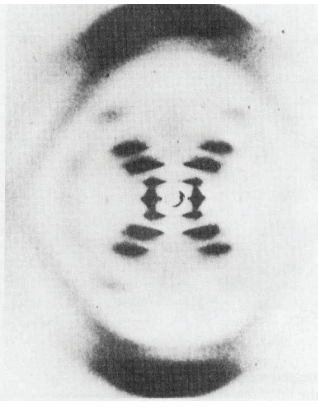
ΕΠΙΔΡΑΣΗ 23 ...ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ: Ανάλυση DNA με περίθλαση ακτίνων X

Ο νόμος του Bragg (εξ. 15Β.1α της Ενότητας 15Β, $n\lambda = 2d \sin\theta$) μας βοηθά να κατανοήσουμε τα χαρακτηριστικά μιας από τις πιο σημαντικές εικόνες ακτίνων X, της χαρακτηριστικής εικόνας σχήματος X που ελήφθη από τους Rosalind Franklin και Maurice Wilkins από κλώνους DNA (Σχ. 1). Η εικόνα αυτή χρησιμοποιήθηκε από τους James Watson και Francis Crick στην κατασκευή του μοντέλου της διπλής έλικας του DNA.

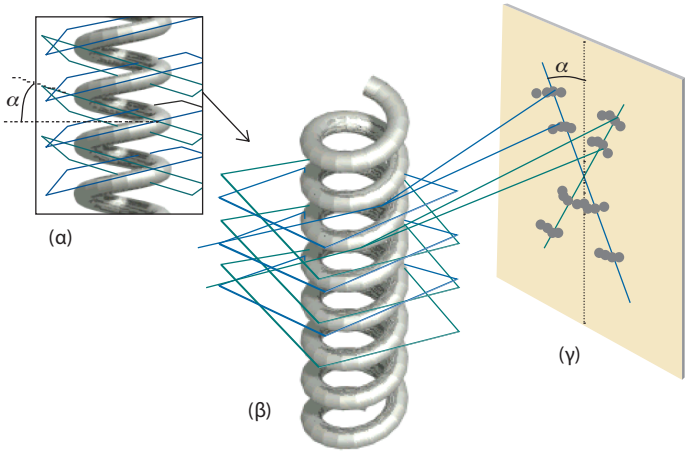
Για να ερμηνεύσουμε την εικόνα αυτή χρησιμοποιώντας τον νόμο του Bragg, πρέπει να έχουμε υπόψη μας ότι ελήφθη με τη χρήση μιας ίνας που αποτελούνταν από πολλά μόρια DNA προσανατολισμένα παράλληλα στον άξονα της ίνας, με τις ακτίνες X να προσπίπτουν σε κάθετη διεύθυνση. Όλα τα μόρια της ίνας είναι παράλληλα (ή σχεδόν παράλληλα), αλλά είναι κατά τα άλλα τυχαία κατανεμημένα· ως αποτέλεσμα, η εικόνα περίθλασης εμφανίζει την περιοδική δομή παράλληλα στον άξονα της ίνας. Η δομή αυτή υπερτίθεται σε ένα γενικό υπόβαθρο σκέδασης από την κατανομή των μορίων.

Υπάρχουν δύο κύρια χαρακτηριστικά στο Σχ. 1: η ισχυρή «μεσημβρινή» σκέδαση από την ίνα προς τα πάνω και προς τα κάτω, και η κατανομή σχήματος X σε μικρότερες γωνίες σκέδασης. Επειδή η σκέδαση σε μεγάλες γωνίες συμβαίνει για πυκνές δομές (από τον νόμο του Bragg, αν το d είναι μικρό, τότε το θ πρέπει να είναι μεγάλο για να διατηρηθεί η ισότητα), μπορούμε να συναγάγουμε ότι η μεσημβρινή σκέδαση προέρχεται από δομές με μικρές αποστάσεις ενώ η εσώτερη εικόνα, σχήματος X, προέρχεται από δομές με μεγαλύτερου μήκους περιοδικότητα. Επειδή η μεσημβρινή εικόνα εμφανίζεται σε απόσταση περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από εκείνη των εσώτατων σημείων της εικόνας σχήματος X, η δομή μεγάλης κλίμακας είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από τη δομή μικρής κλίμακας. Από τη γεωμετρία του οργάνου, το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και τον νόμο του Bragg, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η περιοδικότητα της δομής μικρής κλίμακας είναι 340 pm ενώ εκείνη της μεγάλης κλίμακας είναι 3400 pm (δηλαδή, 3,4 nm).

Για να αντιληφθείτε ότι η εικόνα σχήματος X είναι χαρακτηριστική έλικας, δείτε το Σχ. 2. Κάθε στροφή της έλικας ορίζει δύο επίπεδα, ένα προσανατολισμένο υπό γωνία α ως προς την οριζόντια και το άλλο υπό γωνία $-\alpha$. Ως αποτέλεσμα, σε μια πρώτη προσέγγιση, η έλικα μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από μια σειρά επιπέδων υπό γωνία α και από μια σειρά επιπέδων υπό γωνία $-\alpha$. Η απόσταση μεταξύ των επιπέδων κάθε ομάδας καθορίζεται από το βήμα της έλικας. Έτσι, ένα μόριο DNA είναι σαν δύο σειρές επιπέδων, με κάθε ομάδα να αντιστοιχεί σε εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν στην εξαγωγή του νόμου του Bragg, με κάθετη απόσταση $d = p \cos \alpha$, όπου p το βήμα της έλικας, και υπό γωνίες $\pm\alpha$ ως προς την οριζόντια. Οι κροσσοί περίθλασης από τη μια ομάδα επιπέδων εμφανίζονται επομένως σε γωνία α ως προς την κατακόρυφη, δίνοντας το ένα σκέλος του X, και εκείνοι από την άλλη ομάδα εμφανί-



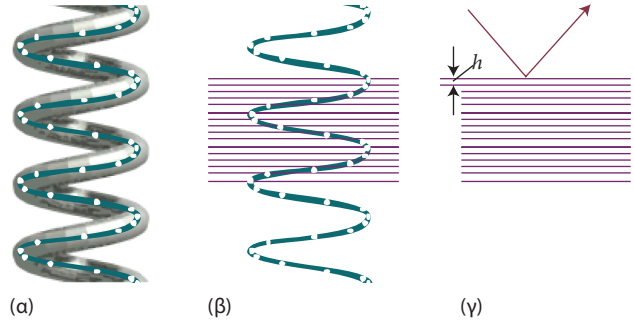
Σχήμα 1 Το σχήμα περίθλασης ακτίνων X που λαμβάνεται από μια ίνα B-DNA. Οι μαύρες τελείες είναι οι ανακλάσεις, τα σημεία μέγιστης ενισχυτικής συμβολής, που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της δομής του μορίου. (Πηγή: J.P. Glusker and K.N. Trueblood, *Crystal structure analysis: A primer*. Oxford University Press (1972).)



Σχήμα 2 Η προέλευση του χαρακτηριστικού σχήματος X της περίθλασης από μια έλικα. (α) Μια έλικα μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από μια σειρά επιπέδων σε γωνία α και από μια σειρά επιπέδων σε γωνία $-\alpha$. (β) Οι κροσσοί περίθλασης από τη μια ομάδα επιπέδων εμφανίζονται σε γωνία α με την κατακόρυφο, δίνοντας το ένα σκέλος του X, και εκείνοι από την άλλη ομάδα εμφανίζονται σε γωνία $-\alpha$, δίνοντας το άλλο σκέλος του X. Το κάτω μισό του X εμφανίζεται διότι η έλικα έχει κατακόρυφη συμμετρία σε αυτή τη διάταξη. (γ) Η ακολουθία των κροσσών προς τα έξω κατά μήκος κάθε σκέλους του X αντιστοιχεί σε πρώτης, δεύτερης, . . . τάξης περίθλαση (n = 1, 2, . . .).

ζονται σε γωνία $-\alpha$, δίνοντας το άλλο σκέλος του X. Η πειραματική διάταξη έχει κατακόρυφη συμμετρία, έτσι η εικόνα περίθλασης επαναλαμβάνεται δίνοντας το κάτω μισό του X. Η ακολουθία των κροσσών προς τα έξω κατά μήκος κάθε σκέλους αντιστοιχεί σε πρώτης, δεύτερης, . . . τάξης περίθλαση (n = 1, 2, . . . στον νόμο του Bragg). Επομένως, από την εικόνα περίθλασης ακτίνων X, βλέπουμε αμέσως ότι το μόριο είναι ελικοειδές και μπορούμε να μετρήσουμε απευθείας τη γωνία α, οπότε βρίσκουμε $\alpha = 40°$. Τέλος, έχοντας προσδιορίσει τη γωνία α και το βήμα p, μπορούμε να προσδιορίσουμε την ακτίνα r της έλικας μέσω της σχέσης $\tan \alpha = p/4r$, από όπου προκύπτει ότι $r = (3{,}4\ \text{nm})/(4 \tan 40°) = 1\ \text{nm}$.

Για να εξαγάγουμε τη σχέση μεταξύ της έλικας και του σταυροειδούς σχήματος X έχουμε αγνοήσει τη λεπτομερή δομή της έλικας, το γεγονός δηλαδή ότι πρόκειται για περιοδική διάταξη βάσεων νουκλεοτιδίων, και όχι για ένα ομαλό σύρμα. Στο Σχ. 3 αναπαριστούμε τις βάσεις με σημεία, και βλέπουμε ότι υπάρχει μια πρόσθετη περιοδικότητα απόστασης h, που σχηματίζει επίπεδα κάθετα στον άξονα του μορίου (και της ίνας). Τα επίπεδα αυτά δίνουν την έντονη μεσημβρινή περίθλαση υπό γωνία που μας επιτρέπει να προσδιορίσουμε την απόσταση των στρωμάτων, χρησιμοποιώντας τον νόμο του Bragg στη μορφή $\lambda = 2h \sin \theta$, από όπου βρίσκουμε ότι $h = 340$ pm.



Σχήμα 3 Η επίδραση της εσωτερικής δομής της έλικας στην εικόνα περίθλασης ακτίνων X. (α) Τα κατάλοιπα του μακρομορίου αναπαριστώνται από σημεία. (β) Παράλληλα επίπεδα που διέρχονται από τα κατάλοιπα είναι κάθετα στον άξονα του μορίου. (γ) Τα επίπεδα δίνουν έντονη περίθλαση υπό γωνία που μας επιτρέπει να προσδιορίσουμε την απόσταση h των στρωμάτων, από τη σχέση $\lambda = 2h \sin \theta$.