

УДК 577.323 543.427

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

М. А. Новоселер

Круговой дихроизм комплексов поли-L-лизин-ДНК разного  
ГЦ-содержания, полученных методом непосредственного  
смешивания

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. А. Галояном 19/X 1977)

В ряде работ, выполненных Ли с соавторами (<sup>1,2</sup>), было показано, что при образовании комплексов ДНК с полипептидами и основными белками методом непосредственного смешивания и в ДНП (<sup>3</sup>) ДНК изменяет свою конформацию. Из В-формы она переходит в несколько более скрученную конформацию, промежуточную между В- и С-формами ДНК. Так, в составе ДНП шаг спирали ДНК 32 Å, угол поворота 0,650 радиан вместо 37 Å и 0,575 радиан для канонической В-формы (<sup>3</sup>).

Аналогичные изменения в ДНК, судя по спектрам кругового дихроизма (КД) и данным рентгеноструктурного анализа, наблюдались в растворах высокой ионной силы (>1MNaCl) (<sup>2-3</sup>). Так, показано, что действие поли-L-лизина (ПЛ) эквивалентно эффекту 6MNaCl, а протамин-—3MNaCl.

Настоящее исследование посвящено выяснению вопроса о том, как влияет ГЦ-содержание и последовательность оснований самой ДНК на ее конформационные переходы при комплексовании с ПЛ.

Комплексы ПЛ с ДНК тимуса теленка (% ГЦ—42), ДНК фага T<sub>2</sub>(% ГЦ—35), ДНК E. coli (% ГЦ—51) готовили методом непосредственного смешивания. Концентрация растворов комплексов по ДНК—40 мкг/мл. Спектры кругового дихроизма регистрировали на дихрографе Roussel-Jouan II в интервале 220—340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм при чувствительности прибора 10<sup>-5</sup> м.м<sup>-1</sup>. Все исследованные растворы характеризовали спектрами поглощения, которые снимали на спектрофотометре Unicam SP-8000 в области 220—400 нм для фиксирования величины светового рассеяния на комплексах и уточнения концентрации ДНК.

Нами было обнаружено, что изменения в спектрах КД комплексов ДНК-ПЛ более значительны при комплексовании ПЛ с низкомолекулярными ДНК, чем с высокомолекулярными, в согласии с (<sup>6,7</sup>).

Для того чтобы предотвратить расхождения в данных, обусловленные различными молекулярными весами исследованных нами ДНК, мы дробили все ДНК многократным пропусканием через шприц до молекулярных весов  $3 \times 10^6$ .

На рис. 1 изображены спектры КД исследованных комплексов при различных отношениях  $NH_2/P$ . Спектры КД характеризуем следующими параметрами: длиной волны максимума положительной полосы —  $\lambda_{max}$ , длиной волны сечения кривой КД с нулевой линией —  $\lambda_c$ , и отношением амплитуд —  $\Delta\epsilon_{\lambda_{max}}/\Delta\epsilon_{\lambda_{min}}$ .

Отличие оптической активности от нуля при  $\lambda > 300$  нм для  $NH_2/P = 0,5$  обусловлено, по-видимому, рассеянием на оптически активных частицах. Спектры поглощения (рис. 2) свидетельствуют о том, что размеры этих частиц много меньше  $\lambda$ . Следовательно, рассеяние на них не должно, согласно Гордону (<sup>8</sup>), приводить к сдвигу кроссовера ( $\lambda_c$ ) и  $\lambda_{max}$ , а сказывается только на амплитудах положительной и отрицательной полос. Поэтому мы можем интерпретировать спектры КД, полученные при отношениях  $NH_2/P = 0,5$  наравне с другими.

Из рис. 1 видим, что конформация ДНК фага  $T_2$  и ДНК *E. coli* изменяется при комплексовании с ПЛ значительно слабее, чем конформация ДНК тимуса телят. Действительно,  $\lambda_{max}$  положительной полосы смещена у ДНК тимуса телят на 12 Å,  $\lambda_c$  — на 14 Å,  $-\Delta\epsilon_{\lambda_{max}}/\Delta\epsilon_{\lambda_{min}}$  изменяется от 25/26 до 9/19, тогда как для ДНК фага  $T_2$   $\lambda_{max}$  смещена на 9 Å,  $\lambda_c$  — на 9 Å, а  $-\Delta\epsilon_{\lambda_{max}}/\Delta\epsilon_{\lambda_{min}}$  изменяется от 13/29 до 6/19 при тех же отношениях  $NH_2/P$ . Это означает, что ДНК тимуса телят при комплексовании с ПЛ переходит из В-формы в более закрученную форму, чем ДНК фага  $T_2$ . Чувствительность спектров КД к нуклеотидному составу ДНК (исследовано большее число образцов ДНК разного ГЦ-содержания) была обнаружена Циммером, Лакком (<sup>9</sup>) и Шляхтенко (<sup>10</sup>), когда конформационные изменения вызывались увеличением концентрации солей. Оказалось, что ГЦ-ДНК более подвержены конформационным изменениям, чем АТ-ДНК.

Продолжая мысль об аналогичности действия полипептидов и солей на ДНК мы полагаем, что чем выше ГЦ-содержание ДНК, тем больше их подверженность В — С конформационным переходам, вызванным комплексованием с ПЛ.

Подобие действия полипептидов и высоких концентраций солей обусловлено, вероятно, тем, что аминокислотные остатки ПЛ так же как соли вытесняют молекулы воды из гидратной оболочки ДНК (<sup>1,2</sup>). Из измерений плавучей плотности следует, что d(AT)-пары связывают на два моля воды больше чем d(GC)-пары (<sup>11</sup>) и, следовательно, меньше дегидратируются ПЛ и солями.

Комплексование ДНК *E. coli* с ПЛ, вопреки ожиданиям, мало изменяет спектр КД этой ДНК. Качественность исследованного нами

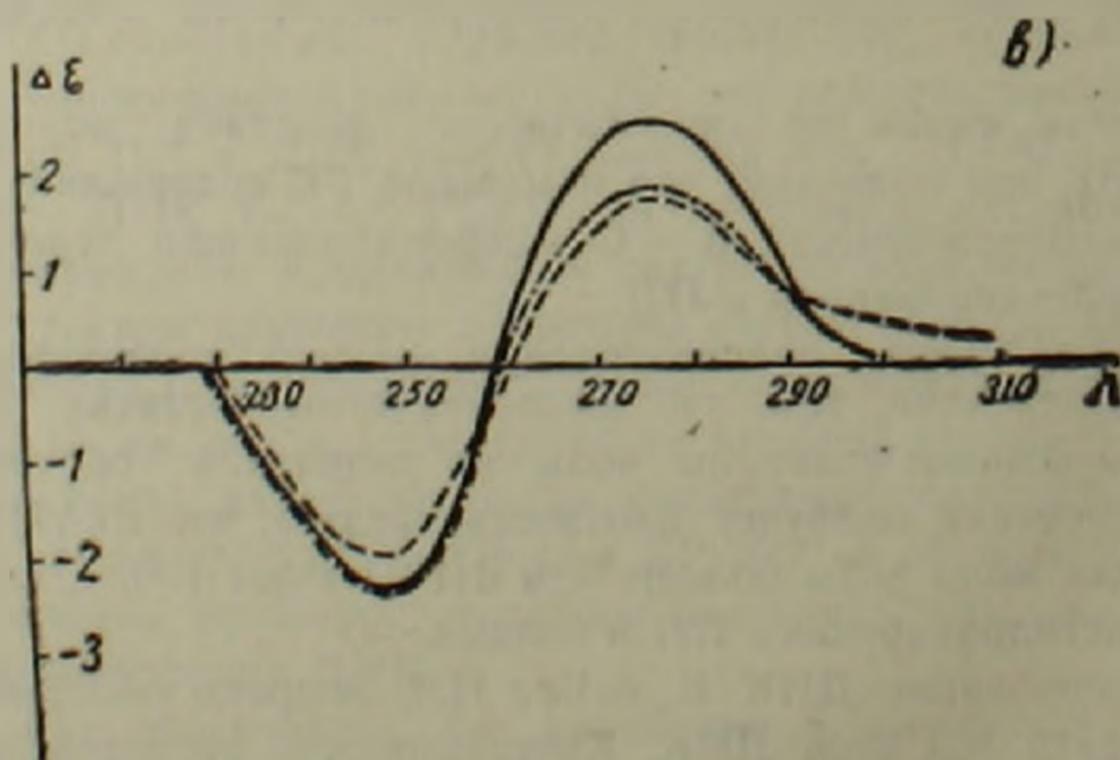
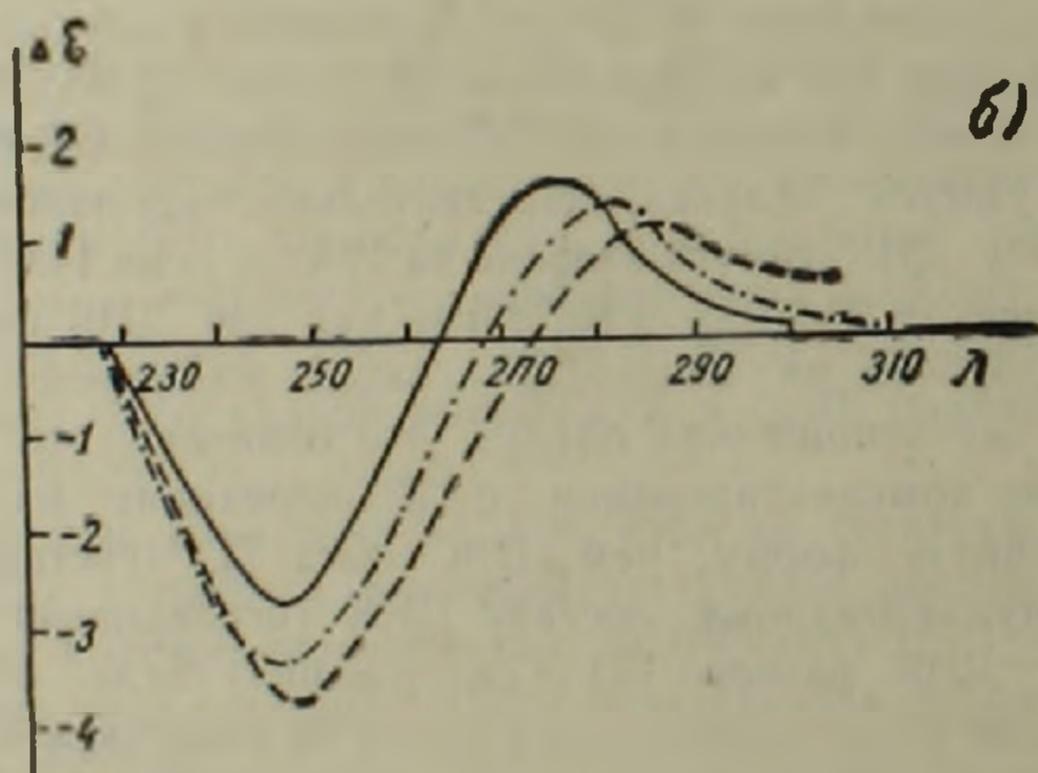
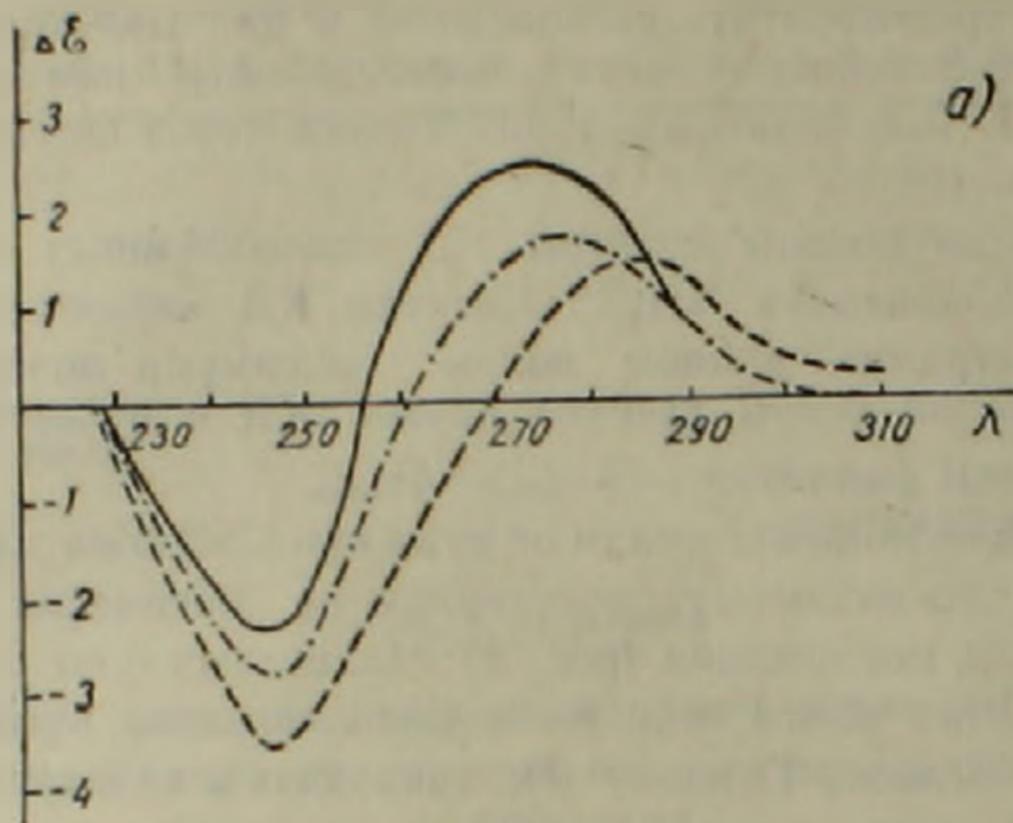


Рис. 1 Спектры КД комплексов ПЛ с ДНК тимуса теленка (а); ДНК фага  $T_1$  (б); ДНК *E. coli* (в) при отношениях  $NH_4/P$ : 0 — (—); 0,25 — (- · -); 0,5 — (- - -)

препарата не вызывает сомнения, так как количество белка в препарате меньше одного процента и спектр КД этой ДНК совпадает с приведенным в литературе (12). Вспомним в связи с этим рентгенографические исследования Брама (13), который показал, что ДНК очень близкого ГЦ-содержания находятся в различных конформациях.

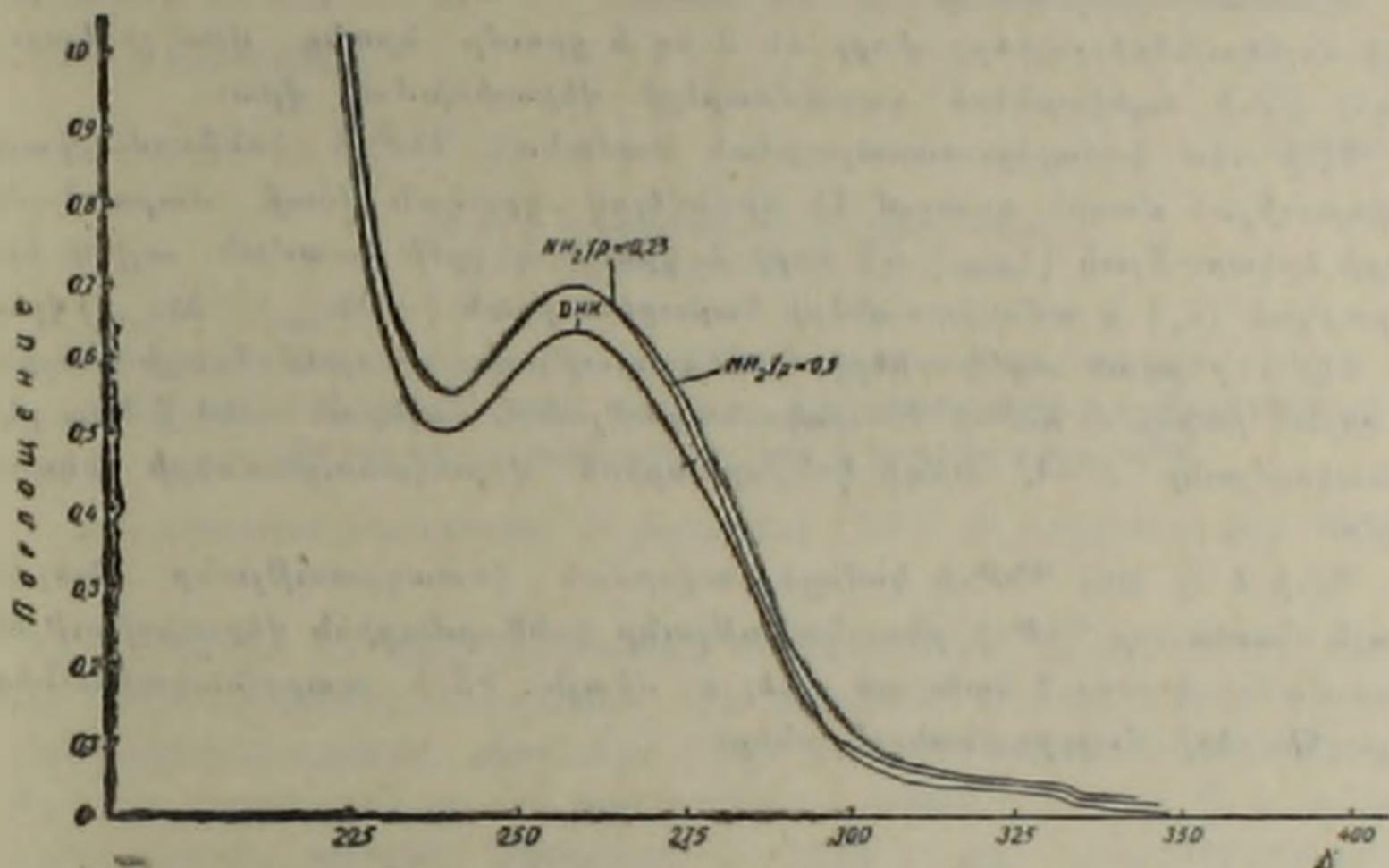


Рис. 2 Спектры поглощения ДНК фага  $T_2$  и ее комплексов с ПЛ

зависящих от последовательности оснований. Поэтому мы предполагаем, что малые конформационные изменения, претерпеваемые ДНК *E. coli*, при комплексовании с ПЛ, обусловлены особенностями ее вторичной структуры, предопределяемой последовательностью оснований в этой ДНК. В пользу нашего предположения свидетельствует и аномальное поведение спектров КД ДНК *E. coli* при комплексовании с поли-L-аргинином (14).

В заключение считаю своим приятным долгом выразить признательность В. М. Асланяну за предоставление приборов и полезные замечания.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Армянской ССР

ԻՐ. Ա. ՆՈՎՈՍԵԼՆԵՐ

Անմիջական խառնման մեթոդով ստացված տարբեր ԳՑ պարունակության պոլի-L-լիզին-ԴՆԹ կոմպլեքսների շրջանային դիստրիբյուցիա

Հորթի տիմուսի (% ԳՑ-42),  $T_2$  ֆագի (% ԳՑ-35) և *E. coli* (% ԳՑ-51) ԴՆԹ-ի կոմպլեքսները ՊԼ-ի հետ պատրաստվել են անմիջական խառնման մեթոդով:

Շրջանի դիսրոդի (ՇԴ) սպեկտրները գրանցվել են Roussel-Jouan II դիսրոդրաֆի վրա, իսկ կլանման սպեկտրները Unicam SP-8000 սպեկտրոֆոտոմետրի վրա:

1-ին նկարում բերված են ՇԴ-ի սպեկտրները տարբեր հարաբերության  $\text{NH}_2/\text{P}$  կոմպլեքսների համար:

Կլանման սպեկտրները (նկ. 2) վկայում են այն մասին, որ կոմպլեքսների մոլեկուլների շափերը փոքր են 2-ից և ցրումը նրանց վրա չի կարող ազդել ՇԴ-ի սպեկտրների պարամետրերի վերափոխման վրա:

ՊՀ-ի հետ կոմպլեքսաառաջացման ժամանակ ԴՆԹ-ի կոնֆորմացիայի փոփոխության մասին դատում են հիմնվելով դրական մասի մաքսիմումի ալիքի երկարության ( $\lambda_{\text{max}}$ ) ՇԴ կորի և գրոյթկան զծի հատման ալիքի երկարության ( $\lambda_c$ ) և ամպլիտուդների հարաբերության ( $-\Delta e_{\lambda_{\text{max}}}/-\Delta e_{\lambda_{\text{min}}}$ ) վրա:

Նկ. 1 բերված սպեկտրների համեմատությունը վկայում է այն մասին, որ որքան բարձր է ԴՆԹ-ի ԳՑ-պարունակությունը, այնքան մեծ է նրա ընդունակությունը  $B \rightarrow C$  տիպի կոնֆորմացիոն վերակառուցումների նկատմամբ:

ՊՀ-ի և *E. coli* ԴՆԹ-ի կոմպլեքսավորման հետազոտությունը վկայում է այն մասին, որ ԴՆԹ-ի ընդունակությունը կոնֆորմացիոն վերափոխության նկատմամբ կարող է կախված լինել ոչ միայն ԳՑ-ի պարունակությունից, այլև հիմքերի հաջորդականությունից:

#### ЛИТЕРАТУРА — ԴՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

<sup>1</sup> C. Chang, M. Weiskopf, H. J. Li, *Biochemistry*, 12, 3028 (1973). <sup>2</sup> Sh. S. Yu, H. J. Li, *Biopolymers*, 12, 2777 (1973). <sup>3</sup> S. Bram, *J. Mol. Biol.*, 58, 277 (1971). <sup>4</sup> V. I. Permogorov, V. G. Debabov, I. A. Sladkova, B. A. Rebenitsch, *BBA*, 199, 556 (1970). <sup>5</sup> T. Y. Shih, G. Fasman, *J. Mol. Biol.*, 52, 125 (1970). <sup>6</sup> S. Inoue, T. Ando, *Biochemistry*, 9, 395 (1970). <sup>7</sup> T. Y. Shih, G. Fasman, *Biochemistry*, 11, 398 (1972). <sup>8</sup> D. J. Gordon, *Biochemistry*, 11, 113 (1972). <sup>9</sup> Ch. Zimmer, G. Lock, *BBA*, 11, 361 (1974). <sup>10</sup> Л. С. Шляхтенко, Диссертация, Физико-технический институт, 1974. <sup>11</sup> M. J. Tanis, J. E. Hearst, *Biopolymers*, 3, 57 (1968). <sup>12</sup> A. F. Usatyl, L. S. Shlyakhtenko, *Biopolymers*, 12, 45 (1973). <sup>13</sup> S. Bram, P. Toogard, *Nature New Biology*, 239, 128 (1972). <sup>14</sup> Sh. S. Yu, P. Epstein, H. J. Li, *Biochemistry* 13, 3713 (1974)