

УДК 547.963.3

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА СВЯЗЫВАНИЯ  
 СТЕХИОМЕТРИЧЕСКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ  
 ИОНОВ  $Mn^{2+}$  С ДНК

Методами УФ спектрофотометрии и микрокалориметрии исследованы механизм связывания и возможность избирательного влияния на ДНК стехиометрических концентраций ионов  $Mn^{2+}$  ( $\leq 7$  моль иона/моль фосфора (М/Р)). Все опыты проведены при ионной силе  $10^{-8}M [Na^+]$ . Используются нативные препараты ДНК тимуса теленка, *M. luteus* ( $X_{ГЦ} = 72\%$ ), *Cl perfringens* ( $X_{ГЦ} = 28\%$ ). Подробно методы исследования описаны в работе [1]. Результаты УФ спектрофотометрических исследований приведены в таблице. Попытаемся объяснить полученные результаты, используя разработанный нами метод исследования избирательного связывания лигандов с нуклеотидными парами ДНК [2]. Если исходить из общепринятых принципов исследования избирательного связывания лигандов с ДНК, то можно сказать, что происходит избирательная дестабилизация ГЦ-пар в области исследованных концентраций ионов  $Mn^{2+}$ , поскольку для ДНК тимуса теленка и всех контрольных ДНК имеет место монотонное уменьшение ширины температурного интервала перехода ( $\Delta T$ ) с ростом концентрации ионов  $Mn^{2+}$ . Чтобы проверить этот вывод, по данным таблицы были построены зависимости температуры плавления от ГЦ-содержания для различных концентраций металла. Поскольку в присутствии, напр., 0,875, 2,6 и 3,5 М/Р (см. табл.)  $T_{ГЦ} - T_{АТ}$  уменьшается соответственно в 1,68; 3,05 и 3,16

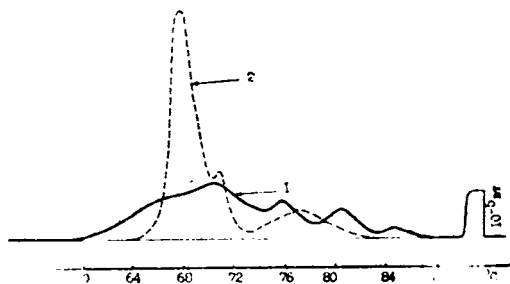
Таблица

Зависимость значений  $\Delta T$  ДНК тимуса теленка и  $T_{ГЦ} - T_{АТ}$ , полученных с помощью температур плавления контрольных ДНК от концентрации ионов  $Mn^{2+}$

Концентрация $Mn^{2+}$ (М/Р)	$T_{ГЦ} - T_{АТ} (^{\circ}C)$	$T (^{\circ}C)$
0	43,0	10,5
0,175	45,5	13,6
0,4	39,0	11,2
0,875	25,6	9,0
1,75	19,5	6,1
2,6	14,1	4,8
3,5	13,6	4,5
7,0	13,0	3,2

раза, то  $\Delta T$  ДНК тимуса теленка должна изменяться во столько же раз, если это уменьшение обусловлено только избирательностью связывания ионов  $Mn^{2+}$  с ГЦ-парами, т. к.  $\Delta T \sim (T_{ГЦ} - T_{АТ})$ . Однако, как следует из таблицы,  $\Delta T$  изменяется значительно слабее (соответственно в 1,17; 2,19 и 2,33 раза). Из изложенного выше следует, что слабое сужение  $\Delta T$  по сравнению с изменением  $T_{ГЦ} - T_{АТ}$  обусловлено не только специфичностью, но и другими факторами, действие которых вызывает изменение относительной стабильности участков ДНК, плавящихся при различных степенях денатурации.

Некоторое увеличение  $\Delta T$  ДНК при низких ионных силах и концентрациях ионов  $Mn^{2+}$  до 0,875 М/Р, как показано в работе [3], обусловлено присутствием примесных двухвалентных ионов в растворе. Как следует из [4], слабое изменение  $\Delta T$  по отношению к  $T_{ГЦ}-T_{АТ}$  в области концентраций ионов  $Mn^{2+} < 7$  М/Р никак нельзя объяснить агрегационными эффектами ДНК при высоких степенях денатурации. Это, скорее всего, результат перераспределения ионов  $Mn^{2+}$  с ГЦ-богатых спиральных участков на АТ-богатые уже расплавленные участки. Чтобы проверить предложенную гипотезу, было проведено калориметрическое плавление ДНК при концентрациях ионов  $[Mn^{2+}] = 0,875$  М/Р.



Микрокалориметрические кривые плавления ДНК тимуса теленка: (1) ДНК тимуса теленка в 0,1 н NaCl без марганца, (2) ДНК тимуса теленка в  $10^{-3}$  М NaCl + 0,875 М/Р  $Mn^{2+}$ .

Как видно из рисунка, на фоне сильного сужения интервала плавления в АТ-богатых участках происходит сильное уширение сателлитного ГЦ-богатого участка ДНК. Подобное явление теоретически было исследовано Ландо Д. Ю. [5]. Вышеизложенное подтверждается также исследованием спектрофотометрических кривых плавления смеси ГЦ-богатой и АТ-богатой ДНК при концентрациях ионов  $Mn^{2+}$  1 М/Р. Опыт показал, что при плавлении рацемической смеси этих ДНК  $\Delta T$  АТ-богатой ДНК уменьшается на 0,6°C, а у ГЦ-богатой ДНК происходит уширение  $\Delta T$  на 1°C. Таким образом, можно сделать вывод, что слабое изменение  $\Delta T$  по сравнению с  $T_{ГЦ}-T_{АТ}$  в области концентраций ионов  $Mn^{2+}$  1—7 М/Р, скорее всего, обусловлено перераспределением ионов  $Mn^{2+}$  в процессе плавления ДНК.

В. М. АСЛАНЯН, С. Г. АРУТЮНЯН, Е. Б. ДАЛЯН

Кафедра молекулярной физики  
и биофизики

Поступило 27.02.1986

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Асланян В. М., Арутюнян С. Г. Конформационное состояние ДНК в водных растворах, содержащих глицин,  $\beta$ -аланин и  $\gamma$ -АМК. Влияние температуры.—Биофизика, 1985, т. 30, с. 741.
2. Ахрем А. А., Асланян В. М., Арутюнян С. Г., Ландо Д. Ю. Избирательность связывания  $\beta$ -аланина и  $\gamma$ -АМК с нуклеотидными парами ДНК.—Докл. АН БССР, 1984, т. 28, № 3, с. 272.
3. Благой Ю. П., Сорокин В. А., Валеев В. А., Гладченко Г. О. Об особенностях перехода спираль-клубок в ДНК в области инверсии относительной стабильности АТ- и ГЦ-пар, обусловленной ионами  $Cu^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ .—Докл. АН ССР, 1978, т. 240, № 2, с. 459.
4. Yurgaitis A. P., Lazurkin Yu. S. Mechanism of DNA denaturation in presence of manganese ions.—Biopolymers, 1981, v. 20, p. 967.
5. Ландо Д. Ю., Иванова М. А., Ахрем А. А. Влияние изменения стехиометрии комплекса ДНК-лиганд при тепловой денатурации ДНК на параметры перехода спираль-клубок.—Мол. биол., 1980, т. 14, с. 1281.

Վ. Մ. ԱՍԼԱՆՅԱՆ, Մ. Գ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ե. Բ. ԳԱՅԱՆ

ԻՈՆՆԵՐԻ ՍՏԵԽՈՄԵՏՐԻԿ ԿՈՆՑԵՆՏՐԱՑԻԱՆԵՐԻ ԴԵՊՔՈՒՄ ԴՆԹ-Ի  
ՀԵՏ ԿԱՊՄԱՆ ՄԵՆԱՆԻՉՄԻ ՀԵՏԱԸՈՏՈՒՄԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտվել է  $Mn^{2+}$  իոնների ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցություն մեխանիզմը  $[Mn^{2+}] \ll 7$  մոլ/ֆոսֆոր կոնցենտրացիոն տիրույթում: Ցույց է տրվել, որ ԴՆԹ-ի հալման ինտերվալի ավելի քիչ նվազումը  $T_{D1} - T_{AT}$ -ի նկատմամբ նատուրացիայի բարձր աստիճաններում  $Mn^{2+}$  իոնների վերաբաշխման հետևանք է: