

УДК 547.963.3

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

И. Я. СКУРАТОВСКИЙ, М. А. МОКУЛЬСКИЙ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ МАГНИЕВОЙ СОЛИ ДНК

(Представлено академиком А. П. Александровым 2 XI 1970)

Хорошо известно, что магний играет существенную роль в биологических структурах и является необходимым участником важнейших биохимических реакций.

Множество работ посвящено исследованию влияния магния на свойства биополимеров, в особенности на свойства нуклеиновых кислот. Однако структура магниевой соли ДНК до сих пор не определена. В классических работах по структуре ДНК, выполненных М. Х. Ф. Вилкинсом с сотрудниками, исследовались ДНК в форме солей щелочных металлов Li, Na, K и Rb (¹⁻³). Эти исследования, как известно, показали, что в зависимости от содержания воды в образце ДНК последняя может принимать различные пространственные конформации. При высокой относительной влажности атмосферы, окружающей образец (92—95%), все исследованные соли ДНК находятся в В-конформации, для которой характерны высота витка двойной спирали 34,6 Å и 10 пар оснований на виток. При уменьшении относительной влажности до 75% натриевая, калиевая и рубидиевая соли ДНК переходят в А-конформацию с высотой витка 28,15 Å и с 11 парами оснований на виток. Литиевая же соль ДНК в большом интервале изменения относительной влажности (95—66%) остается в В-конформации, а при относительной влажности 44% находится в С-конформации с высотой витка 31 Å и 9,3 пар оснований на виток.

В настоящей работе методом дифракции рентгеновских лучей исследовалась магниевая соль ДНК из тимуса телянка. Препараты ДНК первоначально получались обычным методом (по Георгиеву — Кирби) с использованием солей натрия. NaДНК растворялась в 0,01 М трис HCl (pH 7,8) + 0,01 М MgCl₂, и 3 мл раствора диализовались в течение суток против 1 л этого же буфера. Полученная таким образом магниевая соль ДНК осаждалась спиртом. Были сняты картины дифракции от неориентированных образцов MgДНК и от ориентированных волокон при различных значениях относительной влажности атмосферы в рентгеновской камере. При этом использовалась обычная методика получения дифракционных картин от образцов, находящихся в атмосфере заданной влажности (см., например, (⁴)).

Полученные дифракционные данные позволяют сделать следующие выводы. При относительной влажности 95% структура молекулы MgДНК близка к В-конформации. Высота витка двойной спирали в этом случае равна $33,1 \pm 0,8$ Å, на один виток спирали приходится $10,0 \pm 0,35$ пар оснований. Картина дифракции от MgДНК при высокой влажности аналогична картине дифракции от паракристаллической В-формы, принимаемой при этой же влажности натриевой солью ДНК. Тип упаковки молекул MgДНК такой же, как и у NaДНК: 3 молекулы MgДНК упакованы в гексагональную ячейку с параметром $\sim 43,5$ Å. При уменьшении относительной влажности не происходит резких изменений структуры MgДНК, подобных В — А-переходу у NaДНК. На рентгенограммах MgДНК не появляется особенностей, характерных для А-формы, картина дифракции по-

прежнему больше всего похожа на картину, даваемую паракристаллической В-формой. Расстояние между парами оснований вдоль оси спирали остается неизменным, равным $3,315 \pm 0,030$ Å. Высота витка и число пар на виток последовательно уменьшаются при уменьшении влажности, и при относительной влажности 66% равны соответственно $30,5 \pm 1,2$ Å и $9,20 \pm 0,45$. Уменьшение относительной влажности сопровождается значительным ослаблением дифракционной картины. Если при относительной влажности 95, 92 и 86% получаются более или менее четкие рентгенограммы, то при 66 и 44%, кроме меридионального рефлекса, нам удалось увидеть лишь один экваториальный и один рефлекс на второй слоевой линии. Тем не менее, по виду рентгенограмм следует заключить, что и при низкой относительной влажности структура молекулы MgДНК оста-

Таблица 1

Соль	Относит. влажн. %	с высотой витка, Å	N колич. пар на виток	c/N, Å
Li, Na, K, Rb	92	34,6	10	3,46
Na, K, Rb	75	28,15	11	2,56
Li	44	30,8	9,3	3,31
Mg	95	33,1	10	3,15
	92	32,4	9,8	
	86	31,8	9,6	
	81	32,0	9,65	
	76	30,4	9,2	
	66	30,5	9,2	

ется близкой к В-конформации. Таким образом, при уменьшении относительной влажности происходит последовательное закручивание двойной спирали MgДНК, не сопровождаемое, однако, резкими структурными перестройками. Длина отдельной молекулы, например, остается неизменной, так как расстояние между парами оснований вдоль оси спирали остается постоянным во всем исследованном интервале изменения относительной влажности. Результаты, полученные нами, представлены в табл. 1, где для сравнения приведены параметры двойной спирали ДНК в А-, В- и С-конформациях, взятые из (1-3). У MgДНК расстояние между парами оснований вдоль оси спирали с/N при относительной влажности 44% такое же, как и при всех значениях относительной влажности, представленных в табл. 1. Другие же параметры не были определены из-за чрезвычайной слабости дифракционной картины при этой влажности.

Из табл. 1 видно, что есть некоторое сходство в характере конформационных изменений, происходящих при понижении влажности, в MgДНК и в LiДНК. Однако есть и различия, обсуждение которых затруднительно, так как пока нет атомной модели MgДНК.

Из работы (4) известно, что возможность осуществления различных конформаций ДНК сильно зависит от количества неорганической соли, присутствующей в образце. При количестве NaCl в образце, равном 10% сухого веса ДНК, не удается, например, наблюдать А-форму ДНК, а при полном отсутствии NaCl чистая NaДНК находится в А-конформации даже при относительной влажности 98%. В связи с этим нами предпринята попытка отмыть 70% спиртом могущую быть в наших образцах соль MgCl₂. Один из неориентированных образцов отмывался неоднократно 70% спиртом. После каждого отмывания снималась рентгенограмма этого образца при относительной влажности 45%, и все эти рентгенограммы не отличались от соответствующей рентгенограммы образца, не подвергавшегося отмыванию.

Количественный анализ содержания Mg, Na и Cl в исследованных нами образцах был проведен в Институте геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского, за что мы глубоко благодарны М. Н. Петриковой и В. И. Лебедеву. Оценки, сделанные на основании данных этого анализа, показывают, что в образцах MgДНК 1 ион магния приходится в среднем на 3-4 нуклеотида. Натрия примерно в 20 раз, а хлора в ~100 раз меньше, чем магния. Образец, подвергавшийся отмыванию в 70% спирте, прак-

тически не содержал ни натрия, ни хлора. Таким образом, можно считать, что полученные результаты характеризуют чистую магниевую соль ДНК.

В заключение мы приносим искреннюю благодарность Ю. С. Полонскому за советы и помощь в получении препаратов MgДНК.

Институт атомной энергии
им. И. В. Курчатова
Москва

Поступило
19 X 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. Langridge, H. R. Wilson et al., J. Mol. Biol., 2, 49 (1960). ² D. A. Marvin, M. Spencer et al., J. Mol. Biol., 3, 5, 547 (1961). ³ W. Fuller, M. H. F. Wilkins, L. D. Hamilton, J. Mol. Biol., 12, 1, 60 (1965). ⁴ P. J. Cooper, L. D. Hamilton, J. Mol. Biol., 16, 2, 562 (1966).