Известия НАН Армении, Физика, т.55, №1, с.126–135 (2020)

УДК 577.3; 547.963.3

ТЕРМОДИНАМИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПОЛИНУКЛЕОТИДА POLY(rA)-POLY(rU) С ЛИГАНДАМИ-ИНТЕРКАЛЯТОРАМИ

П.О. ВАРДЕВАНЯН^{*}, А.П. АНТОНЯН, М.А. ПАРСАДАНЯН

Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

*e-mail: p.vardevanyan@ysu.am

(Поступила в редакцию 5-го сентября 2019 г.)

Проведено плавление poly(rA)-poly(rU) и его комплексов с интеркаляторами MC и БЭ при ионных силах раствора 0.02, 0.04 и 0.1 М. Выявлено, что этот полинуклеотид имеет нестабильную дц-структуру при ионной силе 0.02 М, которая сдвигается в сторону более стабильной формы при комплексообразовании с указанными лигандами. Увеличение ионной силы раствора также приводит к стабилизации дц-структуры этого полунуклеотида, вследствие чего взаимодействие MC и БЭ с этим полинуклеотидом становится более предпочтительным и термодинамически более выгодным. Выявлено, что при ионной силе раствора 0.1 М poly(rA)-poly(rU) принимает такую структуру, которая становится менее доступной для интеркаляции обоих лигандов. В случае MC основным становится связывание полуинтеркаляционным способом, в то время как в случае БЭ все, присущие этому лиганду способы связывания проявляются. Также выявлено, что в случае БЭ значения ΔH и ΔS возрастают, в то время как в случае MC, ΔH и ΔS вначале возрастают, затем уменьшаются при увеличении ионной силы раствора.

1. Введение

Взаимодействие лигандов-интеркаляторов с нуклеиновыми кислотами (НК) в настоящее время представляет большой интерес, как в силу биологической активности, проявляемой ими при связывании с ДНК и РНК [1,2], так и в силу их широкой применимости при создании ДНК-сенсоров [3].

Несмотря на высокую биологическую активность, широкое применение некоторых ДНК-интеркаляторов (в том числе, метиленового синего, бромистого этидия (рис.1)) в качестве противоопухолевых и антибактериальных агентов ограничивается их высокой токсичностью [1–3]. Важность исследований по взаимодействию интеркаляторов с НК состоит также в том, что они могут быть получены с пищей, или синтезироваться клетками организма. Взаимодействуя с НК, эти вещества могут проявлять ингибирующую активность по отношению к лекарственным препаратам, природным и синтетическим мутагенам [4,5]. С



Рис.1. Химическая структура метиленового синего и бромистого этидия.

другой стороны, применение таких активных соединений может снизить токсичность ароматических лигандов при клиническом применении. Основными молекулярными механизмами изменения токсичности при совместном применении различных веществ являются гетероассоциация лигандов (интерцепторный механизм) и конкуренция за места связывания с НК (протекторный механизм) [4,5]. Среди интеркаляторов в последние годы широкое применение приобретают тиониновые соединения, в числе которых – метиленовый синий (МС).

Тионины имеют гетероароматическую молекулу и являются аналогом акридиновых соединений, принадлежащих к фенотиазиновым лекарствам. Эти вещества применяются как полупроводники, сенсибилизаторы энергии, пробы для исследования различных микросред, включающих мицеллы, полимерные матриксы, при подготовке функционирования наноматериалов или для высокой квантовой эффективности фотоэлектрических клеток [6-13]. Эти вещества широко применяются и в биоаналитических методах, в основе которых лежит молекулярное распознавание между ними и макромолекулами. В большинстве из биоаналитических методов используются нуклеиновые кислоты (HK), синтетические и природные олигонуклеотиды [14].

Эти методы направлены на решение медицинских или биотехнологических проблем, связанных с различными заболеваниями или генетической диагностикой [15-20]. Особое место среди биоаналитических методов занимают биосенсорные технологии, которые позволяют установить последовательность нуклеиновых кислот, являющихся мишенями для различных микроорганизмов или вирусов [15-20]. Для увеличения чувствительности сенсоров часто применяются лиганды-интеркаляторы, механизмы взаимодействия которых с ДНК или РНК должны быть известными. Кроме этого, важным является также выяснение условий среды, что позволит с наибольшей точностью и эффективностью проводить соответствующие анализы. С этой точки зрения, одним из важных факторов среды является ионная сила раствора, которая зачастую обусловливает структурное состояние макромолекул в растворе, а также межмолекулярное взаимодействие НК с лигандами. Учитывая это, целью настоящей работы явилось термодинамическое исследование взаимодействия интеркаляторов МС и БЭ с синтетическим полинуклеотидом poly(rA)-poly(rU) при различных ионных силах раствора.

2. Материалы и методы исследований

В работе были использованы: синтетический полинуклеотид poly(rA)poly(rU) MC («Sigma» США, ультрачистые), бромистый этидий – БЭ, «Serva» (Германия), ЭДТА (этилендиаминтетраацетат), NaCl, трехзамещенный Naцитрат (химически чистые). Все препараты использовались без дополнительной очистки. Концентрации препаратов были определены спектрофотометрически, с использованием следующих коэффициентов экстинкции: poly(rA)-poly(rU) – $\varepsilon_{260}=7140$ M⁻¹см⁻¹; MC – $\varepsilon_{668}=76000$ M⁻¹см⁻¹; БЭ – $\varepsilon_{480}=5800$ M⁻¹см⁻¹. Исследования проводились при ионных силах раствора $\mu=0.02$; 0.04 и 0.1 M, содержащих только одновалентные катионы Na⁺.

УФ-плавление комплексов poly(rA)-poly(rU) с МС и БЭ проводилось на спектрофотометре UV/VIS PYE Unicam-SP8-100 (Англия), нагрев термостатируемых ячеек осуществлялся с помощью программного устройства SP 876 Series 2. Спектроскопические измерения осуществлялись в герметически закрытых кварцевых кюветах объемом 3 мл, длиной оптического пути 1 см.

УФ-плавление проводилось, как описано в [21]. Плавление poly(rA)poly(rU) и его комплексов с лигандами проводилось при длине волны максимального поглощения полинуклеотида – 260 нм. Концентрационное соотношение r = лиганд/РНК варьировалось в интервале $0 \le r \le 0.33$ (на нуклеотид). При плавлении скорость нагрева составляла 0.5 град/мин., регистрация осуществлялась автоматически через каждые 60 сек. Данные выводились на монитор ПК в среде программирования LabView. Данные значения температуры и поглощений образцов преобразованы и сохранены с помощью программного обеспечения Microsoft Excel, Office 13. Все расчеты экспериментальных данных и кривые поглощения получены в Excel. Из кривых плавления комплексов poly(rA)-poly(rU)-лиганд определены значения параметров плавления, а также изменения температуры плавления δT_m и ширины интервала перехода $\delta\Delta T$. Кривые зависимости $\delta T_{\rm m}$ и $\delta\Delta T$ от *r* построены в программе Excel.

3. Результаты и обсуждение

Одним из важных свойств ДНК и РНК является их способность проявить структурное многообразие, что представляет определенный интерес с точки зрения понимания их биологической роли. При функционировании ДНК обычно находится в двухцепочечном (дц-) состоянии, однако может переходить в одноцепочечное (оц-) или, редко, в четырехцепочечное (квадруплексное) состояние. РНК может принимать более разнообразные формы. Например, синтетический гомополинуклеотид poly(rA)-poly(rU) является моделью дц-PHK, однако может принимать и трехцепочечную структуру, когда вследствие расхождения poly(rA) и poly(rU), последний связывается с дуплексом. При этом, poly(rA) при нейтральных pH остается в оц-состоянии, а при низких значениях pH самоассоцирует с образованием дц-структуры [22,23]. Тем не менее, при стандартных условиях (комнатной температуре, физиологическом растворе и в присутствии только одновалентных катионов) основной является двухцепочечная форма [22,23].

Учитывая это, нами проведено плавление poly(rA)-poly(rU) и его комплексов с МС при ионных силах раствора 0.02; 0.04 и 0.1 М, в присутствии только одновалентных катионов Na⁺, и получены кривые плавления (кривые не приводятся). Из кривых плавления определены значения параметров плавления – величины температуры плавления $T_{\rm m}$ и ширины интервала перехода ΔT , а также $\delta(1/T_m)$ и $\delta(\Delta T/T_m^2)$, и построены их зависимости от $r = [лиганд]/[\phioc\phiat]$. Для сравнения приведены аналогичные кривые, полученные для комплексов этого полинуклеотида с БЭ (б). Необходимо отметить, что среди многочисленных ароматических соединений, непосредственно связывающихся с НК, БЭ относится к классическим интеркаляторам (рис.1). В ряде исследований показано, что этот лиганд, в зависимости от концентрации и условий среды, взаимодействует с ДНК несколькими способами, а величина константы связывания изменяется в интервале 10⁴÷10⁷ М⁻¹ [24-30]. Многочисленные работы, относящиеся к отдельному или совместному с другими лигандами связыванию БЭ с ДНК во многом обусловлены тем, что этот лиганд является удобной меткой (зондом) для модельных исследованиий [24-30]. С точки зрения биологической активности БЭ проявляет некоторые антибактериальные свойства и считается сильным мутагеном [24–30]. На этом основании, теоретические и экспериментальные данные, полученные для комплексов БЭ с ДНК, могут служить базисом для исследования особенностей взаимодействия различных биологически активных веществ с ней. С этой точки зрения, выявление соответствий или несоответствий теоретических и экспериментальных данных может быть важным для понимания механизмов связывания малых молекул с НК.

Данные по плавлению выявили, что poly(rA)-poly(rU) имеет нестабильную структуру в дц-состоянии при ионной силе раствора 0.02 М, по сравнению с ДНК или poly(dA)-poly(dT) (что свойственно также PHK), однако, при более высоких ионных силах наблюдается стабилизация дц-структуры. С другой стороны, poly(rA)-poly(rU), по сравнению с его дезоксианалогом, имеет более широкий температурный интервал плавления, что обычно свойственно HK с



Рис.2. Кривые зависимости $\delta(\Delta T/T_m^2)$ от *r*, полученные для комплексов poly(rA)-poly(rU)-MC (а) и poly(rA)-poly(rU)-БЭ (b) при ионных силах 0.02 (1), 0.04 (2) и 0.1 M (3).

квазислучайной последовательностью нуклеотидов и обусловлено гетерогенностью стекинг взаимодействий между парами оснований (см. [21]).

На рис.2а приведены кривые зависимости $\delta(\Delta T/T_m^2)$ от *r*, полученные для комплексов poly(rA)-poly(rU)-MC при указанных ионных силах раствора $(\delta(\Delta T/T_m^2) = (\Delta T/T_m^2) - (\Delta_0 T/T_0^2), T_0$ и T_m – температуры плавления, $\Delta_0 T$ и ΔT – ширины интервала плавления poly(rA)-poly(rU) и комплексов этого полинуклеотида с лигандами). Из приведенного рисунка видно, что при ионных силах 0.04 и 0.1 М кривые зависимости $\delta(\Delta T/T_m^2)$ комплексов poly(rA)-poly(rU)-MC возрастают при $0 < r \le 0.1$ и достигают насыщения при значениях r > 0.1, при ионной силе 0.02 М обнаруживается некоторое уменьшение $\delta(\Delta T/T_m^2)$ при значениях r > 0.1. В случае же БЭ кривые зависимости $\delta(\Delta T/T_m^2)$ от г колоколообразные, что является следствием связывания этого лиганда с poly(rA)-poly(rU) более чем двумя способами [21,24]. Из рис.2 также видно, что величина $\delta(\Delta T/T_m^2)$ от r (кривая 2) в случае обоих лигандов при ионной силе раствора 0.04 М больше, чем при ионных силах 0.02 и 0.1 М (кривые 1 и 3). Этот факт указывает на то, что увеличение ионной силы раствора от 0.02 до 0.04 М приводит к уширению ширины интервала плавления комплексов лигандов с poly(rA)-poly(rU). При дальнейшем увеличении этого фактора ΔT уменьшается. Полученные данные указывают на то, что poly(rA)-poly(rU) в отсутствие лигандов находится в стабильном дцсостоянии при условии µ > 0.02 М. Комплексообразование полинуклеотида с лигандом приводит к сдвигу равновесия структуры в сторону стабильной дцформы. При этом, несмотря на то, что наибольшее влияние МС или БЭ на стабилизацию дц-структуры полинуклеотида выявляется при ионной силе 0.02 М, тем не менее, эти лиганды предпочтительнее связываются с дц-poly(rA)poly(rU) при ионной силе 0.04 М. С последующим увеличением ионной силы раствора ширина интервала плавления комплексов при соответствующих значениях г уменьшается, что находится в соответствии с аналогичными

данными, полученными для комплексов БЭ-дц-ДНК (см. [24]).

Полученные данные также указывают на то, что MC, в противоположность БЭ, с дц-poly(rA)-poly(rU) связывается одним или, по крайней мере, двумя способами. Несмотря на то, что MC и БЭ являются интеркалирующими соединениями, тем не менее с ДНК могут связываться также электростатически (в растворе эти лиганды находятся в катионной форме) [25]. На основании этого мы заключаем, что и MC, и БЭ, наряду с интеркаляционным, с дц-poly(rA)-poly(rU) взаимодействуют также электростатически. Полученные для комплексов poly(rA)-poly(rU)-MC кривые зависимости $\delta(\Delta T/T_m^2)$ от г являются результатом проявления двух, а для комплексов poly(rA)-poly(rU)-БЭ – более, чем двух способов связывания.

На рис.3 приведены кривые зависимости $\delta(1/T_m)$ от г poly(rA)-poly(rU) с MC (а) и БЭ (b) ($\delta(1/T_m) = (1/T_0) - (1/T_m)$). Из приведенного рисунка видно, что изменение T_m существенно зависит от ионной силы раствора. В частности, в случае MC, при ионной силе раствора $0/1 \text{ M} \delta(1/T_m) \approx 0$ во всем интервале изменения r ($0 < r \le 0.2$), в то время как при низких ионных силах $\delta(1/T_m)$ существенно увеличивается. В случае БЭ возрастание T_m в зависимости от увеличения концентрации более значительно (рис.3b) и проявляется при указанных трех ионных силах, несмотря на то, что этот параметр также зависит от ионной силы раствора. Этот факт указывает на то, что стабилизирующее влияние и MC, и БЭ на дц-структуру poly(rA)-poly(rU) монотонно уменьшается с увеличением ионной силы раствора.

Разработанная в работе [24] теоретическая модель, на основании изменений параметров плавления комплексов ДНК с лигандами позволяет проводить термодинамический анализ системы и определить изменение энтальпии (ΔH) и энтропии (ΔS) перехода спираль-клубок. С помощью этой модели были рассчитаны значения ΔH и ΔS для комплексов ДНК с БЭ. В интервале изменения ионной силы раствора $0.02 \le \mu \le 0.10$ получено, что $\Delta H \approx 9\div10$ ккал/моль, а $\Delta S \approx 29\div30$ кал/моль K (см. [24]). Аналогичные расчеты с



Рис.3. Кривые зависимости $\delta(1/T_m)$ от *r*, полученные для комплексов poly(rA)-poly(rU)-MC (a) и poly(rA)-poly(rU)-БЭ (b) при ионных силах 0.02 (1), 0.04 (2) и 0.1 M (3).

помощью указанной модели проведены при взаимодействии МС и БЭ с poly(rA)poly(rU) и получены значения изменений ΔH и ΔS , которые приведены в таблице. Из табличных данных выявляется, что в случае взаимодействия МС с poly(rA)poly(rU) ΔH и ΔS возрастают при изменении ионной силы раствора от 0.02 M до 0.04 M, затем, с увеличением концентрации соли ΔH и ΔS уменьшаются, в то время как в случае БЭ наблюдается возрастание величин этих параметров при увеличении ионной силы. Тем не менее, в случае комплексов БЭ с poly(rA)poly(rU), при ионных силах раствора 0.02 и 0.04 M, как ΔH , так и ΔS имеют низкие по сравнению с ДНК значения, в то время как при ионной силе раствора 0.1 M значения ΔH и ΔS , наоборот, имеют большее значение для комплексов БЭ с poly(rA)-poly(rU), чем с ДНК.

Лиганд	μ, Μ	<i>T</i> _{m,} К	ΔH , ккал/моль	ΔS , кал/моль-К
МС	0.02	308	3.5	11
	0.04	313	14.1	45
	0.10	322	8.7	27
БЭ	0.02	308	5.5	18
	0.04	313	6.5	21
	0.10	322	13.2	41

Термодинамические параметры перехода спираль-клубок комплексов poly(rA)-poly(rU) с МС и БЭ при различных ионных силах раствора

Более неожиданными являются данные для комплексов MC с poly(rA)poly(rU), поскольку в случае взаимодействия этого лиганда с ДНК получено, что в интервале изменения ионной силы $0.02 \le \mu \le 0.10 - \Delta H \approx 7 \div 8$ ккал/моль, $\Delta S \approx 25 \div 26$ кал/моль·К.

Тем не менее, полученные результаты для комплексов обоих лигандов с poly(rA)-poly(rU) отражают тот факт, что этот полинуклеотид имеет нестабильную дц-структуру при ионной силе 0.02 М, которая сдвигается в сторону более стабильной формы при комплексообразовании с указанными лигандами. Увеличение ионной силы раствора приводит к установлению стабильной дц-структуры этого полунуклеотида. В этих условиях взаимодействие как БЭ, так и МС с этим полинуклеотидом становится более предпочтительным и термодинамически более выгодным, поскольку оба лиганда, при низких концентрациях, связываются, в основном, интеркаляционным механизмом. Однако, при ионной силе раствора 0.1 М poly(rA)-poly(rU) принимает такую структуру, которая становится менее доступной для интеркаляции обоих лигандов. В этих условиях МС в основном связывается полуинтеркаляционным способом, как и в случае ДНК, в то время как БЭ связывается как интеркаляционным, так и другими способами (см. [19,25]).

Этот факт подтверждается тем, что в случае БЭ значения ΔH и ΔS возрастают, в то время как в случае МС, ΔH и ΔS возрастают, затем уменьшаются. При этом, как видно из табличных данных, при ионной силе раствора 0.1 М значения ΔH и ΔS , рассчитанные для комплексов MC-poly(rA)-poly(rU), практически совпадают со значениями этих параметров, полученных при связывании этого лиганда с ДНК, основным способом связывания с которой для этого лиганда является полуинтеркаляция [25]. В случае же БЭ, на величину изменений энтальнии и энтропии влияют как различные способы связывания этого лиганда, так и ионная сила раствора, как это выявлено для перехода спираль-клубок комплексов БЭ с ДНК [24].

4. Заключение

Полученные данные выявляют, что poly(rA)-poly(rU) имеет относительно нестабильную структуру при ионных силах $\mu \leq 0.04$ М, что обусловливает сродство различных лигандов с этим полинуклеотидом. В частности, лиганды-интеркаляторы, связывающиеся с дц-ДНК с высоким сродством, также могут связываться и с poly(rA)-poly(rU), однако их взаимодействие зависит от структурного состояния этого полинуклеотида и более предпочтительнее в условиях, при которых poly(rA)-poly(rU) не только находится в дц-состоянии, но и доступна для их интеркаляции. Этот факт особенно выражен для МС, который, являясь интеркалятором, тем не менее, не всегда связывается с НК этим способом [25]. Полученные данные выявляют, что этот лиганд может полностью интеркалировать в ДНК или РНК в том случае, когда их спираль, что имеет место при низких ионных силах, раскручена. Этот факт позволяет нам заключить, что МС может стать хорошим маркером в геносенсорных технологиях, поскольку изменением ионной силы раствора можно модулировать особенности связывания этого лиганда с НК.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Государственного комитета по науке МОНКС РА в рамках научного проекта № 18Т-1F030.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. R. Palchaudhuri, P.J. Hergenrother. Current Option in Biotechnology, 18, 497 (2007).
- 2. R. Martinez, L. Chacon-Garcia. Current Medicinal Chemistry, 12, 127 (2005).
- 3. R. Aim, F. Patolsky, F. Katz, I. Willner. Ang. Chem. Int., 44, 4554 (2005).

- А.А. Мосунов, М.П. Евстигнеев. Весник СевНТУ, Серия: Физика биологических систем и молекул, 113, 99 (2011).
- 5. В.П. Евстигнеев, А.С. Бучельников, Д.С. Лохова. Вестник СевНТУ, 113, 3 (2010).
- 6. H. Yang, R. Yuan, Y. Chai, Y. Zhou. Colloids Surface B: Biointerfaces, 82, 463 (2011).
- 7. R. Yu, L. Wang, Q. Xie, S. Yao. Electroanalysis, 22, 2856 (2010).
- A. Mondal, R. Basu, S. Das, P. Nandy. J. Photochem. Photobiol. A Chem., 211, 143 (2011).
- 9. T.C. Chang, Y.P. Yang, K.H. Huang, C.C. Chang, C. Hechst. Opt. Spectrosc., 98, 716 (2005).
- 10. P. Paul, M. Hossain, S.G. Kumar. Biophys. Chem., 148, 93 (2010).
- 11. P. Paul, S.G. Kumar. J. Hazzard mater, 184, 620 (2010).
- 12. Y. Xu, L. Yang, X. Ye, P. He, Y. Fang. Electroanalysis, 18, 873 (2006).
- 13. P. Paul, S.G. Kumar. J. Fluoresc., 22, 71 (2012).
- H.K. Lee, M. Lee, H.W. Rah, N. Lee, Y.H. Cho, J.B. Jeang, H.N. Jung, W.S. Yang, G.H. Ryu. Curr. Appl. Phys., 5, 433 (2005).
- 15. E. Domany. Comp. Phys. Commun., 169, 183 (2005).
- T.C. Mockler, S. Chan, A. Sundaresan, H. Chen, S.E. Jacobsen, J.R. Ecker. Genomics, 85, 1 (2005).
- 17. T.M.-H. Lee, I.-M. Hsing. Anal. Chim. Acta, 556, 26 (2006).
- 18. G.L. Cote, R.M. Lec, M.V. Pishko. IEEE Sensors J., 3, 251 (2003).
- 19. B. Zimmermann, C. Hahnefeld, F.W. Herberg. Targets, 1, 66 (2002).
- 20. A. Erdem, M. Ozsoz. Electroanalysis, 14, 965 (2002).
- P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, M.A. Parsadanyan, M.A. Shahinyan. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, (2019). DOI: 10.1080/07391102.2019.1630006.
- 22. B.I. Kankia. Nucl. Acids Res., 31, 5101 (2003).
- V. Andrushchenko, Yu. Blagoi, J.H. van de Sande, H. Wieser. J. of Biomol. Struct. & Dyn., 19, 889 (2002).
- A.T. Karapetian, N.M. Mehrabian, A.P. Terzikian, P.O. Vardevanian, A.P. Antonyan, O.F. Borisova, M.D. Frank-Kamenetski. J. of Biomol. Struct. and Dyn., 14, 275 (1996).
- P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, M.A. Parsadanyan, M.A. Torosyan, A.T. Karapetian. J. of Biomol. Struct. and Dyn., 34, 1377 (2016).
- 26. M. Hayashi, Y. Harada. Nucleic Acids Research, 35, 1 (2007).
- 27. G. Zhang, X. Hu, P. Fu. Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology, 108, 53 (2012).
- 28. M.N. Dehkordi, A.-Kh. Bordbara, P. Lincoln, V. Mirkhani. Spectrochimica Acta (Part A), 90, 50 (2012).
- J. Piosik, K. Wasielewski, A. Woziwodzka, W. Sledz, A. Gwizdek-Wisniewska. Cent. Eur. J. Biol., 5, 59 (2010).
- Ie. Iermak, A. Woziwodzka, A. Gwizdek-Wisniewska, J. Piosik. General Assembly and Scientific Symposium, XXXth URSI, 1 (2011).

ԻՆՏԵՐԿԱԼՅԱՏՈՐՆԵՐԻ ՀԵՏ POLY(rA)-POLY(rU) ՍԻՆԹԵՏԻԿ ՊՈԼԻՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴԻ ՓՈԽԱԶԴԵՅՈՒԹՅԱՆ ԹԵՐՄՈԴԻՆԱՄԻԿԱՆ

Պ.Հ. ՎԱՐԴԵՎԱՆՅԱՆ, Ա.Պ. ԱՆՏՈՆՅԱՆ, Մ.Ա. ՓԱՐՍԱԴԱՆՅԱՆ

Իրականացվել է poly(rA)-poly(rU)-ի և ինտերկալյատորներ ՄԿ-ի ու ԷԲ-ի հետ նրա կոմպլեքսների հալում լուծույթի 0.02, 0.04 և 0.1 Մ իոնական ուժերի պայմաններում։ ծույց է տրվել, որ այս պոլինուկլեոտիդն ունի ոչ կայուն եշ-կառուցվածք 0.02 Մ իոնական ուժի դեպքում, և ձեռք է բերում ավելի կայուն կառուցվածք նշված լիգանդների հետ կոմպլեքսագոյացման դեպքում։ Լուծույթի իոնական ուժի աձը նաև հանգեցնում է այս պոլինուկլեոտիդի եշ-կառուցվածքի կայունացմանը, ինչի արդյունքում ՄԿ-ի և ԷԲ-ի փոխազդեցությունը այս պոլինուկլեոտիդի հետ դառնում է ավելի նախընտրելի ու թերմոդինամիկորեն ավելի ձեռնտու։ Յույց է տրվել, որ լուծույթի 0.1 Մ իոնական ուժի դեպքում poly(rA)-poly(rU)-ն ընդունում է այնպիսի կառուցվածք, որ ավելի քիչ է հասանելի դառնում երկու լիգանդների ինտերկալյացիայի համար և ՄԿ-ի դեպքում հիմնականը դառնում է կիսաինտերկալյացիայի եղանակով կապումը, այն դեպքում, երբ ԷԲ-ի փոխազդեցության ժամանակ այս լիգանդին բնորոշ կապման բոլոր ձևերը ի հայտ են գալիս։ Նաև ցույց է տրվել, որ ԷԲ-ի դեպքում ΔH -ի և ΔS -ի արժեքներն աձում են, ՄԿ-ի դեպքում՝ դրանք ամում են, ապա նվազում լուծույթի իոնական ուժի աձի դեպքում։

THERMODYNAMICS OF THE INTERACTION OF SYNTHETIC POLYNUCLEOTIDE POLY(rA)-POLY(rU) WITH INTERCALATORS

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

The melting of poly(rA)-poly(rU) and its complexes with the intercalators – methylene blue (MB) and ethidium bromide (EtBr) has been carried out at the ionic strength of the solution 0.02, 0.04 and 0.1 M. This polynucleotide was revealed to have non-stable double-stranded structure at the ionic strength 0.02 M and it becomes more stable at the complex-formation with the mentioned ligands. The increase of the solution ionic strength also results in stabilization of double-stranded structure of the polynucleotide, in consequence of which the interaction of MB and EtBr with poly(rA)-poly(rU) becomes more preferable and thermodynamically more beneficial. It was shown that at the ionic strength 0.1 M poly(rA)-poly(rU) takes a structure that is more available to the intercalation of both ligands. In the case of MB the main binding mode becomes semi-intercalation, while in the case of EtBr all intrinsic binding modes are displayed. It was also shown that in the case of EtBr the values of ΔH and ΔS increase, while in the case of MB those values increase, then decrease at the enhancement of the ionic strength of the solution.