Известия НАН Армении, Физика, т.50, №4, с.511-519 (2015)

УДК 577.323

СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КОМПЛЕКСОВ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ С БРОМИСТЫМ ЭТИДИЕМ

П.О. ВАРДЕВАНЯН*, А.П. АНТОНЯН,
М.А. ПАРСАДАНЯН, М.В. МИНАСЯНЦ

Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

*e-mail: biophys_dep@mail.ru

(Поступила в редакцию 22 апреля 2015 г.)

Проведено исследование взаимодействия бромистого этидия (БЭ) с полинуклеотидами poly(dA)-poly(dT) и poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] при ионной силе раствора 0.02 М и pH = 7.2. Выявлено, что БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] связывается тремя способами – интеркаляционным, полуинтеркаляционным и слабым (электростатическим), в то время как с poly(dA)-poly(dT) двумя способами – интеркаляционным и полуинтеркаляционным. Более того, с poly(dA)-poly(dT) БЭ связывается кооперативно, а с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] – некооперативно.

1. Введение

Изучение функций ДНК представляет определенный интерес, поскольку они тесно связаны с ее упорядоченной пространственной структурой (конформациями). ДНК в растворе представляет апериодический одномерный кристалл, который может переходить из одного конформационного состояния в другое подобно фазовым переходам в кристаллах [1]. На эти переходы существенно может влиять нуклеотидная последовательность ДНК, которая играет важную роль в установлении ее конформаций в растворе. Изменения в нуклеотидной последовательности ДНК могут сдвигать равновесие между различными конформациями, так как при этом изменяются гетерогенность системы (энергия межплоскостных перпендикулярных взаимодействий), степень гидратированности молекулы и распределение плотности заряда в данном участке макромолекулы [2–9]. Естественно предположить, что эти эффекты должны влиять на конформационные изменения ДНК в растворе [10–13], что в свою очередь может приводить к изменениям характеристик ее взаимодействия с лигандами [14–21]. Для определения зависимости структуры ДНК от нуклеотидной последовательности информативными могут быть сравнительные исследования комплексообразования БЭ с такими полинуклеотидами, которые состоят из одинаковых оснований, но представляют собой различные последовательности. Таковыми являются poly(dA)-poly(dT) и poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)]. Poly(dA)-poly(dT) при низкой концентра-

ции соли и высокой относительной влажности волокон имеет структуру типичной B'-ДНК. В растворе этот полинуклеотид более гидратирован, чем poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] или ДНК. Это единственный случай, когда структурные характеристики poly(dA)-poly(dT) в волокнах и в растворе полностью совпадают. У этого полинуклеотида на каждый виток спирали приходятся 10.1±0.1 пар оснований [3], к тому же спираль poly(dA)-poly(dT) не переходит в другие структурные формы. В частности, уменьшение активности воды при добавлении этанола в раствор не вызывает конформационного перехода из B- в A-форму, как в случае poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] или ДНК. У poly(dA)-poly(dT) особый спектр кругового дихроизма (КД) и этот полинуклеотид не образует нуклеосом при взаимодействии с гистоновыми октамерами [3]. У этого полинуклеотида малая бороздка более узкая и молекула в целом имеет более жесткую структуру, чем B-ДНК.

Poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] в растворе приобретает более гибкую структуру и по своим структурным характеристикам мало отличается от природной ДНК. В противоположность ему, poly(dA)-poly(dT), poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] является альтернирующей последовательностью, т. е. в одной и той же нити аденинновые и тиминовые основания чередуются. На уровне двухцепочечной структуры это приводит к тому, что в poly(dA)-poly(dT) каждая элементарная ячейка (A-T пара) находится по соседству с гомологичными элементами, в то время как в poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] каждая A-T пара находится между T-A парами и наоборот. Это обусловливает существенные структурные и функциональные различия между указанными полинуклеотидами, что не может не отразиться на их взаимодействии с лигандами.

Целью настоящей работы является сравнительное исследование взаимодействия БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] и poly(dA)-poly(dT), а также определение параметров связывания для более точного понимания функциональных свойств различных структур ДНК.

2. Материалы и методы исследований

В работе были использованы синтетические полинуклеотиды poly(dA)-poly(dT) и poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] (с одинаковой длиной цепи) фирмы «Sigma» (США), бромистый этидий (БЭ), «Serva» (Германия), NaCl, Na-цитрат, этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) (ос.ч.). Все препараты использовались без дополнительной очистки. Концентрации препаратов были определены абсорбционным методом с использованием следующих коэффициентов экстинкции: poly(dA)-poly(dT) – $\varepsilon_{260} = 6000\ M^{-1}см^{-1}$, poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] – $\varepsilon_{260} = 6600\ M^{-1}см^{-1}$, БЭ – $\varepsilon_{480} = 5800\ M^{-1}см^{-1}$. Исследования проводились при ионной силе $\mu = 0.02$ M, температуре 25°C и pH = 7.0.

Соединения, содержащие группу ароматических хромофорных колец, в том числе БЭ, в растворе могут образовывать димеры при высоких концентрациях (более 1.5×10^{-4} M). Учитывая это, при исследовании комплексов БЭ с полинуклеотидами необходимо работать с такими концентрациями красителя, чтобы

димеризация была бы ничтожна и ею можно было бы пренебречь. При простой димеризации можно определить концентрации как димеров, так и мономеров. Константа связывания K при димеризации в 10^{-1} M NaCl при t = 25°C составляет K = 70 M^{-1} [20]. При простой димеризации $2C_M \rightarrow C_D$, где C_M – концентрация мономеров, C_D – концентрация димеров, можно применить формулу

$$C_D = K_D C_M^2 . \quad (1)$$

Полная концентрация молекул БЭ

$$C_0 = C_M + 2C_D \quad (2)$$

или

$$C_0 = C_M + 2K_D C_M^2 . \quad (3)$$

Поскольку полная концентрация БЭ в наших исследованиях составляла 6×10^{-5} M, то подставляя это значение и учитывая константу димеризации в (3), можно оценить долю мономеров и димеров молекул красителя. В нашем случае концентрация димеров составляла ~0.1%, поэтому ею можно пренебречь.

Спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометрах PYE Unicam SP8-100. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре Varian Cary Eclipse. Для измерений использовали кварцевые кюветы объемом 0.5 мл с длиной оптического пути 1 см. Титрование растворов исследуемых образцов проводили микропипеткой объемом 10 мкл фирмы «Hamilton».

При измерении спектров поглощения концентрация БЭ в растворе оставалась постоянной, а концентрация полинуклеотидов возрастала по ходу титрования. Спектры комплексов БЭ с полинуклеотидами и чистого БЭ измеряли в диапазоне длин волн от 400 нм до 600 нм. Максимум поглощения чистого БЭ соответствует длине волны 480 нм. По ходу спектрофотометрического титрования максимум поглощения раствора БЭ уменьшается и сдвигается в более длинноволновую область. При этом наблюдаются изобестическая точка при 510 нм для двухцепочечных полинуклеотидов [21]. С некоторого значения C_P/C_0, где C_P – концентрация полинуклеотидов в растворе и C_0 – концентрация БЭ, в области длин волн 520–525 нм сдвиг максимума в длинноволновую область прекращается, а спектры отклоняются от изобестической точки, что указывает на то, что БЭ находится в полностью связанном состоянии.

Спектры флуоресценции БЭ с полинуклеотидами получены в интервале длин волн 500–750 нм при длине волны возбуждения λ = 480 нм.

Для получения r/C_f и r из спектров поглощения комплексов БЭ – полинуклеотид определялась концентрация несвязанного лиганда C_f с помощью уравнения

$$\frac{C_f}{C_0} = \frac{A - A_\infty}{A_0 - A_\infty}, \quad (4)$$

где A – поглощение комплекса при данной концентрации лиганда, A_0 и A_∞ – поглощение полностью свободного и связанного лигандов, соответственно, C_0 =

$C_f + C_b$ – полная концентрация БЭ в растворе, $r = C_b/C_p$, C_b – концентрация связанного лиганда и C_p – концентрация фосфатных групп полинуклеотида.

Из спектров флуоресценции рассчитывали концентрацию интеркалированного БЭ, используя уравнение

$$\frac{c_r^{\Phi}(t)}{c_0(t)} = \frac{[I(t) - I_1(t)]}{[I_2(t) - I_1(t)]}, \tag{5}$$

где $I(t)$, $I_1(t)$, $I_2(t)$ – измеряемые интенсивности флуоресценции соответственно исследуемого образца, контрольных образцов со свободным и полностью связанным БЭ ($\lambda_{возб} = 510$ нм, $\lambda_{фл} = 610$ нм), $C_0 = C_1 + C_2$ – сумма концентраций свободного C_1, определяемого из абсорбционных кривых, и связанного C_2 БЭ в растворе. Здесь $C_2 = C_2^{ф} + C_2^{нф}$, $C_2^{ф}$ – связанный флуоресцирующий и $C_2^{нф}$ – связанный нефлуоресцирующий БЭ, $r_ф = C_2^{ф}/C_p$, $r^{нф} = C_2^{нф}/C_p$, $r = r^{ф} + r^{нф}$.

Кривую связывания в координатах Скэтчарда строили из спектров поглощения абсорбции и флуоресценции комплексов БЭ с указанными полинуклеотидами с использованием формул [19]:

$$\frac{r}{C_f} = K\left(1 - nr\right)\left[\frac{(2\omega - 1)(1 - nr) + r - R}{2(\omega - 1)\left(1 - nr\right)}\right]\left[\frac{1 - (n+1)r + R}{2(1 - nr)}\right]^2, \tag{6}$$

$$R = \left(\left[1 - (n+1)r\right]^2 + 4\omega r(1 - nr)\right)^{1/2},$$

где ω – фактор кооперативности, который при связывании БЭ с poly(dA)-poly(dT) принимает значения больше 1, K – константа связывания, n – число мест связывания, значения которых определяются из кривых связывания.

В случае связывания БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] фактор кооперативности ω = 1, поэтому кривую связывания строили по формуле

$$\frac{r}{C_f} = K\left(1 - nr\right)\left[\frac{1 - nr}{1 - \left(n - 1\right)r}\right]^{n-1}, \tag{7}$$

которую линеаризовали, согласно [22], по формуле

$$\frac{r}{C_f} = K(1 - (2n - 1)r). \tag{8}$$

Экспериментальная ошибка не превышала 10%.

3. Результаты и обсуждение

Спектроскопическими (абсорбционным и флуориметрическим) методами исследовано взаимодействие БЭ с двумя синтетическими двухцепочечными (дц) гомополинуклеотидами, состоящими из адениновых и тиминовых оснований, причем один из гомополинуклеотидов является гомопурин-гомопиримидиновой

спиралью, другой – пурин-пиримидин альтернирующей спиралью. На рис.1a,b приведены спектры поглощения и флуоресценции БЭ (кривые *1*) и его комплексов с poly(dA)-poly(dT) (кривые *2–17* на рис.1a и *2–13* – на рис.1b). Аналогичные спектры получены для случая дц-poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] (спектры не приводятся). Из приведенного рисунка видно, что, как и в случае ДНК тимуса теленка, при связывании с poly(dA)-poly(dT) спектры поглощения БЭ уменьшаются в максимумах и сдвигаются в длинноволновую область по сравнению со спектром БЭ без указанных полинуклеотидов. При этом все спектры поглощения комплексов БЭ–poly(dA)-poly(dT) проходят через изобестическую точку. Изобестическая точка указывает на то, что в растворе молекулы БЭ находятся в двух спектрофотометрически различимых формах – свободной и связанной. Важно отметить, что изобестическая точка обычно проявляется на спектрах ДНК–лиганд, если последний связывается интеркаляционным способом.

Из рис.1b видно, что интенсивность флуоресценции БЭ возрастает примерно в 40–50 раз при связывании с poly(dA)-poly(dT) по сравнению с интенсив-

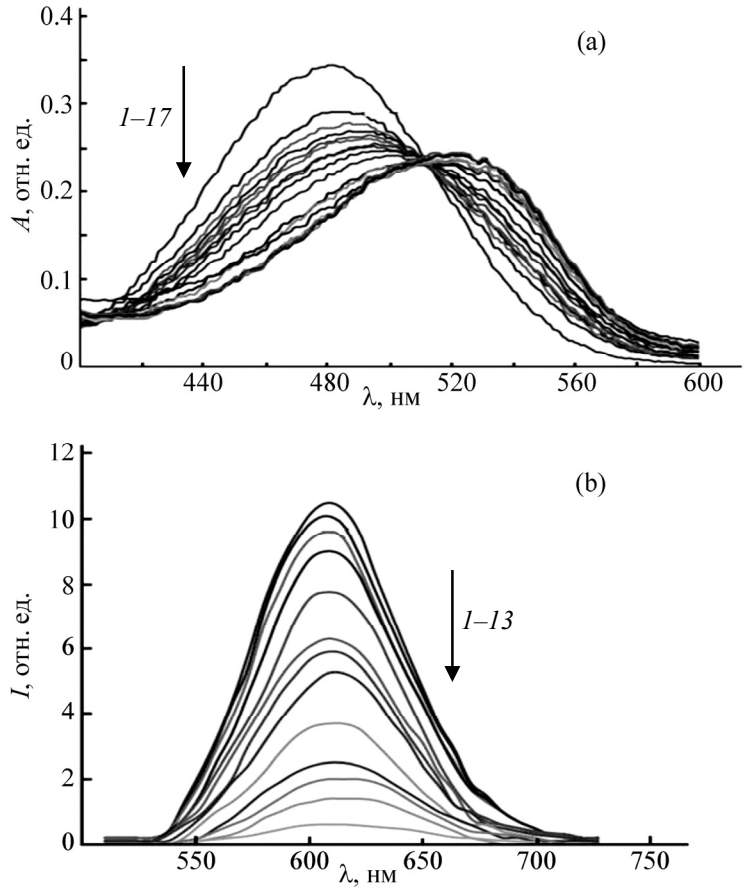

Рис.1. Спектры поглощения (a) и флуоресценции (b) комплексов полинуклеотидов с БЭ.

ностью флуоресценции БЭ. Это обусловлено тем, что молекулы лиганда, интеркалируя в плоскость между парами оснований, становятся недоступными для молекул тушителя (в данном случае для воды и растворенного в ней молекулярного кислорода), вследствие чего интенсивность флуоресценции возрастает [23–26].

Из спектров поглощения и флуоресценции комплексов БЭ с poly(dA)-poly(dT) и poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] получены значения r/C_f, r и построены кривые зависимостей, которые приведены на рис.2. Видно, что взаимодействие БЭ с poly(dA)-poly(dT) (рис.2a) имеет кооперативный характер, в то время как с дц-poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] (рис.2b) кооперативность не обнаруживается. Более того, кривые связывания БЭ с этим полинуклеотидом в координатах Скэтчарда совпадают с аналогичными кривыми, полученными при взаимодействии БЭ с ДНК [24,25].

Известно, что poly(dA)-poly(dT) имеет структуру, отличную от ДНК. Более того, этот полинуклеотид более гидратирован и имеет более жесткую структуру, чем ДНК [3,23]. По всей вероятности, эти структурные особенности

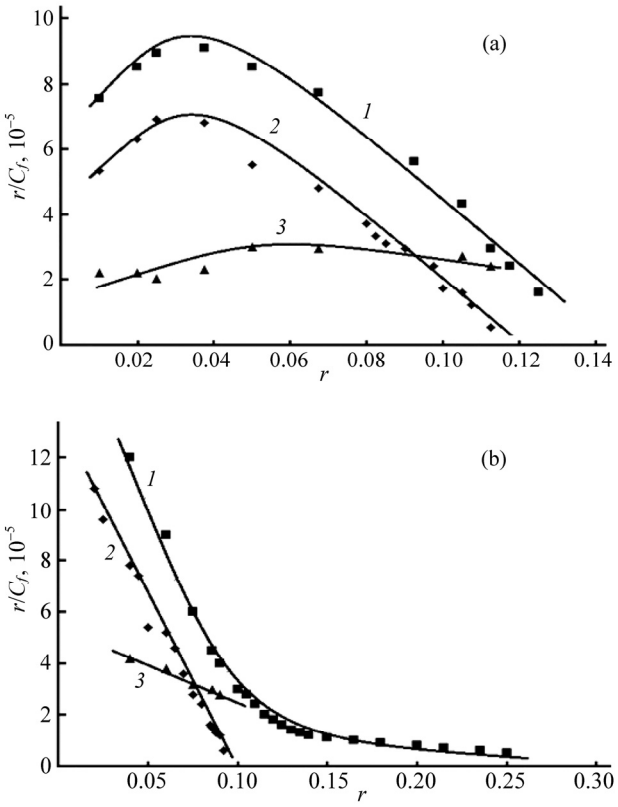

Рис.2. Кривые связывания БЭ с (a) poly(dA)-poly(dT) и (b) с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)], полученные на основании спектров поглощения (кривая *1*) и флуоресценции (кривая *2*). Кривые *3* получены вычитанием соответствующих кривых *2* из кривых *1*. Ионная сила раствора μ = 0.02 M и pH = 7.2.

poly(dA)-poly(dT) и являются причиной возникновения кооперативности при интеркаляции БЭ в дц-структуру этого полинуклеотида. Примечательно, что кривые связывания, полученные из абсорбционных и флуориметрических данных (кривые *1* и *2* на рис.2a) различаются. Вычитанием кривой *2* из кривой *1* при одних и тех же значениях *r* получена кривая *3*. Как видно из приведенного рисунка, данные, соответствующие кривой *3*, слабо возрастают в интервале $0 < r \leq 0.06$, затем с увеличением *r* претерпевают небольшое уменьшение. Разность кривых *1* и *2* указывает на то, что кроме сильного флуоресцирующего (интеркаляционного способа), БЭ с poly(dA)-poly(dT) связывается также слабым нефлуоресцирующим способом, который также носит кооперативный характер.

Иная ситуация обнаруживается при связывании БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)], который состоит из альтернирующих A и T нуклеотидов в каждой из цепей. Из рис.2b видно, что связывание БЭ с этим полинуклеотидом не носит кооперативного характера. Это указывает на то, что структуры poly(dA)-poly(dT) и poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] радикально отличаются. Также очевидно (рис.2b), что кривая связывания (*1*), полученная из абсорбционных данных, нелинейная и состоит из двух участков. В то же время, кривая *2*, полученная из флуориметрических данных, линейная, при этом кривые *1* и *2* также различаются (рис.2b).

Вычитанием кривой *2* из кривой *1* получена кривая *3*. Эта кривая при $r \approx 0.15$ пересекается с кривой *1*. В работах [24,27] показано, что БЭ с ДНК кроме сильного флуоресцирующего (интеркаляционного) комплекса, образует также сильный нефлуоресцирующий (полуинтеркаляционный) комплексы. Эти данные указывают на то, что структура poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] практически не отличается от структуры природных ДНК.

Из кривых связывания БЭ с poly(dA)-poly(dT) и poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] определены параметры K и n с помощью уравнений (3)–(5). Из полученных данных следует, что при сильном способе связывания БЭ с poly(dA)-poly(dT) $K_1 \approx 1\times10^6$ M^{-1} и $n_1 \approx 4.5–5$ при слабом способе – $K_2 \approx 3.5\times10^5$ M^{-1} и $n_2 \approx 2$. При связывании же БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)]: $K_1^{ф} \approx 1.5\times10^6$ M^{-1}, $n_1 \approx 5$, $K_1^{абс} \approx 2\times10^6$ M^{-1}, $n_1 \approx 4–4.5$, $K_2^{нф} \approx 5.6\times10^5$ M^{-1} и $n_2 \approx 3$. Необходимо отметить, что K_s, соответствующая интеркаляционному способу связывания БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)], больше, чем значение K_s для комплексов БЭ-poly(dA)-poly(dT) примерно в два раза. На основании этих данных мы полагаем, что различие обусловлено структурной особенностью poly(dA)-poly(dT) по сравнению с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] и ДНК кооперативностью связывания БЭ с poly(dA)-poly(dT). Высокая степень гидратированности этого полинуклеотида приводит к тому, что интеркаляция молекул БЭ в плоскость пар оснований полинуклеотида затруднена, поскольку при интеркаляции молекулы лиганда должны вклиниваться в плоскость между парами оснований и вступать в стэкинг-взаимодействие с ними. Кооперативность, по всей вероятности, обусловлена тем, что при интеркаляции пер-

вой молекулы лиганда нарушается гидратная оболочка, а также имеет место раскручивание спирали. Вследствие этого меняется структура полинуклеотида и интеркаляция для других молекул БЭ облегчается. Poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] менее гидратирован и его структура соответствует структуре ДНК, что приводит к тому, что БЭ с этим полинуклеотидом связывается некооперативно.

Второй способ связывания БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] также примерно в два раза больше, чем с poly(dA)-poly(dT). С другой стороны, из полученных данных следует, что БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] связывается еще одним, более слабым способом, характеризующимся константой связывания $K_3 \approx 1.6\times10^5$ M^{-1} и $n_3 \approx 1.5$. Как и в случае ДНК, этот способ соответствует электростатическому механизму связывания [24,25].

4. Заключение

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что взаимодействие БЭ с ДНК зависит от типа оснований и последовательности этих оснований [27]. В частности, полинуклеотиды, состоящие из аденинoвых и тиминовых нуклеотидов, но имеющие разную последовательность этих нуклеотидов, в дц-состоянии имеют существенно различные структуры, что обусловливает сродство лигандов с ними. Из полученных данных следует, что БЭ с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] связывается тремя способами: интеркаляционным, полуинтеркаляционным и слабым (электростатическим), как и в случае ДНК [24], в то время как с poly(dA)-poly(dT) двумя способами – интеркаляционным и полуинтеркаляционным. При этом различаются и константы связывания БЭ с этими полинуклеотидами интеркаляционным способом. В случае poly(dA)-poly(dT) значение K меньше, чем в случае poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)]. Этот факт обусловлен тем, что poly(dA)-poly(dT) по сравнению с poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] имеет более высокую степень гидратированности и более жесткую структуру, что затрудняет внедрение молекул интеркалятора в плоскость пар оснований. Другая важная особенность poly(dA)-poly(dT) заключается в том, что слабый электростатический способ связывания БЭ с ним не обнаружен. Тем не менее, эти результаты не исключают возможность связывания БЭ электростатически с этим полинуклеотидом, несмотря на то, что в условиях нашего эксперимента этот способ не обнаружен.

Выявлено, что связывание БЭ с poly(dA)-poly(dT) носит кооперативный характер. Это в некоторых случаях может иметь важное биологическое значение, в частности, способствовать более тонкой модуляции функций ДНК в клетке.

ЛИТЕРАТУРА

1. **M.D. Frank-Kamenetskii.** Unravelig DNA. The Most Important Molecule of Life. Massachusetts, Perseus Books, Reading, 1997.
2. **A.N. Lane, T.C. Jenkins.** Q. Rev. Biophys., **33**, 255 (2000).
3. **В. Зенгер**. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. Москва, Мир, 1987.

4. **L.A. Marky, R.Jr. Macgregor**. Biochemistry, **29**, 4805 (1990).
5. **H.C.M. Nelson, J.T. Finch, B.F. Luisi, A. Klug**. Nature, **330**, 221 (1987).
6. **В.А. Николаев, А.Н. Суровая, Н.Ю. Сидорова, С.Л. Гроховский, А.С. Заседателев, Г.В. Гурский, А.Л. Жузе.** Мол. биол., **27,** 192 (1993).
7. **D. Suh.** Exp. Mol. Medicine, **32**, 204 (2000).
8. **D. Suh, J.B. Chaires.** Bioorganic Med. Chem., **3**, 723 (1995).
9. **T.V. Chalikian, G.E. Plum, A.P. Sarvazyan, K.J. Breslauer.** Biochemistry, **26**, 8629 (1994).
10. **Ш.А. Тоноян, Г.Н. Айрапетян, А.В. Иванов, И.В. Багдян, А.В. Царукян.** Изв. НАН Армении, Физика, **44**, 456 (2009).
11. **Е.Ш. Мамасахлисов.** Изв. НАН РА, Физика, **45**, 142 (2010).
12. **Ш.А. Тоноян, А.С. Мирзаханян, Г.Н. Айрапетян, А.В. Царукян, В.Ф. Морозов.** Изв. НАН Армении, Физика, **45**, 133 (2010).
13. **А.В. Бадасян, А.В. Григорян, А.Ю. Чухаджян, Е.Ш. Мамасахлисов, В.Ф. Морозов.** Изв. НАН РА, Физика, **37**, 320 (2002).
14. **J. Monaselidze, G. Majagaladze, Sh. Barbakadze, D. Khachidze, M. Gorgoshidze, Y. Kalandadze, S. Haroutiunian, Y. Dalyan, V. Vardanyan**. J. Biomol. Struct. Dyn., **25**, 419 (2007).
15. **О.Ф. Борисова, А.А. Щелкина, А.Т. Карапетян, А.Н. Суровая.** Мол. биол., **32**, 855 (1998).
16. **S.A. Bailay, D.E. Graves, R. Hill, G. Marsch.** Biochemistry, **32**, 5881 (1993).
17. **J.B. Chaires**. Biopolymers, **44**, 201 (1998).
18. **C.A. Hunter.** J. Mol. Biol., **230**, 1025 (1993).
19. **C.A. Hunter, X.J. Lu**. J. Mol. Biol., **265**, 603 (1997).
20. **Ю.С. Бабаян.** Биополимеры и клетка, **5**, 79 (1989).
21. **P.O. Vardevanyan, V.L. Elbakyan, M.A. Shahinyan, M.V. Minasyants, M.A. Parsadanyan, N.S. Sahakyan.** J. Applied Spectroscopy, **81**, 1060 (2015).
22. **V.B. Arakelyan, Yu.S. Babayan, G. Potikyan**. J. Biomol. Struct. Dyn., **18**, 231 (2000).
23. **Е.И. Тищенко, А.Т. Карапетян, О.Ф. Борисова.** Мол. биол., **30**, 1970 (1996).
24. **P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, M.A. Parsadanyan, H.G. Davtyan, A.T. Karapetyan.** Exp. Mol. Medicine, **35**, 527 (2003).
25. **P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, M.A. Parsadanyan, H.G. Davtyan, Z.R. Boyajyan, A.T. Karapetian.** J. Biomol. Struct. Dyn., **22**, 465 (2005).
26. **Дж. Лакович.** Основы флуоресцентной спектроскопии. Москва, Мир, 1986.
27. **А.Н. Веселков, С.Ф. Барановский, Л.Н. Дымант, Н.В. Петренко, Д.А. Веселков, А. Такер, Д.Б. Дэвис.** Мол. биол., **31**, 263 (1997).

ABSORPTION AND FLUORESCENCE SPECTRA OF POLYNUCLEOTIDE COMPLEXES WITH ETHIDIUM BROMIDE

P.O. VARDEVANYAN, A.P. ANTONYAN, M.A. PARSADANYAN, M.V. MINASYANTS

The study of ethidium bromide (EtBr) interaction with poly(dA)-poly(dT) and poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] polynucleotides at 0.02 M ionic strength of solution and pH = 7.2 was carried out. It was revealed that EtBr binds to poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] by three modes – intercalation, semi-intercalation and weak (electrostatic) modes, while with poly(dA)-poly(dT) by two modes – intercalation and semi-intercalation. Moreover, EtBr binds to poly(dA)-poly(dT) cooperatively and to poly[d(A-T)]-poly[d(A-T)] – non-cooperatively.