

Zeitbedarf der Längsteilung von miteinander verzwirnten Fadenmolekülen

Von WERNER KUHN*

Redaktionelle Vorbemerkung. Wir begrüßen es, dass im folgenden zwei inhaltlich einander nahestehende Arbeiten, eine Arbeit von W. KUHN sowie eine Arbeit von P. ALEXANDER und K. A. STACEY gemeinsam erscheinen können. Teilungsvorgänge bei Strukturen, welche aus Makromolekülen gebildet werden, spielen in der Biologie eine so grosse Rolle, dass die theoretische und experimentelle Untersuchung von *einfachsten* derartigen Fällen von allgemeinem Interesse ist. In Anbetracht der bei solchen Teilungen zum Teil erforderlichen ganz speziellen vielstufigen Vorgänge ist für die Beurteilung des Möglichen die Frage des Zeitbedarfs ein ernsthaftes Problem und die Möglichkeit eines Vergleichs theoretischer Überlegungen mit experimentellen Beobachtungen besonders erwünscht.

Es ist wahrscheinlich, dass bei vielen in der Natur vorkommenden hochpolymeren Stoffen Spiralstrukturen vorliegen, welche dadurch zustande gebracht werden, dass zwei oder mehrere unverzweigte Molekülfäden miteinander spiralartig verzwirnt sind und dass sie in dieser Gestalt und Lage durch Nebervalenzbindungen (Wasserstoffbrücken usw.) festgehalten werden. Es ist weiter wahrscheinlich und es ist verständlich, dass die genannten Nebervalenzwirkungen unter bestimmten Bedingungen, zum Beispiel durch geeignete Zusätze zum Einbettungsmedium, ausgeschaltet werden können und dass dann ein Zerfall der spiralformig verzwirnten Aggregate in einzelne, voneinander unabhängige Fäden erfolgen wird. Es stellt sich hierbei die Frage nach der *Zeit*, welche für eine *Längsteilung* oder *Längsdesaggregation* verzwirnter Molekülfäden benötigt wird.

Beispiel: Nach Untersuchungen von CRICK und WATSON¹, sowie von DOTY, REICHMANN und RICE² einerseits, von ALEXANDER und STACEY³ andererseits, von solcher Fall bei wässrigen Lösungen von Deoxyribonukleinsäure verwirklicht sein. Nach dem von den erstgenannten Autoren entwickelten Modell besteht das Molekül mit einem Molekulargewicht $M =$

$6 \cdot 10^6$ aus zwei zu einer Doppelspirale aufgewickelten Einzelfäden, von denen ein jeder das halbe Molekulargewicht des Gesamtteilchens, also $M = 3 \cdot 10^6$ besitzt; der Endenabstand L' der gestreckten Spirale (siehe Abb. 2), welche ungefähr 900 Windungen enthält, wäre $L' = 3 \cdot 10^{-4}$ cm, die Ganghöhe der einzelnen Windung $q = 34 \cdot 10^{-8}$ cm und der Radius des Zylinders, auf welchen die Achse jedes Einzelfadens aufgewickelt zu denken ist, gleich $r = 10 \cdot 10^{-8}$ cm. Der Zusammenhalt der Doppelspirale würde durch die ins Innere des Zylinders hineinragenden Seitenketten, welche Purin- und Pyrimidin-Gruppen enthalten, zustande gebracht. Die der Achse des *Einzelfadens* entlang gemessene Länge jedes Einzelfadens wäre gleich $L = 6,5 \cdot 10^{-4}$ cm.

Wenn das Molekül vom Molekulargewicht $M = 6 \cdot 10^6$ in Konzentrationen, die unterhalb 0,05% liegen, in eine wässrige 4molare Harnstofflösung gebracht wird, zerfällt dasselbe nach Versuchen, welche die zwei genannten Autoren³ unter Benützung der Lichtstreuung zur Bestimmung des Molekulargewichts durchgeführt haben, sofort, das heisst innerhalb der für die Versuche benötigten Zeit von etwa 15 min vollständig und irreversibel in zwei Moleküle vom Molekulargewicht $3 \cdot 10^6$. Die Frage nach dem Zeitbedarf dieses Teilungsvorgangs, auf die ich gesprächsweise durch ALEXANDER aufmerksam gemacht wurde, stellt sich hier in der konkreten Form, *ob und wie es denkbar ist, dass 2 Molekülfäden von je $6 \cdot 10^{-4}$ cm Länge, von denen ein jeder den andern in 1000 Windungen umspinnen hat, nach Wegfall der den Zusammenhalt bewirkenden Wasserstoffbindungen in der Lage sind, sich infolge Brownscher Bewegung innerhalb einiger Minuten voneinander loszuwickeln und gänzlich zu trennen.*

Die Frage nach dem Zeitbedarf für eine Längsteilung wäre kein Problem, wenn die Zusammenlagerung zu einem Doppelfaden nicht durch Verzwirnung der Fäden miteinander gemäss Abbildung 1a, sondern durch seitliche Translation der vorgebildeten, mit den Achsen parallel zueinander gelegten Spiralen herbeigeführt würde. (Siehe Pfeilrichtung in Abbildung 1b.) Es ist wahrscheinlich, dass in der Natur beide Möglichkeiten, gegebenenfalls auf verschiedenen Stufen, verwirklicht sind. In der nachstehenden Betrachtung soll,

* Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

¹ F. H. CRICK und J. D. WATSON, Proc. Roy. Soc. [A] 223, 80 (1954); Nature 171, 737 (1953).

² P. DOTY, M. E. REICHMANN, S. A. RICE und C. A. THOMAS, J. Amer. chem. Soc. 76, 3047 (1954). Siehe auch R. E. FRANKLIN und R. G. GOSLING, Nature 171, 740 (1953); 172, 153 (1953), sowie M. H. F. WILKINS, A. R. STOKES und H. R. WILSON, Nature 171, 739 (1953).

³ P. ALEXANDER und K. A. STACEY, Trans. Farad. Soc. 50, 303 (1954); Biochem. J. 60, 194 (1954); Nature 176, 162 (1955).

wie gesagt, die Zusammenlagerung unter Verzwirnung gemäss Abbildung 1a bzw. die Lösung dieser Zusammenlagerung behandelt werden.

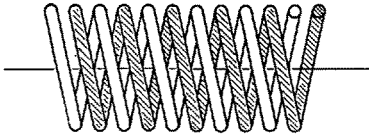


Abb. 1a. Durch Verzwirnung zu einer Doppelspirale vereinigte Einzelstränge. Eine Längsteilung durch Translation der Einzelstränge senkrecht zur Achse der Doppelspirale ist der Verzwirnung wegen nicht möglich.

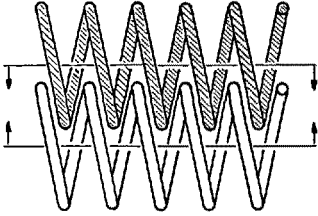


Abb. 1b. Variante der Vereinigung von zwei je eine Spirale bildenden Einzelsträngen durch Translation der Achsen der Einzelstränge in der Pfeilrichtung. Sie liefert eine Doppelspirale, welche durch Translation der Achsen der Einzelstränge in der zur Pfeilrichtung entgegengesetzten Richtung in die Einzelstränge zerlegt werden kann. Im Falle der Deoxyribonukleinsäure liegt (nach CRICK und WATSON) eindeutig der Fall der verzwirnten translativ nicht trennbaren Spirale (Abb. 1a) vor. In der anschliessenden Betrachtung wird entsprechend der Zeitbedarf für die Längsteilung im Falle Abb. 1a behandelt.

Es wird sich dabei zeigen, dass die Längsteilung des verzwirnten Doppelfadens im vorerwähnten Beispiel unter Zugrundelegung bekannter Ansätze für den Zeitbedarf Brownscher Rotations- und Translationsbewegungen innerhalb einer Zeit von wenigen Minuten erfolgen kann. Es wird dabei wesentlich sein, dass die Längsteilung am raschesten erfolgt, wenn zunächst eine teilweise Entzwirnung des Doppelfadens durch Rotation von Fadenteilen um die Längsachse des Doppelfadens in sich selbst und darauf eine Trennung der Molekülhälften durch Translation stattfindet.

Wir legen der Überschlagsrechnung die Zahlen, welche für die Deoxyribonukleinsäure genannt wurden, zugrunde.

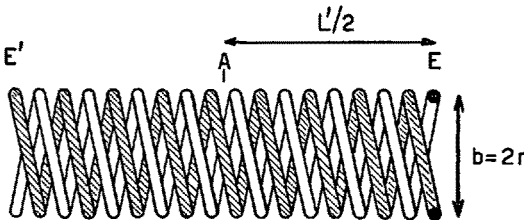


Abb. 2. Aus Molekülfäden gebildete Doppelspirale. Die Achsen der beiden Fäden sind auf einen Zylinder der Länge L' vom Radius r aufgewickelt.

a) Lockerung des Zusammenhaltens von zwei spiralartig aufgewickelten Molekülfäden durch Rotation bzw. Torsion der Längsachse des Doppelfadens in sich selbst. Man überlegt sich, dass nach Wegfallen der die Mole-

külteile in der Doppelspirale zusammenhaltenden Kräfte (Einbringen der Deoxyribonukleinsäure in 4m Harnstofflösung) eine Lockerung des Zusammenhalts und eine selbständige Verschiebbarkeit jedes der beiden Fäden hervorgebracht werden kann durch eine Rotation, bzw. teilweise Torsion der Fadenteile um die Längsachse des Doppelfadens. Wir denken uns den Mittelpunkt A der Doppelspirale festgehalten (Abb. 2). Der Abstand zwischen diesem Punkt und dem einen Ende E ist dann, der Achse des Doppelfadens entlang gemessen, gleich $L'/2 = 1,5 \cdot 10^{-4}$ cm, und es befinden sich auf dieser Strecke 450 Windungen, je von der Ganghöhe $q = 3,4 \cdot 10^{-7}$ cm. Wenn der Radius des Zylinders, auf den jeder Einzelstrang aufgewickelt ist, gleich $r (= 10 \cdot 10^{-8}$ cm) ist, so ist die Strecke, welche wir bei Durchlaufung einer Windung zurücklegen, wenn wir dabei der Achse der auf den Zylinder aufgewickelten Einzelstränge folgen, für jeden Einzelstrang gleich

$$s = \sqrt{q^2 + (2\pi r)^2} \tag{1}$$

s ist nämlich die Hypotenuse eines rechtwinkligen Dreiecks mit der Grundlinie $2\pi r$ und der Höhe q (Abb. 3).

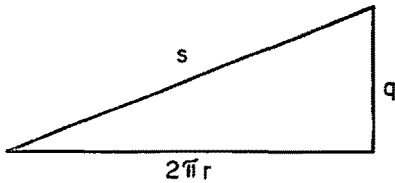


Abb. 3. Wenn r der Radius des Zylinders ist, auf welchen die Fadenachse zu einer Spirale mit Ganghöhe q aufgewickelt ist, so ist die der Fadenachse entlang gemessene, einer vollen Spiralwindung entsprechende Länge jedes Einzelstranges gleich

$$s = q \sqrt{1 + \frac{4\pi^2 r^2}{q^2}}$$

Wenn wir nun die beiden Fäden bei A (Abb. 2) und bei E in ihrer relativen Lage gegeneinander festhalten und das Ende E in der zur Rotationsrichtung der Spirale entgegengesetzten Richtung relativ zu A drehen, könnten wir durch $\nu = 450$ Drehungen von E relativ zu A die Spiralstruktur zwischen E und A völlig beseitigen und damit 2 miteinander nicht mehr verbundene Fäden erhalten. Es ist aber einzusehen, dass wir gar nicht 450 Drehungen bei E benötigen, um die beiden Fäden praktisch voneinander zu lösen. Schon etwa der fünfte oder der dritte Teil, allgemein ein Bruchteil von ν , das heisst etwa $\vartheta \cdot \nu$ Umdrehungen von E relativ zu A genügen, um eine Lockerung und damit eine gegenseitige Translationsbeweglichkeit der beiden Spiralen herbeizuführen:

Wenn wir das Ende E $\vartheta \cdot \nu$ Umdrehungen relativ zu A ausführen lassen, in solcher Weise, dass der Abstand zwischen A und E und damit q in Abbildung 3 unverändert bleibt, so erkennt man, dass der Fortschritt um eine Strecke q in Richtung der Zylinderachse nicht mehr eine volle Umdrehung der Spirale, sondern nurmehr eine Rotation um $(1-\vartheta)$, zum Beispiel um 0,8

oder 0,7 Umdrehungen entspricht. Wenn die der Fortschreitung q entsprechende Länge s des Einzelfadens konstant bleibt, so bedeutet dies, dass der Radius r' des Zylinders, auf welchen die Fäden aufgewickelt zu denken sind, nachdem E gegenüber A die besagten $\vartheta \cdot \nu$ -Umdrehungen gemacht hat, grösser als r ist, und zwar in solcher Weise, dass $2\pi(1-\vartheta)r' = 2\pi r$ wird, dass also

$$r' = \frac{r}{1-\vartheta} \quad (2)$$

ist. Für $r = 10 \cdot 10^{-8}$ und $\vartheta = 0,2$ ändert sich also der Radius des Zylinders, auf die die Einzelfäden aufgewickelt sind, um $2,5 \cdot 10^{-8}$ cm, wenn $\vartheta = 0,3$ gemacht wird, um $4,3 \cdot 10^{-8}$ cm.

Man erkennt sofort und kann sich auch am Modell von 2 umeinander aufgewickelten Bastfäden davon überzeugen, dass eine solche Ausweitung des Radius der Spirale zur Folge hat, dass sich die Fäden in der ausgeweiteten Spirale nicht mehr unmittelbar berühren und daher ohne Widerstand durch minimalen Zug auf die Fadenenden in der Zylinderrichtung voneinander getrennt werden können. Das Fadenende E braucht somit nicht 450, sondern, wenn wir $\vartheta = 0,3$ machen, nur 150 Umdrehungen relativ zu A auszuführen, damit sich die Fäden ohne Widerstand zu erfassen, in Richtung der Zylinderachse gegeneinander verschieben können. Es gilt jetzt festzustellen, innerhalb welcher Zeit das Fadenende E relativ zu A durch Brownsche Bewegung 150 Umdrehungen ausführen wird.

Da A festgehalten wird, werden die in der Nähe von A befindlichen Teile des Zylinders bei der Rotation von E in Ruhe bleiben, während die in der Nähe von E befindlichen Teile die gesamten 150 Umdrehungen der Zylinderachse mitmachen werden. Der Reibungswiderstand, der bei der Rotation von E auftritt, kann aus diesem Grunde gleichgesetzt werden dem Rotationswiderstand eines geraden Kreiszylinders vom Radius $10 \cdot 10^{-8}$ cm, dessen Länge gleich der Hälfte des Abstandes zwischen A und E , also gleich $0,75 \cdot 10^{-4}$ cm ist. Dasselbe gilt als Folge davon für die Rotationsdiffusionskonstante, welche dem Ende E für die Rotation relativ zu A zuzuordnen ist. Dass der Doppelfaden in Wirklichkeit gekrümmt ist, spielt, wenn der Faden flexibel ist, für den Rotationswiderstand der Fadenachse in sich selbst keine Rolle.

Nun ist die Rotationsdiffusionskonstante eines *sehr* langgestreckten Rotationsellipsoids mit der grossen Halbachse a_I und der kleinen Halbachse a_{II} für die Rotation um die Längsachse nach GANS⁴ gleich

$$D_F = \frac{3kT}{16\pi\eta_0 a_I a_{II}^2} \quad (3)$$

wenn k die Boltzmannsche Konstante, T die absolute Temperatur und η_0 die Viskosität des Einbettungs-

mediums bedeutet. Einsetzen der Zahlenwerte $\eta_0 = 10^{-2}$, $2a_I = 0,75 \cdot 10^{-4}$, $a_{II} = 10^{-7}$ cm gibt für $T = 300^\circ$:

$$D_F = 6,5 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}. \quad (3a)$$

Die Zeit, welche das Fadenende E benötigt, um *eine* Umdrehung relativ zu A durch Brownsche Bewegung auszuführen, ist jetzt gleich

$$\tau_{rot} = \frac{(2\pi)^2}{2D_F} = 3 \cdot 10^{-5} \text{ s}. \quad (3b)$$

Die Zeit, welche für 150 Umdrehungen von E relativ zu A durch Brownsche Bewegung benötigt wird, ist $2,25 \cdot 10^4 \cdot \tau_{rot}$, also gleich

$$\tau = 2,25 \cdot 10^4 \cdot 3 \cdot 10^{-5} = 0,7 \text{ s} \\ (\text{für 90 Umdrehungen von } E \text{ relativ zu } A).$$

Die Zeit, welche benötigt wird, damit sowohl E als auch das andere Ende E' (Abb. 2) relativ zu A in der richtigen Richtung je 150 Rotationen ausführt, dass sich also im *ganzen* Faden der Radius des von den beiden Fäden gebildeten Zylinders um 30% ausweitet, ist das 4fache des eben genannten Betrages, also gleich

$$\tau_1 = 3 \text{ s} \quad (3c) \\ (\text{für 180 Umdrehungen von } E \text{ relativ zu } E').$$

Wenn im allgemeinen Fall L' die Länge und r der Radius des Zylinders ist, auf welchen die Achse der Einzelfäden in Spiralen der Ganghöhe q aufgewickelt sind, so dass sich auf der Strecke L' insgesamt $\nu = L'/q$ Windungen befinden, so ist die Zeit, welche benötigt wird, damit die Enden E und E' durch Brownsche Rotationsbewegung um $\vartheta \cdot \nu$ -Umdrehungen relativ gegeneinander gedreht werden, gleich

$$\tau_1 = \frac{4\pi^3}{3} \cdot \frac{\eta_0}{kT} \cdot \frac{L'^3 r^2}{q^2} \vartheta^2 \quad (4)$$

(für $\vartheta \cdot \nu$ Umdrehungen von E relativ zu E' bei Zylinder von Länge L' und Radius r und bei Ganghöhe q der von der Achse der Einzelfäden auf dem Zylinder gebildeten Spirale).

Der Widerstand für die Rotation der Fadenenden gegeneinander oder gegen die Fadenmitte kann etwas grösser werden, als bei der Berechnung von (3c) angenommen wurde. Eine Erhöhung des Rotationswiderstandes tritt nämlich dann ein, wenn die Enden der beiden die Doppelspirale bildenden Einzelfäden bei E und E' nicht während der ganzen Zeit τ den Abstand von $b = 10 \cdot 10^{-8}$ cm (siehe Abb. 2) beibehalten, sondern wenn sie sich unter teilweiser Abwicklung der Spirale stärker voneinander entfernen. (3c) gibt also einen ungefähren, jedoch grössenordnungsweise richtigen Wert.

b) *Trennung der die gelockerten Spiralen bildenden Molekül-fäden durch Translation.* Es wurde bemerkt, dass beispielsweise mit $\vartheta = 0,2$ der Radius des Zylinders, auf welchen die Achse der Einzelfäden spiralig aufgewunden ist, um 20% gegenüber dem Zustande, in welchem sich die Fäden berührten, erweitert ist und

⁴ R. GANS, Ann. Physik 86, 652 (1928).

dass in diesem Zustande eine Trennung der beiden Fäden durch Brownsche Translationsbewegung möglich ist (Übergang von Abb. 4a in 4b).

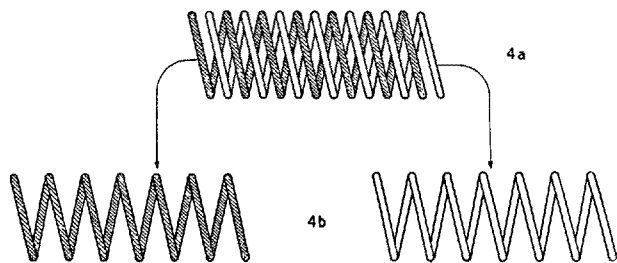


Abb. 4a. Durch Rotation bzw. Torsion der Zylinderlängsachse ge- lockerte Doppelspirale mit Endenabstand L .

Abb. 4b. Durch Translation der in Abbildung 4a angedeuteten, gegeneinander verschiebbaren Einzelspiralen wird eine Trennung in zwei voneinander unabhängige Einzelfäden bewirkt.

Um diese Trennung zu bewirken, muss der eine der beiden in Abbildung 4a angedeuteten Fäden relativ zum andern unter *ungefähr* Erhaltung der Form eine Strecke der Länge L' (Länge der Zylinderachse des Doppelfadens) zurücklegen. Im oben angedeuteten Beispiel muss ein Einzelfaden, dessen Länge, der Achse des *Einzelfadens* entlang gemessen, gleich $L = 6,5 \cdot 10^{-4}$ cm ist, eine Strecke $L' = 3 \cdot 10^{-4}$ cm der Zylinderachse entlang zurücklegen. Auch hier spielt es keine Rolle, ob die Zylinderachse als gerade oder als gekrümmt vorausgesetzt wird. Nun ist die Translationsdiffusionskonstante D_{tr} eines geraden oder gekrümmten Fadens der Länge L in einem Medium der Viskosität η_0 annähernd unabhängig von der Dicke des Fadens gleich⁵

$$D_{tr} = \frac{2 k T}{3 \pi \eta_0 L} \quad (5)$$

Mit $L = 6,5 \cdot 10^{-4}$ cm, $\eta_0 = 10^{-2}$ wird für $T = 300^\circ$ abs.

$$D_{tr} = 1,3 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \quad (6)$$

(Zahlenbeispiel).

Die Zeit, welche der Einzelfaden benötigt, um die Strecke $L' = 3 \cdot 10^{-4}$ cm in vorgeschriebener Richtung zurückzulegen, wird dementsprechend gleich

$$\tau_2 = \frac{L'^2}{2 D_{tr}} = \frac{9 \cdot 10^{-8}}{2,6 \cdot 10^{-9}} = 35 \text{ s} \quad (7)$$

Im allgemeinen Fall, in welchem die ursprüngliche Doppelspirale aus 2 Fäden besteht, deren Achse zunächst als Spirale mit einer Ganghöhe q auf einen Zylinder der Länge L' und vom Radius r aufgewickelt war, ergibt sich:

$$\tau_2 = \frac{3 \pi \eta_0}{4 k T} L'^3 \sqrt{1 + 4 \pi^2 r^2 / q^2} \quad (8)$$

⁵ Für eine Zusammenstellung siehe zum Beispiel: W. KUHN, H. KUHN und P. BUCHNER, *Ergebn. exakt. Naturwiss.* 25, 1 (1951), insbes. S. 16 und 88. – W. KUHN, *Z. physik. Chem. [A]* 161, 1 (1932).

c) *Insgesamt für die Trennung der spiralartig aufgewickelten Molekülfäden benötigte Zeit.* Die Zeit, welche insgesamt für die Trennung der Molekülfäden benötigt wird, wäre, oberflächlich betrachtet, etwa gleich der Summe von (3c) und (7), im konkreten Fall unseres Beispiels also etwa 38 s. In Wirklichkeit ist die für die Ausführung eines aus 2 Etappen zusammengesetzten Diffusionsvorganges benötigte Zeit τ , wenn die erste Etappe für sich genommen die Zeit τ_1 , die zweite für sich genommen die Zeit τ_2 beanspruchen würde, nicht einfach gleich $\tau_1 + \tau_2$, sondern gleich

$$\tau = [\sqrt{\tau_1} + \sqrt{\tau_2}]^2 \quad (9)$$

Für die Verallgemeinerung dieser Feststellung siehe unten, Gleichung (12). Nach dieser, wie gesagt *besseren*, Abschätzung wäre die für die Trennung der Molekülfäden durch Hintereinanderschaltung der Etappen (3c) und (7) benötigte Gesamtdauer gleich $[\sqrt{3} + \sqrt{35}]^2 = 58$ s. Wenn wir bei der Berechnung von (3c) $\vartheta = 0,1$ anstatt 0,3 gesetzt hätten, so wäre τ_1 anstatt 3 s gleich 0,3 s und $\tau = (\sqrt{0,3} + \sqrt{35})^2 = 43$ s geworden.

Es scheint nach diesen Betrachtungen verständlich, dass bei der mit Hilfe der Lichtstreuung festgestellten Erniedrigung des Molekulargewichts auf die Hälfte nach Einbringung der Substanz in 4 molare Harnstofflösung ein «*sofortiger*» Zerfall beobachtet wurde.

Es ist von Interesse, neben dieser Beobachtung, wonach der Zerfall in hinsichtlich Deoxyribonukleinsäure sehr verdünnten Lösungen schnell erfolgt, auch die Beobachtung zu erwähnen, wonach der Zerfall in 4 m Harnstofflösung, wiederum mit Hilfe der Methode der Lichtstreuung gemessen, bei Konzentrationen an Deoxyribonukleinsäure, welche oberhalb 0,05% liegen, *praktisch nicht mehr beobachtet wurde*⁶. Es ist kaum anzunehmen, dass die Lage des Dissoziationsgleichgewichts sich innerhalb kleiner Konzentrationsverschiebungen stark ändern sollte; wohl aber scheint es verständlich, dass schon eine schwache, in konzentrierter Lösung auftretende *lokale* Assoziation von Teilen der aus 2 Einzelfäden gebildeten Spirale mit Teilen anderer Fäden oder anderer Spiralen die *Rotation* des von der Doppelspirale gebildeten Zylinders um die eigene Längsachse *zum Stehen bringt* und damit die Lockerung und nachfolgende translativ Trennung der Fäden verunmöglicht.

Für den allgemeinen Fall ergibt sich auf Grund von (4), (8) und (9):

$$\tau = \frac{\pi \eta_0}{k T} L'^3 \left\{ \frac{2 \pi \vartheta}{\sqrt{3} q} + \sqrt{\frac{3}{4}} \left(1 + \frac{4 \pi^2 r^2}{q^2} \right)^{\frac{1}{2}} \right\}^2 \quad (9a)$$

[Zeit in Sekunden für Teilung einer von 2 Fäden gebildeten Spirale (L' = Endenabstand, r = Radius, q = Ganghöhe der Spirale)],

⁶ Siehe die nachfolgende Mitteilung von P. ALEXANDER und K. A. STACEY.

und hieraus, wenn wir $\eta_0 = 10^{-2}$, $T = 3 \cdot 10^2$, $\vartheta = 0,2$ setzen,

$$\tau = 4 \cdot 10^{11} \cdot L'^3 \left[\frac{r}{q} + 1,2 \sqrt[4]{1 + \frac{4\pi^2 r^2}{q^2}} \right]^2 \quad (9b)$$

[Zeit in Sekunden für Teilung einer aus 2 Fäden gebildeten Spirale {aus Gleichung (9a) mit $\vartheta = 0,2$ }].

Noch einfacher wird die Formel, wenn $4\pi^2 r^2/q^2 \gg 1$ ist, das heisst, wenn der Radius r der Spirale gross und die Ganghöhe relativ klein ist. In unserem Beispiel war diese Bedingung knapp erfüllt, indem $4\pi^2 r^2/q^2 = 3,4$ war. Mit der genannten Vereinfachung wird aus (9b)

$$\tau = 3,6 \cdot 10^{12} \cdot L'^3 \cdot \frac{r}{q} \left[1 + \frac{1}{3} \sqrt{\frac{r}{q}} \right]^2 \quad (9c)$$

[rohe Näherung; aus (9b) für $4\pi^2 r^2/q^2 \gg 1$].

Die Zeit, welche für die Teilung einer Spirale benötigt wird, nimmt, wie man aus (9a) bis (9c) ersieht, in allen Fällen *mit der dritten Potenz des Molekulargewichts zu*. Sie könnte bei Molekulargewichten von einigen Mal 10^7 durchaus messbar werden.

Dafür, dass die Zerlegung der beiden einander umschlingenden Fäden im betrachteten Beispiel in etwa 50 bis 80 s verwirklicht wurde, war entscheidend, dass eine Lockerung der Doppelspiralen durch Rotation der Zylinderlängsachse und anschliessend eine translativ Trennung der beiden Fäden zugrunde gelegt wurde.

Wenn wir anstatt dieses Mechanismus die Annahme zugrunde legen würden, dass *eine Windung nach der andern* durch entsprechende Brownsche Bewegung der in die Lösung hinaushängenden freien Fadenenden aufgerollt werde, so würde die für die Trennung der beiden Fäden benötigte Zeit in unserm Beispiel anstatt 40 s etwa 150 Tage betragen. Wir verweisen für die Präzisierung der Voraussetzungen, unter denen der vergleichsweise angegebene Zeitbedarf von 150 Tagen erhalten wird und für die genauere Durchführung der Überlegung auf den Anhang.

d) *Verallgemeinerung. Spiralstrukturen, welche aus mehr als 2 zu Spiralen vereinigten Molekülfäden bestehen; Beziehung zur optischen Aktivität der im Organismus vorkommenden hochmolekularen Stoffe.* Es ist einzusehen, dass die Möglichkeit einer Lockerung und einer nachfolgenden translativen Zerlegung eines aus Molekülfäden gebildeten spiraligen Aggregates nicht auf den Fall von 2 einander umschlingenden Fäden beschränkt ist. Ein entsprechender Vorgang kann und muss auch bei Aggregaten vorkommen, bei welchen drei oder mehr spiralig gestaltete Einzelfäden unter gegenseitiger teilweiser Durchdringung und Verzwirnung zu einem gemeinsamen Faden, den wir wieder als *Zylinder* bezeichnen wollen, zusammengefasst sind. Es ist wahrscheinlich, dass Aggregate, welche aus 3 verzwirnten Einzelfäden gebildet werden,

im Kollagen vorkommen⁷. Auch hier ist ersichtlich, dass durch eine unter Konstanthaltung der Zylinderlänge durchgeführte Rotation bzw. Torsion der vorderen gegen die hinteren Zylinderteile eine Ausweitung des Zylinderradius bzw. eine Ausweitung der den Zylinder aufbauenden, von den Einzelfäden gebildeten Spiralen und damit eine *Lockerung* des von den Einzelfäden gebildeten Aggregats hervorgebracht wird. Man erkennt weiter, dass auch hier die Lockerung des von den Einzelfäden gebildeten Aggregats eine Verschiebbarkeit der Einzelfäden in Richtung der Zylinderachse und damit einen Zerfall oder einen Umbau des Gesamtteilchens möglich macht. Man erkennt sofort, dass die Zeit, welche bei Wegfall der die Mehrfachspirale zusammenhaltenden Kräfte für die Längsteilung notwendig ist, wiederum praktisch genommen durch die Gleichungen (9a) bis (9c) gegeben ist. Jene Gleichungen gelten also nicht nur für die Teilung einer von 2, sondern mit guter Näherung auch für die Teilung einer von mehr als zwei Einzelfäden gebildeten Spirale; unter r in den Gleichungen (9a) bis (9c) ist dann der Radius des von 3 oder mehr Fäden gebildeten *Gesamtzylinders* zu verstehen.

Sowohl bei einem aus 2, wie bei einem aus mehreren Einzelfäden gebildeten Zylinder führt indessen die Rotation von E gegen E' in Abbildung 2 nur dann zu einer gleichzeitigen Ausweitung *aller* von den Einzelfäden im Zylinder gebildeten Spiralen, wenn der Windungssinn für *alle* im Zylinder miteinander vereinigten Spiralen der *selbe* ist. Bei den in der Natur, besonders bei den in den lebenden Organismen vorkommenden Hochpolymeren, bürgt die Tatsache, dass die monomeren Einheiten, aus welchen die Einzelfäden gebildet sind, optisch aktiv und konfiguratativ *einheitlich* sind, dafür, dass alle Einzelfäden, welche für die Vereinigung zu einem Zylinder in Frage kommen, einen spiraligen Bau mit *bestimmten* und für alle Fäden *gleichen* Windungssinn mit sich bringen. Wenn ein einziger oder mehrere der zum Zylinder zusammengefassten Einzelfäden einen zum Richtungssinn der übrigen Einzelspiralen entgegengesetzten Richtungssinn mit sich bringen würden, so würde eine Rotation von E gegen E' (Abb. 2), welche den einen Teil der Spiralen lockert, die Spiralen, welche den entgegengesetzten Windungssinn haben, enger machen und damit die Lockerung des Gesamtfadens durch Rotation der Zylinderteile um die Zylinderachse verunmöglichen. Es ergibt sich also, dass das Vorkommen von optischen Antipoden eine *Versteifung* des Aufbaues zur Folge haben müsste.

Es ist damit einleuchtend, dass zwischen dem einheitlich asymmetrischen Bau der Bausteine der im

⁷ A. RICH und F. H. CRICK, *Nature* 176, 915 (1955). – P. M. COWAN, S. M. GAVIN und A. C. T. NORTH, *Nature* 176, 1062 (1955). – H. ZAHN, *Angew. Chem.* 64, 295 (1952). – G. N. RAMACHANDRAN und G. KARTHA, *Nature* 176, 593 (1955). – H. BOEDTKER und P. DOTY, *J. Am. chem. Soc.* 78, 4267 (1956).

Organismus vorkommenden Fadenmoleküle, das heisst zwischen der Einheitlichkeit des Umlaufsinnens der auftretenden Spiralstrukturen einerseits und dem Zeitbedarf der Zerlegung oder des Umbaus solcher Strukturen andererseits ein durchgreifender, die Grössenordnung tangierender Zusammenhang besteht.

Zusammenfassung. Es wird die Frage nach der Zeit behandelt, welche für eine Längsteilung eines in einer Flüssigkeit suspendierten, langgestreckten Teilchens benötigt wird, wenn das letztere aus 2 oder mehreren miteinander spiralig verzwirnten Fadenmolekülen gebildet wird. Eine rasche Zerlegung erfolgt insbesondere in der Weise, dass durch Rotation bzw. Torsion der Zylinderachse eine Lockerung des Spiralaufbaues und durch nachfolgende Translation der Teile eine Zerlegung in Einzelfäden bewirkt wird. Für eine aus 2 Molekülen gebildete Doppelspirale, welche 900 Windungen einer Ganghöhe von $3,4 \cdot 10^{-7}$ cm und einen Radius von 10^{-7} cm und damit eine Gesamtlänge von $3 \cdot 10^{-4}$ cm besitzt (Beispiel der Deoxyribonukleinsäure), würde die Aufteilung in 2 voneinander unabhängige Einzelfäden durch Brownsche Bewegung in solcher Weise etwa 50–80 s in Anspruch nehmen, während die *gliedweise* Abwicklung der Spirale etwa 150 Tage benötigen würde. Die Betrachtungen werden mit von ALEXANDER und STACEY veröffentlichten Versuchen an Deoxyribonukleinsäure in Beziehung gesetzt, und es wird auf die Bedeutung der optischen Asymmetrie für den Zeitbedarf dieser Spaltungsvorgänge und damit für das praktische Verhalten der in Organismen vorkommenden hochmolekularen Verbindungen hingewiesen.

ANHANG

Zeitbedarf für Längsteilung durch Brownsche Bewegung durch gliedweises Abwickeln eines aus 2 oder 3 miteinander verzwirnten Einzelfäden bestehenden Aggregates.

Wir denken uns wiederum die Mitte des Zylinders festgehalten und die Windungen, vom Ende E her, mit 1 bis $\nu/2$ numeriert. Es seien bereits j Windungen abgerollt. Jedes der vom Orte der j -ten Windung nach aussen frei heraushängende Fadenende besitzt dann, der Achse des betreffenden Fadenstücks entlang gemessen, als Länge $j \cdot s$ cm. Wenn dieses Fadenstück gerade gestreckt wäre und mit der Zylinderachse einen Winkel von 45° bilden würde, so wäre der Abstand des freien Fadenendes von der (verlängerten) Zylinderachse gleich $j s / \sqrt{2}$ (Abb. 5). Damit die j -te Windung abrollt, müsste das in Abbildung 5 gezeigte Fadenende in der Lösung einen Weg von der Länge $2 \pi \cdot j s / \sqrt{2}$ zurücklegen. Die Diffusionskonstante, welche dem Fadenendpunkt bei der Zurücklegung dieses Weges zukommt, setzen wir gleich der Diffusionskonstante, welche ein freies Fadenstück der Länge $j s / 4$ bei dieser Bewegung erfahren würde. Sie ist daher, in Analogie zu Gleichung (5), gleich

$$D = \frac{2 k T \cdot 4}{3 \pi \eta_0 j s}. \quad (10)$$

Es ist damit dem Umstand Rechnung getragen, dass nicht alle Teile des Fadenstückes $j s$ in Abbildung 5 den Weg $2 \pi j s / \sqrt{2}$ zurücklegen müssen und dass 2 heraus-

hängende Fadenteile, je der Länge $j s$, in Wirklichkeit mit ihren Brownschen Bewegungen zur Abwicklung

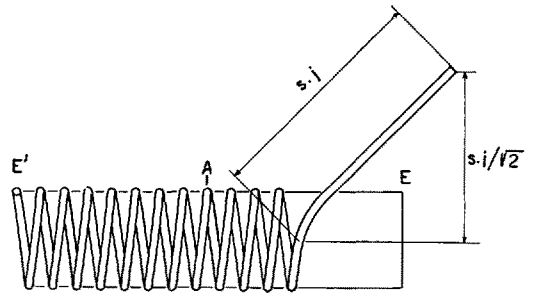


Abb. 5. Wenn vom Ende E des Zylinders angefangen j Windungen eines Fadens, welcher auf dem Zylinder zu einer Spirale aufgewickelt war, abgewickelt und zu einer Geraden der Länge $j s$ ausgestreckt werden, so hat das Ende dieser Geraden, wenn diese mit der Zylinderachse einen Winkel von 45° bildet, von der verlängerten Zylinderachse einen Abstand $j s / \sqrt{2}$.

der Spirale beitragen. Für die Zeit τ_j , welche für die Abrollung der j -ten Windung benötigt wird, erhält man dann

$$\tau_j = \frac{[2 \pi j s / \sqrt{2}]^2}{2 D} = \frac{3 \pi^3}{8} \eta_0 s^3 \frac{j^3}{k T}. \quad (11)$$

Die Zeit τ , welche für die Zurücklegung eines aus vielen Etappen bestehenden Diffusionsvorganges benötigt wird, ist, wenn die Zeit, welche für die isolierte erste, zweite usw. Etappe benötigt würde, gleich τ_1, τ_2 usw. ist, gleich⁸

$$\tau = [\sqrt{\tau_1} + \sqrt{\tau_2} + \dots]^2. \quad (12)$$

Die Zeit, welche für die Abwicklung der $\nu/2$ zwischen den Fadenenden E und der Fadenmitte liegenden Windungen benötigt wird, ist daher gleich

$$\frac{3 \pi^3}{8} \eta_0 s^3 \frac{1}{k T} \left[\sum_0^{\nu/2} j^3 \right]^2.$$

Die Zeit, welche für die Abwicklung der *beiden* Fadenenden je von den Enden her benötigt wird, ist das Vierfache hiervon, also, wenn gleichzeitig die Summe durch ein Integral ersetzt wird:

$$\tau = \frac{3 \pi^3}{8} \eta_0 \frac{4 s^3}{k T} \left[\int_{x=0}^{\nu/2} x^2 dx \right]^2 = \frac{3 \pi^3}{400} \eta_0 \frac{s^3 \nu^5}{k T}. \quad (12a)$$

Wenn wir noch berücksichtigen, dass

$$s \nu = L = L' \sqrt{1 + \left(\frac{2 \pi r}{q} \right)^2}$$

und $\nu = L'/q$ ist, so erhält man für die Zeit zur *gliedweisen* Aufrollung einer Doppelspirale, bestehend aus 2 Fäden, die auf einen Zylinder der Länge L' und vom Radius r mit einer Ganghöhe q aufgewickelt sind:

$$\tau = \frac{3 \pi^3}{400} \eta_0 \frac{L'^3}{k T} \left[1 + \frac{4 \pi^2 r^2}{q^2} \right]^{\frac{5}{2}} \left(\frac{L'}{q} \right)^2 \quad (12b)$$

(für *gliedweise* Aufrollung von Doppelspirale, deren Endenabstand L' , deren Ganghöhe q und deren Radius gleich r ist, durch Brownsche Bewegung).

⁸ Für die, soweit mir bekannt ist, erstmalige Begründung dieser Beziehung siehe W. KUHN, *Helv. chim. Acta* 35, 1684 (1952), insbesondere Gl. (10a) daselbst S. 1692.

Durch Einsetzen der Zahlen $L' = 3 \cdot 10^{-4}$, $T = 300^\circ$ abs., $\eta_0 = 10^{-2}$, $r = 10^{-7}$, $q = 3,4 \cdot 10^{-7}$ erhält man hieraus die für den konkreten Fall im Text genannte Zeit von $1,3 \cdot 10^7$ s oder 150 Tagen.

Summary

The time requirement is treated for a longitudinal fission by Brownian movement of a very long particle consisting of two or more filaments twisted a great number of times round each other to form a double spiral. It is shown that a comparatively swift disintegration is obtained by partial rotation or torsion round the axis of the spiral, resulting in a loosening of the spiral structure and subsequent separation of the constituents by translational Brownian movement. The time required to separate a double spiral consisting of about 900 turns of a height of $3,4 \times 10^{-7}$ cm and a radius of 10^{-7} cm, thus having a length of 3×10^{-4} cm being realized approximately by deoxyribonucleic acid is found by this mechanism to be about 50 to 80 s. The time required to undo the same spiral by unwrapping it turn by turn would be about 150 days. The result of the considerations is related to observations published by ALEXANDER and STACEY on deoxyribonucleic acid. An additional remark stresses the importance of stereochemical asymmetry for the practicability of the mechanism and therefore the importance of optical activity for the time requirement of such disintegrations or transformations of high polymer material occurring in living organisms.

The Influence of Concentration on Dissociation of Deoxyribonucleic Acid by 4 Molar Urea

In earlier publications¹ we had shown that the molecular weight of deoxyribonucleic acid (DNA) as determined by light-scattering fell to one half its value in dilute salt solution when sufficient urea was added to bring the final concentration to 4 M. This and the associated changes in the shape of the molecule were consistent with the view that a longitudinal splitting of the double molecule had occurred. In all these experiments concentrated urea was added to solutions containing less than 0.04% of DNA since these were most convenient for light-scattering experiments. When urea was added to solutions containing more than 0.08% DNA dissociation no change was observed in molecular weight within 3 h (Fig. 1). Since it was not possible to measure molecular weights directly at these concentrations the experiments were carried out as follows.

Equal volumes of the initial DNA solution and a solution of 8 M urea were mixed and allowed to stand. They were then diluted four times with dilute salt solution so that the final urea concentration was 1.0 M and the light scattering measurements made. A parallel experiment was made in which the final concentration of DNA and urea were the same but the dilutions were made in such a way that the DNA was never exposed to urea of more than 1.0 M. This concentration is not capable of dissociating DNA and a molecular weight of 6×10^6 ions was found in this solvent (Fig. 2). If DNA at a concentration of 0.04% or less was treated with 4 M urea and subsequently diluted with water to 1.0 M urea the mole-

cular weight was found to be 3×10^6 (Fig. 2), but, if the same experiment is done with more concentrated DNA solutions ($> 0.08\%$) then a molecular weight of 6×10^6 is found on a subsequent dilution, proving that 4 M urea was not able to split DNA at these higher concentrations. No reliable data could be obtained for DNA solutions in between the two ranges of DNA concentration studied (Fig. 1) but this is not surprising since the situation in this intermediate range (0.05 to 0.08%) would be expected to be very complex.

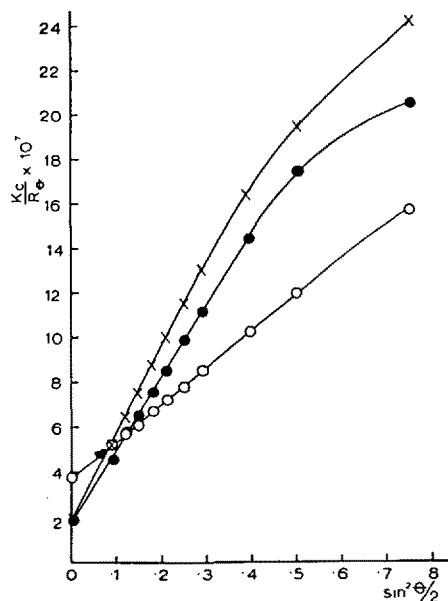


Fig. 1. — Limiting lines of Zimm plots of light scattering data of DNA from herring sperm (for definition of symbols see ¹). The intercept is inversely proportional to the weight average molecular weight of the dissolved DNA.

- 0.01% DNA containing 1.0 M urea and 0.2 M NaCl (Molecular weight 6×10^6).
- To 0.08% DNA an equal volume of 8 M urea was added (i.e. solution was 0.04% DNA in 4 M urea) and diluted 2 h later to finish up as 0.01% DNA containing 1.0 M urea and 0.2 M NaCl (Molecular weight $\sim 3 \times 10^6$).
- x—x— To 0.16% DNA an equal volume of 8 M urea was added (i.e. solution was 0.08% DNA in 4 M urea) and diluted 2 h later to finish up as 0.01% DNA containing 1.0 M urea and 0.2 M NaCl (Molecular weight 6×10^6).

The reason for this remarkable concentration dependence of the dissociation of the twin molecule can not be found in a mass action phenomenon: since the urea is present in vast excess, there can be no question that the equilibrium is completely on the side of the dissociated molecule. An explanation may be found in Professor W. KUHN's suggestion² that length-wise association of the double molecules would prevent the rotational movement of the two threads relative to one another and thus make the relatively facile disentangling process envisaged by KUHN² impossible. Electron micrographs of DNA (Fig. 3), show that it is possible for these long molecules to aggregate in parallel and in fact under the conditions of drying on the supporting film a whole range of aggregates have been observed.

¹ P. ALEXANDER and K. A. STACEY, *Biochem. J.* **60**, 194 (1955).

² W. KUHN, *Exper.* **13**, 301 (1957).