

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. Х. Биолог. ж. Армении, 34, 845, 1985.
2. Аракелян Г. В., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 27, 94, 1974.
3. Арутюнян Л. М., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 36, 43, 1983.
4. Варданян Дж. А., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 37, 1, 1984.
5. Владимирови М. Г., Семсенько В. Е. Интенсивная культура одноклеточных микродорослей. М., 1962.
6. Заробян Т. Я. Канд. дисс., Ереван, 1977.
7. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1947.
8. Baker J. E., Thomson J. F. Plant Physiol., 37, 618, 1962.
9. Dubois E. Revue des fermentations of des industries alimentaires, 30, 6, 1975.
10. Zalshtey E. J., Berlohr R. W. J. Bacteriol., 95, 322, 1968.
11. Oginsky R. J., Gerrig R. F. J. Biol. Chem., 198, 791, 1952.
12. Ratner S., Pappas A. J. Biol. Chem., 179, 1183, 1949.
13. Raop R. J., Levenberg B. J. Biol. Chem., 243, 5213, 1968.
14. Thomson J. F., Muenster A. M., E. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 43, 1049, 1971.
15. Walker J. B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 38, 561, 1952.

Поступило 23.VII 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 4, 1988

УДК 547.963.3

### ВЛИЯНИЕ ТЕПЛОВОЙ ДЕНАТУРАЦИИ НА ВЯЗКОУПРУГИЕ СВОЙСТВА И ГИДРАТАЦИЮ ПЛЕНОК ДНК

Э. Э. ХУДАВЕРДЯН, С. Г. ГЕВОРКЯН

Ереванский государственный университет,  
Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Показано, что модуль Юнга денатурированных пленок ДНК селезенки крупного рогатого скота больше, чем у нативных. Все особенности изменения модуля Юнга и логарифмического декремента затухания нативных пленок ДНК, которые наблюдаются при изменении гидратации, у денатурированных исчезают. Изотермы гидратации пленок нативного и денатурированного ДНК различаются и зависят от способа денатурации.

*Ցույց է արվել, որ խոշոր կզներազոր կենդանիների փայծաղի զննատարացված ԳՄԲ-ի թաղանթների Յունգի մոդուլը ավելի մեծ է, քան նատիվ ԳՄԲ-ի թաղանթների, նատիվ ԳՄԲ-ի թաղանթների Յունգի մոդուլը և մարման լոգարիթմական զնկրեմենտի փոփոխության բոլոր առանձնահատկությունները, որոնք նկատվում են հիդրատացիայի փոփոխության ժամանակ՝ զննատարացված թաղանթների մեջ անհետանում են նատիվ և զննատարացված ԳՄԲ-ի թաղանթների հիդրատացիայի իզոթերմները տարբերվում են իրարից և կախված են զննատարացման ձևից:*

It has been shown that Young's modulus of denaturated membranes of the spleen of big horned cattle is greater than of native ones. All the properties of dependence of Young's modulus and logarithmic decrement of shading of native membranes during hydration disappear for denaturated membranes. The isotherms of hydration of native and denaturated films are different and depend on the means of denaturation.

Как известно, стабильность спиральной структуры ДНК определяется различными внутри- и межмолекулярными силами взаимодействия на которые в свою очередь влияют гидратация [5, 10], температура [6—8]. Ранее [2] нами были получены значения модуля Юнга и логарифмического декремента затухания пленок нативной ДНК, показана немонокотность зависимости  $E$  и  $D$  от гидратации; сделано предположение, что эти особенности обусловлены в основном внутримолекулярными конформационными изменениями, которые происходят при изменении гидратации.

В настоящей работе представлены результаты изучения вязкоупругих свойств пленок ДНК, денатурированных теплом. Так как гидратация пленок ДНК зависит от температуры [6], содержания солей [3], молярного соотношения анионов и катионов [12], нами были получены также изотермы гидратации пленок изучаемых препаратов ДНК.

**Материал и методы.** В работе использовали нативные и денатурированные препараты ДНК селезенки крупного рогатого скота с молекулярным весом  $10^6$ . Содержание солей — 3% по весу. Метод изготовления пленок описан [2]. Денатурацию проводили в твердой фазе (выдерживанием сухих пленок при разных температурах и течение часа) и в растворе (кипячением ненасыщенного подлинно раствора ДНК).

Метод измерения динамического модуля Юнга и логарифмического декремента затухания (микрометод Морозова) подробно описан [11]. Микрометалл, позволяющий изучать гидратацию образцов весом 0,1—0,01 мг с точностью 0,1%, был разработан нами ранее [1]. Метод основан на анализе резонансных поперечных колебаний консолидно закрепленного микростержня, к свободному концу которого прикреплен исследуемый образец. В работе были использованы стержни с прямоугольным поперечным сечением из сплава бронзы. Такие стержни толщиной 10 мкм, шириной 200 мкм и длиной 1—2 мм имеют собственную резонансную частоту поперечных колебаний 1—2 МГц. Изучаемые пленки ДНК готовили прямо на свободном конце стержня, на нем высушивая ненасыщенный водный раствор ДНК.

Относительную влажность (А%) в термостатированной камере ( $t=25^\circ$ ) создавали: 95 до 32% — водными растворами  $\text{CaCl}_2$  разной плотности, 15 и 10% — насыщенными водными растворами  $\text{LiCl}$  и  $\text{ZnCl}_2$  соответственно.

Точку  $A=0\%$  (сухой образец) получали нагреванием микростержня с образцом в присутствии силикагеля до  $150^\circ$  и выдерживанием их при этой температуре около 30 мин. Процедуру высушивания производили в камере, описанной в [4]. Для нагрева в радиатор камеры подавали (с помощью компрессора) нагретый воздух. Так как при таких температурах ДНК денатурирует, то изучение изотерм начинали с высоких влажностей, переходя далее к низким (дегидратация), а точку  $A=0\%$  использовали для расчета сухого веса ДНК. Этот же образец использовали для изучения изотермы гидратации денатурированных в твердой фазе пленок ДНК. Денатурированные в растворе образцы готовили отдельно.

**Результаты и обсуждение.** На рис. 1 приведены изотермы гидратации нативной и денатурированной теплом (в твердой фазе и растворе) ДНК селезенки крупного рогатого скота. Разница в содержании воды ( $n$ ) при высокой влажности ( $A=95\%$ ) свидетельствует о том, что молекулы ДНК упакованы по-разному в трех разных пленках, так как при высокой влажности вода сорбирует в основном в микропорах между молекулами. Но если изотерма гидратации денатурированной в рас-

творе ДНК остается ниже изотермы нативной, то изотерма денатурированной в твердой фазе ДНК пересекается со второй и при влажностях ниже  $A=75\%$  лежит выше обеих изотерм. Как известно, при низких влажностях происходит заполнение поверхностных слоев сорбции. Следовательно, разница в содержании сорбированной воды при влажностях ниже  $A=40\%$  говорит о том, что свободная от молекулярных контактов поверхность в описанных трех случаях разная. На механические

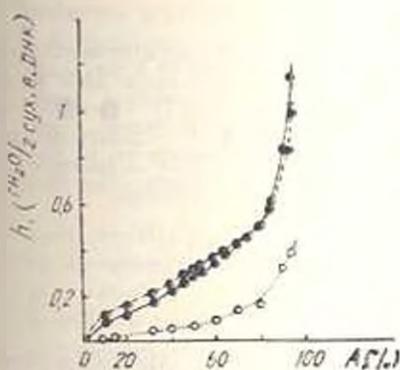


Рис. 1.

Рис. 1. Изотермы гидратации пленок ДНК при  $t=25^\circ$ : 1) —●—●—●— нативной; 2) —●—●— денатурированной в пленке; 3) —○—○— денатурированной в растворе

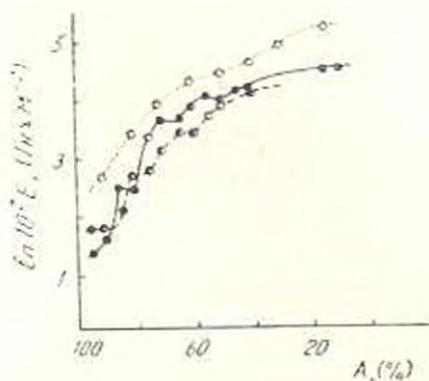


Рис. 2.

Рис. 2. Зависимость модуля Юнга пленок ДНК от относительной влажности при  $t=25^\circ$ : 1) —●—●— нативной; 2) —●—●— денатурированной в пленке; 3) —○—○— денатурированной в растворе.

свойства пленок биополимеров (в данном случае ДНК) влияет и жесткость межмолекулярных контактов. Знание вклада каждой из этих составляющих даст возможность из измеренных механических свойств пленки оценить жесткость самой молекулы ДНК. На рис. 2 приведена зависимость модуля Юнга  $E$  от относительной влажности. При высоких влажностях ( $A \geq 90\%$ ) модуль Юнга пленок нативной ДНК меньше, чем у денатурированных. Все особенности поведения модуля Юнга нативных пленок при изменении влажности у денатурированных пленок не наблюдаются. Поведение денатурированных в растворе пленок напоминает аналогичную зависимость для глобулярных белков (11) и по порядку значения их модулей Юнга близки: при  $A=95\%$  и  $t=25^\circ$   $E \approx 0,2$  Гн/м<sup>2</sup>, а для белков  $E \approx 0,5-1$  Гн/м<sup>2</sup>.

Глобулярные биополимеры, вероятно, характеризуются большими значениями модуля Юнга, чем спиральные. Исчезновение всех особенностей  $E(A)$  при денатурации еще раз указывает на то, что это проявление внутримолекулярных конформационных изменений. На это указывает и сглаживание кривых логарифмического декремента затухания при денатурации (рис. 3). Как известно, внутреннее трение в пленках пропорционально  $\theta$ , и внутримолекулярные перестройки отражаются на нем. Денатурация в твердой фазе (кр. 2 на рис. 2 и 3) при температурах  $t \approx 70^\circ$  не происходит полностью. На это указывает сходство кривых 1 и 2 на рис. 2 и 3. Межмолекулярные контакты в сухих плен-

ках не дают молекулам полностью свернуться в клубок и упаковаться плотнее, как это имеет место при денатурации в растворе.

Таким образом, механические свойства пленок характеризуют состояние ДНК. Денатурированные пленки имеют модуль Юнга больше, чем нативные. При денатурации происходит сглаживание всех осо-

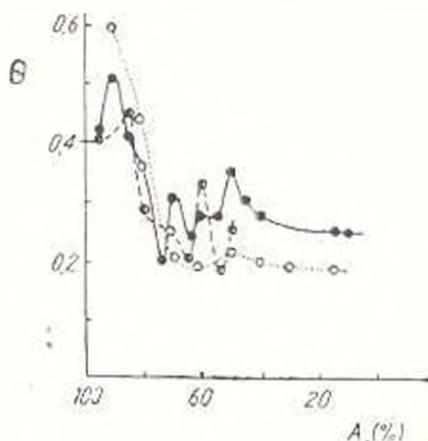


Рис. 3. Зависимость логарифмического декремента затухания пленок ДНК от относительной влажности: 1) —●—●— нативной; 2) —■—■— денатурированной в пленке; 3) —○—○— денатурированной в растворе.

бенностей изменения  $E$  и  $\delta$  при изменении гидратации. Межмолекулярные контакты в пленках стабилизируют молекулу ДНК, что приводит к неполной денатурации молекулы. Это проявляется и на изотермах гидратации образцов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Геворкян С. Г., Морозов В. Н. Биофизика, 28, 6, 944—948, 1983.
2. Геворкян С. Г., Худавердян Э. Э. Биолог. ж. Армении, 49, 3, 184—187, 1987.
3. Козлова Л. А., Сухоруков Б. Н. Журн. физ. хими, 48, 8, 2063—2065, 1986.
4. Морозов В. Н., Геворкян С. Г. Биолог. ж. Армении, 34, 3, 203—207, 1986.
5. Новиков И. А., Сухоруков Б. Н. Молекулярная биология, 11, 3, 521—530, 1977.
6. Семенов М. А., Малеев В. Я., Сухоруков Б. Н. Биофизика, 23, 1097—1098, 1978.
7. Семенов М. А., Малеев В. Я., Сухоруков Б. Н., Шабарчина Л. И. Биофизика, 24, 2, 210—216, 1979.
8. Семенов М. А., Сухоруков Б. Н., Малеев В. Я., Шабарчина Л. И. Биофизика, 24, 4, 611—619, 1979.
9. Сухоруков Б. Н., Машковский Ю. Ш., Биофизика, 18, 3, 294, 1963.
10. Falk B. M., Hartman K. A., Lund R. C. J. Amer. Chem. Soc., 85, 387—394, 1963.
11. Morozov V. N., Morozova T. Ya. Biopolymers, 20, 3, 461—463, 1981.
12. Semenov M. G., Bolkhch T. V. Soviet Biophysics, 87, 213, 227—228, 1982.

Поступило 12 VIII 1987 г.