

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСОВ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО С РИБО- И ДЕЗОКСИРИБО-ПОЛИНУКЛЕОТИДАМИ

А.П. АНТОНЯН, М.А. ПАРСАДАНЯН*,
А.Г. КАРАПЕТЯН, П.О. ВАРДЕВАНЯН

Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

*e-mail: marine.parsadanyan@ysu.am

(Поступила в редакцию 1 февраля 2025 г.)

Проведено исследование флуоресцентных свойств комплексов метиленового синего (МС) с оц-poly(dA), poly(rU), poly(rA) и poly(dT), а также гибридными дц-структурами poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU). На основании изменений спектров флуоресценции и абсорбции выявлено, что этот лиганд проявляет неодинаковое сродство к определенным гомополинуклеотидным последовательностям. В частности, обнаружено, что МС с ярко выраженной специфичностью связывается с poly(rA) по сравнению с оц-poly(dA), poly(rU) и poly(dT). Различие проявляется и при взаимодействии МС с гибридными дц-полинуклеотидами poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU).

1. Введение

Исследование взаимодействия многих красителей с нуклеиновыми кислотами (НК) представляет большой интерес для понимания молекулярных аспектов взаимодействия. При этом для таких исследований в растворе информативными являются различные физические методы, которые позволяют изучить межмолекулярные взаимодействия в растворе. К физическим относятся спектральные методы, в числе которых флуоресцентная, абсорбционная спектроскопии. Среди красителей, имеющих прикладное значение и широкое применение в биофизических исследованиях – фенотиазиновое соединение метиленовый синий (МС) (хлорид 3,7-бис-(диметиламино)-фенотиазин-5 хлорид), который имеет к тому же фармацевтическое значение. Этот лиганд интенсивно ингибирует нативную антидепрессантную моноаминоксидазу (МАО), что обуславливает его применение при хроническом нейродегенеративном заболевании Альцгеймера. МС обладает сосудосуживающим эффектом, препятствует расслаблению гладких мышц и вазодилатации, препятствуя циклическому гуанозинмонофосфатному пути, контролируемому оксидом азота. При различных психических расстройствах МС может предотвращать накопление в мозге высоких доз потенциально смертельного серотонина посредством ингибирования моноаминоксидазы (ИМАО) [1–4]. Взаимодействие метиленового синего с ДНК приводит к окислительному повреждению ДНК, вызывая в основном модификации гуаниновых оснований, приводящие к 7, 8-дигидро-8-оксогуанину (8-oxoG) и другим незначительным

модификациям нуклеотидов. Введение МС для различных целей было одобрено Федеральным управлением по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами (FDA). В настоящее время многие аспекты связывания МС с двухцепочечной ДНК подробно изучены, однако исследования по взаимодействию этого лиганда с одноцепочечной ДНК и РНК малочисленны. Также оставались в стороне исследования влияния этого лиганда на гибридизацию одноцепочечных олиго- или полимерных нитей ДНК, РНК или ДНК/РНК [5].

В связи с этим, для понимания молекулярных основ различных аспектов функционирования НК, исследования взаимодействия низкомолекулярных веществ с одноцепочечными (оц-) полинуклеотидами и сформированными в результате их гибридизации двухцепочечными (дц-) структурами могут стать информативными. Целью данной работы явилось исследование взаимодействия МС с одноцепочечными poly(rA), poly(rU), poly(dA), poly(dT) и гибридными двухцепочечными poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU).

2. Материалы и методы

В работе были использованы сверхчистые синтетические полинуклеотиды poly(rA), poly(rU), poly(dA), poly(dT), МС (Sigma, США), бидистиллированная вода, NaCl, Na-цитрат, Na₂EDTA (содержание в рабочих растворах 10⁻⁵ М). Концентрации препаратов определялись спектрофотометрически, используя следующие коэффициенты экстинкции: $\varepsilon_{665} = 76000$ для МС [5], $\varepsilon_{257} = 10500$ для poly(rA), $\varepsilon_{260} = 9500$ для poly(rU), $\varepsilon_{257} = 8600$ для poly(dA) и $\varepsilon_{257} = 8520 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ для poly(dT) [6]. Исследования проводились при ионной силе раствора 0.02 моль, $pH \approx 7.0$. Средняя молекулярная масса оц-полинуклеотидов составляет примерно 800–1000 кДа.

Флуоресцентные исследования проводились на спектрофлуориметре Agilent Cary Eclipse Fluorescence Spectrometer (США), абсорбционные исследования – на спектрофотометре UV/VIS Perkin Elmer Lambda 365 (США), при комнатной температуре (~22°C).

При спектроскопических титрованиях концентрация МС оставалась постоянной, концентрации макромолекул увеличивались в интервале $0 \leq r \leq 10$ ($r = P/D$, где P – концентрация фосфатных групп полинуклеотидов, D – концентрация лиганда). Изменения спектров флуоресценции регистрировались в интервале изменения длины волны $600 \leq \lambda \leq 750 \text{ нм}$, с максимумом интенсивностей при $\lambda_{\text{макс}} = 690 \text{ нм}$, при длине волны возбуждения в спектральной области поглощения МС $\lambda_{\text{exit}} = 610 \text{ нм}$. Изменения интенсивностей флуоресценции комплексов регистрировались при каждом соотношении вплоть до значений P/D , при которых эти изменения становились незначительными. Спектры поглощения комплексов МС с указанными оц- и дц-полинуклеотидами регистрировались в видимой области электромагнитных волн, в интервале поглощения лиганда – $600 \leq \lambda \leq 750 \text{ нм}$. На основании изменений интенсивности спектров флуоресценции и поглощения получены их относительные изменения (F_0/F и A_0/A , соответственно), и построены кривые зависимости этих соотношений от концентраций полинуклеотидов. Экспериментальная погрешность не превышала 5%.

3. Результаты и обсуждения

Среди различных аналитических методов достаточно информативными являются абсорбционная и флуоресцентная спектроскопии, сочетание которых позволяет выявить некоторые физико-химические свойства различных соединений на основании их оптических или флуоресцентных свойств. Так спектры поглощения или флуоресценции многих лигандов претерпевают заметные изменения при их комплексообразовании с белками или нуклеиновыми кислотами. Более того, изменения в спектрах поглощения биологически активных веществ при связывании с биомacroмолекулами зачастую могут отражать особенности молекулярных механизмов этих взаимодействий.

С этой точки зрения для выявления взаимодействия МС с одноцепочечными poly(rA), poly(rU), poly(dA), poly(dT) полинуклеотидами и влияния этого лиганда на гибридизацию poly(rA) с poly(dT) и poly(dA) с poly(rU) нами получены спектры флуоресценции и поглощения. При взаимодействии МС с оц-poly(dA), poly(rA), poly(dT) и poly(rU) наблюдалось уменьшение интенсивности флуоресценции при длине волны 690 нм по мере увеличения концентрации полинуклеотидов в растворе в интервале $0 < r \leq 10$, где $r = C_p/C_l$ (C_p – концентрация данного полинуклеотида, C_l – общая концентрация лиганда в растворе). На рис.1 приведены спектры флуоресценции комплексов МС-poly(dA), МС-poly(dT), МС-poly(rA) и МС-poly(rU). Как видно из приведенного рисунка, интенсивность флуоресценции этого лиганда по мере образования комплексов уменьшалась, причем при относительно больших концентрациях полинуклеотида изменение становилось не детектируемым. Этот эффект имел место при всех указанных гомополинуклеотидах, однако из полученных спектров выявилось, что МС проявляет некоторую специфичность к poly(rA), поскольку интенсивность флуоресценции в этом случае уменьшалась в большей степени по сравнению с

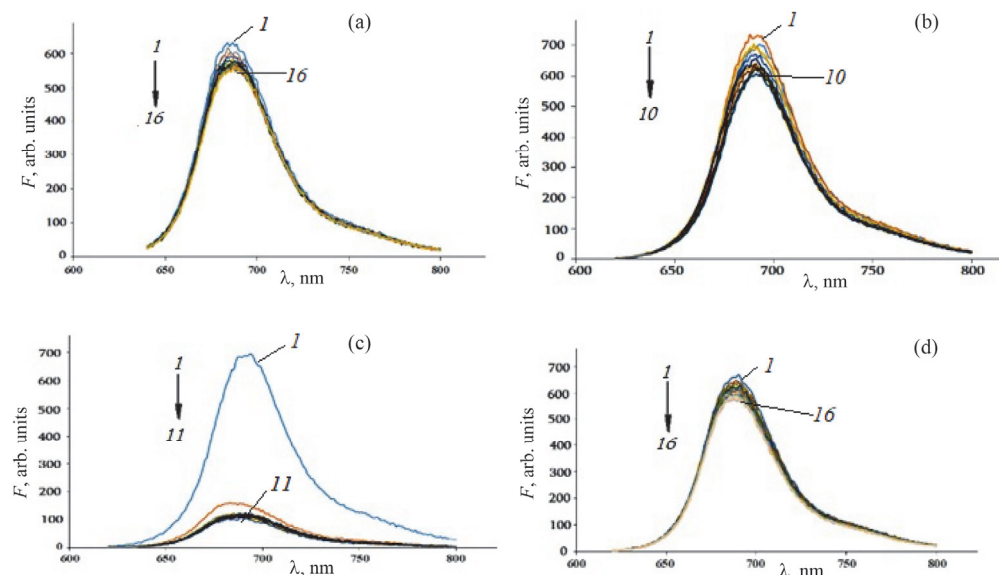


Рис.1. Спектры флуоресценции комплексов (a) МС-poly(dA), (b) МС-poly(dT), (c) МС-poly(rA) и (d) МС-poly(rU).

остальными полинуклеотидами. Этот эффект при низких концентрациях полинуклеотида является результатом того, что переход молекул МС из свободного состояния в связанное является предпочтительным. Учитывая, что poly(rA) в растворе находится в более упорядоченном состоянии (степень стеклинга взаимодействия выше по сравнению с остальными оц-полинуклеотидами), мы полагаем, что молекулы лиганда в результате полуинтеркаляционного способа связывания переходят в более полярное окружение, что и вызывает существенное тушение флуоресценции (см. [7]).

Примечательно, что наименьшее уменьшение выявлено для комплексов МС с оц-poly(rU). По всей вероятности, это обусловлено структурными особенностями указанных оц-полинуклеотидов и наблюдаемый эффект может быть индикатором того, что оц-poly(rU) в растворе находится в более неупорядоченном состоянии.

Изменение интенсивности флуоресценции имеет место и при добавлении на раствор комплексов МС-оц-полинуклеотид раствора полинуклеотида, комплементарного последнему (раствор poly(rU) на раствор poly(dA) и раствор poly(dT) на раствор poly(rA), соответственно). Ранее было показано, что комплементарные оц-полирибонуклеотиды гибридизуются, образуя двухцепочечные структуры (см. [7]). На рис. 2 а, б приведены спектры флуоресценции комплексов МС с poly(dA)-poly(rU) и poly(rA)-poly(dT), образовавшихся в результате гибридизации соответствующих оц-полинуклеотидов. В частности, в случае образования комплексов МС с гибридным дц-полинуклеотидом poly(rA)-poly(dT) (рис.2а) при

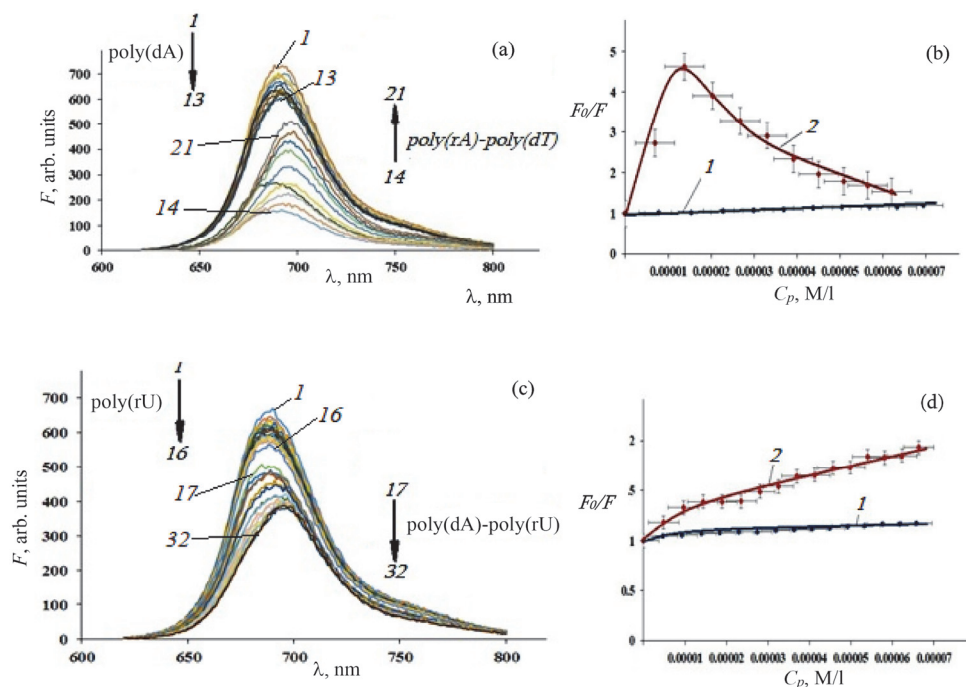


Рис.2. Спектры флуоресценции комплексов (а) МС с poly(rA)-poly(dT) и (с) с poly(dA)-poly(rU). (b), (d) Кривые зависимости тушения флуоресценции МС от концентрации полинуклеотида: кривые 1 получены для комплексов МС-оц-полинуклеотид, кривые 2 – для комплексов МС-дц-полинуклеотид.

превалировании оц-структур наблюдалось дальнейшее уменьшение интенсивности флуоресценции комплексов (кривые 1–13). Однако по мере возрастания концентрации дц-структур этого гибрида интенсивность флуоресценции возрастала (кривые 14–21).

Из приведенного рисунка также видно, что наряду с увеличением интенсивности флуоресценции комплексов МС с poly(rA)-poly(dT) имеет место также ярко выраженный батохромный сдвиг, что указывает на интеркаляционный способ связывания лиганда с образовавшимся дц-полинуклеотидом. Иной эффект получен при взаимодействии МС с гибридным дц-poly(dA)-poly(rU), как это видно из рис.2с, поскольку интенсивность флуоресценции уменьшалась во всем интервале образования дц-структур. Аналогичный эффект получен при взаимодействии МС с дц-РНК и ДНК (см. [1, 8]). Мы полагаем, что увеличение интенсивности флуоресценции МС в случае образования гибридной структуры poly(rA)-poly(dT) обусловлено тем, что места для интеркаляции молекул этого лиганда становятся ограниченными, в результате чего некоторая часть связанных с оц-полинуклеотидами молекул диссоциирует и переходит в свободное состояние. Аналогичный эффект был получен и при образовании гибридной дц-структуры между poly(rA) и poly(rU) в присутствии МС [7].

На основании максимумов интенсивностей флуоресценции получены кривые зависимости F_0/F от концентрации полинуклеотида (C_p), которые приведены на рис.2b, d. Как видно из приведенного рисунка, при взаимодействии с оц-poly(dT) и poly(rU) (также с poly(rA) и poly(dA)) кривые зависимости F_0/F от C_p возрастали, что является результатом тушения флуоресценции при комплексообразовании МС с полинуклеотидами. Эти кривые прямолинейные (рис.2b, d, кривые 1), что указывает на статическое или динамическое тушение. Статическое тушение обычно обусловлено тем, что флуорофор и тушитель образуют комплексы, находясь в основном синглетном состоянии, в то время как при динамическом тушении флуорофор образует комплексы с тушителем, находясь в возбужденном состоянии, и переходит в основное состояние за счет неизлучательной дезактивации [8]. Несмотря на механизмы тушения в обоих случаях увеличение F_0/F указывает на то, что молекулы МС находятся в доступном для растворителя состоянии. С этой точки зрения в случае гибридного дц-poly(rA)-poly(dT) наблюдается увеличение F_0/F при низких концентрациях этого полинуклеотида, а при больших концентрациях F_0/F существенно уменьшалось (рис.2b, кривая 2). Аналогичное уменьшение ранее было получено в работе [7] и в случае гибридизации poly(rA) и poly(rU). Мы полагаем, что этот факт обусловлен тем, что в результате образования двухцепочечной структуры некоторая часть связанных с оц-полинуклеотидами молекул МС диссоциирует, из-за ограниченности центров связывания интеркаляционным способом, на дц-poly(rA)-poly(dT).

Качественно иная картина получена в случае образования двухцепочечной структуры poly(dA)-poly(rU) из соответствующих оц-полинуклеотидов. Как видно из рис. 2с, кривая зависимости F_0/F от C_p (кривая 2) возрастала, при этом в случае гибридного дц-полинуклеотида возрастание этой кривой больше, чем в случае оц-полинуклеотидов (гибридный дц-poly(dA)-poly(rU) получен как при титрации раствора комплексов МС-оц-poly(dA) раствором оц-poly(rU), так и при обратном титровании). Этот факт указывает на то, что на гибридном дц-poly(dA)-poly(rU) число центров для интеркаляционного связывания МС не ограничено,

как в случае дц-poly(rA)-poly(dT). Этот факт указывает на то, что гибридные poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU) в растворе структурно отличаются друг от друга.

На рис.3 представлены спектры поглощения МС и его комплексов с оц-poly(rA) (рис.3а) и гибридным poly(rA)-poly(dT) (рис.3б), а также кривые зависимости A_0/A от C_p (рис.3с) комплексов МС-poly(rA) (1) и МС-poly(rA)-poly(dT) (2). Как видно из приведенного рисунка, спектры поглощения МС уменьшались в максимумах при связывании как с оц-, так и с дц-полинуклеотидами (аналогичные спектры и кривые зависимости A_0/A от C_p получены для комплексов МС с оц-poly(dT), которые схожи с таковыми комплексов МС-poly(rA), поэтому не приводятся). Однако на спектрах комплексов МС с дц-полинуклеотидами образовалась изобестическая точка (ИТ) при $\lambda = 680$ нм, в то время как такая точка на спектрах комплексов МС-оц- полинуклеотид не образуется. Образование ИТ является показателем связывания лиганда с НК интеркаляционным механизмом. Этот факт указывает на то, что при смешивании оц-полинуклеотидов в эквимольных концентрациях имеет место гибридизация, в результате чего формируется дц-структура со свободными центрами связывания для интеркаляции молекул МС, которые заполняются при комплексообразовании лиганда с НК. Вследствие этого максимумы спектров поглощения комплексов уменьшаются в большей степени. На основании значений максимумов спектров МС и его комплексов с оц- и дц-полинуклеотидами получено соотношение A_0/A и построена кривая зависимости от C_p , которая приведена на рис.3с. В случае оц-полинуклеотидов кривая зависимости претерпевает небольшое изменение, возрастая линейно (кривая 1). Однако в результате гибридизации и формирования poly(rA)-

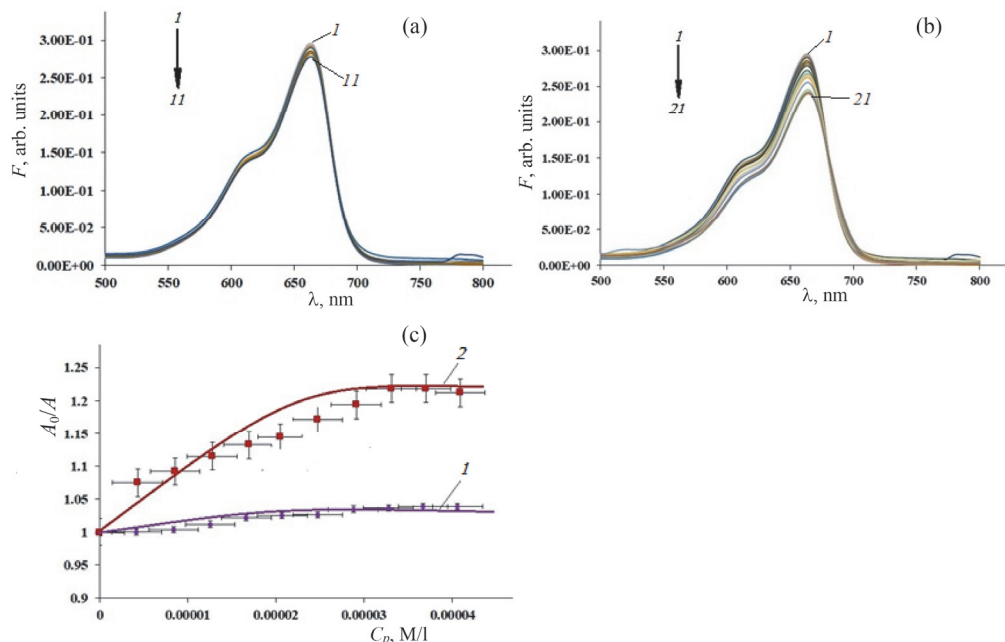


Рис.3. Спектры поглощения комплексов (а) МС с poly(rA) и (б) с poly(rA)-poly(dT). Кривые зависимости (с) A_0/A от C_p комплексов МС-poly(rA) (1) и МС- poly(rA)-poly(dT) (2).

poly(dT) эта кривая существенно возрастает при относительно низких концентрациях дц-структур и достигает насыщения при $r = C_p/C_l \rightarrow 10$. Это подтверждает тот факт, что число центров связывания для интеркаляции молекул МС на гибридном poly(rA)-poly(dT) ограничено. На это указывают и результаты, полученные при взаимодействии МС с гибридным poly(dA)-poly(rU), как это видно из рис.4. Как и в случае оц-oly(rA), при связывании этого лиганда с оц-poly(dA) спектры поглощения уменьшились в максимумах (рис.4а), однако более значительное уменьшение получено для комплексов МС-poly(dA)-poly(rU) (рис.4б). На спектрах этих комплексов также образовалась ИТ при $\lambda = 680$ нм. При этом кривая зависимости A_0/A от C_p в случае комплексообразования МС с гибридным дц-полинуклеотидом poly(dA)-poly(rU) также возрастает, однако не достигает насыщения. Мы полагаем, что этот эффект обусловлен тем, что число центров связывания интеркационным способом для молекул лиганда не ограничено вплоть до соотношения полинуклеотид/ лиганд $r \rightarrow 10$.

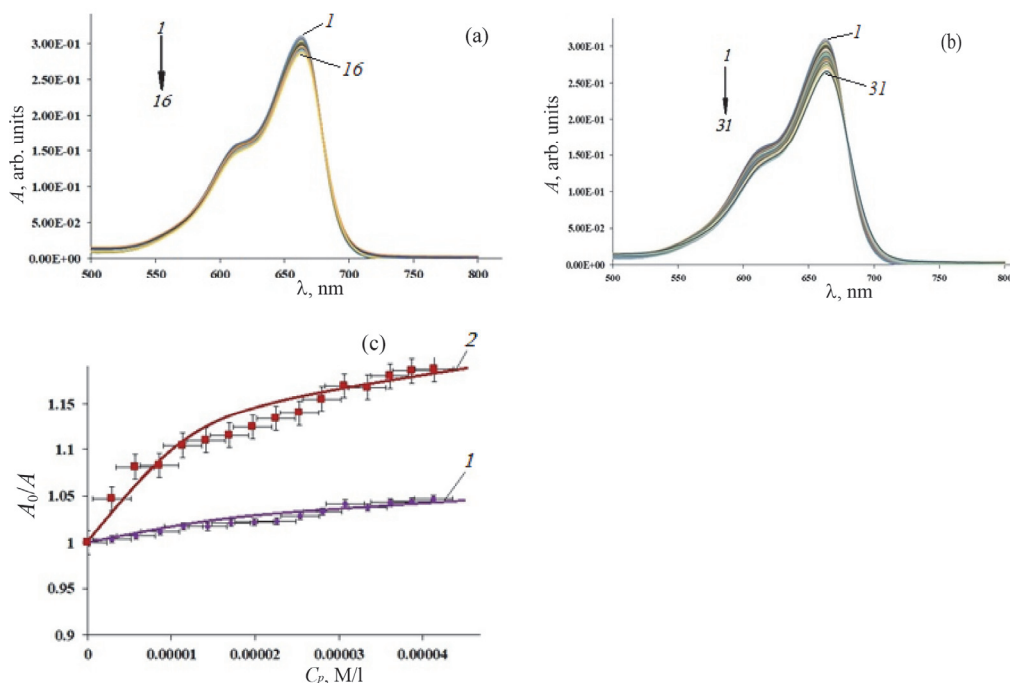


Рис.4. Спектры поглощения (а) комплексов МС с poly(dA) и (б) с poly(dA)-poly(rU). Кривые зависимости (с) A_0/A от C_p комплексов МС-poly(dA) (1) и МС-poly(dA)-poly(rU) (2).

4. Заключение

Гибридизация определенных последовательностей РНК с комплементарными последовательностями ДНК происходит на многих ключевых этапах различных важных биологических процессов: при образовании фрагментов Оказаки, во время репликации ДНК в транскрипционном пузыре, в процессе обратной транскрипции в жизненном цикле различных РНК вирусов [9–14]. Гибриды РНК/ДНК также важны для их терапевтического применения в различных

методах, в том числе ASO (для синтеза антисмысловых олигонуклеотидов) или создания CRISPR (кластеризованные регулярно интерспейсированные короткие палиндромные повторы–Cas9) [13, 14]. ДНК/РНК гибридные структуры обычно образуют правозакрученные дуплексы, которые не всегда принимают стандартную структуру А-конформации из-за внутренней асимметрии между цепями ДНК и РНК [9–10]. Интересно, что ключевой источник асимметрии – несбалансированное соотношение пуринов/пиримидинов (Pur/Pyr) между цепями ДНК и РНК, что влияет на стабильность общей гибридной структуры. Выявлено, что гибридная структура ДНК/РНК более стабильна (что приводит к более жесткому и А-подобному дуплексу) в случае взаимодействия богатой пиримидиновыми основаниями (Pyr) ДНК с богатыми пуриновыми основаниями (Pur) РНК.

Гибриды с Pur-богатой РНК менее стабильны, более гибки и менее А-подобны. Это обусловлено тем, что в oligo(T) или poly(T) последовательностях степень стекинга больше, чем их урациловых аналогах. Такие структурные и динамические особенности различных типов гибридов ДНК/РНК могут влиять на вышеуказанные биологические свойства образовавшихся гибридных молекул [11–14].

Таким образом, основываясь на вышеуказанное, из полученных нами данных, мы полагаем, что МС связывается как с оц-, так и с дц-полирибо- и полидезоксирибонуклеотидами. Однако этот лиганд проявляет неодинаковое сродство к определенным гомополинуклеотидным последовательностям. В частности, в случае связывания МС с poly(rA) наблюдается существенное уменьшение интенсивности флуоресценции [7]. Различие получено и при взаимодействии МС с гибридными дц-полинуклеотидами poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU). Полученные нами данные выявляют, что число мест связывания МС интеркаляционным способом на poly(rA)-poly(dT) более ограничено, чем на poly(dA)-poly(rU), в результате чего некоторая доля связанных молекул лиганда диссоциирует, вследствие чего и имеет место увеличение интенсивности флуоресценции при комплексообразовании этого лиганда с poly(rA)-poly(dT).

Известно, что дуплексы poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU) являются ДНК/РНК гибридами, и образуются при репликации и восстановлении поврежденных ДНК. При этом они в растворе главным образом принимают А-конформацию, однако имеют структурные различия в растворе [1]. В частности, poly(rU)-poly(dT) принимает термодинамически менее стабильную дц-структуру несмотря на то, что poly(rA) и poly(dT) образуют Уотсон-Криковские дуплексы. При образовании гибридной дц-структуры poly(dT), оставаясь в В-конформации, частично приспособливается к А-форме, однако присущие дц-РНК дополнительные водородные связи и стекинг взаимодействия в этом гибридном дуплексе отсутствуют. С этой точки зрения, при формировании дц-структуры poly(dA)-poly(rU), вышеуказанные взаимодействия возникают, поскольку при гибридизации poly(dA) принимают А-форму. Это приводит к образованию более стабильного дуплекса [9, 10].

Необходимо отметить, что, в результате связывания с НК, метильные группы МС препятствуют образованию водородных связей между молекулами лиганда и воды, вследствие чего имеет место слабый длинноволновый сдвиг спектров поглощения. Этот батохромный эффект сопрягается со стекинг-взаимодействиями между плоским гетероциклом лиганда и азотистыми основаниями

полинуклеотидов. При этом при комплексообразовании МС с НК эти взаимодействия приводят к уменьшению энергии возбуждения $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов электронов, в результате чего имеет место гипохромный эффект. С другой стороны, при связывании МС с НК изменяется внутримолекулярное сродство между аминогруппами оснований и отрицательно заряженным остовом дц-полинуклеотида, в результате чего молекулы лиганда не полностью экранируются от воды. Этими эффектами обуславливается и уменьшение интенсивности флуоресценции [15–17]. С этой точки зрения, указанные эффекты при образовании poly(rA)-poly(dT) и poly(dA)-poly(rU) проявляются в различной степени, что и обуславливает неодинаковость оптических свойств МС, при связывании с этими дц-гибридами.

Суммируя вышесказанное, мы заключаем, что интеркалирующее соединение МС проявляет выраженную специфичность к оц-poly(rA), по сравнению с poly(rU), poly(dA) и poly(dT). В то же время этот лиганд стимулирует гибридизацию между оц-poly(rA) и poly(dT), стабилизируя образовавшуюся дц-структуру.

ЛИТЕРАТУРА

1. P. Paul, S.S. Matib, G.S. Kumar. J Photochem & Photobiol B, **204**, 111804 (2020).
2. M. Alda, M. McKinnon, R. Blagdon, J. Garnham, S. MacLellan, C. O'Donovan, T. Hajek, C. Nair, S. Dursun, G. MacQueen. Br. J. Psychiatry, **210**, 54 (2017).
3. T.C. Dumbarton, S.K. Gorman, S. Minor, O. Loubani, F. White, R. Green. Ann. Pharmacother., **46**, e6 (2012).
4. L. Vutskits, A. Briner, P. Klauser, E. Gascon, A.G. Dayer, J.Z. Kiss, D. Muller, M.J. Licker, D.R. Morel. Anesthesiology, **108**, 684 (2008).
5. M. Hossain, A. Kabir, G.S. Kumar. Dyes and Pigments, **92**, 1376 (2012).
6. N.W. Luedtke, J.S. Hwang, E. Nava, D. Gut, M. Kol, Y. Tor. Nucleic Acids Research, **31**, 5732 (2003).
7. P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, Z.H. Movsisyan, M.A. Parsadanyan, M.A. Shahinyan, K.R. Grigoryan, H.A. Shilajyan. J. Biomol. Struct and Dyn., **41**, 15320 (2023).
8. P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, M.A. Parsadanyan, M.A. Shahinyan, V.G. Sahakyan. J. of Biomol. Struct. Dyn., **36**, 3607 (2017).
9. D. Banerjee, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, S. Ghosh, T. Endoh, Sh. Takahashi, N. Sugimoto dition. Nucleic Acids Res., **48**, 12042 (2020).
10. G. Palermo. Chem, **5**, 1357 (2019).
11. T. Ogawa, T. Okazaki. Annu. Rev. Biochem., **49**, 421 (2003).
12. C.F. Bennett, E.E. Swayze. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., **50**, 259 (2010).
13. M. Terrazas, V. Genna, G. Portella, N. Villegas, D.A. Sa ´nchez, C., C. Pulido-Quetglas, R. Johnson, R. Guigo, I. Brun-Heath, A. Aviñó, R. Eritja, M. Orozco. Chem, **5**, 1619 (2019).
14. C.G. Ricci, J.S. Chen, Y. Miao, M. Jinek, J.A. Doudna, J.A. McCammon, G. Palermo. ACS Cent. Sci., **5**, 651 (2019).
15. M.M. Islam, S.R. Chowdhury, G.S. Kumar. J. Phys. Chem. B, **113**, 1210 (2009).
16. N. Shahabadi, S. Hadidi. Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc., **96**, 278 (2012).
17. N. Shahabadi, M. Maghsudi. Mol. BioSyst., **10**, 338 (2014).

ՌԻԲՈ- ԵՎ ԴԵՋՕՔՍԻՌԻԲՈ-ՊՈԼԻՆՈԻԿԼԵՆՏԻՆԵՐԻ ՀԵՏ ՄԵԹԻԼԵՆԱՅԻՆ
ԿԱՊՈՒՅՏԻ ՀԱՄԱԼԻՐՆԵՐԻ ՖԼՈՐՈՐԵՍԿԵՆՏՆԱՅԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

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

Ուսումնասիրվել են միաշղթա poly(dA), poly(rU), poly(rA) և poly(dT), ինչպես նաև հիբրիդային երկշղթա poly(rA)-poly(dT) և poly(dA)-poly(rU) պոլինուկլեոտիդների հետ ՄԿ-ի համալիրների ֆլուորեսցենտային հատկությունները: Ֆլուորեսցենտային և կլանման սպեկտրների փոփոխությունների հիման վրա բացահայտվել է, որ այդ լիգանդը ոչ միանման խնամակցություն է ցուցաբերում որոշակի հոմոպոլինուկլեոտիդային հաջորդականությունների նկատմամբ: Մասնավորապես, հայտնաբերվել է, որ ՄԿ-ը, ի տարբերություն միաշղթա poly(dA)-ի, poly(rU)-ի և poly(dT)-ի, վառ արտահայտված հատկորոշությամբ է կապվում միաշղթա poly(rA)-ի հետ: Տարբերություն է հայտնաբերվել նաև հիբրիդային երկշղթա poly(rA)-poly(dT) և poly(dA)-poly(rU) պոլինուկլեոտիդների հետ ՄԿ-ի փոխազդեցության դեպքում:

STUDY OF FLUORESCENT PROPERTIES OF METHYLENE BLUE COMPLEXES
WITH RIBO- AND DEOXYRIBO-POLYNUCLEOTIDES

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

A study of the fluorescent properties of MS complexes with ss-poly(dA), poly(rU), poly(rA) and poly(dT), as well as hybrid ds-structures poly(rA)-poly(dT) and poly(dA)-poly(rU) was carried out. Based on changes in fluorescence and absorption spectra, it was revealed that this ligand exhibits unequal affinity homopolynucleotide sequences. Particularly, it was found that MS binds to poly(rA) with pronounced specificity, compared to ss-poly(dA), poly(rU) and poly(dT). The difference was also obtained for the interaction of MS with hybrid ds-polynucleotides poly(rA)-poly(dT) and poly(dA)-poly(rU).