

где V_i , σ_i и T_i —три параметра Гауссовой кривой: T_i —температура плавления i -го блока.

Полагаем, что каждая из Гауссовых кривых соответствует определенному блоку ДНК. Каждый блок, характеризуемый величиной V_i вносит свой относительный вклад в оптическую плотность (V_i —статистический вес каждого блока).

Качественно было определено число блоков для каждой ДНК и T_i каждого блока, а потом при помощи ЭВМ БСМ-6 методом минимизации вычислялась величина $[y - F(T)]^2$ для каждой точки (взято приблизительно 50 точек). Здесь y —значение ДКП для каждой температуры, а

$$F(T) = \sum_{i=1}^N \frac{V_i}{\sigma_i} e^{-\frac{(T-T_i)^2}{2\sigma_i^2}}.$$

Принимая, что с возрастанием ГЦ-содержания линейно растет температура плавления блоков [3], можно ГЦ-содержание каждого блока вычислить по формуле

$$X_i = \frac{T_m^i - T_{AT}}{T_{GC} - T_{AT}},$$

где T_m^i —температура плавления i -го блока, которая соответствует максимуму данной Гауссовой кривой. X_i —относительное ГЦ-содержание, T_{AT} и T_{GC} —температуры плавления чистых полидезоксиген-АТ и полидезоксиген-ГЦ в соответствующем буфере (в случае 0,1 SSC $T_{AT} = 50^\circ$, $T_{GC} = 100^\circ$) [5].

Зная ГЦ-содержание X_i и статистический вес V_i каждого блока, можно подсчитать валовое ГЦ-содержание молекулы ДНК:

$$X = \sum V_i X_i.$$

(Вычисление V_i смотри в разделе «Результаты и обсуждение»).

Результаты и обсуждение. Кривые плавления и ДКП (разложенные на Гауссовы кривые) для ДНК тимуса теленка печени крысы, *E. coli*, T2 представлены на рис 1—4.

Как видно из рис. 4, даже для ДНК с довольно большим молекулярным весом, выделенных из простых организмов (например, фага T2), распределение нуклеотидных пар нельзя считать квазислучайным: в молекулах имеются блоки с мало различающимся ГЦ-составом.

Вычислим статистические суммы V_i каждого блока.

Сумма площадей всех Гауссовых кривых равна площади, ограниченной ДКП и осью температуры. Поэтому статистический вес каждого блока можно определить как отношение площади данного блока к площади, ограниченной ДКП и осью температуры. Для значительного упрощения расчетов за статистический вес i -го блока можно принять также отношение величины гипохромности в точке пересечения Гауссовой кривой данного блока со следующей $(i+1)$ -й Гауссовой кривой минус гипохромность в точке пересечения с $(i-1)$ -й предыдущей Гауссовой кривой к величине общей гипохромности. Несмотря на то что найденный таким методом статистический вес не является истинным для валового ГЦ-состава, и в этом случае получаются довольно хорошие результаты. Отличие V_i от истинного статистического веса очевидно будет меньше для совокупности Гауссовых кривых с меньшим взаимным перекрыванием.

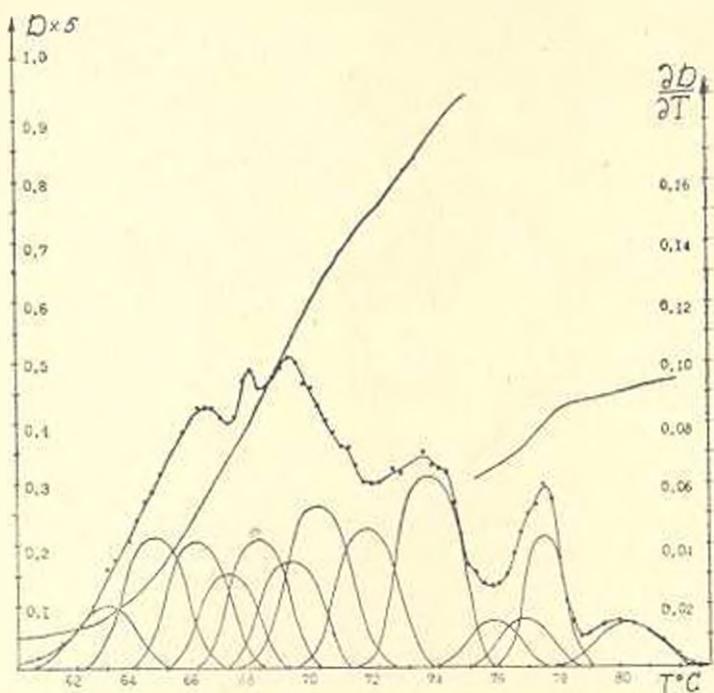


Рис. 1. Кривая плавления и ДКП для ДНК тимуса теленка в 0,1 SSC.

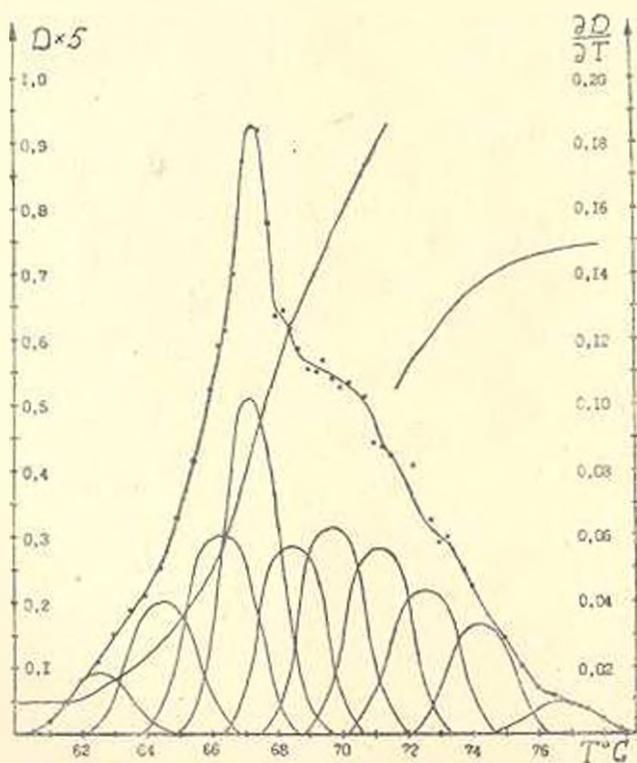


Рис. 2. Кривая плавления и ДКП для ДНК печени крысы в 0,1 SSC.

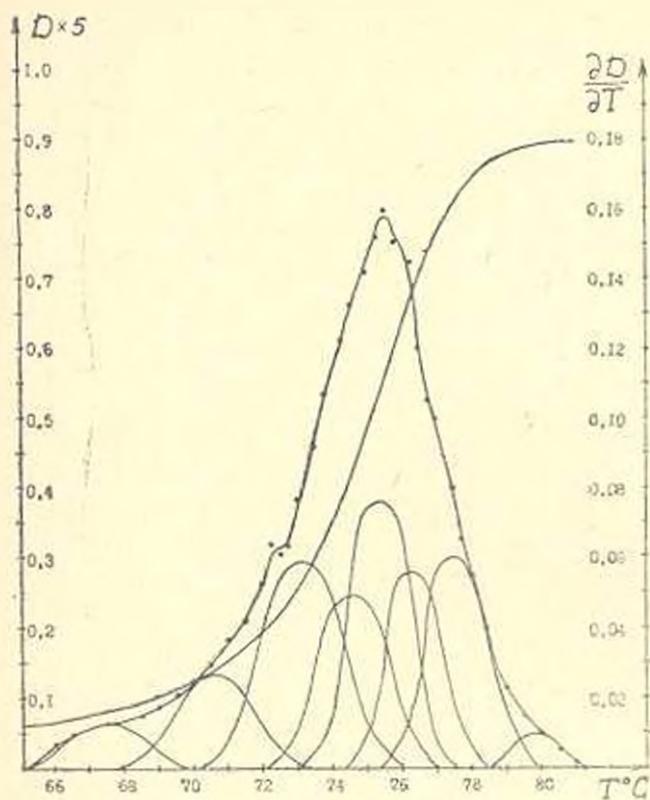


Рис. 3. Кривая плавления и ДКП для ДНК *E. coli* в 0,1 SSC.

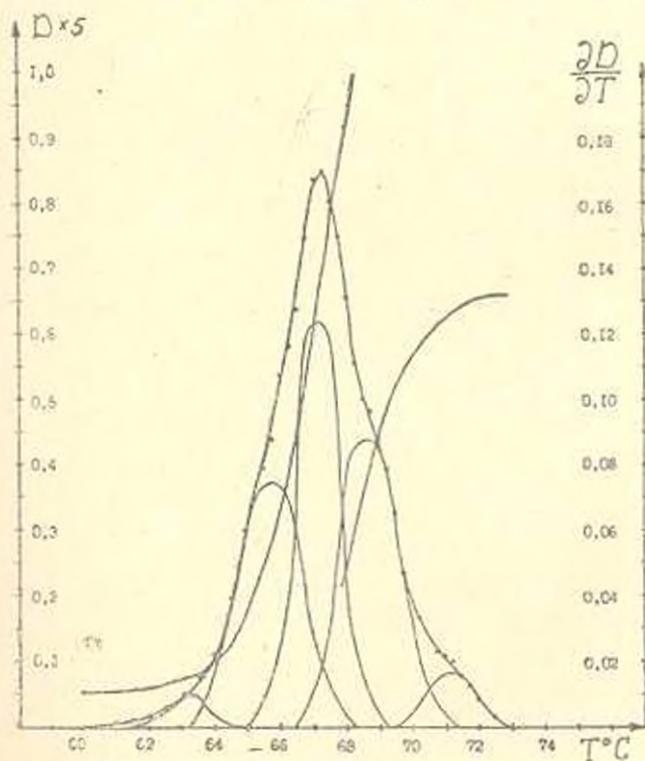


Рис. 4. Кривая плавления и ДКП фага T2 в 0,1 SSC.

Результаты вычислений (V_i — вычислено первым способом) приведены в табл. 1—4, а конечные результаты — в табл. 5. Как видно из

Таблица 1

ДНК из тимуса теленка

№ блока	Температура плавления блока в буфере 0,1 SSC (T_m)	Статистический вес блока (V_i)	% ГЦ содержания блока (X_i)
1	63,0	0,370	26,0
2	64,6	0,0961	29,2
3	66,0	0,4986	32,0
4	67,05	0,0625	34,1
5	68,05	0,1017	36,1
6	69,15	0,0803	38,3
7	70,0	0,1336	40,0
8	71,6	0,0962	43,2
9	73,65	0,1512	47,3
10	75,75	0,0287	51,5
11	76,9	0,0342	53,6
12	77,5	0,0605	55,0
13	80,0	0,0373	60,6

Таблица 2

ДНК фага T2

№ блока	Температура плавления блока в буфере 0,1 SSC (T_m)	Статистический вес блока (V_i)	% ГЦ содержания блока (X_i)
1	65,75	0,2907	31,5
2	67,1	0,3108	34,2
3	68,6	0,3216	37,2
4	71,2	0,0468	42,4

Таблица 3

ДНК из печени крысы

№ блока	Температура плавления блока в буфере 0,1 SSC (T_m)	Статистический вес блока (V_i)	% ГЦ содержания блока (X_i)
1	62,6	0,0420	25,2
2	61,5	0,0915	29,0
3	66,3	0,1390	32,6
4	67,3	0,1962	34,6
5	68,45	0,1278	36,9
6	69,7	0,1320	39,4
7	71,1	0,1207	42,2
8	72,5	0,0862	45,0
9	74,3	0,1723	48,6
10	76,8	0,0231	53,6

Таблица 4

ДНК E. coli

№ блока	Температура плавления блока в буфере 0,1 SSC (T _m)	Статистический вес блока (W)	% ГЦ содержания блока (X)
1	67,5	0,0402	35,0
2	70,6	0,0866	41,2
3	73,1	0,1999	46,2
4	74,6	0,1519	49,2
5	75,4	0,1995	50,8
6	76,3	0,1349	52,6
7	77,5	0,1651	55,0
8	79,8	0,0219	59,6

Таблица 5

Процентное валовое ГЦ содержание в молекулах ДНК

Метод	ДНК			
	тимуса теленка	печени крысы	E. coli	фраг 72
СФ	41,31±0,2	39,12±0,2	49,3±0,1	34,76±0,1
Химический	42 [6]	40 [2]	50 [2]	35 [7]

табл. 5, значения валового содержания ГЦ нуклеотидных пар в молекулах, полученные нами и химическим методом другими авторами, довольно хорошо совпадают для всех анализируемых ДНК. Незначительные отклонения, возможно, определяются различиями в методах выделения ДНК. Преимущества предложенного способа очевидны. Прежде всего, адекватная информация не требует химической дегградации молекул ДНК. Этим методом, более доступным и менее трудоемким, можно найти число блоков, входящих в ДНК данного молекулярного веса, и относительное ГЦ-содержание отдельных блоков.

Ереванский государственный университет,
кафедра молекулярной физики и биофизики

Поступило 28.II 1978 г.

ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային կազմի որոշումը
ԳՄ-ՍՊԵԿՏՐՈՒՑՈՒՄԵՏՐԻԿ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Վ. Մ. ԱՐԱՆՅԱՆ, ՅՈՒ. Ս. ԲԱՐԱՅԱՆ, Վ. Վ. ՍԱՂԱԹԵՆՅԱՆ,
ԻՐԵ. Կ. ՊՈՂՈՍՅԱՆ

Մշակված է մեթոդ, որը թույլ է տալիս որոշել ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային կազմը սպեկտրաֆոտոմետրիկ եղանակով ստացված հալման դիֆերենցիալ կորերի անալիզի հիման վրա:

DETERMINATION OF NUCLEOTIDE CONTENT IN DNA BY UV SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

W. M. ASLANIAN, Y. S. BABAIAN, W. W. SAGATELIAN,
Mik. K. POGOSSIAN

A method is worked out that allows to determine the content of nucleotide in DNA on the basis of differential melting curve analysis received by means of spectrophotometry.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Mandel M. *et al.* J. Bacteriology, 101, 333, 1970.
2. Wiesbahn Gary *et al.* Biopolymers, 15, 1591, 1976.
3. Lazurkin Yu. S. *et al.* Biopolymers, 9, 1253, 1970.
4. Berestetskaya *et al.* Biopolymers, 13, 193, 1974.
5. Huguet T., Jounin L. ВЛВ, 262, 431, 1972.
6. Шугалин А. В., Франк-Каменецкий М. Д. Молек. биол. 5, 766, 1971.
7. Любченко Ю. Л., Трифонов Э. Н., Лазуркин Ю. С., Франк-Каменецкий М. Д. Молекуляр. биология, 5, 772, 1971.
8. Lyubchenko Yu. L. *et al.* Biopolymers, 15, 1019, 1976.