Биолог. ж. Армении, т. 40, № 3, 184—187, 1987 УДК 547.963.3

ЗАВИСИМОСТЬ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ ПЛЕНОК ДНК ОТ ГИДРАТАЦИИ

С. Г. ГЕВОРКЯН, Э. Э. ХУДАВЕРДЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ, Ереванский государственный университет

Аннотация — Микрометодом Морозова были измерены динамический модуль Юнга и логарифмический декремент затухания аморфных пленок ДНК тимуса теленка и селезенки крупного рогатого скота в зависимости от гидратации при t=25°. Показано, что модуль Юнга влажных пленок ДНК ($E=0.02\div0.025$ Гн/м²) с уменьшением гидратации сильно увеличивается и достигает значений $E=0.5\div0.7$ Гн/м². Зависимость E от гидратации носит сложный немонотонный характер, что, вероятно, является выражением внутримолекулярных конформационных изменений ДНК.

Անոտացիա — *Մորոզովի մեթոդով չափվել են հորթի նշաձև գեղձից և խոշոր եղջերավոր անասունների փայծաղից անջատված ԴՆԹ-ի ամորֆ թաղանթների Յունգի մոդուլը և մարման լոգարիթմական դեկրեմենտը՝ կախված հիդրատացիայից t=25°։ Յույց է տրվել, որ խոնավ թաղանթների Յունգի մոդուլը ($E=0,02\div0,025$ Գն/մ²), չրի բանակության նվազման հետ աճում է ($E=0,5\div0,7$ Գն/մ²)։ E-ի կախումը հիդրատացիայից ունի բարդ, ոչ միօրինակ բնույթ, ինչն էլ, հավանաբար, հանգեցնում է ԴՆԹ-ի ներմոլեկուլյար կոնֆորմացիոն փոփոխությունների արտահայտություն։*

Abstract — Dynamical Young's modulus and logarithmic decrement of amorphous membranes of calf timus and cattle spleen DNA were studied by Morozov method at different hydration levels at the temperature t = 25°. Decrease of the hydration of highly hydrated membranes ($E = 0.02\div0.025$ Gn/m²) was shown to cause an increase in the Young's modulus ($E = 0.5\div0.7$ Gn/m²). Dependence of E upon hydration had complicated not monotonous character, which was the expression of intramolecular conformative changes of DNA.

Ключевые слова: аморфные пленки ДНК, гидратация, динамический модуль Юнга, логарифмический декремент затухания, конформация.

Одна из важных проблем физики биополимеров—это проблема изучения жесткости ДНК. Для количественного понимания макроскопических свойств ДНК, ее укладки в хромосомах и вирусных частицах, свойств кольцевых замкнутых и субспиральных ДНК этот параметр имеет важное значение [2, 13]. Изучению этой проблемы был посвящен ряд экспериментальных [7, 8] и теоретических работ [3, 5, 6]. При расчетах жесткости ДНК, основанных на экспериментальных данных, используют модель жесткой палочки, и соответственно возникает проблема персистентной длины. Насколько оправдан такой подход, обсуждается в обзоре [2]. Во всех экспериментальных работах, о которых шла речь, изучались механические свойства ДНК в растворе, и они в основном относятся к одной из конформаций ДНК—В-форме. Известно также, что в твердой фазе (пленки, ориентированные нити, кристаллы), в зависимости от внешних условий (гидратации, температуры), ДНК может находиться в различных конформационных состояниях [10].

Настоящая работа посвящена изучению жесткости аморфных пленок ДНК в зависимости от гидратации.

Материал и методика. Метод измерения динамического модуля Юнга (E) и логарифмического декремента затухания (θ) биополимеров в твердой фазе (микрометод Морозова) детально описан [1, 9]. Он основан на анализе резонансных поперечных колебаний консольно закрепленных пластинок.

Изучали ДНК тимуса теленка и селезенки крупного рогатого скота, содержащие ~3% NaCl по весу. Пленки готовили медленным высушиванием водного насыщенного раствора ДНК на подложке из полиметилметакрилата (оргстекло) при температуре 1÷+10°.

Ориентацию пленок проверяли в поляризационном микроскопе МБИ-15У. 4. 2. Изучали пленки толщиной 5÷20 мкм, из которых вырезали пластинки прямоугольной формы длиной 0,5÷2,0 и шириной 0.05÷0.1 мм. Относительную влажность (A%) в камере поддерживали растворами $CaCl_2$ (от 32 до 97%). Более низкие влажности (10 и 15%) поддерживали насыщенными растворами LiCl и $ZnCl_2$.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 показана зависимость модуля Юнга и логарифмического декремента затухания аморфной пленки ДНК тимуса теленка от относительной влажности при температуре 25° при

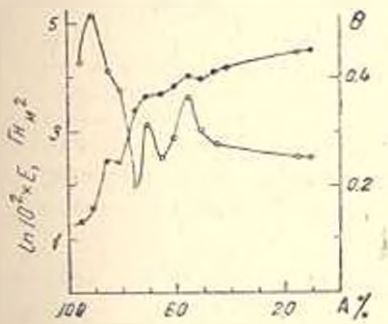

Рис. 1. Зависимость модуля Юнга E (—●—●—) логарифмического декремента затухания θ (··○—○—) пленки ДНК тимуса теленка от относительной влажности A%.

A=95%, E=0,02 Гн/м². Для сравнения отметим, что для аморфных пленок белков при той же относительной влажности E=1 Гн/м² [9], т. е. на 2 порядка больше, чем у ДНК. Как видно из рис. 1, с уменьшением относительной влажности, что приводит к уменьшению гидратации, происходит существенное увеличение модуля Юнга. Это увеличение происходит через ряд переходов—в области, где E выходит на плато. По литературным данным, в твердой фазе при A≥90% наблюдается B-форма, а при A≤75%—A-форма ДНК [10]. На рис. 1 видно, что между B- и A-формами при A=70% существует промежуточное состояние. Вероятно, B—A переход происходит не плавно. При A≤60% функции E(A) и θ(A) имеют ряд особенностей, что, вероятно, соответствует внутрисемейственным переходам. Такая картина наблюдалась во всех образцах (8 экспериментов), проверенных нами.

Логарифмический декремент затухания, который характеризует внутреннее трение в образце, в местах этих переходов имеет ярко выраженные экстремумы.

Была исследована также зависимость E и θ от относительной влажности пленок ДНК селезенки крупного рогатого скота (рис. 2). Видно, что в этих образцах также наблюдается сильное увеличение жесткости с уменьшением гидратации. Несмотря на то, что при высокой влажно-

сти ($A \geqslant 90\%$) эти пленки несколько мягче предыдущих, при низких влажностях ($A \leqslant 30\%$) они становятся более жесткими. Характер немонотонного поведения этих образцов несколько отличается от такового предыдущих. Это указывает на то, что механические свойства чувствительны не только к внутримолекулярным перестройкам в макрообразце, но и к различиям между разными ДНК.

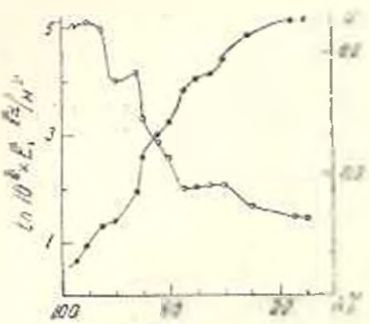

Рис 2.

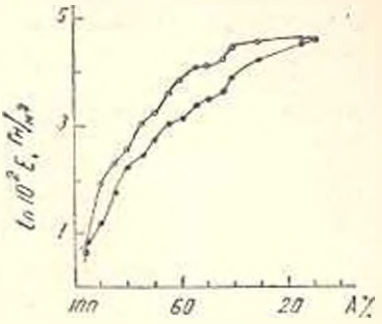

Рис 3

Рис. 2. Пленка ДНК селезенки крупного рогатого скота — ●—● — модуль Юнга E, ○—○—логарифмический декремент затухания δ.

Рис. 3. Пленка ДНК селезенки крупного рогатого скота обратимость изменений модуля Юнга E. ●—● — дегидратация, ○—○—$_E$ гидратация.

Была проверена обратимость процесса дегидратации (рис. 3). При обратном ходе эксперимента (гидратация) наблюдается гистерезис — E больше, чем при дегидратации. Однако все особенности прямого хода повторяются с большой точностью.

В литературе [4, 11] имеются данные о вязкоупругих свойствах пленок ДНК. Авторы работы [4] измеряли скорость распространения звука и модуль Юнга при $A = 92$; 75; 0%. Следует отметить, что пленки ДНК характеризуются большими значениями внутреннего трения, т. е. большой вязкостью. Механические свойства таких систем проявляют сильную зависимость от частоты внешних сил возмущения. Вероятно, по этой причине в работе [4] приводятся весьма большие значения модуля Юнга — 19,4 и 4,6 Гн/м^2 при $A = 92$ и 75% соответственно. Такими значениями E характеризуются органстекла.

Таким образом, механические свойства пленок ДНК зависят от гидратации. Модуль Юнга пленок при $A = 95\%$ имеет значение, равное 0,02÷0,025, а при $A = 75\%$ — 0,4÷0,5 Гн/м^2. Механические свойства чувствительны к внутримолекулярным перестройкам.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Морозов В. Н., Геворкян С. Г.* Биолог. ж. Армении, *39*, 3, 203—207, 1986.
2. *Франк-Каменецкий М. Д.* Мол. биология, *17*, 3, 639—652, 1983.
3. *Хуторский В. Е., Полтев В. И.* Биофизика, *21*, 201—207, 1976.
4. *Hakim M. B., Lindsay S. M., Powell J.* Biopolymers, *23*, 1185—1192, 1984.
5. *Khutorsky V. E., Poltev V. I.* Nature, *264*, 483—484, 1976.
6. *Levitt M.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, *75*, 640—644, 1978.
7. *Millar D. P., Robbins R. J., Zewail A. H.* J. Chem. Phys., *76*, 2080—2094, 1982.
8. *Miller K.* Biopolymers, *18*, 959—980, 1979.
9. *Morozov V. N., Morozova T. Ya.* Biopolymers, *20*, 3, 451—467, 1981.
10. *Pilet J.* Biochemistry, *14*, 1869—1876, 1975.

11. *Putnam B. E., Prohofsky E. W., Van—Zandt L. L.* Biopolymers, *21*, 885—894, 1982.
12. *Zhurkin V. B., Lysov Yu. P., Ivanov V. I.* Biopolymers, *17*, 377—412, 1978.
13. *Zhurkin V. B., Lysov Yu. P., Ivanov V. I.* Nucl. Acids. Res., *6*, 1081—1096, 1979

Поступило 28.VIII 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 3, 187—193, 1987 УДК 541.183:541.132:547.953:537.383

АДСОРБЦИЯ ИОНОВ НА ПОВЕРХНОСТИ ЛИПОСОМ ИЗ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА

С. А. ТАТУЛЯН

Институт цитологии АН СССР, Ленинград

Аннотация — Методом микроэлектрофореза исследована адсорбция катионов щелочноземельных металлов и некоторых анионов на поверхности мультиламеллярных липосом из яичного фосфатидилхолина и адсорбция ионов кальция на липосомах из димиристоил- и дипальмитоилфосфатидилхолина. Результаты описаны в рамках теории Гуи-Штерна. Определены константы связывания ионов с поверхностью липосом и число мест связывания на единицу площади.

Ամփոփում — *Միկրոէլեկտրաֆորեզի մեթոդով ուսումնասիրված է ալկալիահողային մետաղների կատիոնների և որոշ անիոնների ադսորբցիան ձվի ֆոսֆատիդիլխոլինի մուլտիլամելյար լիպոսոմների մակերեսի վրա և կալցիումի իոնների ադսորբցիան դիմիրիստոիլ- և դիպալմիտոիլֆոսֆատիդիլխոլինի լիպոսոմների վրա։ Արդյունքները նկարագրված են Գուի-Շտերնի տեսության շրջանակներում։ Որոշված են լիպոսոմների մակերեսի հետ իոնների միացման և միավոր մակերեսի վրա միացման տեղերի թվի հաստատունները։*

Abstract — Binding of alkaline-earth metal cations and some anions to egg phosphatidylcholine liposomes, as well as binding of calcium ions to dimyristoylphosphatidylcholine and dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes is studied by microelectrophoresis. Binding constants and surface densities of binding sites are determined for several cations and anions with the help of Gouy—Stern theory.

Ключевые слова: липосома, адсорбция ионов, поверхностный потенциал.

В последнее время интенсивно исследуется адсорбция неорганических ионов на бислойных липидных мембранах, являющихся моделями клеточных мембран и представляющих в этом отношении значительный интерес. При этом имеет место существенное расхождение в параметрах адсорбции ионов, определенных разными авторами. Так, кажущаяся константа связывания (K_a) ионов Ca^{2+} с фосфатными группами фосфатидилхолина (ФХ), определенная с помощью монослойной техники, составила $6{,}4 \cdot 10^5$ M^{-1} [18] и $3{,}4 \cdot 10^4$ M^{-1} [12]. Величина K_a, характеризующая связывание Ca^{2+} с моно- и бислоями из яичного ФХ, составила 28,6 M^{-1} [16] и 10—30 M^{-1} [10]. В то же время имеются сообщения о том, что ионы Ca^{2+} не связываются с монослоями из ФХ [9].

Установленные разными методами величины $K_{a,Ca^{2+}}$ для мембран