Доклады Академии наук СССР
1972. Том 203, № 4

УДК 577.3:547.963.32

БИОФИЗИКА

Ю. Н. ЧИРГАДЗЕ, М. ШЕ, И. Г. ХАРИТОНЕНКОВ

НОВЫЕ ДАННЫЕ О СТРУКТУРЕ САХАРО-ФОСФАТНОГО СКЕЛЕТА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

(Представлено академиком А. С. Спириным 8 VI 1971)

До настоящего времени и.-к. спектры нуклеиновых кислот в области колебаний сахаро-фосфатного скелета исследовали преимущественно в виде тонких пленок ([1], [2]). В твердом состоянии структура нуклеиновых кислот претерпевает значительные изменения в зависимости от влажности окружающей атмосферы, в связи с этим изучение спектров непосредственно в водных растворах имеет важное принципиальное и практическое значение. Возможность получения спектров ДНК в воде в этой области впервые была показана Тзубои (3), однако автор детально не исследовал переход из нативного состояния в денатурированное.

В данной работе получены и исследованы при разных температурах спектры водных растворов дезокси- и рибонуклеиновой кислот в области 1350—950 $см^{-1}$, где проявляются колебания фосфатных групп и сахаро-фосфатной части молекулы. Спектры записаны на спектрофотометре 180 фирмы Перкин—Эльмер, США, с использованием системы двойной модуляции, позволяющей исключить влияние собственного теплового излучения образца. Толщина разборной кюветы специальной конструкции составляла 40 μ, одно окно — из флюорита кальция, другое — из материала ИКС-29. Концентрация раствора в пересчете на нуклеиновую кислоту 1—3%. При записи спектров использовали растяжение шкалы оптической плотности в 1,5—2,0 раза. Образцы — тотальные препараты тимусной ДНК и дрожжевой РНК фирмы «Сигма Кемикл», США.

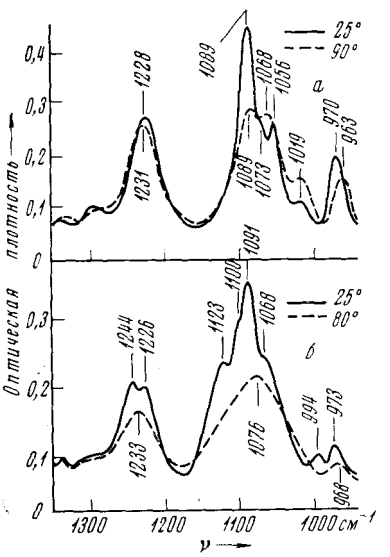

Рис. 1. И.-к. спектры водных растворов натриевых солей ДНК тимуса теленка (*а*) и РНК дрожжей (*б*) при разных температурах. Концентрация ДНК 2,7%, РНК 2,5%, в обоих случаях растворов H_2O 0,014 *M* NaCl, 0,001 *M* CH_3OONH_4, pH 7

Спектры указанных образцов измеряли при нескольких температурах от 25 до 90°. На рис. 1 представлены спектры нативного состояния при комнатной температуре и денатурированной формы при высокой температуре. Для ДНК существенные изменения в спектре происходят в узком интервале температур, для РНК спектр меняется непрерывно, начиная с комнатной температуры.

Спектры водного раствора ДНК в обеих формах очень похожи на спектры пленок при высокой и низкой влажностях, хотя в денатурированном состоянии в растворе полосы разрешены лучше. На рис. 2 представлены температурные зависимости различных спектральных характеристик. Раньше такие кривые получали для и.-к. спектров в тяжелой воде только по полосам поглощения азотистых оснований ([4]). Фосфатное поглощение на 1089 $см^{-1}$ (рис. 2*а*) начинает сразу уменьшаться при повышении температуры. Поскольку для водного раствора натриевой соли диизооктилфосфорной кислоты такой эффект отсут-

ствует, то, по-видимому, в случае ДНК уменьшение пиковой интенсивности, связанное с уширением полосы, свидетельствует о небольших структурных изменениях —С—О—Р—О— части скелета молекулы еще до кооперативного разрушения двухспиральной структуры при плавлении, кото-

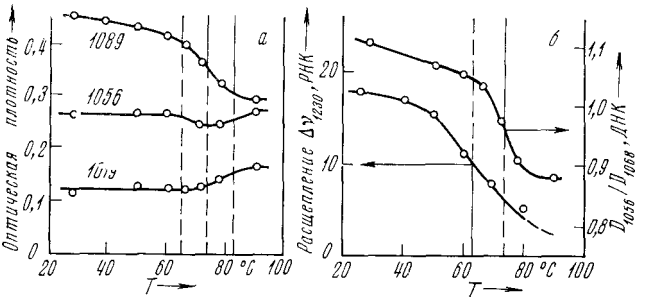

Рис. 2. Температурные зависимости спектральных характеристик ДНК (*а*) и кривые плавления по характерным параметрам для ДНК и РНК (*б*). При вычислении отношения оптических плотностей при 1056 и 1068 $см^{-1}$ за нулевую плотность брали значение спектральных кривых при 1150 $см^{-1}$

рое происходит при $T_{пл} = 74°$. Полоса 1056 $см^{-1}$, характерная для нативной ДНК и обусловленная колебанием остова, при плавлении замещается полосой 1068 $см^{-1}$ денатурированной молекулы. Отношение оптических плотностей при этих волновых числах (рис. 2*б*) может служить критерием нативности молекулы ДНК. Интересно отметить, что это отношение, так же как и пиковая интенсивность полосы 1089 $см^{-1}$, начинает меняться до того, как происходит переход из нативного состояния в денатурированное. Поглощение на 1019 $см^{-1}$, обусловленное скелетным колебанием остова (возможно в этом колебании принимают участие и атомы сахарного кольца) не меняется вплоть до 73°. Если исключить возможность компенсации изменения поглощения за счет разных по характеру изменений перекрывающихся полос, то указанный ход поглощения на 1019 $см^{-1}$ следует приписать тому, что структурные изменения определенной части скелета молекулы происходят с запаздыванием по отношению к разрушению спирали на 5—6°.

Спектр РНК в нативном состоянии в воде полностью соответствует спектру пленки при высокой влажности. Однако спектр денатурированной РНК в воде отличается от спектра пленки ([1]), денатурированной дегидратацией, что свидетельствует о неполной разупорядоченности в пленке. Нативная РНК отличается от денатурированной рядом четких признаков: расщеплением фосфатной полосы около 1230 $см^{-1}$, наличием скелетной полосы 994 $см^{-1}$ и др. Зависимость величины расщепления полосы 1230^{-1} см от температуры дает кривую плавления РНК (рис. 2*б*).

Таким образом, из и.-к. спектров нуклеиновых кислот в воде можно получить новую информацию о структуре сахаро-фосфатного остова этих молекул.

Авторы выражают благодарность профессорам А. С. Спирину, Т. И. Тихоненко и Ю. С. Лазуркину за интерес к работе и обсуждение.

Институт белка
Академии наук СССР
Пущино-на-Оке

Поступило
21 V 1971

Институт вирусологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] T. Shimanouchi, M. Tsuboi, Y. Kyogoku, Adv. Chem. Phys., **7**, 435 (1964). [2] M. Tsuboi, Appl. Spectr. Rev., **3**, 45 (1969). [3] M. Tsuboi, Progr. Theor. Phys., Suppl. № 17, 99 (1961). [4] Y. Kyogoku, M. Tsuboi et al., Nature, **189**, 120 (1961).