

УДК 541.64

**К ТЕОРИИ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ–КЛУБОК В ГЕТЕРОГЕННЫХ БИОПОЛИМЕРАХ.
МЕТОД ОТЖИГА С ОГРАНИЧЕНИЯМИ**

Ш.А. ТОНОЯН, А.С. МИРЗАХАНЯН, Е.Ш. МАМАСАХЛИСОВ, В.Ф. МОРОЗОВ

Ереванский государственный университет, Армения

sh.tonoyan@ysu.am

(Поступила в редакцию 28 сентября 2012 г.)

Рассмотрена теория перехода спираль–клубок в ДНК, гетерополимерной по энергии образования водородных связей. Теория основана на обобщенной модели полипептидной цепи (ОМПЦ) с применением метода отжига с ограничениями. Получено выражение для свободной энергии гетерополимера через трансфер–матрицу гомополимерной ОМПЦ с переопределенным энергетическим параметром. Получен способ вычисления уширения интервала плавления в зависимости от GC состава и энергий водородных связей для AT и GC пар. На дифференциальной кривой плавления гетерополимера обнаружено 2 максимума. Рассмотрена также температурная зависимость корреляционной длины.

1. Введение

Явление перехода спираль–клубок в биополимерах хорошо известно начиная с 1960–х [1–7] и продолжает активно обсуждаться [8–15]. Традиционно теоретические модели перехода спираль–клубок предполагают, что каждая повторяющаяся единица может находиться либо в спиральном, либо в клубкообразном состоянии. В этой связи в основе большинства моделей перехода спираль–клубок лежит модель Изинга [16–19]. Альтернативный подход состоит в расчете свободной энергии одномерного раствора стыков между спиральными и клубкообразными участками [6]. Традиционные теории используют среднеполевое приближение в том смысле, что гамильтониан модели содержит параметры, уже усредненные по конформациям молекулы. Так, например, параметр кооперативности определяется свободной энергией стыка между клубкообразными и спиральными участками [6]. Ранее были представлены некоторые теоретические модели для полипептидов [20–22] и ДНК [9–13], не использующие приближение среднего поля. Таким образом, хотя ранее предлагались многочисленные модели перехода спираль–клубок, однако, некоторые важные проблемы остаются неизученными, в частности, построение микроскопической теории, описывающей плавление гетерополимера. Это интересно не только для анализа перехода спираль–клубок в реальных гетерополимерах, но также представляет самостоятельный интерес для теории неупорядоченных систем.

Основные подходы к описанию гетерополимера основаны на модели Зимма–Брэгга [1, 16–19]. В предыдущих наших публикациях [23–27] была представлена модель, описывающая переход спираль–клубок, основанная на модели Поттса с многочастичным взаимодействием. Данная модель названа обобщенной моделью полипептидной цепи (ОМПЦ). В рамках этой модели для гомополимеров получен ряд принципиальных результатов. На основе ОМПЦ с применением микроканонического метода нами был получен ряд интересных результатов для гетерополимерного случая [28].

В данной работе нами рассмотрена проблема перехода спираль–клубок с гетерогенностью по энергии образования пар оснований с использованием метода отжига с ограничениями (constrained annealing).

2. Метод отжига с ограничениями

Для исследования перехода спираль–клубок с гетерогенностью по энергиям может быть использован подход, разработанный в работе [29]. Следуя [29], свободная энергия системы с замороженной случайной последовательностью повторяющихся единиц может быть оценена на основании отожденного среднего статистической суммы с соответствующими ограничениями. Данный подход является вариационным и может быть реализован с использованием неопределенных множителей Лагранжа, служащих вариационными параметрами.

Неупорядоченные системы, подобные спиновым стеклам и случайным гетерополимерам, характеризуются двумя типами степеней свободы: отожденные, которые могут перестраиваться таким образом, чтобы минимизировать свободную энергию, и замороженные, которые могут рассматриваться как постоянные во времени. Для биополимеров в качестве отожденных степеней свободы рассматриваются конформации, а последовательность повторяющихся единиц – в качестве замороженных. Согласно [29] свободная энергия может быть оценена как:

$$f \geq g(T, \mu) \geq f_A, \quad (1)$$

где f и f_A – замороженная и отоженная свободная энергия из расчета на повторяющуюся единицу, соответственно,

$$g(T, \mu) = -\frac{1}{N} k_B T \ln \langle Z(\text{seq}) e^{-N\mu\alpha(\text{seq})} \rangle_{\text{av}}. \quad (2)$$

Здесь $Z(\text{seq})$ – статистическая сумма биополимера с замороженной реализацией последовательности seq , а $\alpha(\text{seq})$ – соответствующая самоусредняемая замороженная величина. Здесь $\langle \dots \rangle_{\text{av}}$ означает среднее по функции распределения для последовательности. В дальнейшем мы будем называть данный подход методом "отжига с ограничениями".

3. Модель

Рассмотрим гетерополимер, состоящий из повторяющихся единиц двух сортов, например, для ДНК GC и AT пар. Таким образом, мы представим гетерополимер как случайную последовательность повторяющихся единиц типа A и B , с энергиями водородных связей E_A и E_B . При этом предполагается, что сорта мономеров выбираются статистически независимо, а функция распределения факторизуется в виде

$$P\{E\} = \prod_{i=1}^N [q\delta(E_i - E_A) + (1-q)\delta(E_i - E_B)]. \quad (3)$$

Свободная энергия такой системы выражается в виде

$$F = -k_B T \left\langle \ln \text{Sp} \prod_{i=1}^N G(E_i) \right\rangle_{\text{av}}. \quad (4)$$

Здесь усреднение $\langle \dots \rangle_{\text{av}}$ производится с функцией распределения (3), где $G(E_i)$ – трансфер–матрица для гомополимерного случая:

$$G(E_i) = \begin{cases} G(E_A), & \text{если } i\text{-й мономер будет сорта } A, \\ G(E_B), & \text{если } i\text{-й мономер будет сорта } B. \end{cases} \quad (5)$$

Введем ограничение типа (2) простейшим возможным способом. Пусть

$$\alpha\{E\} = \frac{1}{N} \sum_i (E_i - \langle E \rangle_{\text{av}}), \quad (6)$$

где $\langle E \rangle_{\text{av}} = qE_A + (1-q)E_B$ есть среднее значение энергии, а $\alpha\{E\}$ показывает отличие энергии заданной последовательности от ее средней энергии. Здесь мы обозначили через q концентрацию

звеньев в цепи, т.е. вероятность найти повторяющуюся единицу A в случайно выбранном месте. Тогда $(1-q)$ есть концентрация B звеньев. В силу статистической независимости сортов мономеров, среднее от произведения матриц в (4) распадается на произведение средних матриц вида

$$\langle G(E) \rangle = qe^{-\mu\alpha(E_A)} G(E_A) + (1-q)e^{-\mu\alpha(E_B)} G(E_B), \quad (7)$$

или, перейдя к приведенной энергии,

$$\langle G(J) \rangle = qe^{\mu J_A - \mu \langle J \rangle} G(J_A) + (1-q)e^{\mu J_B - \mu \langle J \rangle} G(J_B), \quad (8)$$

где $J_i = -E_i/kT$. В рамках ОМПП [23,24] трансфер-матрица для гомополимера имеет вид

$$\hat{G}(J_i) = \begin{pmatrix} e^{J_i} & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & Q-1 \end{pmatrix}, \quad (9)$$

где $i = A, B$. Процедура усреднения трансфер-матрицы для гетерополимера, согласно (8), использует приведенную энергию J_i и ее среднее значение $\langle J \rangle$. В трансфер-матрице $G(J_i)$ только элемент 11 зависит от приведенной энергии J_i , остальные от нее не зависят. Усредним элемент 11 матрицы $G(J_i)$:

$$\begin{aligned} \langle G(J) \rangle_{11} &= qe^{\mu J_A} e^{J_A} + (1-q)e^{\mu J_B} e^{J_B} = qe^{(\mu+1)J_A} + (1-q)e^{(\mu+1)J_B} = \\ &= qe^{(1+\mu)J_A} + (1-q)e^{(1+\mu)J_B} = \langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle. \end{aligned} \quad (10)$$

Все остальные элементы матрицы $G(J_i)$ постоянны. Обозначим их через c , где

$$c = \begin{cases} 0 \\ 1 \\ Q-1 \end{cases} : \langle c \rangle = qe^{\mu J_A} c + (1-q)e^{\mu J_B} c = \langle e^{\mu J} \rangle c. \quad (11)$$

После выноса за скобки выражения $\square e^{\square J} \square$, усредненная матрица будет иметь следующий вид:

$$\langle G(J) \rangle = \langle e^{\mu J_i} \rangle \begin{pmatrix} e^{\bar{J}} & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & Q-1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & Q-1 \end{pmatrix}. \quad (12)$$

Таким образом, усредненная матрица с точностью до множителя совпадает с трансфер-матрицей гомополимера с переопределенным энергетическим параметром \bar{e}^J , где

$$e^{\bar{J}} = \langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle / \langle e^{\mu J_i} \rangle = W. \quad (13)$$

Подставив уравнение (12) в (8), получим

$$\langle G(J_i) \rangle = e^{-\mu \langle J \rangle} \langle e^{\mu J_i} \rangle G(\tilde{J}). \quad (14)$$

Подставив уравнение (14) в (4), получим выражение для свободной энергии:

$$F = k_B T \ln Sp \langle G(J) \rangle = -k_B T \ln Sp \left(e^{-\mu \langle J \rangle} \langle e^{\mu J_i} \rangle G(\tilde{J}) \right) = \\ Nk_B T \mu \langle J \rangle - Nk_B T \ln \langle e^{\mu J_i} \rangle - Nk_B T \ln \lambda_1(\tilde{J}), \quad (15)$$

или

$$-F/(Nk_B T) = -\mu \langle J \rangle + \ln \langle e^{\mu J} \rangle + \ln \lambda_1(\tilde{J}), \quad (16)$$

где $\lambda_1(\tilde{J})$ – главное собственное число трансфер-матрицы G , как функции от переопределенного параметра \tilde{J} . Поскольку выражение (2) дает нижнюю оценку свободной энергии цепи с замороженной последовательностью, нам необходимо найти максимум свободной энергии (16) по параметру μ . Для этого необходимо решить следующее уравнение:

$$\frac{\partial}{\partial \mu} \left(-\frac{F}{Nk_B T} \right) = 0, \quad (17)$$

$$-\langle J \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} \left(\ln \langle e^{\mu J_i} \rangle \right) + \frac{\partial \ln \lambda_1(\tilde{J})}{\partial \ln e^{\tilde{J}}} \frac{\partial \ln e^{\tilde{J}}}{\partial \mu} = 0, \quad (18)$$

$$-\langle J \rangle + \frac{\partial}{\partial \mu} \left(\ln \langle e^{\mu J_i} \rangle \right) + \theta \frac{\partial \ln e^{\tilde{J}}}{\partial \mu} = 0. \quad (19)$$

Принимая во внимание выражение (13), из (19) получим

$$-\langle J \rangle + \theta \frac{\partial}{\partial \mu} \ln \langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle + (1-\theta) \frac{\partial}{\partial \mu} \ln \langle e^{\mu J_i} \rangle = 0, \quad (20)$$

$$\langle e^{(1+\mu)J_i} \rangle = qe^{(1+\mu)J_A} + (1-q)e^{(1+\mu)J_B}. \quad (21)$$

Отсюда с учетом тождества

$$\langle J \rangle = \theta \langle J \rangle + (1-\theta) \langle J \rangle \quad (22)$$

получим

$$\theta \frac{e^{(1+\mu)J_A} - e^{(1+\mu)J_B}}{qe^{(1+\mu)J_A} + (1-q)e^{(1+\mu)J_B}} + (1-\theta) \frac{e^{\mu J_A} - e^{\mu J_B}}{qe^{\mu J_A} + (1-q)e^{\mu J_B}} = 0. \quad (23)$$

Из формул (13) и (23) можно исключить μ и окончательно получить

$$W^2(1-\theta) - W \left(E^{J_A}(q-\theta) + e^{J_B}(1-\theta-q) \right) - \theta e^{J_A} e^{J_B} = 0. \quad (24)$$

Таким образом, в уравнении (24) связаны между собой величины W , θ и J_i , причем W и θ определяются гомополимерными соотношениями, которые могут быть получены из базовой модели ОМПЦ.

4. Результаты и обсуждение

Для упрощения решения задачи предположим, что интервал перехода спираль–клубок в гомополимере пренебрежимо мал по сравнению с гетерополимером. Таким образом, мы можем его представить ступенькой, и степень спиральности, в зависимости от энергетического параметра W будет иметь вид, представленный на рис. 1а.

Рассмотрим случай, когда $W < Q$, $\theta = 0$. Подставим значение θ в уравнение (24):

$$W = qe^{J_A} + (1-q)e^{J_B}, \quad (25)$$

то есть при $W < Q$ преобразованное W от гомополимера к гетерополимеру определяется как $W = \langle e^J \rangle$. Как только $W = Q$, система начинает плавиться. Найдем соответствующую температуру. Для этого подставим $W = Q$ в уравнение (25):

$$qe^{J_A} + (1-q)e^{J_B} = Q. \quad (26)$$

При $W > Q$ $\theta = 1$, и формула (24) перейдет в

$$W = \frac{e^{J_A} e^{J_B}}{(1-q)e^{J_A} + qe^{J_B}} \quad (27)$$

или $W^{-1} = \langle e^{-J} \rangle$. То есть при $W > Q$ усредняются обратные величины e^J . Этот результат изменения способа усреднения температурного параметра W при низко- и высокотемпературном разложении свободной энергии ранее был получен нами методом микроканонического усреднения [28].

Итак, если $W \leq Q$, то $W = \langle e^J \rangle$, а если $W \geq Q$, то $W^{-1} = \langle e^{-J} \rangle$. Поскольку $\langle e^{-J} \rangle^{-1} \neq \langle e^J \rangle$, то соотношения $W = Q \pm \varepsilon$, где $\varepsilon \rightarrow 0$, не совпадают. Следовательно, несмотря на то, что переход для гомополимера происходит в нулевом температурном интервале, переход в гетерополимере происходит в ненулевом температурном интервале.

Выясним, как ведет себя степень спиральности в интервале перехода, т.е. когда $T_B < T < T_A$. Ясно, что в этом температурном интервале $W = Q$. Тогда уравнение (24) запишется в виде

$$Q^2(1-\theta) - Q(e^{J_A}(q-\theta) + e^{J_B}(1-q-\theta)) - \theta e^{J_A J_B} = 0. \quad (28)$$

Отсюда получается зависимость $\theta(T)$:

$$\theta = \frac{q}{e^{J_A}/Q - 1} + \frac{1-q}{e^{J_B}/Q - 1}. \quad (29)$$

Таким образом каждому значению θ соответствует своя температура и из выражения (29) можно получить кривую плавления для гетерополимера. На рис.2 представлены кривые зависимостей $\theta(t)$ степеней спиральности от приведенной температуры для гомополимера A , с температурой перехода t_A и гомополимера B с температурой перехода t_B . Приведенная температура определяется соотношением $U_B/T = 1/t$, $U_A/T = u/t$. Температуры перехода о п р е д е л я ю т с я соотношением $e^{J_i} = Q$. На том же графике отмечены точки начала перехода t_1 , определяемом соотношением $W = Q + \varepsilon$, что соответствует

$$qe^{J_A} + (1-q)e^{J_B} = Q, \quad (30)$$

и t_2 для $W = Q - \varepsilon$, что соответствует

$$qe^{-J_A} + (1-q)e^{-J_B} = 1/Q. \quad (31)$$

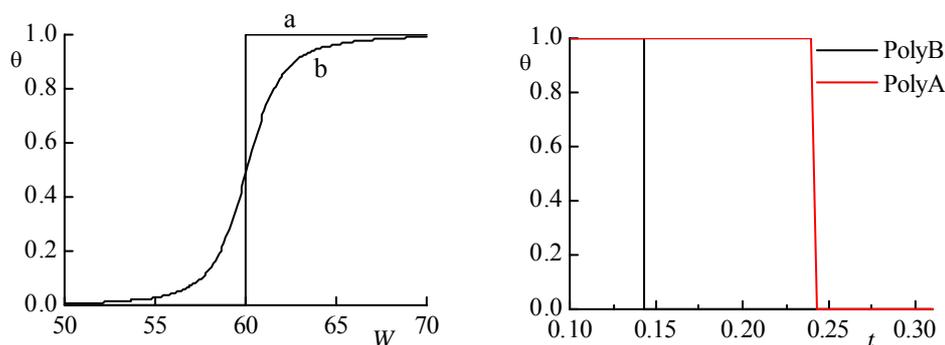


Рис.1. Зависимость $\theta(W)$ для гомополимера при пренебрежении интервалом плавления в гомополимере (а) и при его учете (б) ($Q = 60$).

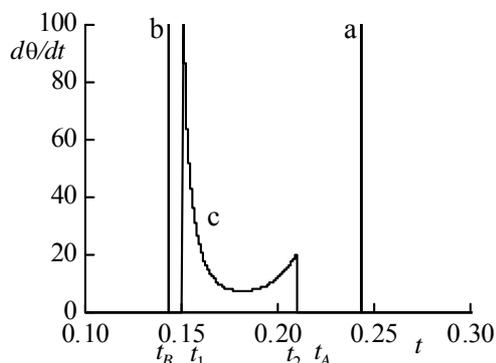


Рис.2. Температурные зависимости степени спиральности для гетерополимера (с) и его мономеров PolyA (а) и PolyB (б) при пренебрежении интервалом плавления для гетерополимера.

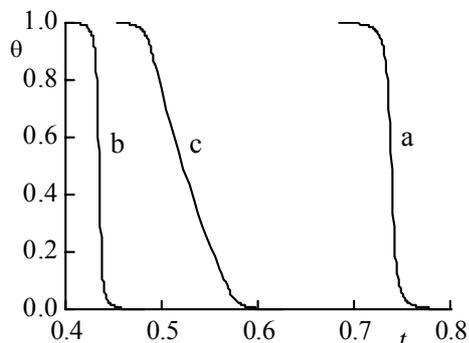


Рис.3. Дифференциальная кривая плавления для гетерополимера (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (б) при пренебрежении интервалом плавления для гетерополимера.

На рис.3 показана дифференциальная кривая плавления для гетерополимера в тех же обозначениях. Теперь учтем интервал перехода гомополимера. В рамках ОМЩ степень спиральности [23-27] определяется соотношением

$$\theta = (UG'V)_{11}/\lambda_1. \quad (32)$$

Здесь U и V – левые и правые собственные векторы матрицы G , матрица G' определяется как матрица G с элементами $G'_{ii} = G_{ii} \square(i,1) \square(j,1)$, \square_1 – максимальное собственное число для матрицы G . Зависимость $\theta(W)$ для гомополимера представлена на рис.1б. Таким образом, в уравнении (24) зависимость $\theta(W)$ представляется выражением (32), и для каждой пары (W_i, \square_i) из уравнения (24) можно определить соответствующую температуру t_i для гетерополимера. На рис.4 приведены кривые плавления гомо- и гетерополимеров. Видно уширение интервала плавления для случая гетерополимера. Более того, на дифференциальной кривой плавления гетерополимера (рис.5) явственно видно два пика. Наличие нескольких пиков (тонкая структура) на ДКП исследовалось как теоретически, так и экспериментально в ряде работ [5–7,31,32]. В рамках нашей модели наличие тонкой структуры в ее минимальном проявлении наблюдается у случайного гетерополимера при простейших предположениях о последовательности (два типа повторяющихся единиц).

Рис.4. Температурные зависимости степени спиральности для гетерополимера (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (б) при учете интервала плавления для гетерополимера.

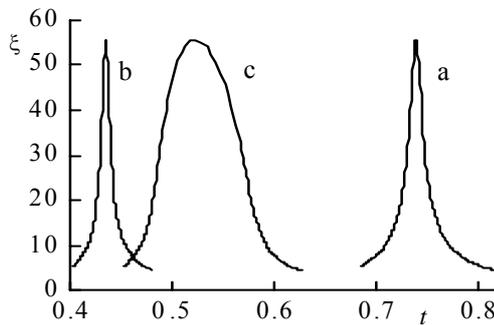
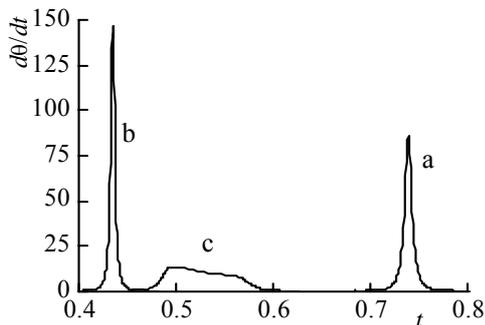


Рис.5. Дифференциальные кривые плавления для гетеро- (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (b) при учете интервала плавления для гетерополимера.

Рис.6. Температурные зависимости корреляционной длины для гетеро- (с) и гомополимеров PolyA (а) и PolyB (b).

Как известно [23-27], корреляционная длина определяется выражением

$$\xi = 1/\ln(\lambda_1/\lambda_2). \quad (33)$$

Таким образом, используя формулы (24) и (33) можно построить температурные зависимости корреляционной длины для гетерополимера аналогично тому, как была получена зависимость степени спиральности θ . На рис.6 показано поведение корреляционной длины в зависимости от температуры для гомополимеров А и В, и для гетерополимера. Из рисунка следует, что гетерополимерные кривые $\xi(t)$ аналогичны гомополимерным, только они значительно шире и располагаются между гомополимерными.

Таким образом в гетерополимере, по сравнению с гомополимером, не подавляются корреляции, а, напротив, они существуют в том же масштабе, но в широком температурном диапазоне. Следовательно, сравнивая рис.5 и 6, можно утверждать, что понижение максимума кривой ДКП не сопровождается потерей кооперативности и, следовательно, увеличение интервала плавления не является критерием потери кооперативности. Аналогичные результаты нами были получены и ранее [30] для других систем. Для выяснения механизма корреляции в гетерополимере необходимо дальнейшее исследование, как это было сделано в [30].

ЛИТЕРАТУРА

1. **D.C.Poland, H.A.Scheraga.** The Theory of Helix-Coil Transition. New York, Academic, 1970.
2. **Yu.Grosberg, A.R.Khokhlov.** Statistical Physics of Macromolecules. AIP, New York, 1994.
3. **R.Cantor, T.R.Shimmel.** Biophysical Chemistry. San Francisco, Freeman, 1980.
4. **P.J.Flory.** Statistical Mechanics of Chain Molecules. New York, Interscience, 1969.
5. **R.M.Wartell, A.S.Benight.** Phys. Rep., **126**, 67 (1985).
6. **A.A.Vedenov, A.M.Dykhne, M.D.Frank-Kamenetskii.** Usp. Fiz. Nauk (Russian), **105**, 479 (1971).
7. **Wada, A.Suyama.** Prog. Biophys. Mol. Biol., **47**, 113 (1986).
8. **T.Chalikian.** Biopolymers, **70**, 492 (2003).
9. **T.Garel, C.Monthus, H.Orland.** Europhys. Lett., **55**, 132 (2001).
10. **D.Cule, T.Hwa.** Phys. Rev. Lett., **79**, 2375 (1997).
11. **M.Baiesi, E.Carlon, E.Orlandini, A.L.Stella.** e-print cond-mat/ 0207122.
12. **M.Peyrard.** Nonlinearity, **17**, R1 (2004).
13. **M.Barbi, S.Lepri, M.Peyrard, N.Theodorakopoulos.** Phys. Rev. E, **68**, 061909 (2003).
14. **M.Takano, K.Nagayama, A.Suyama.** J. Chem. Phys., **116**, 2219 (2001).
15. **V.Munoz, L.Serrano.** Biopolymers, **41**, 495 (1997).
16. **B.H.Zimm, P.Doty, K.Iso.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **45**, 1601 (1959).
17. **B.H.Zimm, J.K.Bragg.** J. Chem. Phys., **31**, 526 (1959).
18. **B.H.Zimm.** J. Chem. Phys., **33**, 1349 (1960).
19. **B.H.Zimm, N.Rice.** Mol. Phys., **3**, 391 (1960).
20. **S.Lifson, A.Roig.** J. Chem. Phys., **34**, 1963 (1961).
21. **S.Lifson, B.H.Zimm.** Biopolymers, **1**, 15 (1963).
22. **S.Lifson, J.Allegra.** Biopolymers, **2**, 65 (1964).
23. **V.F.Morozov, E.Sh.Mamasakhlisov, Sh.A.Nayryan, C.-K.Hu.** Physica A, **281**, 51 (2000).
24. **V.F.Morozov, A.V.Badasyan, A.V.Grigoryan, M.A.Sahakyan, E.Sh.Mamasakhlisov.** Biopolymers, **75**, 434 (2004).
25. **A.В.Царукян, Ш.А.Тоноян, А.В.Бадасян, А.В.Григорян, Е.Ш.Мамасахлисов, В.Ф.Морозов.** Изв. НАН Армении, Физика, **41**, 63 (2006).
26. **Ш.А.Тоноян, Т.Ю.Бурякина, А.В.Царукян, Е.Ш.Мамасахлисов, В.Ф.Морозов.** Изв. НАН Армении, Физика, **42**, 466 (2007).

27. **Ш.А.Тоноян, А.С.Мирзаханян, Г.Н.Айрапетян, А.В.Царукян, В.Ф.Морозов.** Изв. НАН Армении, Физика, **45**,133 (2010).
28. **A.V.Badasyan, A.V.Grigoryan, E.Sh.Mamasakhlisov, A.S.Benight, V.F.Morozov.** J. Chem. Phys., **123**, 194701 (2005).
29. **M.Serva, G.Paladin.** Phys. Rev. Lett., **70**, 105 (1993).
30. **A.V.Badasyan, Sh.A.Tonoyan, A.V.Tsarukyan, E.Sh.Mamasakhlisov, A.S.Benight, V.F.Morozov.** J. Chem. Phys., **128**, 195101 (2008).
31. **M.D.Frank-Kamenetski, A.V.Vologodski.** Nature, **269**, 729 (1977).
32. **S.Cuesta-Lopez.** Europhys. Lett., **87**, 48009 (2009).

ON THE THEORY OF HELIX–COIL TRANSITION IN HETEROGENEOUS
BIOPOLYMERS. CONSTRAINED ANNEALING METHOD

SH.A. TONOYAN, A.S. MIRZAKHANYAN, Y.SH. MAMASAKHLISOV, V.F. MOROZOV

A theory of helix–coil transition in DNA in terms of heterogeneity of H-bond energies is considered. The theory is based on constrained annealing approach in framework of Generalized Model of Polypeptide Chain. The expression of free energy for heteropolymer is derived using transfer-matrix of homopolymer with redefined energy parameter. The method for calculation of melting interval broadening connected to GC composition and AT and GC pairs hydrogen bonding energy is developed. The presence of two maxima on the differential melting curve of heteropolymer is found. The temperature of the correlation length is considered as well.