

УДК 577.323.7

ЗАВИСИМОСТЬ РАЗМЕРОВ ГЛОБУЛЫ ДНК В ГАЗОВОЙ ФАЗЕ ОТ ДЛИНЫ ЦЕПИ

© 2014 г. Т.Н. Горячкова¹, А.С. Козлов², В.М. Попик³, Н.А. Колчанов^{1, 4}, С.Е. Пельтек¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,

e-mail: peltek@bionet.nsc.ru;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт кинетики и горения Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

⁴ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 5 ноября 2014 г. Принята к публикации 10 ноября 2014 г.

Современные тенденции использования ДНК в нано- и биотехнологиях ставят задачу разработки новых методов анализа молекул ДНК на основе развивающейся приборной базы. Нами разработан метод мягкой неразрушающей абляции для перевода молекул ДНК в аэрозольную фазу при помощи терагерцевого излучения. В настоящей работе с помощью диффузионного спектрометра аэрозолей были проведены измерения размеров наночастиц ДНК в газовой фазе. Изменения, происходящие с ДНК в газовой фазе, были визуализированы при помощи атомно-силовой микроскопии (АСМ). Сопоставление измерений диффузионных размеров аэрозольных частиц плазмиды pUC18 и измерений с применением АСМ дает основания предполагать, что в газовой фазе происходит процесс конденсации молекул ДНК. Построена модель согласно закономерностям, предложенным современными представлениями о процессе конденсации ДНК и формирования глобулы. Теоретические расчеты хорошо совпали с экспериментальными результатами. Экспериментально оцененная персистентная длина ДНК в газовой фазе составила около 0,5 нм, что свидетельствует об отсутствии распределенного заряда на поверхности ДНК в газовой фазе и неионизирующем характере терагерцевого излучения. Исследование конформационных состояний ДНК в газовой фазе позволит расширить знания о закономерностях компактизации ДНК в естественных и искусственных условиях.

Ключевые слова: конденсация ДНК, персистентная длина, упаковка ДНК, десорбция ДНК, атомно-силовая микроскопия, измерение размеров аэрозольных частиц.

ВВЕДЕНИЕ

Для вторичной и третичной структуры молекул ДНК характерен высокий полиморфизм, зависящий от нуклеотидного состава, гидратации и катионного окружения (Manning, 1978; Hagerman, 1988; Neidle, 1994; Shotton *et al.*, 1997; Mazur, 2006). Ионное окружение влияет на способность ДНК накручиваться на нуклеосомы, упаковываться внутри вирусного капсида или связывать транскрипционные факторы. В ряде случаев в основе этого ле-

жит изменение структурных и механических свойств ДНК. Число возможных конформаций макромолекулы возрастает с увеличением длины полимера, и гибкость молекулы по-разному проявляется на коротких и длинных участках макромолекулы.

В разбавленных растворах в присутствии мультивалентных катионов или нейтральных полимеров происходит искусственная конденсация ДНК (Wilson, Bloomfield, 1979; Raspaud *et al.*, 1998). Относительно ДНК термин «кон-

денсация» обычно применяют в отношении мономолекулярной компактизации как противопоставление термину «агрегация», подразумевающему образование структур, состоящих из нескольких молекул. Интерес к изучению конденсации ДНК *in vitro* в последние годы вызван бурным развитием генной терапии, биоэлектроники и поиском способов использования ДНК в нанотехнологиях. Молекулы ДНК могут формировать различные пространственные формы.

Среди таких форм наиболее распространены формы В, А и Z двуспиральной ДНК. Эти структуры различаются длиной витка спирали, количеством нуклеотидов на виток, углом наклона плоскостей азотистых оснований к оси спирали и могут быть право- и левозакрученными. В определенных условиях молекулы с относительно протяженными олигопуриновыми и олигопиримидиновыми участками могут формировать тройные спирали, стабилизированные хугстиновскими взаимодействиями.

Существуют триплексные и пентаплексные структуры, искусственно созданные с использованием изогуанин-изоцитозиновых последовательностей (Piacenza, Grimme, 2004). Способность ДНК к самосборке представляет интерес для наноконструирования. С использованием ДНК созданы наносистемы размерами порядка 100 нм (Zheng *et al.*, 2009). Эти структуры получены в водных растворах, их дальнейшее использование в нанотехнологиях предполагает поиск способов нанесения на поверхности и манипулирования вне водной среды.

Поведение ДНК в растворах достаточно хорошо изучено, построены адекватные модели. Результаты симуляции молекулярной динамики поведения двойной спирали ДНК в водных парах при температуре 100 °С показали, что испарение ДНК даже в условиях высокой температуры не приводит к критическим изменениям структурных, энергетических и динамических свойств двойной цепи. Цепи остаются связанными, сохраняется небольшая спиральность и большая часть водородных связей ДНК – ДНК (Rueda *et al.*, 2003).

Современные тенденции использования ДНК в нано- и биотехнологиях ставят задачу разработки новых методов анализа молекул ДНК на основе развивающейся приборной базы.

К таким методам, позволившим получить новые знания о молекулах ДНК, относятся в частности АСМ и манипулирование единичными молекулами ДНК с помощью лазерного пинцета (Conwell *et al.*, 2003; Lyubchenko, Shlyakhtenko, 2009). Нами был разработан метод мягкой неразрушающей абляции для перевода молекул ДНК в аэрозольную фазу при помощи терагерцевого излучения (Пельтек и др., 2009). Перевод структур ДНК в газовую фазу позволит получить информацию об их размерах и свойствах, провести осаждение на твердые поверхности. Существует несколько подходов к объяснению абляции как физического явления. Каждый из них имеет свои ограничения и не является универсальным. Абляция вещества сопровождается рядом сопутствующих эффектов (конденсация пара, диспергирование жидкой фазы и др.), которые представляют технологический интерес. Лазерная абляция сегодня активно применяется для разнообразных целей: исследовательских, производственных и медицинских. Она также используется для получения наночастиц металлов (Wang *et al.*, 1998; Либенсон и др., 2000; Senkan *et al.*, 2006; Barbara *et al.*, 2007).

В настоящей работе молекулы ДНК переведены в газовую фазу методом мягкой неразрушающей абляции под действием терагерцевого излучения, с помощью диффузионного спектрометра аэрозолей в газовой фазе измерены размеры частиц, образуемых молекулами ДНК фагов Т7 и λ , плазмиды рUC18, а также фрагментами ДНК фага λ , полученными при гидролизе ферментами *Hind*III и *Bss*TI, проведен анализ десорбированного материала с помощью атомно-силовой микроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена на уникальной установке Сибирского центра синхротронного и терагерцевого излучения – лазере на свободных электронах (ЛСЭ), разработанной и созданной в Институте ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН. Диапазон длин волн излучения лежит в пределах 120–240 мкм, что соответствует 2,5–1,25 ТГц (Gavrilov *et al.*, 2007). Для измерения размеров аэрозольных наночастиц использовали разработанный в ИХКиГ СО РАН диффузионный спектрометр аэрозолей (ДСА). Диапазон

измеряемого размера частиц 0,003–0,2 мкм, максимальная измеряемая концентрация частиц $5 \times 10^5 \text{ см}^{-3}$. В сравнении с электронным микроскопом, ДСА имеет расхождение 5 % по измерению среднего диаметра частиц и 3 % по средней ширине их распределения (Анкилов и др., 2000). Для получения изображений ДНК использовали атомно-силовой микроскоп ИНТЕГРА-ПРИМА, производства ЗАО «НТ-МДТ», принадлежащий ИЯФ СО РАН. Измерения проводили в полуконтактном режиме, использовали кантилеверы марки NSG01_DLC. Для приготовления препаратов использовали слюду марки «С0 Н» 30 40 ГОСТ 7134-82 (Балашовский слюдяной комбинат). Пластины слюды расслаивали с помощью бритвенного лезвия и использовали свежесколотую поверхность. Из газовой фазы наночастицы отбирали с помощью вакуумного пробоотборника. Наночастицы осаждали непосредственно на свежесколотую поверхность слюды, для этого пластину слюды размерами $3 \times 3 \text{ мм}$ размещали внутри вакуумного пробоотборника.

В работе использованы препараты ДНК плазмиды pUC18, ДНК фагов T7 (39936 п. н.) и λ (48502 п. н.), HindIII и BssT1I гидролизаты ДНК фага λ , производства ООО «СибЭнзим». Для определения размеров наночастиц, образуемых молекулами ДНК в газовой фазе, были проведены эксперименты с фрагментами ДНК фага λ . Электрофоретическим методом из коммерчески доступных препаратов ДНК фага λ , гидролизованной рестриктазами HindIII и BssT1I, были препаративно выделены отдельные фрагменты ДНК-гидролизатов и проведена их десорбция. Для этого каждый фрагмент ДНК и ДНК фагов облучали отдельно терагерцевым излучением с длиной волны 128 мкм. В эксперименте использованы следующие фрагменты ДНК (длина ДНК, п. н. (рестриктаза)): 1489(BssT1I), 2027(HindIII), 2322(HindIII), 3472(BssT1I), 4361(HindIII), 6557(HindIII), 9416(HindIII), 23130(HindIII).

Для приготовления препаратов плазмиды pUC18 для АСМ использовали раствор 5 мкг/мл ДНК в воде; 3 мкл раствора наносили на свежесколотую слюду и высушивали в беспылевых условиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для эксперимента использовали водные растворы ДНК плазмиды pUC18, фага T7 и фага λ , фрагменты ДНК фага λ , как описано выше. На алюминиевую подложку наносили 20 мкл водного раствора каждого образца в отдельности и облучали излучением ЛСЭ длиной волны 128 мкм до высыхания капли. Десорбцию частиц регистрировали при помощи ДСА и накапливали в буферной емкости с азотом. Отбор проб из газовой фазы для АСМ проводили дважды. Первую пробу отбирали непосредственно после начала абляции. Для этого поток частиц плазмиды в азоте направляли на пластину свежесколотой слюды.

После отбора пробы поток частиц перенаправляли в буферную емкость и через 20 мин отбирали вторую пробу. Для этого поток частиц из буферной емкости направляли на новую пластину свежесколотой слюды, которую закрепляли в вакуумном пробоотборнике.

На рис. 1, а приведены результаты АСМ препарата плазмиды pUC18 до абляции, видны отдельные молекулы плазмиды в виде скрученных нитей. На рисунке видно, что целые молекулы плазмиды в водном растворе имеют суперскрученную, но не конденсированную структуру, т. е. молекулы плазмиды находятся на начальных стадиях конденсации.

Измерения проводили в полуконтактном режиме. С помощью ДСА были проведены измерения размеров наночастиц, получаемых в газовой фазе при десорбции этого же препарата ДНК, размер составил 20,7 нм. По данным АСМ видно, что длина отдельных структур сильно варьирует и линейные размеры существенно превышают размер наночастиц, образуемых ДНК плазмиды pUC18 в газовой фазе. Сопоставление измерений диффузионных размеров аэрозольных частиц плазмиды pUC18 и измерений с помощью АСМ дают основания предполагать, что в аэрозольной фазе происходит процесс конденсации молекул ДНК. Из рис. 1 видно, что прошедшие через газовую фазу молекулы плазмиды приобретают более компактную структуру, богатую суперскрученными участками. Частицы ДНК, собранные на слюду сразу после абляции, имеют диаметр порядка 200 нм и высоту менее 18 нм (рис. 1, б), а через 20 мин

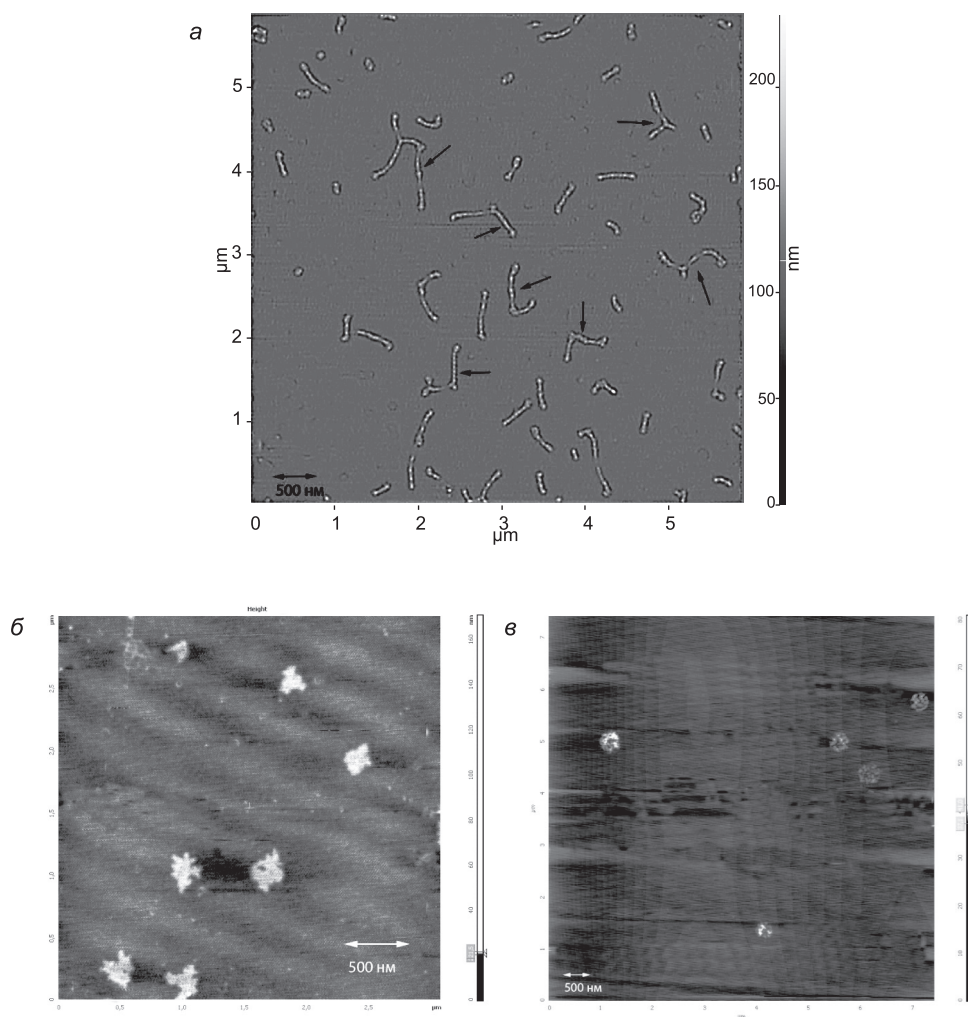


Рис. 1. Атомно-силовая микроскопия препарата плазмиды pUC18: *а* – препарат в водном растворе (5 мкг/мл) до абляции, высота структур 2,5 нм. Стрелками отмечены молекулы плазмиды, имеющие вид скрученных нитей; *б* – после начала абляции проведен отбор образца на сляду из газовой фазы; *в* – молекулы плазмиды после 20 мин пребывания в буферной емкости.

пребывания в буферной емкости они становятся несколько тоньше (менее 10 нм) и имеют более упорядоченное строение (рис. 1, *в*).

В газовой фазе наиболее вероятной формой ДНК является глобула. При осаждении наночастиц ДНК на сляду с помощью вакуумного пробоотборника глобула «распластана» по заряженной поверхности сляды, поэтому размеры структур на сляде не совпадают с размерами наночастиц ДНК в газовой фазе. Однако заметное упорядочивание структуры, наблюдаемое через 20 мин пребывания молекул ДНК плазмиды pUC18 в газовой фазе, свидетельствует в пользу того, что в газовой фазе происходит конденсация ДНК. Аэрозоль – неустойчивая система. Он

подвержен постоянным изменениям. С течением времени в аэрозоле происходит укрупнение взвешенных частиц. При столкновениях между частицами под действием броуновского движения, неодинаковой скорости седиментации, под влиянием электростатических сил и гравитации происходит коагуляция аэрозоля. Отдельные частицы агрегируют, и число «свободных» частиц уменьшается, а размер частиц увеличивается (Ветошкин, Таранцева, 2004).

Свойства аэрозолей определяются природой вещества, из которого состоят частицы, природой газовой среды и общей массой частиц, содержащихся в единице объема. На рис. 2 приведена зависимость средних значений размеров

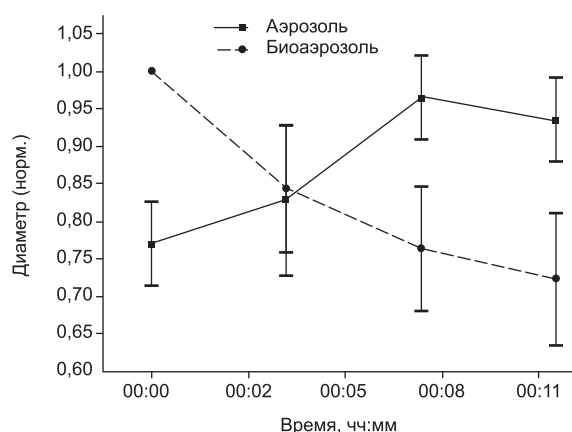


Рис. 2. Поведение «минерального» и «биологического» аэрозолей после экспозиции под излучением ЛСЭ, средние значения размеров.

аэрозольных частиц от времени пребывания в буферной емкости. Для эксперимента были взяты «минеральные» вещества (коллоидное золото, алмазная пудра, фуллереноподобные структуры молибдена и поливинилимидазола) и биополимеры (молекулы ДНК и белков). В случае «биологических» макромолекул наблюдается уменьшение размеров аэрозольных частиц. Такое anomальное поведение наночастиц биополимеров в аэрозоле свидетельствует о конформационных преобразованиях в газовой фазе. Все использованные в эксперименте биополимеры имеют линейную структуру и способны находиться в разных конформационных состояниях.

Видно, что в случае минеральных аэрозолей происходит укрупнение взвешенных частиц, в то время как биополимеры демонстрируют anomальное поведение аэрозольных частиц в зависимости от продолжительности пребыва-

ния аэрозольных частиц в буферной емкости. На основании полученных результатов можно предположить, что биополимеры продолжают сворачиваться, будучи в аэрозольной фазе.

Гибкость молекулы и ее внутренняя динамика играют важную роль в биологических функциях ДНК. Известно, что конденсация имеет значение для процессов вирусной трансфекции, регуляции активности генов, апоптоза и сохранения бактериального генома при неблагоприятных условиях внешней среды (Murphy, Zimmerman, 1995; Bloomfield, 1996; Schmutz *et al.*, 1999). В природе плотная упаковка ДНК характерна для фаговых частиц: нативный диаметр частиц фага λ составляет 50 нм, соответственно, плотность упаковки составит 0,734 п. н./нм³. Исходя из средних линейных размеров одной пары оснований 3,34 Å и около 2 нм диаметра ДНК легко определить предел упаковки – 1,05 п. н./нм³. В таблице приведены расчеты плотности упаковки ДНК в различных природных структурах.

Упаковка ДНК в эукариотических клетках стабилизирована гистонами и другими хромосомными белками. В нативных структурах форма и плотность упаковки ДНК зависят от первичной последовательности и окружения, состоящего из заряженных белков, полиаминов, ионов двухвалентных и щелочных металлов. Так, например, нуклеосома содержит сегмент двухцепочечной ДНК около 200 п. н. и имеет диаметр около 10 нм. Плотность упаковки составляет 1,17 п. н./нм³, что свидетельствует о возможности превышения рассчитанного геометрического предела.

Конденсация двухцепочечной ДНК, в результате которой линейные размеры молекулы уменьшаются в десятки тысяч раз, происходит

Различные виды упаковки ДНК

Организм	Длина ДНК	Диаметр упаковки, мкм	Размер, т. п. н.	Плотность упаковки, п. н./нм ³	Структура
Бактериофаг T4	54 мкм	0,1	170	0,17	Капсид
<i>E. coli</i>	1,4 мкм	1	5000	0,005	Бактериальная хромосома
Человек	1,3 м	10	$3,3 \times 10^6$	0,0033	Набор хромосом (диплоидное ядро)

одним из двух способов: путем сфероидальной намотки (вирусы) либо через образование сверхспиральной (суперскрученной) ДНК (вирусы, про- и эукариоты). Внутри фагового капсида параллельные витки ДНК упорядоченно уложены внутри тороидальной структуры. Расстояние между соседними двумя спиралями ДНК составляет порядка одного – двух диаметров молекулы воды. *In vitro* при таком расстоянии между молекулами при ионной силе физиологического раствора ДНК образует жидкокристаллическую фазу.

Упакованная внутри фага ДНК обладает энергией упругости. Так, для фага Ф29 внутреннее давление создает силу порядка 50 пН, чего хватает для выхода части нити в момент инфицирования (Klimenko *et al.*, 1967). Для сравнения, сила, которую надо приложить в перпендикулярном направлении для разделения двойной цепи ДНК фага λ , составляет 15 пН для пары GC и 10 пН для пары AT (Rouzina, Bloomfield, 2001). Тороидальные конденсированные структуры, образуемые ДНК в растворах, напоминают фаговую упаковку. В обоих случаях задействованы одни и те же физические взаимодействия: изгибы, уменьшение энтропии, модификация кулоновских взаимодействий (Post, Zimm, 1979). Кроме тороидальных структур конденсированная ДНК может образовывать палочки. Упаковку в такие структуры контролируют полиамины и специфические белки (Murphy, Zimmerman, 1995; Sarkar *et al.*, 2007).

Размеры частиц ДНК в значительной степени зависят от способа упаковки, который определяется ионным окружением, концентрацией и последовательностью ДНК. С увеличением концентрации катионов магния или натрия в растворе размеры тороидальной структуры возрастают.

Показано также, что ДНК с искусственным изогнутым концом за счет введения в последовательность А-трактов формирует тор меньшего диаметра, несмотря на большую длину молекулы (Conwell *et al.*, 2003). В эксперименте авторы использовали линейаризованную ДНК плазмиды размером 2961 п. н. (3kbDNA) и ее же с добавочным фрагментом 720 п. н., содержащим 60 А-трактов. Каждый А-тракт (dAAAAAA) формирует изгиб ДНК на 13°.

Согласно закономерностям, предложенным

современными моделями процесса конденсации ДНК и формирования глобулы, расчет размеров глобулярной наночастицы, формируемой линейным полимером приблизительно описывается следующей функцией:

$$R = \sqrt{NU}, \quad (1)$$

где R – диаметр глобулы, N – количество звеньев цепи, U – длина звена, на котором отсутствует гибкость цепи (сегмент Куна) (Флори, 1971; Хохлов, Кучанов, 2000; Тейф, Ландо, 2001). Модели полимерных цепей для описания систем с объемными взаимодействиями и теория перехода клубок – глобула подробно изложены в работах академика А.Р. Хохлова (Хохлов, Кучанов, 2000). В идеальной свободно-сочлененной цепи ориентация двух соседних звеньев независима.

Если же полимерная молекула обладает некоторой межзвенной жесткостью и ориентация двух соседних звеньев коррелирована, то при описании такой цепи используется понятие сегмента Куна U (или персистентной длины l), что позволяет описывать статистику конформационных состояний такой молекулы, используя описание свободно-сочлененной цепи со звеном, равным сегменту Куна.

Персистентная длина – это контурная длина между звеньями полимера, направления которых различаются на 1 рад (57°). Величина персистентной длины определяется выражением

$$l = l_0 \exp(\Delta_\epsilon / (kT)), \quad (2)$$

где Δ_ϵ – разность энергии между минимумами на кривой зависимости внутренней энергии от угла вращения (определяет термодинамическую гибкость макромолекулы), $\Delta_\epsilon > 0$, $l_0 \sim 10^{-10}$ м (т. е. порядка длины химической связи), k – постоянная Больцмана, T – температура. Величина сегмента Куна связана с персистентной длиной соотношением $U = 2l$.

В случае, когда рассматриваемым полимером является ДНК, минимальный размер сегмента Куна равен длине одной пары оснований, что составляет около 0,35 нм. С увеличением изгибной жесткости ДНК будет увеличиваться длина куновского сегмента (U) и уменьшаться количество звеньев цепи (N).

В случае, когда сегмент Куна содержит n нуклеотидных пар, $U = 0,35n$ (нм), а ко-

личество звеньев цепи уменьшится в n раз: $N = L/n$, где L – длина цепи в нуклеотидных парах. Подставив эти выражения в (1), получим следующую формулу для оценки размеров глобулы:

$$R = \sqrt{L/n} \cdot 0,35n \quad (3)$$

Жесткость молекулы задается параметром n , с увеличением которого растут размер куновского сегмента и персистентная длина, а количество независимых звеньев уменьшается. Для различных по жесткости молекул, т. е. при разных значениях n , наклон теоретической кривой будет разным. С увеличением n наклон кривой уменьшается. На рис. 3 приведен график зависимости размеров глобулы ДНК от длины цепи.

Как видно из рисунка, наименьшие размеры имеют аэрозольные частицы, образованные фрагментами ДНК длиной до 10 000 п. н., наибольшие аэрозольные частицы образованы фрагментами ДНК длиной 23 130 п. н. и полными линейными геномами фагов Т7 и λ . Четыре экспериментальные точки соответствуют n , равному 3. ДНК фага λ формирует глобулу размером меньше теоретически предсказываемого. Также в меньшую сторону отклоняются размеры наночастиц, образованных фрагментами ДНК размерами 1 500–3 500 пар оснований. Вероятными причинами этих отклонений может быть как несовершенство предложенной формулы, так и различия в нуклеотидном составе. Таким образом, экспериментально оцененная длина сегмента Куна для ДНК в газовой фазе составляет около 1 нм, что соответствует персистентной длине 0,5 нм.

По литературным данным, персистентная длина, измеренная для различных растворов, варьирует от нескольких нанометров до контурной длины ДНК (полностью жесткая «палка»). Персистентная длина значительно уменьшается с увеличением концентрации катионов, в частности, в присутствии Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} и полиаминов. Так, $\text{Co}(\text{NH}_3)_3^{3+}$ в концентрации 2 мкМ уменьшает персистентную длину молекулы ДНК фага λ почти в четыре раза (рис. 4) (Baumann *et al.*, 1997).

Жесткость молекулы в растворе определяется поверхностным отрицательным зарядом, распределенным по цепи ДНК. Катионы экра-

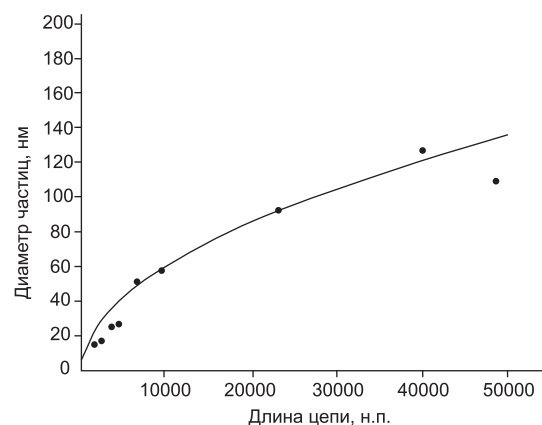


Рис. 3. Зависимость размеров глобулы ДНК от длины цепи. Линией представлены теоретические данные, построенные по формуле (2), точками – экспериментальные измерения. Теоретический расчет проведен для n , равного 3.

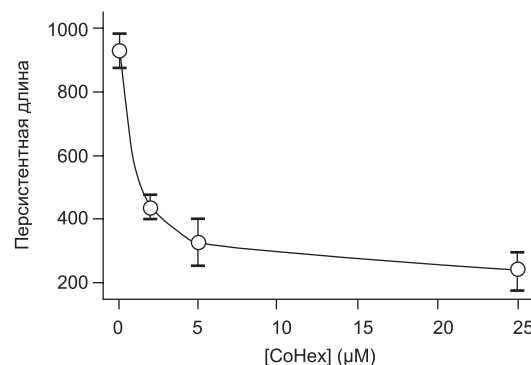


Рис. 4. Зависимость персистентной длины ДНК фага λ от концентрации ионов $\text{Co}(\text{NH}_3)_3^{3+}$ (CoHex) (Baumann *et al.*, 1997).

нируют отрицательные заряды, которые несет двойная спираль, изгибы ее в этих условиях требуют меньших затрат энергии, и персистентная длина начинает уменьшаться. В присутствии катионов отрицательные заряды нейтрализуются, и молекула становится более гибкой. По проведенным нами выше оценкам в газовой фазе персистентная длина ДНК составляет менее 1 нм, что свидетельствует об отсутствии распределенного заряда на поверхности ДНК в газовой фазе и неионизирующем характере терагерцевого излучения. Исследование конформационных состояний ДНК в газовой фазе позволит расширить знания о закономерностях компактизации ДНК в естественных и искусственных условиях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана проектом Президиума РАН 24.62.

ЛИТЕРАТУРА

- Анкилов А.Н., Бакланов А.М., Козлов А.С., Малышкин С.Б. Определение концентрации аэрозолеобразующих веществ в атмосфере // *Оптика атмосферы и океана*. 2000. Т. 13. № 6-7. С. 644–647.
- Ветошкин А.Г., Таранцева К.Р. Технология защиты окружающей среды (теоретические основы). Пенза, 2004. 249 с.
- Либенсон М.Н., Шандыбина Г.Д., Шахмин А.Л. Химический анализ продуктов абляции наносекундного диапазона // *Журнал технической физики*. 2000. Т. 70. Вып. 9. С. 124–127.
- Пельтек С.Е., Попик В.М., Горячкова Т.Н., Мордвинов В.А., Петров А.К. Способ абляции целевой ДНК с поверхности ДНК-биочипов. Патент РФ № 2410439. 2009.
- Тейф В.Б., Ландо Д.Ю. Конденсация ДНК, вызванная адсорбцией лигандов // *Молекулярная биология*. 2001. Т. 35. № 1. С. 117–119.
- Флори П.Д. Статистическая механика цепных молекул. М., 1971.
- Хохлов А.Р., Кучанов С.И. Лекции по физической химии полимеров. М., 2000.
- Barbara A., Shehadeh-Masha'our R., Garzosi H.J. Laser ablation in eyes with congenital nystagmus // *J. Refract. Surg.* 2007. V. 23 (6). P. 623–625.
- Baumann C.G., Smith S.B., Bloomfield V.A., Bustamante C. Ionic effects on the elasticity of single DNA molecules // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 6185–6190.
- Bloomfield V.A. DNA condensation // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1996. V. 6 (3). P. 334–341.
- Conwell C.C., Vilfan I.D., Hud N.V. Controlling the size of nanoscale toroidal DNA condensates with static curvature and ionic strength. // *PNAS*. 2003. V. 100 (16). P. 9296–9301.
- Gavrilov N.G., Knyazev B.A., Kolobanov E.I. *et al.* Status of the Novosibirsk high-power terahertz FEL // *Nuclear instruments and methods in physics research. Sec. A*. 2007. V. 575 (1/2). P. 54–57.
- Hagerman P.J. Flexibility of DNA // *Ann. Rev. Biophys. Biochem.* 1988. V. 17. P. 265–286.
- Klimenko S.M., Tikhonenko T.I., Andreev V.M. Packing of DNA in the head of bacteriophage T2 // *J. Mol. Biol.* 1967. V. 23 (3). P. 523–533.
- Lyubchenko Y.L., Shlyakhtenko L.S. AFM for analysis of structure and dynamics of DNA and protein-DNA complexes // *Methods*. 2009. V. 47 (3). P. 206–213.
- Manning G.S. The molecular theory of polyelectrolyte solutions with applications to the electrostatic properties of polynucleotides // *Q. Rev. Biophys.* 1978. V. 11. P. 179–246.
- Mazur A.K. Evaluation of Elastic Properties of Atomistic DNA Models // *Biophysical J.* 2006. V. 91. P. 4507–4518.
- Murphy L.D., Zimmerman S.B. Condensation and cohesion of lambda DNA in cell extracts and other media: implications for the structure and function of DNA in prokaryotes // *Biophys. Chem.* 1995. V. 57 (1). P. 71–92.
- Neidle S. DNA structure and recognition. Oxford: IRL Press, 1994. 147 p.
- Piacenza M., Grimme S. Systematic quantum chemical study of DNA-base tautomers // *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25 (1). P. 83–99.
- Post C.B., Zimm B.H. Internal condensation of a single DNA molecule // *Biopolymers*. 1979. V. 18. P. 1487–1501.
- Raspaud E., Olvera de la Cruz M., Sikorav J.-L., Livolant F. Precipitation of DNA by Polyamines: A Polyelectrolyte Behavior // *Biophysical J.* 1998. V. 74. P. 381–393.
- Rouzina I., Bloomfield V. Force-Induced Melting of the DNA Double Helix 1. Thermodynamic Analysis // *Biophysical Journal*. 2001. V. 80. P. 882–893.
- Rueda M., Kalko S.G., Luque F.J., Orozco M. The structure and dynamics of DNA in the gas Phase // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125 (26). P. 8007–8014.
- Sarkar T., Vitoc I., Mukerji I., Hud N.V. Bacterial protein HU dictates the morphology of DNA condensates produced by crowding agents and polyamines // *Nucleic Acids Research*. 2007. V. 35 (3). P. 951–961.
- Schmutz M., Durand D., Debin A. *et al.* DNA packing in stable lipid complexes designed for gene transfer imitates DNA compaction in bacteriophage // *PNAS*. 1999. V. 96 (22). P. 12293–12298.
- Senkan S., Kahn M., Duan S., Ly A., Leidholm C. High-throughput metal nanoparticle catalysis by pulsed laser ablation // *Catalysis Today*. 2006. V. 117. P. 291–296.
- Shotton M.W., Pope L.H., Forsyth T. *et al.* A high-angle neutron fibre diffraction study of the hydration of deuterated A-DNA // *Biophys. Chem.* 1997. V. 69. P. 85–96.
- Wang W., Lin J., Schwartz D. Scanning force microscopy of DNA molecules elongated by convective fluid flow in an evaporating droplet // *Biophys. J.* 1998. V. 75 (1). P. 513–520.
- Wilson R., Bloomfield V. Counterion-induced condensation of deoxyribonucleic acid. A light-scattering study // *Biochemistry*. 1979. V. 18. P. 2192–2196.
- Zheng J., Birktoft J.J., Chen Y. *et al.* From Molecular to Macroscopic via the Rational Design of a Self-Assembled 3D DNA Crystal // *Nature*. 2009. V. 461. P. 74–77.

DEPENDENCE OF A GAS-PHASE DNA GLOBULE SIZE ON CHAIN LENGTH**T.N. Goryachkovskaya¹, A.S. Kozlov², V.M. Popik³, N.A. Kolchanov^{1,4}, S.E. Peltek¹**¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,

e-mail: peltek@bionet.nsc.ru;

² Institute of Chemical Kinetics and Combustion SB RAS, Novosibirsk, Russia;³ Budker Institute of Nuclear Physics SB RAS, Novosibirsk, Russia;⁴ Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia**Summary**

Modern trends in using DNA in nano- and biotechnologies generated the need for new methods of analyzing DNA molecules with up-to-date equipment. We developed a method of mild nondestructive ablation with terahertz radiation for bringing DNA molecules to aerosol. DNA nanoparticles were measured in the gas phase with a diffusion aerosol spectrometer. Changes that happen to DNA in the gas phase were visualized by atomic force microscopy (AFM). Comparison of diffusion sizes of plasmid pUC18 aerosol particles with those obtained by AFM indicated that DNA molecules experienced condensation in the gas phase. We constructed a model on the base of modern concepts of DNA condensation and globule formation. The predictions matched well the experimental data. The persistence DNA length estimated in the gas phase was about 0.5 nm. This fact points to the absence of distributed charge on the DNA surface in the gas phase and the nonionizing habit of terahertz radiation. Study of DNA conformations in the gas phase will add to the understanding to DNA compactness under natural and artificial conditions.

Key words: DNA condensation, persistence length, DNA package, DNA desorption, atomic force microscopy, aerosol particle size measurement.