

УДК 573.3

ТЕПЛОВОЙ ГИПЕРХРОМИЗМ РАСТВОРОВ ДНК С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ КИСЛОРОДА

Пивоваренко Ю.В.

ННЦ «Физико-химическое материаловедение» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко и НАН Украины, Киев, e-mail: y.pivovarenko@gmail.com

Показано, что тепловой гиперхромизм ДНК зависит от содержания кислорода в ее водных растворах.

Ключевые слова: гиперхромизм, ДНК

THERMAL HYPERCHROMISM OF DNA SOLUTIONS WITH DIFFERENT CONTENT OF OXYGEN

Pivovarenko Y.V.

STC Physico-Chemical Center of Material Science, Taras Shevchenko Kyiv National University and NAS of Ukraine, Kiev, e-mail: y.pivovarenko@gmail.com

It is shown that thermal hyperchromism of DNA depend on content of oxygen in DNA aqueous solutions.

Keywords: hyperchromism, DNA

Учитывая идентичность спектральных изменений, сопровождающих нагревание водных растворов ДНК [1, 2] и их насыщение кислородом [4, 6, 7], мы предположили, что тепловой гиперхромизм ДНК зависит от содержания кислорода в ее растворах.

Цель исследования. Целью настоящего исследования была экспериментальная проверка такого предположения.

Материалы и методы исследования

В работе использовали растворы ДНК, приготовленные на 50 мМ Na-какодилатном буфере, pH 6,9 [2].

Для дегазации, растворы ДНК (20 °С) в течение 1 часа выдерживали в вакуумном эксикаторе под давлением ~ 13 мм рт. ст.

Насыщение растворов ДНК (20 °С) кислородом осуществляли барботированием (кислородом) [6, 7].

В работе использовали ДНК из тимуса теленка (Serwa, Германия).

Тепловое плавление ДНК проводили в соответствии с [9].

Тепловой гиперхромизм растворов ДНК, наблюдаемый при их нагревании от 20 до 95 °С, рассчитывали по формуле:

$$h_{(\%) } = [A_{260}(95^{\circ}\text{C}) - A_{260}(20^{\circ}\text{C}) / A_{260}(20^{\circ}\text{C})] \cdot 100\%.$$

Для регистрации УФ-спектров поглощения растворов ДНК использовали спектрофотометр Specord UV VIS (Carl Zeiss Jena, Германия).

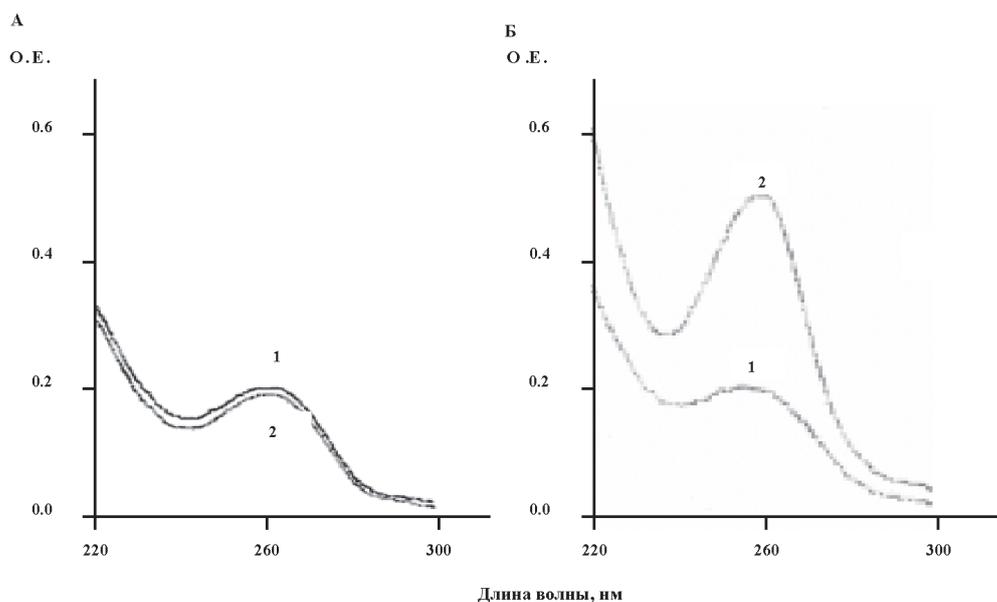
Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что нагревание дегазированных растворов ДНК от 20 до 95 °С не приводит к изменениям их спектров поглощения в диапазоне длин волн: 220 – 300 нм (рис. 1А). Также установлено, что нагревание растворов ДНК, насыщенных кислородом, от 20 до 95 °С сопровождается их гиперхромизмом в диапазоне длин волн: 220 – 300 нм (рис. 1Б), который может превышать 100%.

Обсуждение результатов. Полученные результаты (рис. 1) показывают, что тепловой гиперхромизм ДНК наблюдается только для ее кислородсодержащих растворов. Учитывая положения теории гипохромии олиго- и полинуклеотидов [5], полученные результаты означают, что термическая денатурация ДНК происходит только в кислородсодержащих растворах (рис. 1Б), а в бескислородных растворах ДНК термически резистентна (рис. 1А).

Результат, представленный на рис. 1Б, позволяет предположить, что тепловой гиперхромизм ДНК отражает процесс её модификации синглетным кислородом или другими АФК, образующимися при нагревании [3, 4, 6-8]. Так, модификация синглетным кислородом, которая сопровождается одноэлектронным окислением ДНК [8], может приводить к дегидрированию её оснований и, как следствие, к потере лабильных атомов водорода, участвующих в образовании водородных связей между комплементарными цепями ДНК, т.е. – к тепловому плавлению ДНК.

Очевидным практическим приложением обнаруженной зависимости (рис. 1) является дифференциальная УФ-спектроскопия ДНК [2], используемая для определения её структуры [10]. Учитывая способ получения термических дифференциальных спектров (ТДС) ДНК [10], на основании полученных результатов можно утверждать, что их вид будет зависеть от содержания кислорода в растворах исследуемой ДНК. Например, ТДС дегазированного раствора ДНК, полученный вычитанием спектра 1 из спектра 2 (рис. 1А), практически совпадёт с осью абсцисс, т.е. – будет совершенно не информативен.



A – УФ-спектры поглощения дегазированного раствора ДНК:

1 – при 20 °С; 2 – при 95 °С;

Б – УФ-спектры поглощения раствора ДНК, предварительно, в течение 15 мин., барботированного кислородом: 1 – при 20 °С; 2 – при 95 °С

Выводы

Тепловой УФ-гиперхромизм ДНК наблюдается только для ее кислородсодержащих растворов.

В бескислородных растворах ДНК термически резистентна.

Список литературы

1. Бирштейн Т.М., Дмитренко Л.В. Потенциометрическое титрование // Физико-химические методы изучения, анализа и фракционирования биополимеров. – Л.: Наука. – 1966. – 342 с.
2. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – М: Мир. – 1987. – 584 с.
3. Кузнецова А.А., Кнорре Д.Г., Фёдорова О.С. Окисление ДНК и её компонентов активными формами кислорода // Успехи химии. 2009. Т. 78, № 7. С. 714–734.
4. Фозия Хан, Фарина Хан, Сиддику А.А., Али Р. Повышение иммуногенности плазмидной ДНК под действием

синглетного кислорода // Биохимия. 2006. – Т. 71, № 8. С. 1074–1082.

5. Шабарова З.А., Богданов А.А. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов // М.: Химия. – 1978. – 584 с.

6. Doshi R., Day P.J.R., Carampin P., Blanch E. et al // Anal. Bioanal. Chem. – 2010. – Vol. 396. – P. 2331–2339.

7. Doshi R., Day P.J.R., Tirelli N. Dissolved oxygen alteration of the spectrophotometric analysis and quantification of nucleic acid solutions // Biochemical Society Transactions. – 2009. – Vol. 37, part 2. – P. 466–470.

8. Kanvah S., Joseph J., Schuster G.B., Barnett R.N. at all. // Accounts of Chemical Research. – 2010. – Vol. 43, № 2. – P. 280–287.

9. Marmur J., Doty P. Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature // J. Mol. Biol. – 1962. – Vol. 5. – P. 109–118.

10. Mergny J.-L., Li J., Lacroix L., Amrane S., Chaires J.B. // Nucleic Acids Research, – 2005. – Vol. 33, № 16. – P. 1–6. Published online September 12, 2005.