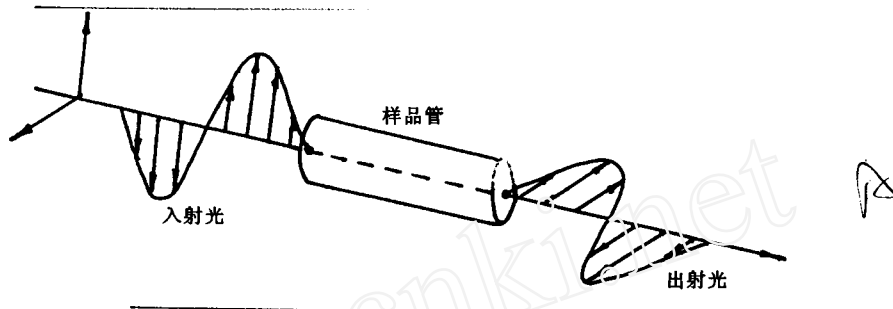


图 7 平面偏振光通过旋光性物质后旋转

### 3.5 生物化学方法

Shore et al. 给出一种借助催化连接酶环合 DNA (ligase-catalyzed cyclization of DNA) 来判定 DNA 刚性的方法。通过测量一个比例：带有粘性端点 DNA 发生环合的分子数相对那些固有刚性的分子数，可以推测出呈棒状结构的 DNA 的扭转力学刚性<sup>[23~25]</sup>。

### 3.6 凝胶电泳 (gel electrophoresis)

在粘性法中已经介绍了电泳的基本概念。这里所说的凝胶电泳是在电解液中使用某种支持物，例如，聚丙烯酰胺凝胶电泳。凝胶所起的作用有二：(1) 它是中性物质，不与 DNA 或溶液发生化学反应，它可以形成一种网状物，防止对流的产生。(2) 它是电中性的，不受电场干扰，能使溶液维持一个相当稳定的 pH 梯度。

图 8 是一凝胶电泳装置的简图。

使用一种凝胶薄膜作支持物，长时间电泳之后，不同尺度的线状 DNA 将被分离在凝胶的不同部位。而且 DNA 沿主轴方向运动。把薄膜分割，可以得到含已知量、已知尺度、各向异性的 DNA 薄膜。这种薄膜即是研究 DNA 力学性质的最好材料。关于凝胶电泳的最新发展有：脉冲电场凝胶电泳<sup>[26~28]</sup> 和正交变换电场凝胶电泳<sup>[28,29]</sup>。

以上几种方法都有如下特点：

- (1) 把 DNA 看成长度可变的弹性棒模型。
- (2) DNA 的力学参数不是通过直接测量得到的，而必须借助于某种 DNA 的物理性质。
- (3) 这些测量方法给出的仅是大量 DNA 的一个统计平均值。

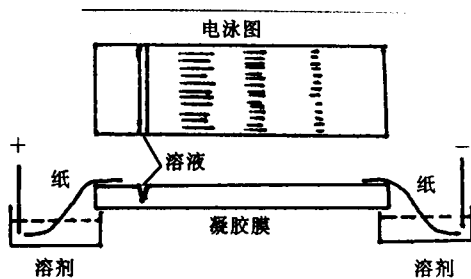


图 8 凝胶电泳装置简图

(4) 受其它实验条件, 如 DNA 浓度、离子强度、温度等影响较大。

### 3.7 直接力学测量<sup>[13]</sup>

直接对单个 DNA 操作和观察应该才是获得 DNA 力学参数的理想方法。

Steven 和 Laura<sup>[11]</sup> 设计了一个直接测量单个 DNA 分子弹性参数的方法。其实验原理如图 9。此方法与电泳法相似, 在底板与盖板之间是 DNA 溶液, 溶液在外加泵或底板倾斜时, 由重力作用形成流场。线状 DNA 的一端依靠其化学活性粘附在底板上, 另一端粘结了一个磁粒子。磁粒子的直径约  $2.9\mu\text{m}$ , 比 DNA 的直径大得多。预先对磁粒子染色后, 在诱导光作用下, 可用荧光显微镜观察到磁粒子的位置。

当加有外磁场, 溶液同时流动时, 磁粒子要受到磁力、粘性液动力和 DNA 的拉力。磁粒子受到的液动力远比 DNA 受到的液动力为大 (磁粒子的尺度远大于 DNA, 如 3.2 所示)。考虑到盖板与底板之间距离较小 (相对

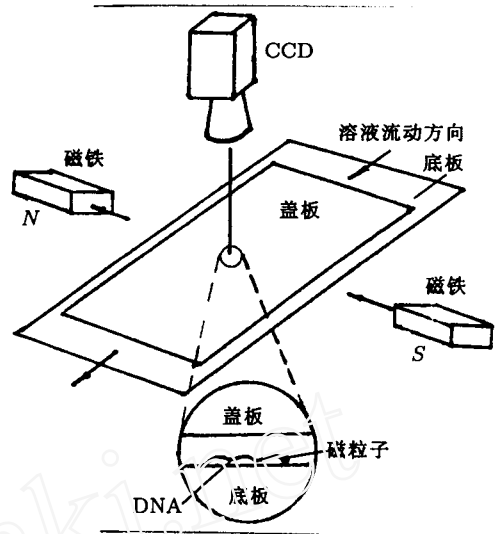


图 9 直接测量单个 DNA 分子弹性参数

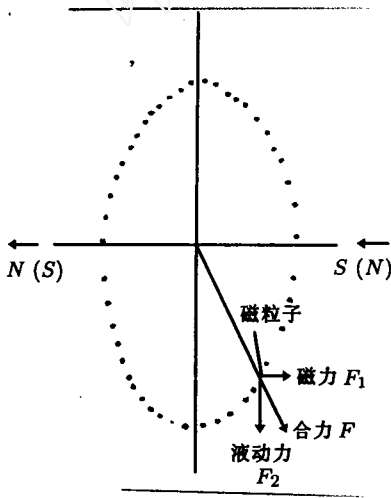


图 10 磁粒子运动方向改变情况

图中  $F_1$  是作用在磁粒子上的磁力,  $F_2$  是作用在磁粒子上的液动力。

当显微镜捕捉住一个磁粒子后, 固定溶液流速 (方向可作  $180^\circ$  变化), 最好保持一个可能的最大液动力 (正负号)。改变外磁铁 (Nd-Fe-B 永磁铁, 直径 10 mm) 的远近和极性, 即改变作用在磁粒子上的磁力  $F_1$  的大小和正负号。如果磁粒子已粘接在一个 DNA 上, DNA 的另一端也粘接在底板上, 则磁粒子的位置一定会形成如图 10 示的椭圆形状。否则, 磁粒子将沿一个固定方向运动下去。

将磁粒子形成椭圆的各个点位置和相应的磁力、液动力记录下来, 则可得到外力作用下的

于磁粒子直径), 磁粒子液动力的计算需在式 (3.4) 基础上作一修正

$$F = 6\pi\eta RV \left( 1 + \frac{9R}{16d} \right) \quad (3.14)$$

式中:  $d$  是磁粒子中心到底板的距离。

磁力的作用是可以精确测定和标定的, 调整两磁极间的距离, 可以改变作用在磁粒子上的磁力。

因为显微镜看不到 DNA 本身, 那么 DNA 是否有一端已经固定在底板上? 固定点在哪里? 磁粒子是否已被 DNA 抓住? 回答了这些问题才能由磁粒子的位移计算 DNA 的变形。Steven 通过设计一个巧妙的观察程序解决了这一问题。设有如图 10 示的观察结果。



DNA 的伸长性质.

Steven 借助于 CCD 将磁粒子位置显示在屏幕上. 他们还考察了各种染色剂和金属离子对 DNA 力学性质的影响, 最后得到在  $10^{-14} \sim 10^{-11}$  N 的力作用下, DNA 分子在三种浓度溶液中的力与伸长之间的关系曲线, 如图 11.

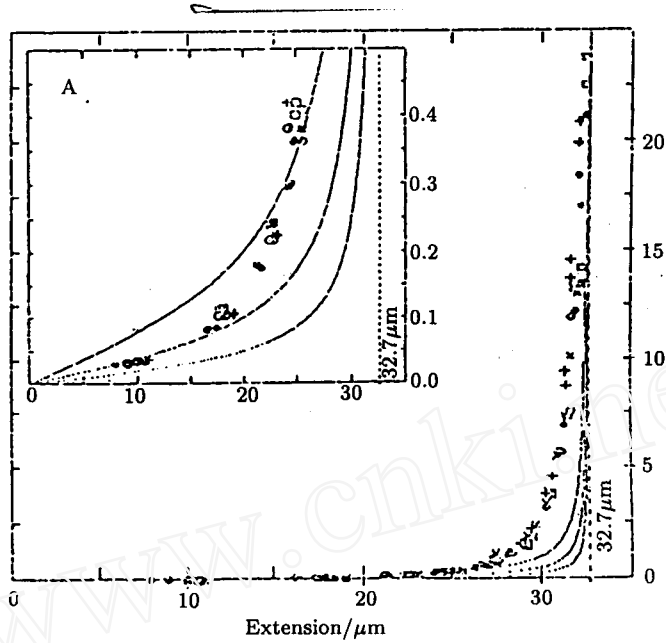


图 11 DNA 分子在三种浓度溶液中的力与伸长之间的关系曲线 [11]

Steven 的结果说明: 自由铰接链模型 (FJC) 和 “蚯蚓” 模型 (WLC)<sup>[4]</sup> 对 DNA 分子受力与变形的描述均有不足之处, 也说明了目前对 DNA 力学性质的研究还远远不够.

### 3.8 实验结果

前述几节介绍的各种实验原理和方法, 基本上覆盖了目前已报道有结果的各种方法. 但由于每种方法的具体实验条件和选用的 DNA 种类差别太大, 给出的结果差别也较大, 即使是同一种方法, 不同的人也报道了不同的结果. 本文不可能详细地叙述每一个人的实验细节, 更无法验证, 只能择录一些典型结果如下.

Hagerman<sup>[4]</sup> 根据 TEB 法和催化连接酶环合 DNA 法的实验数据, 判定 DNA 的抗扭转弹力常数为:  $C = 2.9 \times 10^{-19}$  erg-cm.

Shimada 和 Yamakawa<sup>[30]</sup> 根据文献 [23, 24] 的实验数据推算 DNA 的抗扭转弹力常数为:  $C = 2.4 - 3.0 \times 10^{-19}$  erg-cm.

Frank-Kamenetskii 等<sup>[31,7]</sup> 根据文献 [32] 的实验数据计算和分析 DNA 的抗扭转弹力常数为:  $C = 3.0 \times 10^{-19}$  erg-cm.

Benham 等<sup>[33,7]</sup> 推断抗弯曲弹力常数与抗扭转弹力常数的比值为:  $A/C \approx 1.2$ . 据此可以算得:  $A = 2.9 - 3.6 \times 10^{-19}$  erg-cm.

Yanagida 等<sup>[13,34]</sup> 基于自由铰接链模型测出 DNA 的链节长度为  $470\text{\AA} \sim 700\text{\AA}$  时弹性系数是:  $k' = 0.25 \times 10^{-8}$  dynes/cm; 把 DNA 看成长棒时摩擦系数为:  $f = 10^{-4} - 10^{-5}$  dynes s/cm.

Steven et al.<sup>[11]</sup> 的实验结果显示 (图 11): DNA 受力与变形之间的关系是非线性的.

### 3.9 其它

除了以上方法外, 电子显微镜当然是最直接的观察手段. 透射电子显微镜可以观察到单个 DNA 的结构, 但是它有两个缺点不适合 DNA 的力学实验<sup>[35]</sup>: (1) 透射电子显微镜只能观察固态晶体. (2) 观察环境不允许对 DNA 施以实时的外力. 最近出现使用扫描隧道电子显微镜的电子束探针来操作 DNA, 并作力学实验的技术<sup>[13]</sup>. 传统的原子力显微镜 (AFM) 在作了样品制备方法的改进, 采用敲打成像模式 (Tapping Mode) 后, 也可用来观察溶液状态下的 DNA 表面结构<sup>[36,37]</sup>.

X 射线衍射技术是研究 DNA 结构的最古老的技术, 正是依靠它发现了 DNA 的双螺旋结构, 解释了 DNA 的遗传功能. X 射线衍射技术的基础是布雷格定理, 它是针对晶体而言的. 因此, DNA 在作 X 射线变形前后的观察时必须处于静止固定状态. X 射线与电子显微镜一样也存在力学实验操作困难的缺点.

### 4 DNA 的超绕变形分析

DNA 的折叠与扭曲的构形中, 最典型和研究得最多的是关于 DNA 的超绕, 如图 2 示. 已经对 DNA 的超绕构形与 DNA 内的弯曲应力、扭转应力的关系作过最小能变化的成功的模拟. 用这一方法研究 DNA 的超绕时, 一般将 DNA 看作是各向同性的、具有圆形截面的线弹性长棒. 尽管这一假设过于简单, 然而 DNA 的超绕变形仍是一个非常复杂的非线性问题. 为了便于说明, 我们采用小变形假定. 这时长度为  $L$  的 DNA 的弹性变形能可以表示为

$$\sum(\bar{r}) = \frac{1}{2} \int_L [A\kappa^2 + C(\omega - \omega_0)^2] ds \quad (4.1)$$

式中  $\bar{r}(s)$  是 DNA 轴线的空间坐标,  $\kappa$  为轴线的局部曲率,  $\omega$  是单位轴线长度上的扭转角,  $\omega_0$  对应 DNA 处于松弛状态时单位扭角. (4.1) 式右端第一项表示 DNA 的弯曲变形能, 第二项对应扭转变形能.  $A$  和  $C$  表示弯曲和扭转弹力常数.

DNA 复制时, 由于拓扑异构酶的作用, 可在 DNA 链上形成切口, 待超绕迅速解开后, 再将切口连接. 这一过程改变了 DNA 的联接数. 令  $\Delta Lk = Lk - Lk_0$ , 其中  $Lk_0$  表示松弛状态时 DNA 的联接数. 分析 DNA 的超绕变形, 指的就是在给定  $\Delta Lk$  时, DNA 变形的平衡状态. 由 (2.1) 式可得

$$\Delta Lk = Wr + Tw - Tw_0 \quad (4.2)$$

其中松弛状态时 DNA 的超绕数假设为 0. 根据扭曲数  $Tw$  和单位长度扭角  $\omega$  的关系为

$$Tw = \frac{1}{2\pi} \int_0^L \omega ds \quad (4.3)$$

由线性扭转理论, 可以假设  $\omega$  为常数. 将 (4.2)、(4.3) 式代入 (4.1) 式得到

$$\sum(\bar{r}) = \frac{1}{2} \int_L A\kappa^2 ds + \frac{2\pi^2 C}{L} (\Delta Lk - Wr)^2 \quad (4.4)$$

其中  $Wr$  可由 Gauss 积分表示为

$$Wr = \frac{1}{4\pi} \int_0^L \int_0^L \frac{[\bar{t}(s_1) \times \bar{t}(s_2)] \cdot [\bar{r}(s_1) - \bar{r}(s_2)]}{|\bar{r}(s_1) - \bar{r}(s_2)|^3} ds_1 ds_2 \quad (4.5)$$

式中  $\bar{t}(s) = d\bar{r}/ds$ .

$A$  和  $C$  的典型数值可以采用 Hagerman<sup>[4]</sup> 测定的在稀释 NaCl 溶液中的估计值. 显然, 给定  $\Delta Lk$  后, 超绕变形 DNA 的平衡位置可以通过  $\sum$  取极小值而获得. 上面所述的这一理论框

架最早由 Fuller<sup>[38]</sup> 提出, 由于 DNA 是具有一定空间结构的链状物, 当其中某一段占据空间的某一位置时, 其余部分不能重叠占据. 因而在寻找 DNA 的平衡解时, 必须考虑大量出现的接触条件. 这使得问题变得极为复杂化. 随着计算机的发展, 近年来, 以 Olson 为主的研究小组对这一问题进行了深入的模拟计算研究<sup>[39~42]</sup>. Hao 和 Olson<sup>[39,40]</sup> 提出了一类约束条件, 并采用 B-样条函数法、模拟退火优化法和 Monte Carlo 方法, 计算得到了 DNA 的超绕变形轨迹. 研究表明, DNA 的超绕数与  $\Delta Lk$  成正比. 计算证实了螺旋状的构形是不稳定的, 最终将转化为一种超绕状态. 由于计算中采用有限的控制点, 这一方法不能很好地模拟局部的变形波动. Zhang 和 Olson<sup>[41]</sup> 采用 Fourier 级数表达, 结合加速 Monte Carlo 方法, 使计算效率得到了改善, 并且进一步证实了 B-样条方法的可行性. Fourier 级数表达的不足在于 Fourier 系数物理意义不明确, 调整某个 Fourier 系数将影响整体的变形状态. 文献 [41] 的研究表明, DNA 的  $Wr$  和  $\Delta Lk$  具有一定的线性关系; 平衡位置的弹性能随着  $\Delta Lk$  的增加而增加. 研究还发现, DNA 的平衡位置往往不止一个. 图 12<sup>[41]</sup> 给出了  $\Delta Lk = 2 \sim 7$  时, DNA 的一种或几种平衡状态. Bret<sup>[43,44]</sup> 研究了 DNA 平衡解的灾变性质.

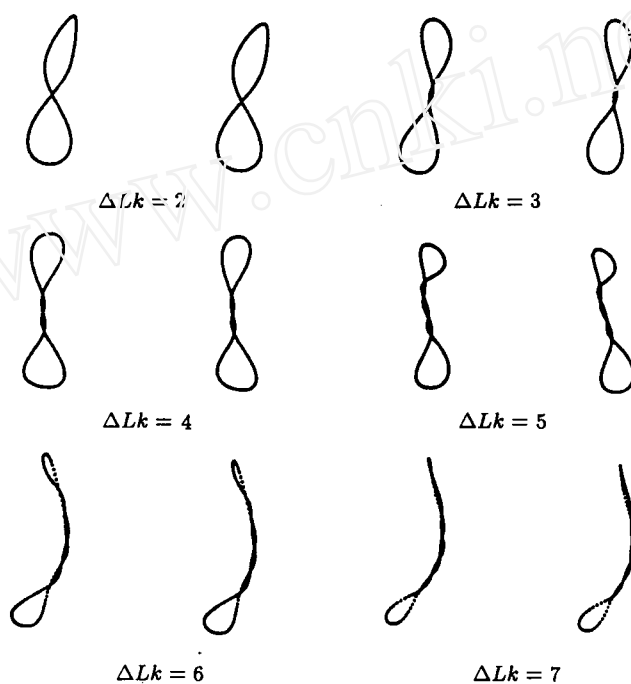


图 12 不同  $\Delta Lk$  时 DNA 的平衡位置<sup>[41]</sup>

Yang, Tobias 和 Olson<sup>[22]</sup> 等引入了有限单元法, 在大变形理论的基础上, 推导了 DNA 变形的变分格式. 数值计算结果支持了文献 [38, 39, 41] 的结论. 同时还发现: (1) 对于给定的  $\Delta Lk$ , 往往对应数个平衡状态; (2) 当  $Wr$  为奇数或接近奇数时, 平衡态往往对应很小的扭转变形能.

以上研究表明, 关于 DNA 超绕变形的问题远没有完全解决, 哪些平衡态是稳定的? 哪些平衡态是不稳定的? 如何判断稳定性? 约束条件如何提将更合理? 此外, DNA 分子的精细结构表明, DNA 不是一个轴对称结构, 因而严格地说, 不能将 DNA 简化成各向同性的弹性棒, 必须考虑其非均匀性和非圆截面性. 在细胞体内, DNA 分子还将与其周围的介质发生力学作用. 如何考虑这些作用, 这些作用又如何影响 DNA 的变形和其功能的实现, 都是有待于研究

的问题.

## 5 结 语

丰富多采的 DNA 宏观力学现象正在给生物力学的研究带来勃勃生机. 由于 DNA 的特殊构形, 以及如此的超大变形, 目前还不能解释的力学现象都成为生物力学工作者诱人的用武之地. 尽管 DNA 的尺寸太小, 人们还不能方便地观察到它, 更不容易直接操作它, 但是边缘学科的发展给了我们大量的间接手段, 也得到了许多可信的实验成果. 本文仅就涉及 DNA 连续介质力学的一些最新发展作了简单的综述, 随着新概念和新技术的不断涌现, 随着这些技术在生物力学中的应用, 我们相信 DNA 连续介质力学的发展一定会给传统的经典力学带来活力.

## 参 考 文 献

- 1 麦克弗森 A Jr. X 射线衍射分析用蛋白质和核酸晶体的生长及初步研究. 北京: 科学出版社, 1983
- 2 Travaglini G, Rohrer H, Amrein M, Gross H. Scanning tunneling microscopy on biological matter. *Surf Sci*, 1987, 181(1~2): 380~390
- 3 Binning G, Rohrer H. Scanning tunnel microscopy. *IBM Journal of Research and Development*, 1986, 30(4): 355~369
- 4 Hagerman P J. Flexibility of DNA. *Annu Rev Biophys Biophys Chem*, 1988, 17: 265~286
- 5 Riemer S C, Bloomfield V A. Packaging of DNA in bacteriophage heads: some consideration on energetics. *Biopolymers*, 1978, 17(3): 785~794
- 6 Richmond T J, Finch J T, Rushton B, Rhodes D, Klug A. Structure of the nucleosome core particle at 7Å resolution. *Nature*, 1984, 311 (5936): 532~537
- 7 Vologodskii A. DNA Extension under the action of an external force. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1994, 23: 609
- 8 Wang J C. Cyclic Polymers. Semlyen J A Ed. London: Elsevier Applied Science Publishers, Ltd, 1986, 255
- 9 郭仁, 张和君, 董德祥等编译. 分子细胞生物学. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1990
- 10 Styer L [美]. 生物化学. 唐有祺等译. 北京: 北京大学出版社, 1990
- 11 Smith S B, Finzi L, Bustamante C. Direct mechanical measurements of the elasticity of single DNA molecules by using magnetic beads. *Science*, 1992, 13(258): 1122~1126
- 12 Walker J M. Methods in molecular biology. Vol.2: Nucleic acids. N J Numana Press. 1984, 375
- 13 Bustamante C. Direct observation and manipulation of single DNA molecules using fluorescence microscopy. *Annu Rev Biophys Biophys Chem*, 1991, 20: 415~446
- 14 斯皮林 A C. 核糖核酸大分子结构的某些问题. 北京: 科学出版社, 1963, 2
- 15 Van Holde K E. Physical Biochemistry. N J Prentice-Hall, 1971, 24
- 16 Hagerman P J. Analysis of the ring-closure probabilities of isotropic wormlike chains: application to duplex DNA. *Biopolymers*, 1985, 24(10): 1881~1897
- 17 Ding Da-Wen, Rill R, Van Holde K E. Dichroism of DNA in electric fields. *Biopolymers*, 1972, 11(10): 2109~2124
- 18 Fredericq E, Houssier C. Monographs on physical biochemistry: electric dichroism and electric birefringence. New York: Oxford Univ Press, 1973, 220
- 19 Hagerman P J. Application of transient electric birefringence to the study of biopolymer structure. *Methods Enzymol*, 1985, 117: 198~219
- 20 Zimm B H. Chain molecule hydrodynamics by the Monte-Carlo method and the validity of Kirkwood-Riseman approximation. *Macromolecules*, 1980, 13(3): 592~602
- 21 Tanford C. Physical Chemistry of macromolecules. John Wiley & Sons Inc, 1961, 66
- 22 Schurr J M, Schmitz K S. Dynamic light scattering studies of biopolymers: effects of charge, shape and flexibility. *Ann Rev Phys Chem*, 1986, 37: 271
- 23 Shore D, Baldwin R L. Energetics of DNA twisting I. Relation between twist and cyclization probability. *J Mol Biol*, 1983, 170(4): 957~981
- 24 Shore D, Baldwin R L. Energetics of DNA twisting II. Topoisomer analysis. *J Mol Biol*, 1983, 170(4): 983~1007
- 25 Horowitz D S, Wang J C. Torsional rigidity of DNA and length dependence of the free energy of DNA supercoiling. *J Mol Biol*, 1984, 173(1): 75~91
- 26 Carl G F, Olson M V. Separation of chromosomal DNA molecules from yeast by orthogonal-field-alternation gel electrophoresis. *Nucleic Acids Res*, 1984, 12(14): 5647~5664
- 27 Schwartz D C, Cantor C R. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell*, 1984, 37(1): 67~75

- 28 Bustamante C, Smith S B, Gurrieri S. Fluorescence microscopy and computer simulation studies of the mechanisms of reorientation of DNA molecules undergoing pulsed field gel electrophoresis. *Proc SPIE-Int Soc Opt Eng, Symposium on Bio-Imaging and 2-D Spectroscopy*. 1990, 1205: 190~202
- 29 Deutsch J M. The dynamics of entangled polymers. *J Phys*, 1987, 48(1): 141~150
- 30 Shimada J, Yamakawa H. Ring-closure probabilities for twisted wormlike chains. Application to DNA. *Macromolecules*, 1984, 17(4): 689~698
- 31 Frank-Kamenetskii M D, Lukashin A V, Anshelevich V V. Application of polyelectrolyte theory to the study of the B-Z transition in DNA. *J Biomol Struct Dyn*, 1985, 3(1): 35~42
- 32 Smith S B, Aldridge P K, Callis J B. Observation of individual DNA molecules undergoing gel electrophoresis. *Science*, 1989, 243(4888): 203~206
- 33 Benham C J. Onset of writhing in circular elastic polymers. *Phys Rev A: Gen Phys*, 1989, 39(5): 2582~2586

- microscopy. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 1984, 29(5): 329~343
- 35 Frontali C, Dore E, Ferrauto A, Gratton E, Bettini A, Pozzan M R, Valdevit E. An absolute method for the determination of the persistence length of native DNA from electron micrographs. *Biopolymers*, 1979, 18(6): 1353~1373
- 36 Hillner P E, Radmacher M, Hansma P K. Combined atomic force and scanning reflection interference contrast microscopy. *Scanning*, 1995, 17(3): 144~147
- 37 Bezanilla M, Bustamante C J, Hansma H G. Improved visualization of DNA in aqueous buffer with the atomic force microscope. *J Biophy*, 1994, 67: 2454
- 38 Fuller F B. Writhing number of a space curve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1971, 68: 815
- 39 Hao M H, Olson W K. Modeling DNA supercoils and knots with B-spline functions. *Biopolymers*, 1989, 28(4): 873~900
- 40 Hao M H, Olson W K. The global equilibrium configurations of supercoiled DNA. *Macromolecules*, 1989, 22(8): 3292~3303
- 41 Zhang P, Olson W K, Tobias I. Accelerated record-keeping Fourier series Monte Carlo simulations of an isotropic