

УДК 577.323:543.427

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

М. А. Новоселер

Температурная зависимость спектров кругового дихроизма комплексов поли-L-лизин—ДНК разного ГЦ-содержания

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

Лишь в немногих работах изучались изменения в спектрах кругового дихроизма (КД) для наблюдения за конформационными изменениями в ДНК (¹) и комплексах ДНК-поли-L-лизин (ПЛ) (²), вызванными повышением температуры. Мы предприняли подобные исследования с ДНК фага T₂, ДНК тимуса телят, ДНК E. coli и их комплексами с ПЛ, приготовленными методом непосредственного смешивания. Спектры КД регистрировали на дихрографе Roussel-Jouan II, снабженном термостатирующей ячейкой. Методы подробно описаны в предыдущей работе (³).

На рис. 1, 2, 3 соответственно изображены спектры КД для ДНК тимуса телят, ДНК фага T₂, ДНК E. coli и комплексов этих ДНК с ПЛ, характеризуемых отношениями NH₂/P=0,25 и 0,5 при температурах 30°, T_m-ΔT; T_m; T_m+ΔT и 85°. При повышении температуры в спектрах КД изменяются только амплитуды отрицательной и положительной полос. Длины волн максимума положительной полосы—λ_{max} и кроссовера—λ_c почти не смещаются, в отличие от изменений в спектрах КД ДНК, вызываемых комплексообразованием с ПЛ (³). Поэтому мы характеризуем изменения в спектрах КД при повышении температуры только параметром Δε_{λ_{max}}+Δε_{λ_{min}}. Прослеживание этого параметра при меняющейся температуре позволяет получить аналоги кривых плавления для ДНК и комплексов ДНК—ПЛ методом КД. На рис. 2 показаны кривые плавления ДНК тимуса телят и ее комплексов с ПЛ, полученные этим методом. Подобные кривые были получены для ДНК фага T₂ и ДНК E. coli. Оказалось, что температуры плавления ДНК и комплексов, определенные из этих кривых, совпадают с температурами плавления, найденными по изменениям оптической плотности при 259 нм.

Исследования изменений спектров КД комплексов ПЛ—ДНК при повышении температуры (рис. 1, б, в; 2, б, в; 3, б, в) показали, что амплитуды положительной полосы Δε₂₂₅ и отрицательной полосы Δε₂₄₅

изменяются значительно меньше с повышением температуры, чем в чистой ДНК. Это надо было ожидать, так как комплексирование с ПЛ должно уменьшать долю свободной ДНК, подверженной действию температуры до 85° . Кроме того, при отношениях $NH_2/P > 0,42$ на-

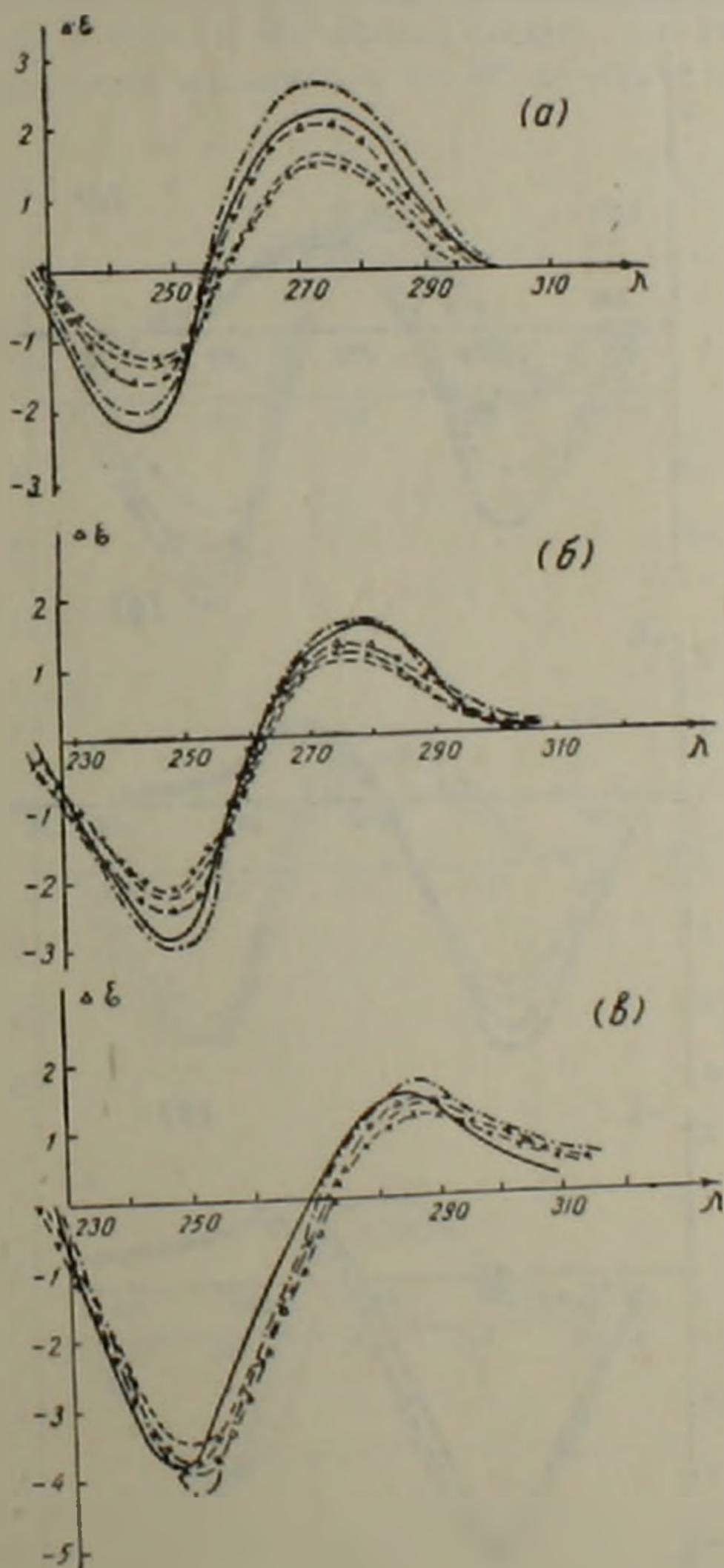


Рис. 1. Спектры КД комплексов ПЛ с ДНК тимуса теленка с отношениями NH_2/P : (a) — 0; (б) — 0,25; (в) — 0,5 при температурах: 30° (—); $T_m - \Delta T$ (---); T_m (· · ·); $T_m + \Delta T$ (- · -); $T = 85^\circ$ (-x-)

чиняет проявляться эффект Шеффлера, стабилизирующий свободные участки ДНК (4). Вангом (5) было показано, что в нативной ДНК при повышении температуры угол между соседними парами оснований уменьшается, то есть можно думать, комплексообразование с ПЛ препятствует раскручиванию ДНК.

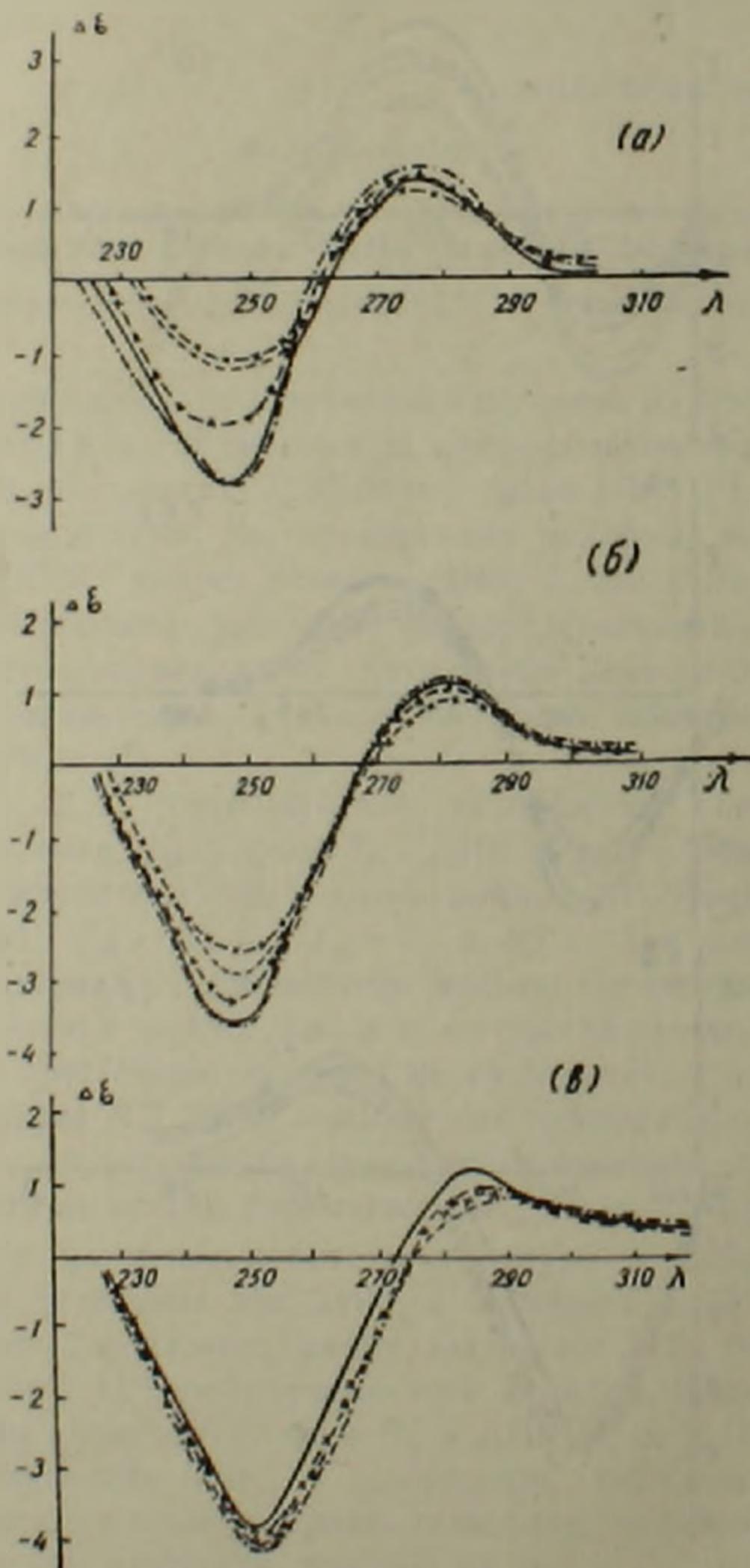


Рис. 2. Спектры КД комплексов ПЛ—ДНК фага T_2 с отношениями NH_2/P : (а)—0; (б)—0,25; (в)—0,5 при температурах: 30° (—); $T_m - \Delta T$ (- · -); T_m (- - -); $T_m + \Delta T$ (- - - -); $T = 85^\circ$ (-x-)

Мы оценили изменения амплитуд положительной и отрицательной полос спектров КД при температурах 30° и 85°

$$\partial \Delta \epsilon_{\lambda_{\max}}^{\Delta T} = \Delta \epsilon_{\lambda_{\max}}^{30} - \Delta \epsilon_{\lambda_{\max}}^{85} \quad \partial \Delta \epsilon_{\lambda_{\min}}^{\Delta T} = \Delta \epsilon_{\lambda_{\min}}^{30} - \Delta \epsilon_{\lambda_{\min}}^{85}$$

для различных отношений NH_4/P у всех исследованных ДНК. Результаты приведены в табл. 1. Из таблицы следует, что уменьшение амплитуд при повышении температуры от 30° до 85° не пропорционально

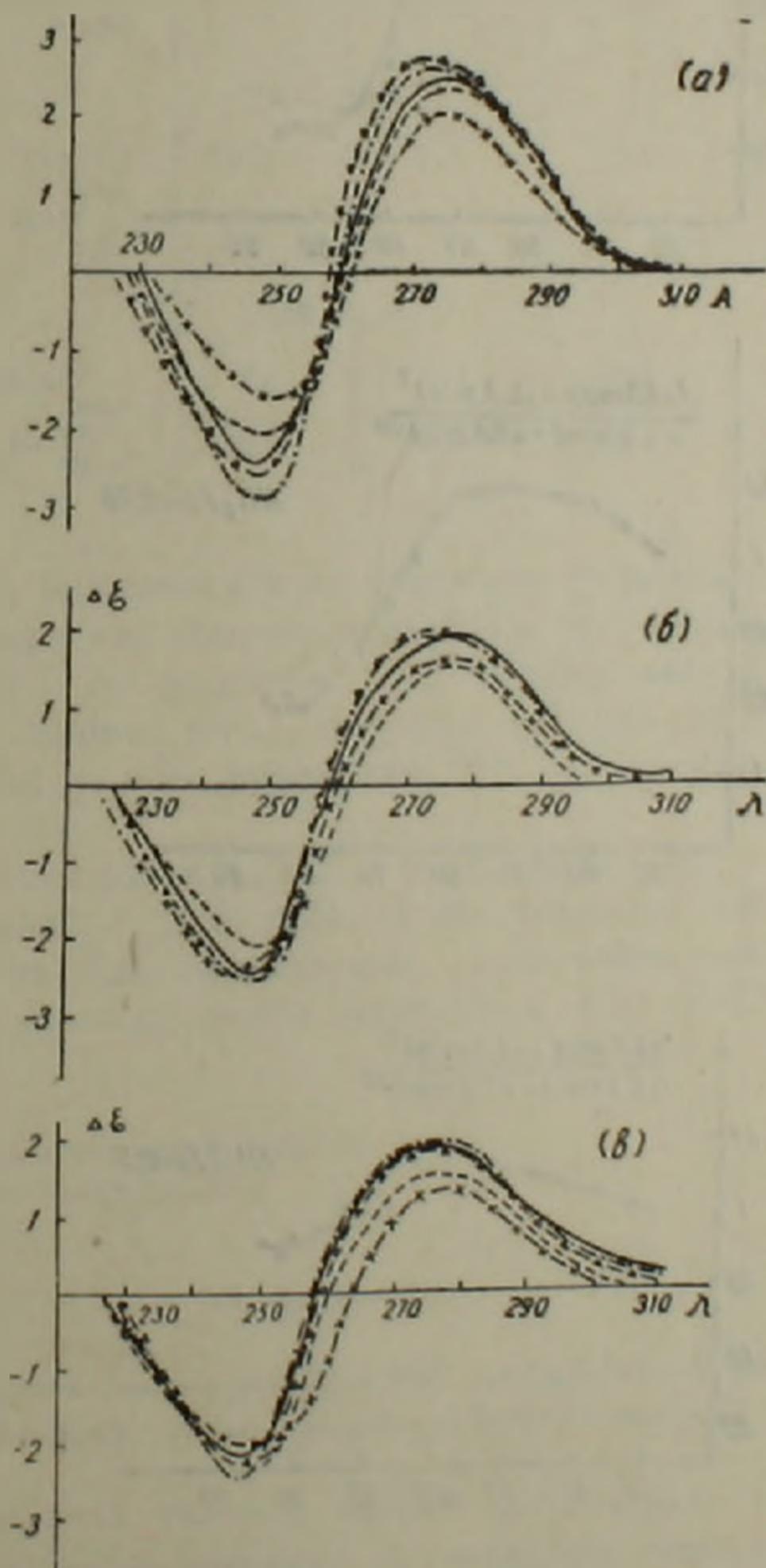


Рис. 3. Спектры КД комплексов П.Т-ДНК E. coli с отношениями NH_4/P : (a)—0; (б)—0,25; (в)—0,5 при температурах: 30° (—); $T_m - \Delta T$ (- - -); T_m (- · -); $T_m + \Delta T$ (- - - -); $T = 85^\circ$ (-x-)

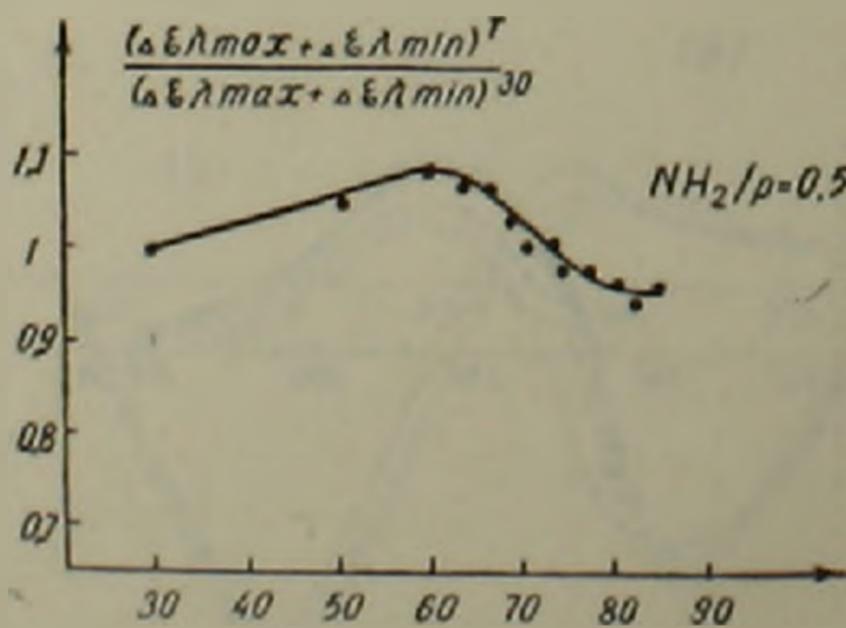
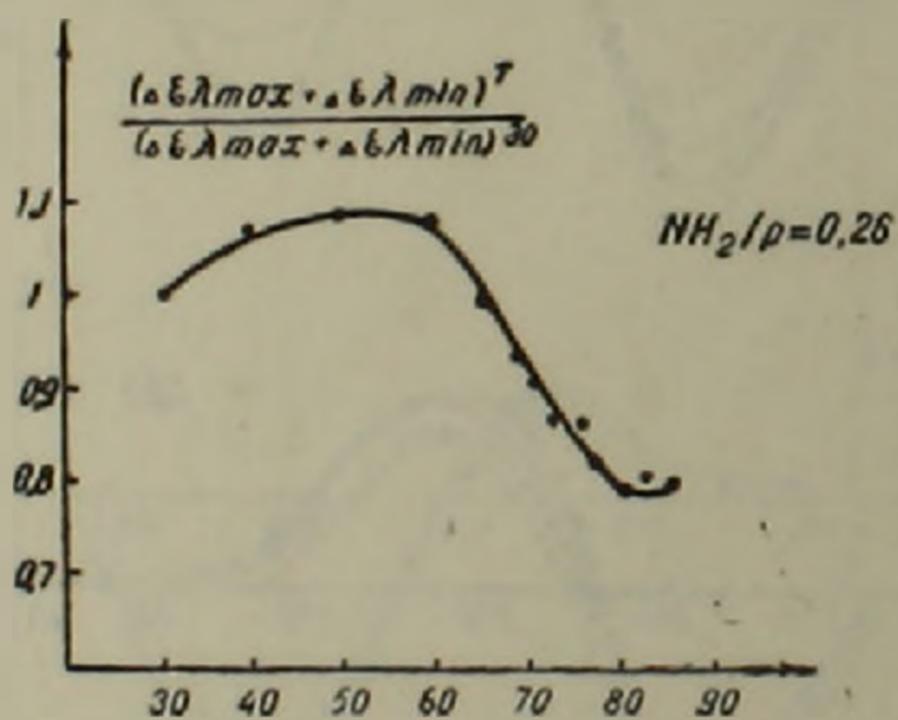
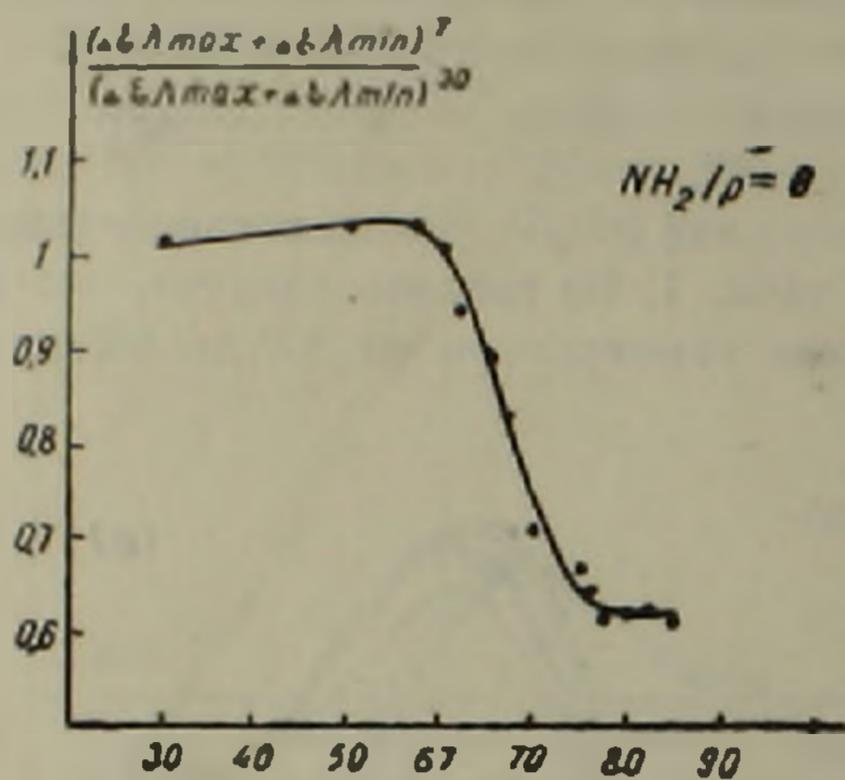


Рис. 4. Кривые плавления ДНК тимуса теленка и ее комплексов с ПЛ, прослеженные по изменению кругового дихроизма

Таблица 1

Разность значений амплитуд положительной и отрицательной полос спектров КД ДНК и ее комплексов с ПЛ при температурах 30° и 85°

$\delta\Delta\epsilon_{\lambda}^{\Delta T}$	$NH_2/P=0$	$NH_2/P=0,25$	$NH_2/P=0,5$
	ДНК тимуса теленка		
$\delta\Delta\epsilon_{\lambda_{max}}^{\Delta T}$	0.9	0.5	0.3
$\delta\Delta\epsilon_{\lambda_{min}}^{\Delta T}$	1.4	0.7	0.2
	ДНК фага T ₂		
$\delta\Delta\epsilon_{\lambda_{max}}^{\Delta T}$	0.1	0.2	0.3
$\delta\Delta\epsilon_{\lambda_{min}}^{\Delta T}$	1.8	1.1	0.3
	ДНК E. coli		
$\delta\Delta\epsilon_{\lambda_{max}}^{\Delta T}$	0.5	0.5	0.6
$\delta\Delta\epsilon_{\lambda_{min}}^{\Delta T}$	0.9	0.3	0.2

количеству ДНК, выключенной из плавления из-за комплексирования с ПЛ. Это означает, что комплексирование с ПЛ препятствует изменению структуры и тех участков ДНК, которые непосредственно не связаны с ПЛ. Кроме того, этот факт еще раз свидетельствует о равномерном распределении ПЛ по всем молекулам ДНК, находящимся в растворе (4).

Сравнение спектров КД ДНК и комплексов ПЛ с ДНК различного Ц-содержания (рис. 1, 2, 3, табл. 1) обнаруживает зависимость изменений спектров КД, вызываемых повышением температуры, от Ц-содержания (меньше всего изменяется спектр КД АТ-богатой ДНК фага T₂).

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Армянской ССР

Մ. Ա. ՆՈՎՈՍԵԼՆԵՐ

Տարբեր ԴՑ-պարունակության ՊԼ—ԴՆԹ կոմպլեքսների շրջանային դիստրիբյուցիոն ջերմաստիճանային կախվածությունը

Ուսումնասիրված են ԴՆԹ-ի և ՊԼ-ԴՆԹ կոմպլեքսների կոնֆորմացիոն փոփոխությունները՝ պայմանավորված ջերմաստիճանի բարձրացմամբ: Շրջանային դիստրիբյուցիոն սպեկտրները պրանցվել են Roussel-Jouan II դիստրիբյուցիոն փրակով, որն ապահովված է թերմոստատացնող սարքով:

Նկ. 1 — Բերված են հորթի տիմուսի, T₂ ֆագի և E. coli ԴՆԹ-ի ու նրանց

ՊՀ-հետ ունեցած կոմպլեքսների ՇԴ-ի սպեկտրները $NH_2/P=0, 25, 0,5$ հարաբերության համար, 30° , $T_m - \Delta T$, T_m ; $T_m + \Delta T$, 85° ջերմաստիճանների դեպքում:

Ցույց է տրված, որ 1) ԴՆԹ-ի կոմպլեքսների հալման ջերմաստիճանները, որոշված ՇԴ-ի մեթոդով (նկ. 2) համընկնում են 260 ալիքի երկարության տակ օպտիկական խտության փոփոխությամբ չափված հալման ջերմաստիճանի հետ, 2) կոմպլեքսավորումը ՊՀ-ի հետ խոչընդոտում է կառուցվածքի փոփոխությունը ջերմաստիճանի քարձրացման ժամանակ նաև ԴՆԹ-ի այն հատվածների, որոնք անմիջականորեն կապված չեն ՊՀ-ի հետ (1 աղյուսակ), 3) Հայտնաբերված է ՇԴ-ի սպեկտրների փոփոխության կախվածություն ԳՑ պարունակությունից՝ ջերմաստիճանի քարձրացմամբ պայմանավորված (ամենափոքր փոփոխությունը նկատվում է T_2 ֆազի US-հարուստ ԴՆԹ-ի ՇԴ-սպեկտրում:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ A. F. Usatyi, L. S. Schlyaktenko, Biopolymers, 12, 45 (1973). ² R. Mandel, G. Fasman, Biochem. Biophys. Research. Commun. 59, 672 (1972). ³ M. A. Новоселер, ИАН АРМ. ССР (в печати). ⁴ M. A. Новоселер, В. М. Асланян, „Биол. журнал Армении,“ т. 29, №6, 37 (1976). ⁵ T. Wang, J. Mol. Biol., т. 43, 25 (1969).